

УДК 612.73+612.468

ФИЗИОЛОГИЯ

К. В. Казарян, Т. А. Пилипосян, М. А. Даниелян, Н. Г. Унанян

Влияние окситоцина на электрическую активность средней зоны маточного рога крысы

(Представлено чл.-кор. НАН РА Л. Р. Манвеляном 6/VII 2020)

Ключевые слова: *маточная труба, овариальная зона, спонтанная активность, потенциал действия, средняя зона, параметры активности.*

Введение. Из всего разнообразия внутренних органов матки, основная роль которой заключается в контрактуре, реализующей все ее репродуктивные функции, занимает исключительное положение. Еще издавна установлено, что сократимость тесно сопряжена с электрической активностью [1, 2]. Спонтанный электрический автоматизм мышечного слоя органа (миометрия) представлен в виде всплеск спайкподобных потенциалов действия. Данные разряды активности возникают асинхронно и перемежаются спокойным уровнем мембранного потенциала [1, 3]. Каждая всплеска обеспечивает последующее возникновение контрактуры и определяет основные ее показатели: частоту, амплитуду, продолжительность [4].

Известно, что ритмоводители, или пейсмекеры, миометрия локализованы в овариальной и цервикальной областях маточных рогов и в самом теле матки. Распространение электрической волны возбуждения происходит однонаправленно и определяется расположением пейсмекерных зон. Овариальная область характеризуется более высокой пейсмекерной активностью по сравнению с цервикальной, что и определяет возникновение волны возбуждения из данной зоны миометрия и ее распространение в каудальном направлении до матки [5-7]. Вместе с тем такой процесс не наблюдается между гладкомышечными клетками среднего сегмента рога, что может свидетельствовать об отсутствии пейсмекерных клеток в данной зоне [2, 4]. На сегодняшний день вопрос остается противоречивым в отношении механизмов возникновения спонтанной активности среднего отдела рога. Следует также отметить, что окситоцин играет ключевую роль в процессе стимуляции сократительной активности миометрия и кро-

ме того способен вызывать как тонические, так и фазические сокращения [8-10].

Целью настоящей работы является изучение воздействия окситоцина на электрическую активность среднего сегмента рога.

Методы исследования. Работа выполнена в условиях *in situ* на самках крыс массой 200-250 г. Животные анестезировались 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 овариальной, средней 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 по 0.2-0.3 мл (в зависимости от веса животного) в концентрации 10^{-1} мкг/кг. В каждом эксперименте исследовалась одна концентрация.

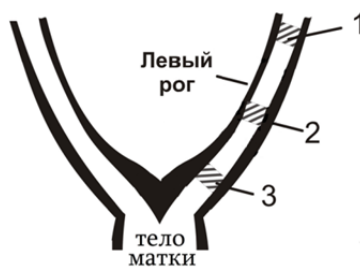


Рис. 1. Схематическое изображение маточной трубы крысы. 1-3 – соответственно области регистрации изовариальной, средней и цервикальной зон маточной трубы.

Анализ результатов проводился путем определения значений следующих параметров спонтанных потенциалов действия: амплитуда (A), средняя скорость нарастания пика (V), продолжительность нарастания пика (T) (продолжительность увеличения амплитуды потенциала действия до максимального значения), половина ширины (t) (продолжительность формирования вершины потенциала действия, соответствующей верхней половине его амплитуды), частота ритмогенеза потенциалов действия (F), продолжительность активного состояния (D). Все отмеченные показатели определялись путем их усреднения в пределах всех экспериментов данной серии. На рисунках представлены суперпозиции двух типичных форм усредненных потенциалов действия. Усреднение последних также проводилось в пределах всех экспериментов данной серии.

Спонтанная электрическая активность регистрировалась на 8-канальном приборе, разработанном в Институте физиологии им. Л. Орбели НАН

РА для оценки электрической активности гладкой мускулатуры [3]. В данных экспериментах проводилась одновременная регистрация с трех локусов исследуемой структуры. 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. В работе использовался также морфо-гистохимический метод на основе выявления активности как Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы [11], так и ортофосфатов [12].

Все работы с животными были проведены в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 2010/63/EU).

Результаты и их обсуждение. Овариальная, средняя и цервикальная зоны фаллопиевых труб схематически представлены на рис. 1. В соответствии с рис. 2 разряды вспышек всех трех областей маточного рога отличаются друг от друга характеристиками составляющих их потенциалов действия [1, 3, 13]. С целью рассмотрения представленного в работе не изученного вопроса относительно спонтанной активности средней зоны исходно нами был проведен сравнительный анализ характеристик данного автоматизма с таковыми приграничных с ней областей.

