

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.73+612.468

К. В. Казарян, Н. Г. Унанян, И. Б. Меликсетян, А. А. Саваян

Влияние окситоцина на спонтанную активность маточных труб у  
небеременных крыс<sup>1</sup>

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л. Р. Манвеляном 25/II 2010)

**Ключевые слова:** матка, маточная труба, спайковая активность, окситоцин, *ovarian* отдел, *cervical* отдел, пейсмейкерные клетки

Известно, что сократительная деятельность гладкомышечной ткани матки, подобно другим висцеральным органам, обеспечивается спонтанной электрической активностью [1,2]. Последняя у небеременных крыс представляет собой разряды периодически возникающих всплесков потенциалов действия, которые являются результатом циклических деполяризаций мембран клеток [3,4]. Если каждая клетка матки в определенных условиях может становиться источником спонтанной активности, то в маточных трубах (рогах) пейсмейкерные области располагаются в *ovarian* и *cervical* их концах [5,6].

Вместе с тем в литературе не представлены данные о наличии ритмогенных зон в средних областях маточных труб. Известно, что важным регуляторным агентом гладкомышечной ткани миометрия является окситоцин, который подобно ацетилхолину обладает стимулирующим действием. Влияние окситоцина обусловлено его деполяризующим фактором, приводящим к учащению спайковой активности [7].

В литературе имеются данные морфологических исследований о наличии клеток, подобных интерстициальным клеткам Кахаля, обеспечивающих пейсмейкерную активность в гладкомышечных тканях мочевого пузыря, мочеиспускательного канала, а также пиелоуретерального соустья [8,9]. В матке небеременной крысы также были выявлены атипичные клетки, полностью

<sup>1</sup>эл. вариант

отличающиеся от гладкомышечных [10]. В настоящей работе мы попытались подтвердить локализацию пейсмейкерной активности в крайних зонах маточных труб, а также возможность ее наличия и в средней области рога не только в норме, но и под воздействием окситоцина.

Опыты проводили на небеременных самках крыс (200-250 г), наркотизированных нембуталом (50-55 мг/кг) внутрибрюшинно в условиях *in situ*. Эксперименты были острыми и после завершения регистраций животные забивались.

Вскрывалась брюшная полость и обнажался корпус матки с расположенными с двух сторон маточными трубами (рогами). Матка денервировалась перерезкой корешков нервов *plexus hypogastricus, uterinus, uterovaginalis*. Регистрация активности проводилась одновременно с поверхности трех разных отделов маточной трубы. Спонтанная электрическая активность исследуемых зон отводилась биполярными электродами (межэлектродное расстояние соответствовало 2 мм). Электрическую активность регистрировали на энцефалографе (EEG-8S, Hungary).

Окситоцин вводился внутривенно по 0,3-0,2 мл (в зависимости от веса животного) в концентрациях  $10^{-1}$  и 10 мкг/кг. В каждом эксперименте исследовалась одна концентрация. Приведенная запись отдельного эксперимента представляет собой данные регистрации на 12 животных.

Результаты экспериментов статистически обрабатывались программой Sigma Plot 8.02 с применением *t* критерия Стьюдента.

Морфо-гистохимические исследования проводились методом выявления  $Ca^{2+}$ -зависимой кислой фосфатазы [11] и гистохимическим методом выявления ортофосфатов [12]. Полученные этими методами микрофотографии адекватны, обладают большой информативностью и дают возможность судить об определенных звеньях метаболизма исследуемых структур.

Электрическая активность может регистрироваться как в беременной, так и небеременной матке [13], при этом разряды спайков возникают и затухают не одновременно и могут длиться различные промежутки времени [14].

В первой серии экспериментов исследованы некоторые характеристики электрофизиологических свойств всех трех отделов маточной трубы небеременных крыс, схематически представленных на рис. 1. Действительно, из трех отделов маточной трубы в норме были зарегистрированы периодически возникающие разряды активности (рис. 1, обл. 1, 2, 3). Как видно из рисунка, в средней части рога, как правило, наблюдались вспышки активности с более редкой частотой генеза спайков.

Известно, что к числу основных параметров спайкового ритмогенеза,

определяющих контрактурную деятельность органов, можно отнести длительность электрических разрядов и частоту спайков в пределе вспышек [15]. В следующей серии экспериментов проанализированы именно эти характеристики.

