

УДК 612.73+612.468

Воздействие окситоцина на спонтанную электрическую активность овариальной и цервикальной областей маточной трубы крысы

Т.А. Пилипосян

*Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА,
лаборатория физиологии гладкой мускулатуры
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

Ключевые слова: маточная труба, овариальный отдел, цервикальный отдел, спонтанная активность, вспышки активности, потенциал действия

Спонтанная электрическая активность миометрия небеременных крыс, представляет собой электрические разряды, которые в виде периодически возникающих вспышек потенциалов действия возникают и затухают в определенных областях ткани (овариальной и цервикальной областях маточного рога и теле матки) [2, 3]. Описанная миогенная по своей природе спонтанная активность типична для различных ритмогенных зон миометрия. Такая активность наблюдается не только у беременных крыс, но также у небеременных [3, 7, 13].

В вышеотмеченных активных локусах миометрия разряды спайков возникают асинхронно со свойственной каждому из них периодичностью [3, 17], причем каждая из этих вспышек является причиной появления контрактуры [1, 3, 4, 14].

Согласно ранним исследованиям [8, 13], каждая клетка миометрия может создавать пейсмекерную активность, и при этом клетка с самой высокой возбудимостью может стать источником возникновения потенциала действия и создавать пейсмекерную активность в данной области миометрия. Однако наличие необходимости четкой направленности распространяющейся электрической волны свидетельствует о присутствии и других источников ритмогенеза наряду с описанными лабильными пейсмекерами [2, 14, 18]. Действительно, впоследствии было выявлено существование локализации пейсмекерных областей, определяющих направленность распространения волны возбуждения [15, 18, 21].

Как отмечалось ранее, хотя периодически возникающие вспышки активности в разных областях миометрия независимы друг от друга, между ними существует определенная, регулирующая их, взаимосвязь [2, 3].

Интересен также тот факт, что зарегистрированные из разных активных областей миометрия спонтанные потенциалы действия имеют отличные друг от друга показатели и могут изменяться в зависимости от локализации регистрируемой области [10]. Известно также, что описанная миогенная по своей природе активность модулируется нервными и гуморальными факторами [12, 19, 20] и связана с контрактурой [6, 14]. При этом, в отличие от других гладкомышечных органов, матка характеризуется особым реагированием как на половые гормоны, так и на окситоцин. Данный гипоталамический гормон оказывает возбуждающее действие на учащение спонтанных разрядов и деполяризацию мембраны гладкомышечных клеток, способствуя возникновению спонтанно распространяющейся волны возбудимости [9,11,16]. Также показано, что рецепторы окситоцина обладают определенной чувствительностью к различным клеткам миометрия [11,16, 20]. Данная особенность окситоцина может способствовать процессам, обеспечивающим интегративную деятельность всех ритмогенных областей миометрия.

Исходя из вышеизложенного, вызывает определенный интерес проведение сравнительного анализа характеристик спонтанной активности овариальной и цервикальной областей маточной трубы у небеременных крыс как в норме, так и при воздействии окситоцина.

Материал и методы

Работа выполнена в условиях *in situ* на самках крыс, обследованных на 10-й день после родов, массой 200-250г. Общая анестезия была проведена нембуталом (40-45 мг/кг) внутрибрюшинно. Эксперименты были острыми и после завершения регистрации животные забивались. Вскрывалась брюшная полость и обнажался корпус матки с расположенными с двух сторон маточными трубами. Матка денервировалась перерезкой корешков нервов *plexus hypogastricus*, *uterinus*, *uterovaginalis*. Регистрация активности проводилась одновременно с поверхности разных отделов матки – овариальной и цервикальной областей левого рога (рис. 1). Спонтанная электрическая активность из описанных отделов органа отводилась биполярными электродами (межэлектродное расстояние соответствовало 2 мм). Окситоцин (5МЕ Гедеон Рихтер) вводился внутривенно путем разбавления по 0,2-0,3 мл (в зависимости от массы животного) в концентрации 10^{-1} мкг/кг. В каждом эксперименте исследовалась одна концентрация.