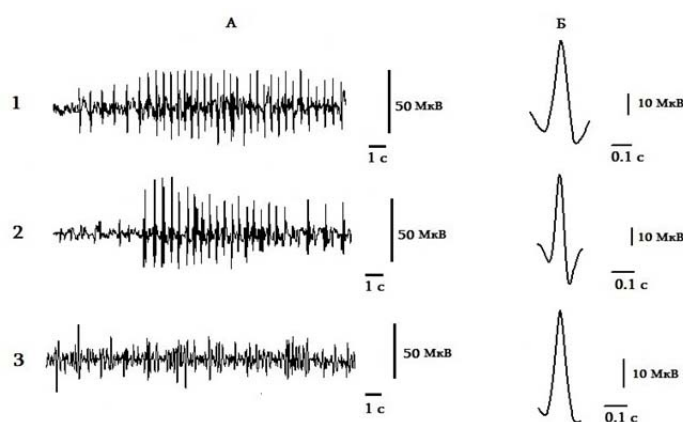


Рис. 2. Спонтанная электрическая активность областей 1-3 (рис. 1) миометрия в норме: А – типы вспышек активности соответствующих областей; Б – развернутые средние формы единичных потенциалов действия из соответствующих областей.

Исходя из ведущей роли овариальной зоны в процессе распространения волны возбуждения оценка показателей потенциалов действия средней и цервикальной областей миометрия для наглядности проводилась в процентном соотношении к показателям активности овариального отдела. Согласно приведенной на рис. 3 гистограмме величины таких параметров

потенциалов действия, как амплитуда и скорость нарастания его пика (показатели, характеризующие степень возбуждения миометрия) [14] средней зоны несколько превосходят (на 21%) таковые овариального отдела рога [15]. Вместе с тем по отношению к цервикальной зоне те же характеристики уже значительно выше – соответственно на 39 и 37% (рис. 3). Если такие показатели, как частота генеза потенциалов действия и половина ширины для всех трех зон, соответствуют друг другу, то наименьшая продолжительность активного состояния показана для среднего сегмента.

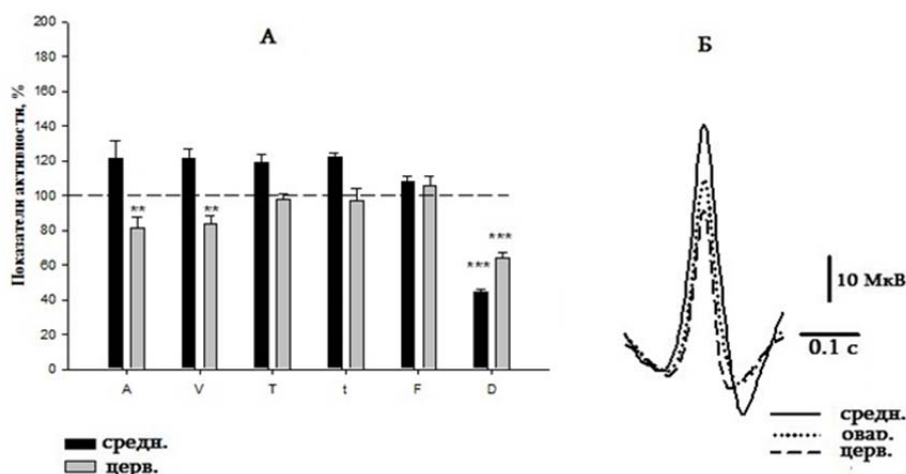


Рис. 3. Показатели потенциалов действия овариальной и цервикальной областей в норме: А – процентное соотношение показателей потенциалов действия средней и цервикальной областей по отношению к овариальной зоне. Штриховой линией показан контроль (овариальная зона), * $P < 0.1$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Б – наложение друг на друга усредненных форм потенциалов действия средней (сплошной контур), овариальной (точечный контур) и цервикальной (штриховой контур) областей. $n=19$.

В следующей серии экспериментов рассматривалось воздействие окситоцина на активность соответственно локальных областей миометрия маточных труб. Из всего разнообразия физиологически активных соединений именно данный гормон относится к числу основных регуляторов сократительной активности. Действительно, введение в вену животного оптимальной дозы окситоцина 10^{-1} мкг/кг через 8-10 мин приводит к реакции активности на данный нейропептид путем изменения характеристик ритмогенеза. Интересен тот факт, что в соответствии с приведенным рисунком (рис. 4) для крайних вышеуказанных областей рога отмечается подобный эффект влияния окситоцина: амплитуды потенциалов действия возрастают на одну и ту же величину (в пределах 45 %).