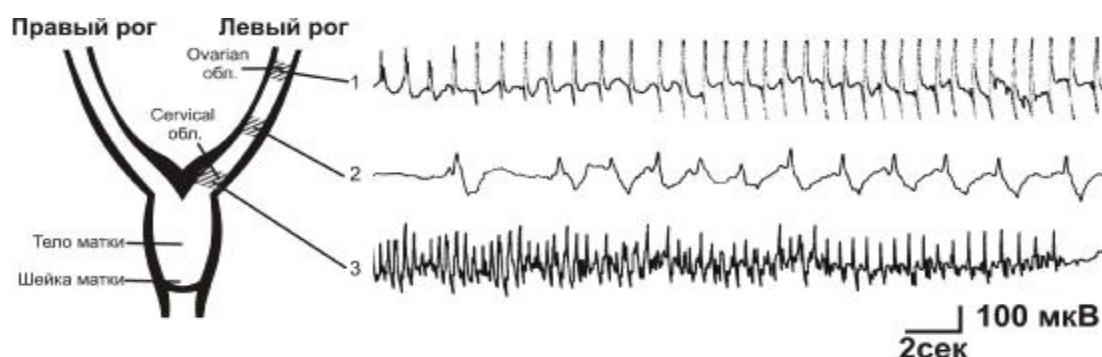


Рис. 1. Схематическое изображение тела матки и маточных труб (рогов) с представленными типами спонтанных активностей, зарегистрированных из указанных трех областей: 1 – ovarian отдел; 2 – cervical отдел; 3 – центральная часть рога.  $n = 12$ .

В таблице приведены полученные нами данные для вышеуказанных отделов (рис. 1). Показатели как длительности регистрации активности, так и частоты генеза спайков для cervical отдела несколько превосходят таковые для ovarian областей. Что же касается среднего отдела рога, то измеренные показатели значительно ниже параметров не только для ovarian области, но также и cervical отдела. Таким образом, из исследуемых трех областей маточной трубы центральная ее часть характеризуется наиболее слабовыраженной спонтанной активностью.

#### Параметры активности различных отделов маточных труб (норма)

Области регистрации	Продолжительность разряда активности, сек.	Частота спайков, колеб/мин.
1	$50.8 \pm 2.74$	$73.7 \pm 3.78$
2	$34.1 \pm 0.84$	$46.1 \pm 3.66$
3	$55.2 \pm 4.88$	$84 \pm 4.11$

Влияние окситоцина как на продолжительность электрического разряда, так и частоту ритмогенеза спайков изучалась для двух концентраций:  $10^{-1}$  и 10 мкг/кг. Как видно из рис. 2, для обоих крайних отделов маточной трубы наблюдается значительное увеличение продолжительности генеза электрических разрядов при рассматриваемых концентрациях, в отличие от

центральной части рога (рис. 1, обл. 2). Вместе с тем если 10 мкг/кг окситоцина несколько уменьшает этот показатель активности, то в области 2 отмечается, наоборот, увеличение продолжительности разрядов.

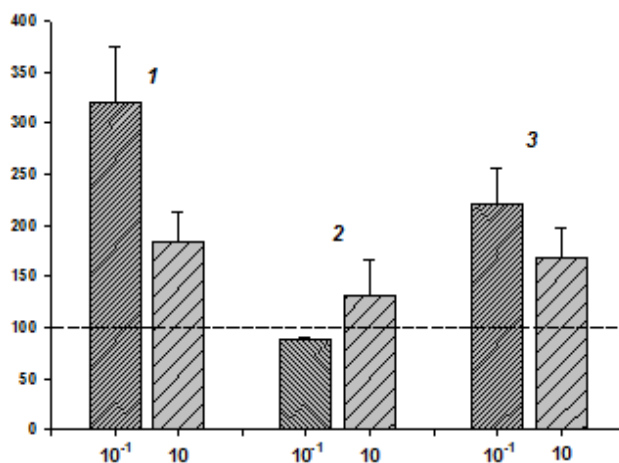


Рис. 2. Влияние окситоцина на продолжительность генеза разрядов спайковой активности для трех отделов маточной трубы. Над каждой группой столбиков сверху указаны области регистрации, представленные на рис. 1. Пунктирной линией показана норма.  $n = 19$ . На оси ординат — продолжительность разряда активности в %; на оси абсцисс — концентрация окситоцина в мкг/кг.

Для показателей частотных характеристик влияние концентрации окситоцина носит несколько иной характер (рис. 3). Наблюдаются небольшие изменения ритмики активности и при  $10^{-1}$ , и при 10 мкг/кг.

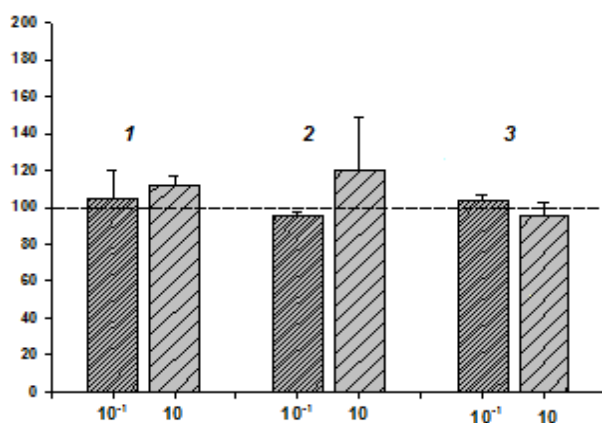


Рис. 3. Влияние окситоцина на частоту спайковой активности для трех отделов маточной трубы. На оси ординат — частота спайков в %. Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Исходя из рис. 2 и 3 можно заключить, что при воздействии окситоцина крайние отделы маточной трубы имеют аналогичную характеристику изменений для продолжительности разрядов активности и для частоты ритмогенеза.