Анализ результатов проводился путем определения значений следующих параметров спонтанных потенциалов действия: амплитуда (А), средняя скорость нарастания пика (V), продолжительность нарастания пика (T/2) (продолжительность увеличения амплитуды потенциала действия до максимального значения), половина ширины (t) (продолжитель-

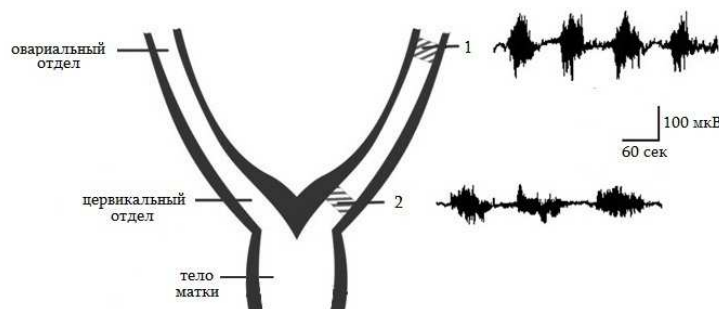


Рис.1. Схематическое изображение тела матки и маточных труб крысы:
1,2 – соответственно области регистрации активности из овариальной и
цервикальной областей маточных труб

ность формирования вершины потенциала действия, соответствующего верхней половине его амплитуды), продолжительность активного состояния (суммированные длительности всплесков активности, наблюдаемые в течение 5 мин регистрации в пересчете на 1 мин). Все отмеченные показатели определялись путем их усреднения как в пределах одного эксперимента, так и всех экспериментов данной серии.

На рисунках представлены суперпозиции двух типичных форм усредненных потенциалов действия. Усреднение последних также проводилось как в пределах каждого эксперимента, так и всех экспериментов данной серии.

Спонтанная электрическая активность регистрировалась на 6-канальном приборе, разработанном в Институте физиологии им. Л. А. Орбели НАН РА для оценки электрической активности гладкой мускулатуры [2]. В данных экспериментах проводилась одновременная регистрация с 2 локусов исследуемой структуры. Отношение сигнал – шум прибора позволяет осуществлять достоверную регистрацию отклонений сигналов с амплитудой до 10 мкВ. Проводилась полосовая фильтрация регистрируемых сигналов в диапазоне 3 – 30 Гц. Коммуникация прибора с ЭВМ осуществлялась с использованием USB порта. Программа, обеспечивающая регистрацию сигналов, разработана с применением пакета программ Lab View.

Последующий статистический анализ зарегистрированных сигналов проводился с использованием пакетов программ Origin-8.5 и Sigma Plot 11.0. Оценка достоверности изменения полученных данных осуществлялась согласно t-критерию Стьюдента.

Приведенные записи отдельных экспериментов представляют картину активности одного из аналогичных экспериментов, полученных на 14 животных.

Все эксперименты были проведены в соответствии с правилами Ере-

ванского государственного медицинского университета по этике в области ухода и использования лабораторных животных. Эксперименты, а также уход за животными выполнены в соответствии с «Правилами и нормами гуманного обращения с объектами исследования».

Результаты и обсуждение

Проводилась одновременная регистрация электрической активности, которая позволяла проводить одновременно запись всплесков из двух ритмогенных зон миоэлектрии (рис. 1). На рис. 2 справа в развернутом виде представлены типичные контуры потенциалов действия из двух ритмогенных зон миоэлектрии, которые свидетельствуют об определенных изменениях их параметров в зависимости от области регистрации. Всплески активности возникают асинхронно, но нельзя исключать наличия возможности их совместной работы в определенном промежутке времени. Активность каждой из отмеченных областей возникала на фоне относительно нестабильного уровня мембранного потенциала, при этом частота спайковых потенциалов снижалась, а затем затухала.

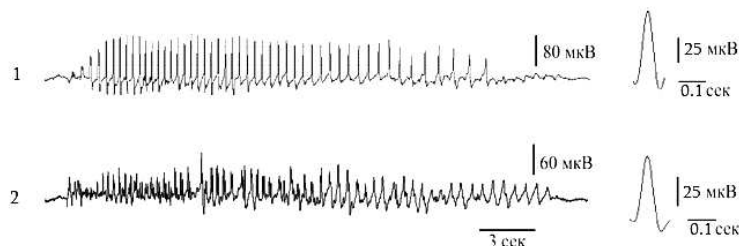


Рис. 2. Спонтанная электрическая активность разных областей миоэлектрии в норме:

1,2 – соответствуют областям, представленным на рис. 1

Анализ полученных данных выявил определенные различия в свойствах основных параметров потенциала действия, формирующих всплески для каждой из ритмогенных областей в норме. Из таблицы видно, что высокоамплитудные спайки овариальной области значительно выше, чем в цервикальной области (рис.1, обл.1 и 2). Для остальных показателей параметров потенциала действия овариальной области также показана значительная разница по отношению к цервикальной области.

