

УДК 612.73+612.468

Овариальная область миометрия и ее роль в регуляции спонтанной электрической активности

К.В. Казарян, Т.А. Пилипосян

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

Ключевые слова: миометрий, спонтанная активность, овариальная область, окситоцин, ритмогенез, возбудимость

Гладкомышечная ткань миометрия характеризуется способностью к генерации спонтанной электрической активности, обеспечивающей сократительную деятельность [7]. Электрическая активность может регистрироваться как у беременной, так и небеременной матки, у которой продолжительность активного состояния заметно меньше [4,7]. Подобный автоматизм, миогенный по своей природе, может регистрироваться как в теле самой матки, так и в крайних отделах маточных труб [1,5].

Показано, что электрическая активность миометрия имеет комплексную природу и представляет собой ритмичные медленные колебания мембранного потенциала, на вершинах которых накладываются всплески разрядов потенциалов действия [3,4,7]. Описанную активность можно регистрировать в условиях как *in vitro*, так и *in situ*. Вместе с тем известно, что основное функциональное значение данного репродуктивного органа заключается в обеспечении однополярно направленной контрактурной деятельности. В таком случае необходимо наличие в миометрии определенной активной зоны, выполняющей роль водителя ритма в этом процессе.

Известно, что экзогенный окситоцин относится к числу основных стимуляторов маточных сокращений [8,11]. Воздействие окситоцина сопровождается деполяризацией мембраны, приводящей к резкому учащению разрядов спайковой активности и, соответственно, к контрактуре миометрия [4]. Подобные свойства окситоцина способствуют координации всех ритмогенных зон миометрия. Исходя из этого, целью настоящей работы явилось изучение роли овариального отдела маточного рога в процессе синхронизации миометрия как в норме, так и при воздействии окситоцина.

Материал и методы

Работа выполнена в условиях *in situ* на самках крыс, взятых на 10-й день после родов, массой 200-250г. Животные анестезировались нембуталом (40-45 мг/кг) внутривенно. 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, цервикальной областей левого рога и тела матки (рис. 1). Спонтанная электрическая активность из описанных отделов органа отводилась биполярными электродами (межэлектродное расстояние соответствовало 2 мм). Исключение взаимосвязи между ритмогенными областями осуществлялось путем отсечения правого рога, а также перерезки левого маточного рога в соответствующей области (рис. 1). Окситоцин (5МЕ Гедеон Рихтер) вводился внутривенно 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 (A), средняя скорость нарастания пика (V), продолжительность нарастания пика (T/2) (продолжительность увеличения амплитуды потенциала действия до максимального значения), половина ширины (t) (продолжительность формирования вершины потенциала действия, соответствующей верхней половине его амплитуды), продолжительность активного состояния (суммированные длительности всплеск 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 типичные формы 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 3 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 19 животных.

Все эксперименты были проведены в соответствии с правилами Ереванского 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

Одновременная запись электрической активности правого и левого рогов позволила зарегистрировать электрические всплески в обеих маточных трубах, лишь с несколько отличающимися друг от друга характеристиками. Все три ритмогенные зоны миометрия (овариальная, цервикальная, тело матки) в этих условиях находятся в некоторой степени под влиянием активности противоположного рога [6]. При этом, исходя из расположения пейсмекерной области тела матки, нельзя исключить воздействия отмеченной активности на данный локус.

Проведение сравнительного анализа параметров потенциалов действия исследуемого левого рога в норме по сравнению с таковыми после отсечения правой маточной трубы (рис. 1, I) выявило небольшие изменения в их величинах (сравнение проводится по отношению к контролю, соответствующему условиям до перерезки правого рога). Как видно из табл. 1, параметры активности овариальной области фактически остаются без изменений, и лишь наблюдаются небольшие изменения в значимостях показателей ритмогенной области тела матки.