Если для овариальной и цервикальной областей в этих условиях помимо амплитуды синхронно возрастает также скорость нарастания пика, а также в пределах нормы сохраняются продолжительность нарастания пика

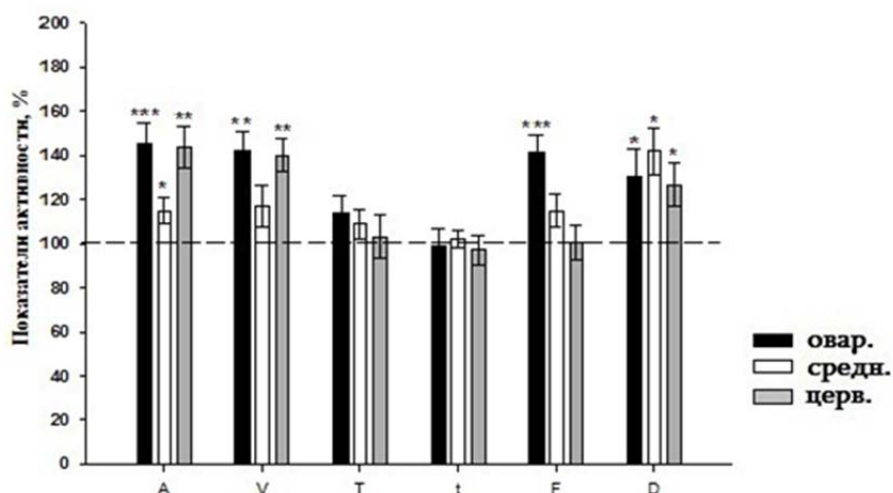


Рис. 4. Влияние окситоцина на спонтанную электрическую активность всех областей. Процентное соотношение показателей потенциалов действия после введения окситоцина по отношению к контролю (для каждой области соответственно норма). * $P < 0.1$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. $n = 19$.

и половина ширины, то в отношении среднего сегмента наблюдается иная картина. Таким образом, в отличие от овариальной и цервикальной областей для данной зоны показано небольшое возрастание значений таких показателей потенциала действия, как амплитуда, скорость нарастания пика, продолжительность нарастания пика и частота генеза, и в то же время наибольшее увеличение длительности всплеск среди трех зон миометрия выявлено именно в среднем локусе.

Согласно морфо-гистохимическим результатам выявлено наличие различных «физиологических» состояний в исследуемых зонах, подтверждающих вышеизложенные электрофизиологические данные. На срезах выявляются все три слоя маточной трубы, причем в слизистой и серозной оболочках особых различий в степени интенсивности окрашивания разных отделов не наблюдается (рис. 5, А-Е). Что же касается мышечной оболочки, то здесь наблюдаются значительные различия в метаболизме миогенных элементов. Наиболее интенсивно окрашиваются миогенные структуры вблизи яичников (овариальный отдел рога) как интактных крыс, так и под воздействием окситоцина (рис. 5, А, Г). Надо отметить, что под воздействием окситоцина (рис. 5, Г-Е) наблюдается повышение активности (усиление метаболизма) гладкомышечных клеток вдоль всего рога матки по сравнению с интактными животными (рис. 5, А-В). Наибольшая ферментативная активность как в норме, так и при воздействии окситоцина отмечается в овариальном отделе рога (рис. 5, Г), далее в несколько меньшей степени в цервикальном локусе (рис. 5, Е) и лишь затем в среднем сегменте маточной трубы (рис. 5, Д). Столь разительная