На рис. 3 слева представлены результаты проведенного анализа характеристик электрической активности ритмогенных областей миоэлектрии, в процентах по отношению к таковым овариального отдела рога (контроль). Для всех показателей активности зарегистрированы определенные изменения. Величина амплитуды спайков и скорость нарастания пика в

овариальной области значительно превышает значение тех же параметров в цервикальной области, а время нарастания пика и половина его ширины в овариальной области вдвое меньше по сравнению с цервикальной областью. На рис. 3 справа представлено наложение усредненных форм потенциалов действия исследуемых областей для наглядного представления всех вышеотмеченных изменений параметров.

Таблица

Показатели спонтанных потенциалов действия различных отделов миометрия крысы в норме

Области регистрации и количество экспериментов, n	Амплитуда спайков (A), мкВ			Средняя скорость нарастания пика(V), мкВ/сек			Продолжительность нарастания пика(T/2), сек			Половина ширины(t), сек		
Овариальная область (1), n =14	133,3±9,9			1541,2±162,4			0,11±0,009			0,04±0,003		
Цервикальная область(2), n =14	64,0±5,3			173,2±9,27			0,37±0,034			0,11±0,01		
Тело матки (3), n =14	29,18±3,09			108,1±8,75			0,34±0,037			0,09±0,005		
Достоверность различия	(1-2)**	(1-3)***	(2-3)**	(1-2)**	(1-3)**	(2-3)	(1-2)***	(1-3)***	(2-3)	(1-2)**	(1-3)***	(2-3)

Примечание. В строке «Достоверность различия» приведены уровни значимостей отличия средних значений соответствующих показателей для овариальной и цервикальной (1-2) областей, овариальной области и тела матки (1-3), цервикальной области и тела матки (2-3); * p<0.05 , ** p<0.01 и *** p<0.001

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что активность овариальной области формирует соответствующие, свойственные именно ей, всплески разрядов активности в отличие от цервикальной области.

Изучение влияния окситоцина на спонтанную активность ритмогенных зон проводилось при введении окситоцина в концентрации 10^{-1} мкг/кг. Данная доза является оптимальной для возбуждения миометрия [9]. На рис. 4 А видно, что в этих условиях в исследуемых областях значительно увеличиваются амплитуда потенциала действия и скорость ее нарастания (овариальная область – на 41.85% и 36.8%, цервикальная область – на 39.31% и 39.77%). Остальные показатели, такие как продолжительность нарастания пика и половина ширины для цервикального отдела миометрия в тех же пределах, немного уменьшаются по сравнению с контролем. В овариальной же области на 12.5% возрастает лишь продолжительность нарастания пика, а остальные параметры остаются в пределах

нормы. Описанные изменения всех параметров потенциалов действия при воздействии окситоцина для каждой ритмогенной области наглядно видны при наложении друг на друга развернутых усредненных форм потенциалов действия в норме и при воздействии гормона (рис. 4 Б, В).

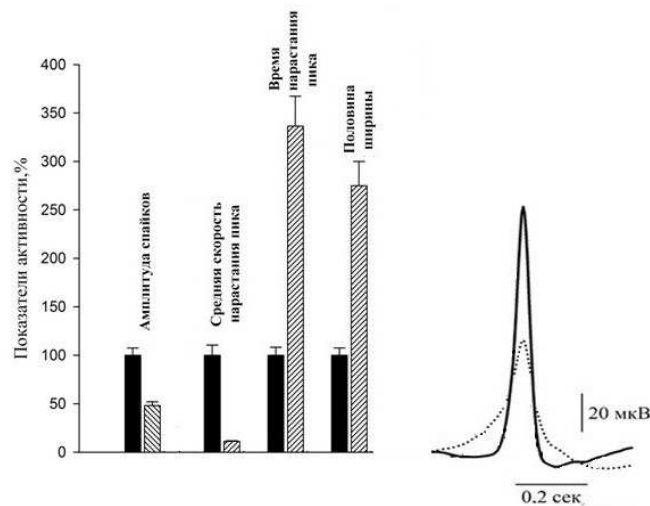


Рис. 3. Процентное соотношение показателей потенциалов действия из разных областей миометрия по отношению к овариальной области. Справа – наложение друг на друга усредненных форм единичных потенциалов действия из различных областей миометрия. $n=14$