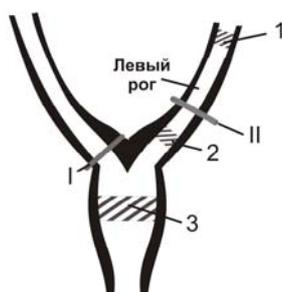


Рис. 1. Схематическое изображение тела матки и маточных труб крысы. 1,2,3 – соответственно области регистрации активности из овариального, цервикального отделов левой маточной трубы и тела матки; пересекающие рог отрезки I и II – области перерезок

Таблица 1

Изменения показателей спонтанной активности различных отделов миометрия крысы при перерезке правого рога, %

Области регистрации и количество экспериментов, n	Амплитуда потенциалов действия	Средняя скорость нарастания пика	Продолжительность нарастания пика	Половина ширины	Продолжительность активного состояния										
Овариальная область (1), n =19	98,86±1,17	101,85±1,47	96,88±3,13	87,50±7,22	98,75±2,17										
Цервикальная область (2), n =19	95,41±6,47	95,00±6,41	103,84±4,45	97,50±2,50	93,38±5,30										
Тело матки (3), n =19	90,93±5,10	96,57±8,96	93,14±4,30	96,67±3,33	90,21±4,10										
Достоверность различия	P=0,368 1-2	P=0,219 1-3	P=0,635 2-3	P=0,109 1-2	P=0,622 1-2	P=0,943 1-2	P=0,329 1-2	P=0,556 1-2	P=0,134 1-2	P=0,524 1-2	P=0,143 1-2	P=0,943 1-2	P=0,335 1-2	P=0,251 1-2	P=0,112 1-2

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)

В последующих сериях экспериментов нами проводилась одновременная регистрация активности из трех ритмогенных зон миометрия левого маточного рога, представленных на рис. 1. Исследование электрической активности как овариальной зоны миометрия, так и нижерасположенных цервикального его локуса и тела матки позволило выявить определенные изменения в показателях не только потенциалов действия, но и вспышек их разрядов (рис. 2А, кривые 1,2,3). Вспышки активности каждой из отмеченных областей возникали на фоне относительно нестабильного уровня мембранного потенциала. Приведенные на рис. 2Б типичные контуры потенциалов действия из трех ритмогенных зон миометрия свидетельствуют об определенных изменениях их параметров в зависимости от зоны регистрации.

Изучение влияния овариальной зоны рога на автономные пейсмерные активности более дистально, последовательно расположенных цервикальную область миометрия и тело матки, нами проводилось при пересечении левой маточной трубы в средней ее части (рис. 1, II). По-

сколько подобное травмирование оказывает некоторое влияние на спонтанную активность ритмогенных зон, то необходим определенный промежуток времени для стабилизации автоматизма. Последующая одновременная регистрация активности из овариальной и комплексно связанных друг с другом цервикальной и маточной локусов миометрия проводилась через 15 мин.

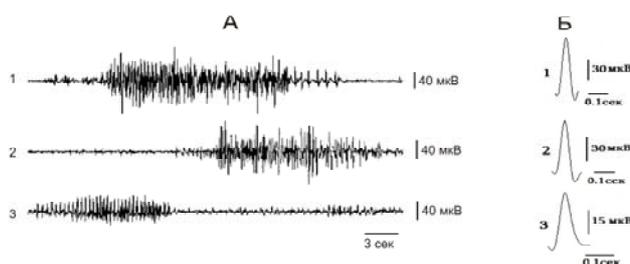


Рис. 2. Спонтанная электрическая активность областей 1,2,3 (рис. 1) миометрия в норме. А–вспышки электрической активности из разных областей миометрия; Б–единичные усредненные формы потенциалов действия из соответствующих областей

Таблица 2

Изменения показателей спонтанной активности различных отделов миометрия крысы при перерезке овариальной области левого рога, %

Области регистрации и количество экспериментов, n	Амплитуда потенциалов действия	Средняя скорость нарастания пика	Продолжительность нарастания пика	Половина ширины	Продолжительность активного состояния
Овариальная область (1), n = 19	74,96±6,43	80,42±4,17	102,14±6,35	103,33±8,58	88,72±5,81
Цервикальная область (2), n = 19	79,98±3,51	81,39±6,71	99,14±5,75	103,57±3,57	86,77±6,71
Тело матки (3), n = 19	99,79±5,53	97,94±6,09	100,63±4,27	106,66±4,54	95,45±7,50
Достоверность различия	P=0,792 1-2 (1-3)* (2-3)*	P=0,905 1-2 P=0,10 1-3 P=0,101 2-3	P=0,737 1-2 P=0,943 1-3 P=0,955 2-3	P=0,876 1-2 P=0,943 1-3 P=0,779 2-3	P=0,843 1-2 P=0,504 1-3 P=0,422 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