Рис. 4. Микрофотография продольных срезов различных отделов рога интактных крыс. А,Б,В,Г – ovarian отдел (1), Д,Е – срединный отдел (2), Ж,З – cervical отдел (3). В скобках указаны отделы органа, представленные на рис.1. Увеличение: 25 (а,г,Е,ж); 63 (Д); 100 (б); 400 (З); 1000 (А,Б,В,Ж).

Рис. 5. Микрофотография продольных срезов различных отделов рога при воздействии окситоцина. А,а,В – ovarian отдел (1); Б,б – срединный отдел (2); Г,Д – cervical отдел (3). В скобках указаны отделы органа, представленные на рис.1. Увеличение: 25 (б); 63 (а); 160 (Б); 400 (Г,Д); 1000 (А,В).

Показатели же центральной области рога мало подвержены изменениям как при  $10^{-1}$ , так и 10 мкг/кг. С этой точки зрения вызывает определенный интерес сравнение морфологических картин всех трех исследуемых областей как в норме, так и при воздействии окситоцина.

Анализ морфо-гистохимических исследований показал, что на продольных срезах ovarian отдела рога интактных крыс выявляются круглые или овальные атипичные клетки с высоким уровнем активности  $Ca^{2+}$ -зависимой кислой фосфатазы (рис.4, Аа, Бб, В, Г). Наиболее интенсивно выявляются ядра клеток. На фоне светлой цитоплазмы обнаруживаются Нопогі положительные, круглые, овоидные, кокобациллярные, в виде запятой, грануляции. Довольно часто эти клетки сливаются, поэтому на препаратах обнаруживается множество ядер в большой массе цитоплазмы. Такие же клетки обнаружены в cervical отделе рога (рис.4, Ж, З). В срединном отделе маточной трубы этих клеток нет (рис.4, Д) и лишь в глубоких слоях, вблизи просвета, выявляется небольшое их скопление (рис.4, Е). В отличие от атипичных клеток типичные миогенные элементы стенки почти не выявляются и ферментная активность значительно снижена. Данные, полученные методом выявления ортофосфатов, показали, что на срезах всех отделов матки окрашиваются лишь ядра гладкомышечных клеток (рис.4, г).

Под воздействием окситоцина резко усиливается ферментная активность атипичных клеток. Местами эти клетки сходятся в глыбки и их форма становится изменчивой, усиливается интенсивность окрашивания, придавая месту расположения затемненный вид (рис.5, В). В ovarian отделе рога эти клетки темноокрашены и невозможно определить границы ядра с цитоплазмой (рис.5, А). Интенсивно окрашиваются также атипичные клетки cervical отдела рога (рис.5, Г, Д). Окситоцин усиливает также метаболизм типичных гладкомышечных клеток (рис.5, Б). Исходя из этого срединный отдел рога выглядит интенсивно окрашенным за счет высокой ферментной активности типичных миогенных элементов. Атипичные клетки в срединном отделе рога под воздействием окситоцина не обнаруживаются.

Согласно исследованиям [16] в верхних мочевыводящих путях, в частности, в пиелoureтеральном соустье, были обнаружены элементы, подобные интерстициальным клеткам Кахаля. Они были неправильной формы с овальным ядром и множеством контактирующих отростков. Однако описанные клетки не иммунореактивны с  $\alpha$ -актином гладкомышечных клеток или С-Kit позитивных пейсмекерных клеток. Согласно приведенным результатам, гладкомышечные клетки отличаются от обнаруженных нами атипичных клеток ферментной активностью. Последние обладают высокой активностью  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой кислой фосфатазы, хотя для установления достоверной природы необходимы дополнительные иммуногистохимические маркеры. Таким образом, эти клетки в основном обнаруживаются в ovarian и cervical отделах рога. В срединном отделе рога матки около просвета обнаруживаются их скопления. Наибольшей же ферментной активностью обладает ovarian отдел рога.

Вышеописанные гистохимические результаты полностью подтверждают наличие различных "физиологических" состояний в исследуемых областях маточных труб. Таким образом, наблюдается полное соответствие электрофизиологических и морфологических результатов.

Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА

**К. В. Казарян, Н. Г. Унанян, И. Б. Меликсетян, А. А. Саваян**

#### **Влияние окситоцина на спонтанную активность маточных труб у небеременных крыс**

Исследовалась спонтанная электрическая активность трех областей рога матки у крыс: яичниковая зона, средний отдел и приграничная к телу матки.