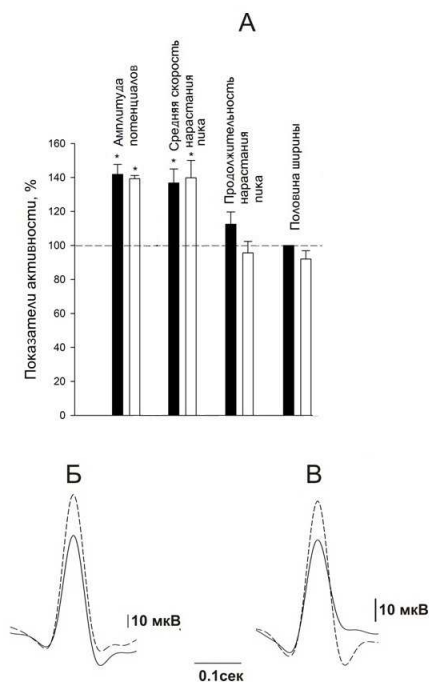


Рис. 4. Влияние окситоцина на спонтанную электрическую активность областей 1,2 (см. рис. 1): А – процентное соотношение показателей потенциалов действия (после введения окситоцина) по отношению к норме. Штриховой линией показана норма, $*p<0.01$. Б – наложение друг на друга усредненных форм потенциалов действия овариальной области в норме (сплошной контур) при воздействии окситоцина (штриховой контур). В – аналогично Б, но для цервикальной области, $n=14$

Таким образом, согласно вышеизложенным результатам, окситоцин является специфическим регулятором возбудимости миометрия для разных отделов рога, что, в свою очередь, и позволило выявить процессы, отражающие синхронизацию ритмогенеза исследуемых зон.

Овариальная область миометрия небеременной крысы занимает исключительное положение по своим электрофизиологическим свойствам среди всех ритмогенных зон миометрия [5, 14 – 16]. Полученные в работе результаты выявили также наибольшее повышение возбудимости именно в этой зоне миометрия при воздействии окситоцина.

Поступила 05.10.18

Օքսիտոցինի ազդեցությունը առնետի արգանդի փողի ձվարանային և ցեովիկալ շրջանների ինքնաբուխ էլեկտրական ակտիվության վրա

S. Ա. Փիլիպոսյան

Հետազոտվել է առնետի արգանդի փողերի ձվարանային և ցեովիկալ շրջանների ինքնաբուխ էլեկտրական ակտիվությունը գործողության պոտենցիալների ձևով ինչպես նորմայում, այնպես էլ օքսիտոցինի ազդեցության պայմաններում: Անցկացվել է ինքնաբուխ էլեկտրական ակտիվության հիմնական բնութագրիչների (գործողության պոտենցիալի ամպլիտուդա, պիկի աճի միջին արագություն, պիկի աճի տևողություն, լայնության կես) արդյունքների մշակում: Արգանդամկանի երկու հետազոտվող շրջաններից մեկը՝ ձվարանային շրջանը, ի տարբերություն ցեովիկալ շրջանի, բնութագրվում է այնպիսի գործողության պոտենցիալներով, որոնք ունեն բարձր ամպլիտուդա և արագություն: Օքսիտոցինի ազդեցության պայմաններում ակտիվության չափանիշները բոլոր ռիթմածին շրջաններում համաչափ աճում են:

Influence of Oxytocin on Spontaneous Electrical Activity of the Ovarian and Cervical Ends of Uterine Horns in Rats

T. A. Piliposyan

Spontaneous bursts of action potentials that occur in the ovarian and cervical uterine horn areas were investigated in non-pregnant rats. Experiments were carried in the normal conditions and under the influence of oxytocin. The main characteristics of pacemaker activity – amplitude of action potentials, rise

rate, rise time and half-width of peaks were analyzed. The ovarian horn area was characterized by the high amplitude and firing rate of action potentials. The results obtained show that activity parameters in all rhythmogenic areas increase synchronous under the influence of oxytocin.