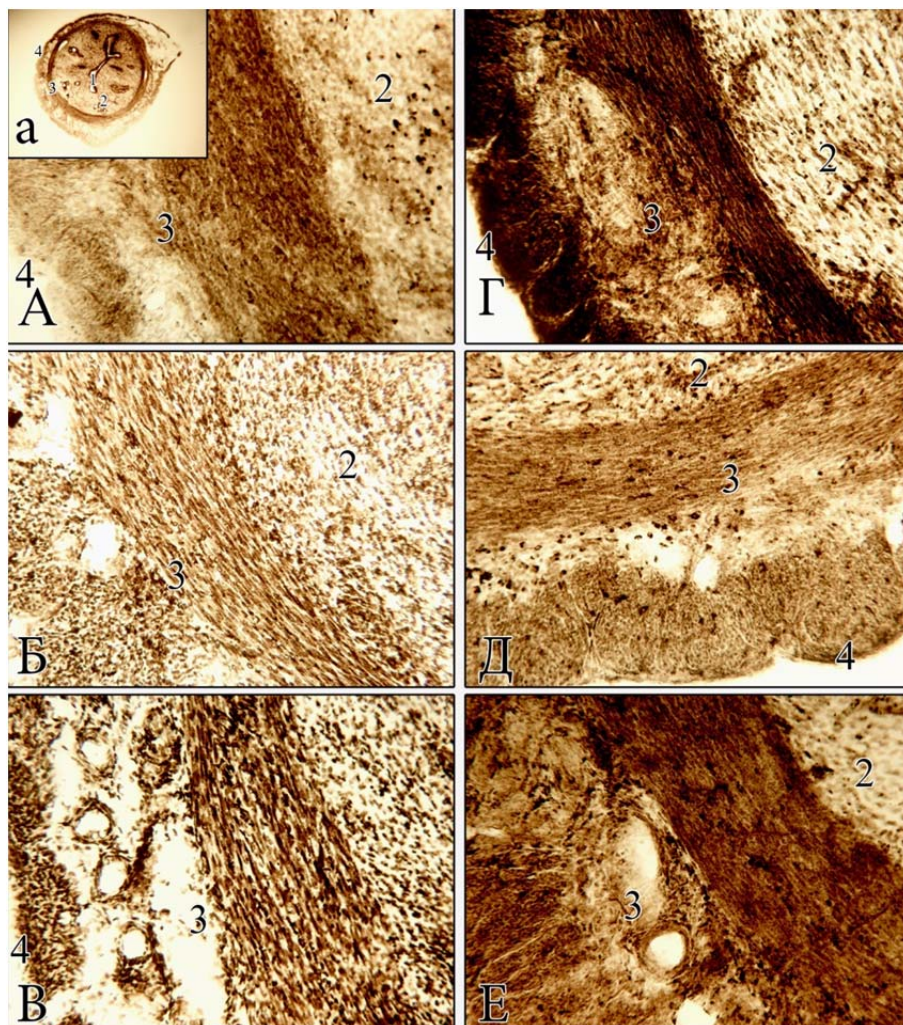


Рис. 5. Фронтальные срезы рога матки крысы в норме (А-В) и под воздействием окситоцина (Г-Е): (1 – просвет рога матки; 2 – слизистая оболочка; 3 – мышечная оболочка; 4 – серозная оболочка). А, Г – овариальный отдел; Б, Д – средний отдел; В, Е – цервикальный отдел рога матки. Метод выявления активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы. Увеличение: об. 25 (а); 160 (А – Е), цифровое ув. 8Мп.

разница в интенсивности окрашивания двух крайних зон рога по сравнению с средним отделом, возможно, связана с наличием функционально активных (пейсмекерных) образований, обеспечивающих ритмогенность этих областей [16, 17]. Таким образом, подтверждается наличие некоего собственного механизма, обеспечивающего возможность возникновения спонтанной электрической активности в центральном отделе рога.

Институт физиологии им. Л. Орбели НАН РА
e-mail: tatevikpiliposyan@gmail.com

К. В. Казарян, Т. А. Пилипосян, М. А. Даниелян, Н. Г. Унанян

**Влияние окситоцина на электрическую активность
средней зоны маточного рога крысы**

Выявлена значительная разница в величине спонтанной электрической активности трех областей (овариальной, средней, цервикальной) миометрия маточной трубы у крыс. Средний сегмент рога характеризуется наибольшими значениями таких параметров активности, как амплитуда и скорость ее нарастания, в то время как продолжительность активного состояния в нем наименьшая. Воздействие окситоцина способствовало увеличению исследуемого параметра активности во всех областях, при этом наибольшее повышение (до 42%) наблюдается в овариальной зоне, что свидетельствует о наличии определенного механизма, способствующего возникновению спонтанной электрической активности в среднем сегменте миометрия в отличие от овариальной и цервикальной областей.