Показано, что средняя область рога характеризуется наименьшей продолжительностью активности, в то время как максимальная величина этого показателя отмечена в яичниковом отделе органа. Морфологическими исследованиями выявлено наибольшее количество пейсмекерных атипичных клеток в отмеченной зоне.

**Ք. Վ. Ղազարյան, Ն. Գ. Նունանյան, Ի. Բ. Մելիքսեթյան, Ա. Ա. Սավայան**

**Օքսիտոցինի ազդեցությունը առնետների մոտ արգանդի փողի ինքնարուխ  
ակտիվության վրա**

Ուսումնասիրվել է առնետի արգանդի փողի երեք գոտիների՝ ձվարանային, վզիկային և միջին շրջանների, պեյսմեկերային ակտիվությունները: Ինչպես նորմայում, այնպես էլ օքսիտոցինի ազդեցությամբ ցույց է տրվել փողի միջին շրջանի սպայկային ակտիվության փրեոդոթյան ամենացածր ցուցանիշը: Միաժամանակ, ձվարանային շրջանը բնութագրվում է այդ ցուցանիշի բարձր արժեքով: Մորֆոլոգիական հեքազոություններով բացահայտվել է, որ հենց արգանդի փողի ձվարանային շրջանում է գտնվում պեյսմեկերային պրիպիկ բջիջների ամենամեծ քանակությունը:

**K. V. Kazaryan, N. G. Hunanyan, I. B. Meliksetyan, A. A. Savayan**

**The Effect of Oxytocin on Spontaneous Activity of Uterine Horn in Rats**

Pacemaker activities in the ovarian, cervical and middle parts of the rat uterine horn have been studied. The lowest rates of spike activity durations were shown in the middle part of uterine horn in norm and under the effect of oxytocin. At the same time the ovarian part is characterized by a significant value of this parameter. Morphological experiments showed that the highest quantity of pacemaker atypical cells was localized in the ovarian part of uterine horn.

**Литература**

1. *Garfield R.E., Bytautiene E., Vedernikov Y.P., Marshall J.S., Romero R.* - Am. J. Obstet Gynecol. 2000. V. 183. N1. P. 118-125.
2. *Garfield R. E., Maner W. L.* - Semin. Cell. Dev. Biol. 2007. V. 18. N3. P. 289-295.
3. *Kanda S., Kuriyama H.* - J. Physiol. London. 1980. V. 299. P. 127-44.
4. *Holger Maul, William L. Maner, George R. Saade, Robert E. Garfield* - Clin. Perinatol. 2003. V. 30. P. 665-676.
5. *Mancinelli R., Guariglia L., Racanicchi C., Bertuzzi A., Salinari S., Vitelli R.* - Quarterly Journal of Experimental Physiology. 1988. V. 73. P. 459-469.
6. *Linda H., Crane and Len Martin* - Reprod. Fertil. Dev. 1991. V. 3. P. 519-27.
7. *Buhimschi C. S., Saade G. R., Buhimschi I. A., Gokdeniz R., Boyle M. B., Garfield R. E.* - Am. J. Obstet Gynecol. 2000 Jul. V. 183. N 1. P. 68-75.
8. *Sergeant G.P., Hollywood M.A., Mc Closkey K.D., Thornbury K.D., Mc Hale N.G.* - J. Physiol. 2000. V. 526. N 2. P. 359-366.

9. *Klemm M.F., Exintaris B., Lang R.J.* - J. Physiol. 1999. V. 519. P. 867-884.
10. *Duquette R.A., Shmygol A., Vaillant C., Mobasher A., Pope M., Burduga T., Wray S.* - Biology of Reproduction. 2005. V. 72. P. 276-283.
11. *Меликсетян И.Б.* - Морфология. СПб. 2007. Т. 131. N 2. С. 77-80.
12. *Меликсетян И.Б., Мартиросян Дж.А.* - Биол. Журн. Армении. 1990. Т. 43. N 10-11, С. 883 - 889.
13. *Cavaco-Goncalves S., Marques C. C., Horta A. E., Figueroa J. P.* - Anim Reprod Sci. 2006. V. 93. N3-4. P. 360-365.
14. *Унанян Н.Г., Казарян К.В., Тираян А.С.* В: Матер. междунар. научн.конф. "Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы". Ереван. 2009. С. 306-311.
15. *Edwards Diane , Good Diana M., Granger Susan E., Hollingsworth M., Robson Alison, Small R.C., Weston A.H.* - Br. J. Pharmac. 1986. V. 88. P. 899-908.
16. *Klemm M.F., Exintaris B., Lang R.J.* - J. Physiol. 1999. V. 519. P. 867-884.