Литература

1. Казарян К.В., Унанян Н.Г., Акопян Р.Р. Характеристики электрофизиологических свойств разных отделов матки и приграничной с ней области маточной трубы у крыс. Рос. Физиол. журн. им. И.М.Сеченова, 2010, 96(10), с. 981-987.
2. Казарян К.В., Унанян Н.Г. Взаимосвязь электрических активностей разных областей миометрия у крыс. Рос. Физиол. журн. им. И.М.Сеченова, 2013, 99(10), с. 1191-1199.
3. Buhimschi C.S., Saade G.R., Buhimschi I.A., Gokdeniz R., Boyle M.B., Garfield R.E. Effect of stimulatory and inhibitory drugs on uterine electrical activity measured noninvasively from the abdominal surface of pregnant rats. Am. J. Obstet. Gynecol., 2000, 183(1), p. 68-75.
4. Buhimschi C., Garfield R. E. Uterine contractility as assessed by the abdominal surface recording of EMG activity in rats during pregnancy. Am. J. Obstet Gynecol. 1996. v. 174, 1, p. 744-753.
5. Crane L. H., Martin L. Pace-maker activity in the myometrium of the oestrous rat: in vivo studies using video-laparoscopy. Reprod. Fertil. Dev., 1991, 3, p. 519-527.
6. Garfield R. E. and Maner W. L. Physiology and electrical activity of uterine contractions. Semin Cell Dev Biol. 2007, v.18, 3, p. 289-295.
7. Garfield R. E., Daniel E. E., Dukes M., Fitzgerald J. D. Changes of gap junction in myometrium of guinea pig at parturition and abortion // Can. J. Physiol. Pharmacol., 1982, v. 60, 3, p. 335-341.
8. Kao C. Y. Ionic basis of electrical activity in uterine smooth muscle. In: Cellular biology of the uterus. Edited by Wynn R.M., Appleton-Century-Crofts, New York, 1967, p. 386-408.
9. Kazaryan K.V., Hunanyan N.G., Meliksetyan I.B., Hakobyan R.R., Savayan A.A. Role of oxytocin in activation of spontaneous electrical activity of uterine corpus and uterine tubes in non-pregnant rats. Russian Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2011, 47(3), p. 284-291.
10. Kazuhisa N., Inoue Y., Okabe K., Kawarabayashi T., Kitamura K. Oxytocin enhances action potentials in pregnant human myometrium – A study with microelectrodes. Am. J. Obstet Gynecol., 1997, 177(1), p. 222–228.
11. Kimura T., Takemura M., Nomura S., Nobunaga T., Kubota Y., Inoue T. Expression of oxytocin receptor in human pregnant myometrium. Endocrinology, 1996, 137, p.780-785.
12. Langendijk P., Soede N. M., Kemp B. Uterine activity, sperm transport, and the role of boar stimuli around insemination in sows. Theriogenology, 2005, 63(2), p. 500-513.
13. Marshall J. M. Regulation of activity in uterine smooth muscle. Physiol. Rev. Suppl., 1962, v. 5, p. 213-227.
14. Maul H., Maner W. L., Saade G. R., Garfield R. E. The physiology of uterine contractions. Clin. Perinatol., 2003, v. 30, p. 665-676.
15. Mancinelly R., Guariglia L., Racanicchi C., Bertuzzi A., Salineri S., Vitelli R. In vitro motility of non-pregnant rat uterine horns // Quart J. Exp. Physiology, 1988, v. 73, 4, p. 459-469.
16. Osa T, Taga F. Electrophysiological comparison of the action of oxytocin and carbachol on pregnant mouse myometrium. Jpn. J. Physiol., 1973, 23(1), p. 81-96.
17. Parkington H.C. Coleman H.A. Excitability in Uterine Smooth Muscle. Front Horm Res. Basel, Karger, 2001, 27, p. 179-200.

18. *Rabotti C., Mischi M., van Laar J., Oei G., Bergmens J.* Electrohysterography analysis of uterine contraction propagation with labor progression: a preliminary study. Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., 2007, p. 4135-4138.
19. *Shmygol A., Burdyga T., Duquette R., Mobasheri A., Vaillant C., Wray S.* Spontaneous electrical activity in subpopulation of freshly isolated rat uterine myometrial cells. University of Cambridge, J. Physiol., 2004, 167, 555.
20. *Shmygol A., Gullam J., Blanks A., Thornton S.* Multiple mechanisms involved in oxytocin-induced modulation of myometrial contractility. Acta Pharmacol. Sin., 2006, 27(7), p. 827-832.
21. *Yshikawa M., Fuchs A. R.* Electrical and mechanical activity of rat uterus in vivo during the estrous cycle // Am. J. Obstet. Gynecol., 1978, v. 132, 6, p. 611-619.