Анализ изменений исследуемых в работе параметров потенциалов действия в этих условиях для наглядности проводился в процентном соотношении к норме, подобно приведенным выше данным в табл. 1. Показано уменьшение (табл. 2) в основном значений амплитуды и средней скорости нарастания для овариальной и цервикальной зон миометрия (соответственно – овариальная область до $74,96 \pm 6,43\%$, $P \leq 0,05$; $80,42 \pm 4,2\%$, $P \leq 0,05$, цервикальная область до $79,98 \pm 3,5\%$, $P \leq 0,05$; $81,38 \pm 6,7\%$, $P \leq 0,05$). Параметры же автоматизма зоны тела матки в отличие от вышерасположенных областей, возможно, по причине ее расположения несколько дальше от области, травмируемой перерезкой рога, оставались неизменными в этих условиях и варьировали в пределах нормы.

Воздействие окситоцина (10^{-1} мкг/кг) на все три ритмогенные зоны миометрия исследовалось как при нормальных условиях, так и при изоляции овариальной зоны рога. В том и другом случаях имели место различные изменения таких параметров потенциалов действия, как амплитуда, средняя скорость нарастания пика и продолжительность активного состояния. Так, если при нормальных условиях вышеотмеченные параметры возрастали почти на аналогичную величину, то при изоляции овариального локуса от нижерасположенных зон миометрия увеличение значимостей этих же параметров имело место лишь для овариального отдела рога (рис. 3). Причем величины изменений несколько уступают таковым

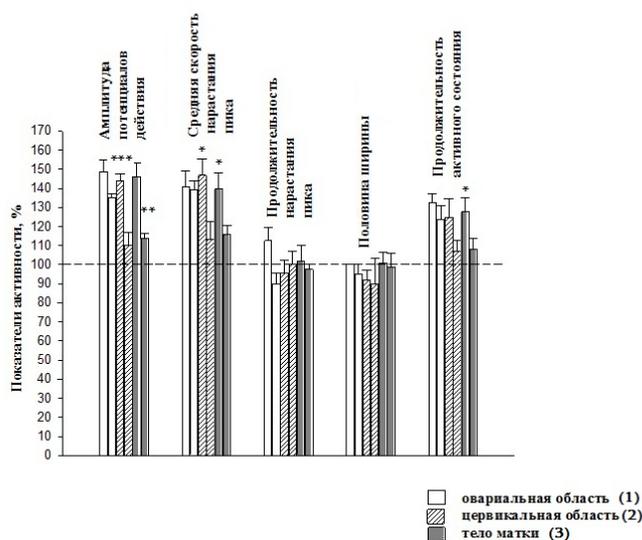


Рис. 3. Процентное соотношение показателей электрической активности областей 1,2,3 (рис. 1) по отношению к норме после введения окситоцина. Штриховой линией показана норма; * $P < 0,1$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$. Для каждого первого столбика соответствующей области норма относится к условию до перерезки II. Для каждого второго столбика области норма соответствует условию после перерезки II

для нетронутых тканей. Для цервикальной же области и тела матки вышеописанные параметры изменяются незначительно и варьируют в пределах нормы (амплитуда и скорость нарастания пика потенциалов действия: для цервикальной зоны – до $110,35 \pm 6,6\%$; $113,50 \pm 9,3\%$, $P \leq 0,05$, для тела матки – до $113,87 \pm 2,5\%$, $P \leq 0,05$; $116,07 \pm 4,4\%$, $P \leq 0,01$, продолжительность активного состояния: для цервикальной зоны – до $106,80 \pm 6,02\%$, для тела матки – до $107,83\% \pm 6,11\%$). Изменения величин продолжительности нарастания пика и половины ширины варьируют в пределах нормы.