Ք. Վ. Ղազարյան, Տ. Ա. Փիլիպոսյան, Մ. Ա. Դանիելյան, Ն. Գ. Հունանյան

**Օքսիտոցինի ազդեցությունը առնետի արգանդի փողի միջին
շրջանի էլեկտրական ակտիվության վրա**

Հայտնաբերվել են նշանակալի տարբերություններ առնետի արգանդի փողի արգանդամկանի երեք շրջանների (օվարիան, միջին, ցերվիկալ) ինքնաբերական էլեկտրական ակտիվության բնութագրիչների մեծություններում: Արգանդի փողի միջին շրջանը բնորոշվում է այնպիսի պարամետրերի առավել մեծությամբ, ինչպիսիք են ամպլիտուդան, պիկի աճման արագությունը և ակտիվ վիճակի տևողությունը: Օքսիտոցինը նպաստում է միջին շրջանում վերջինիս մեծացմանը (մինչև 42%): Օքսիտոցինի ազդեցության տակ մորֆոհիստոքիմիական արդյունքները ցույց տվեցին առավել բարձր ակտիվություն օվարիան շրջանում: Կարելի է եզրակացնել, որ փողի արգանդամկանի միջին շրջանում առկա է որոշակի մեխանիզմ, որը նպաստում է ինքնաբերական էլեկտրական ակտիվության առաջացմանը, ի տարբերություն օվարիան և ցերվիկալ շրջանների մեխանիզմների:

K. V. Kazaryan, T. A. Piliposyan, M. A. Danielyan, N. G. Hunanyan

**The Effect of Oxytocin on Electrical Activity of the Uterine
Horn Mid Region in Rats**

Comparative analysis revealed a significant difference in the characteristics of spontaneous electrical activity of three myometrial regions (ovarian, mid, cervical) in the rat uterine horn. The midregion of the horn is characterized by the highest values of such activity parameters as the amplitude and rise-rate of peaks, the lowest value is shown for the duration of the active state. Oxytocin promoted the greatest increase (up to 42%) in this activity parameter for the mid region compared to the other uterine horn areas. Morphohistochemical results revealed the greatest increase in activity for the

ovarian horn area after the injection of oxytocin. It can be concluded that there is a certain mechanism contributing to the genesis of spontaneous electrical activity in the mid region of the myometrium, in contrast to those in the ovarian and cervical regions.

Литература

1. *Garfield R. E., Maner W. L.* – Semin Cell Dev Biol. 2007. V. 18(3). P. 289-295.
2. *Marshall J. M.* – Physiol. Rev. Suppl. 1962. V. 5. P. 213-227.
3. *Garfield R. E., Daniel E. E., Dukes M. et al.* – Can. J. Physiol. Pharmacol. 1982. V. 60(3). P. 335-341.
4. *Maul H., Maner W. L., Saade G.R. et al.* – Clin. Perinatol. 2003. V.30. P. 665-676.
5. *Kao C. Y.* – Am. J. Physiol. 1959. V. 196 (2). P. 343–350.
6. *Lammers W. J. E. P.* – 2012. V. 20 (2). P. 182-189.
7. *Domino M., Pawlinski B., Gajewska M. et al.* – BMC Vet Res. 2018. V. 14. P. 176.
8. *Buhimschi C. S., Saade G. R., Buhimschi I. A. et al.* – Am. J. Obstet. Gynecol. 2000. V. 183(1). P. 68-75.
9. *Kawamata M., Tonomura Y., Kimura T. et al.* – Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2007. V. 292(4). E992-9.
10. *Vrachnis N., Malamas F. M., Sifakis S. et al.* In: From preconception to postpartum. Ed. by Dr. Stavros Sifakis. 2012. In Tech.
11. *Меликсетян И. Б.* – Морфология. СПб. 2007. Т. 131(2). С. 77-80.
12. *Меликсетян И. Б., Мартиросян Дж. А.* – Биол. журн. Армении. 1990. Т. 43(10-11). С. 883-889.
13. *Казарян К. В., Унанян Н. Г., Саваян А. А.* – Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2015. Т. 51(5). С. 340-346.
14. *Rabotti C., Mischì M.* – Acta Physiol (Oxf). 2015. V. 213(2). P. 406-416.
15. *Казарян К. В., Пилипосян Т. А., Унанян Н. Г.* – East European Science Journal. 2019. V. 2. 11(51). P. 13-21.
16. *Казарян К. В., Унанян Н. Г., Пилипосян Т. А. и др.* – Журн. эволюционной биохимии и физиологии. 2017. Т. 53(5). С. 368-375.
17. *Казарян К. В., Унанян Н. Г., Акопян Р. Р.* – Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2010. Т. 96(10). С. 981-987.