Еще в ранних исследованиях было показано [6,9], что в миометрии маточной трубы электрическая активность может возникать как в овариальном, так и в цервикальном концах рога. При этом, каудально распространяющиеся электрические импульсы возникают в основном в овариальной зоне рога [10]. Таким образом, полученные в работе результаты, а также вышеизложенные литературные данные позволяют полагать об участии овариального локуса в процессе координации нерегулярных разрозненных единичных контрактур для обеспечения направленной перистальтики всего миометрия [7,11]. Более того, согласно проведенному в работе сравнительному анализу полученных данных, воздействие окситоцина на нетронутую ткань способствует значительному увеличению возбудимости не только для овариальной зоны, но и цервикального локуса и тела матки. При перерезке же маточного рога подобная картина отсутствует у нижерасположенных активных зон.

Таким образом, окситоцин способствует реализации ведущей роли овариального локуса в процессе координации всех ритмогенных зон миометрия.

Поступила 18.03.16

Արգանդամկանի օվարիան շրջանի դերը ինքնաբուխ էլեկտրական ակտիվության կարգավորման գործում

Ք. Վ. Ղազարյան, Տ. Ա. Փիլիպոսյան

Հետազոտվել է արգանդամկանի օվարիան շրջանի դերը մյուս բոլոր ռիթմածին շրջանների ակտիվության կարգավորման գործընթացում՝ ոչ հղի առնետների մոտ: Օբսիտոցինի ազդեցությունը, որը առավել արտահայտիչ է դարձնում օվարիան շրջանի այդ առանձնահատկությունը, հետազոտվել է ինչպես ինտակտ հյուսվածքում, այնպես էլ օվարիան շրջանի մեկուսացման պայմաններում ստորև գտնվող հատվածներից՝ ցերվիկալ շրջանից և արգանդից: Նորմայում օբսիտոցինի ներերակային ներարկումը 10^{-1} մկգ/կգ կոնցենտրացիայով խթանում է բոլոր ռիթմածին շրջաններում գործողության պոտենցիալների ամպլիտուդայի և պիկի աճման միջին արագության զգալի աճին: Չախի փողի

օվարիան շրջանի մեկուսացման պայմաններում օքսիտոցինի ազդեցությունը բերում է արգանդամկանի ցուցանիշների աճին միայն վերը նշված շրջանում:

Եզրակցություն է արվում օվարիան շրջանի կոորդինացիոն դերի մասին՝ արգանդամկանի բոլոր ռիթմաձին շրջանների ակտիվությունների կարգավորման գործում:

Ovarian horn area in myometrium and its role in the regulation of non-pregnant rats spontaneous electrical activity

K.V.Ghazaryan, T.A.Piliposyan

The role of ovarian horn area in coordination of spontaneous activities of myometrial rhythmogenic areas was studied in non-pregnant rats. The effect of oxytocin was also investigated both in norm and after transection of the uterine horns in their middle parts that leads to the isolation of ovarian loci from distally localized uterine active areas. In norm, intravenous administration of oxytocin in 10mcg/kg concentration promotes a significant increase in the peak amplitude and rise rate in all three rhythmogenic areas. After transection of the left tube ovarian area, oxytocin administration promotes an increase in all three parameters of activity only in the ovarian horn area. According to the obtained results it can be assumed that ovarian locus participates in coordination of activities of the myometrial rhythmogenic areas, and oxytocin acts as a factor promoting its occurrence.

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, т.96, 10, с. 981-987.
2. *Казарян К.В., Унанян Н.Г.* Взаимосвязь электрических активностей разных областей миометрия у крыс. Russian Journal of Physiology, 2013, V.99. 10, p.1191-1199.
3. *Blackburn S. T.* Maternal, fetal, & neonatal physiology: a clinical perspective (3rd edit.). Ch. 4, Saunders Elsevier, St Louis, 2007.
4. *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, v.183, 1, p.68-75.
5. *Buhimschi C., Garfield R.E.* Uterine contractility as assessed by abdominal surface recording of electromyographic activity in rats during pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., 1996, v.174, 2, p. 744-753.
6. *Crane L. H., Martin L.* In vivo myometrial activity in the rat during the oestrous cycle: studies with the novel technique of video laparoscopy. Reprod. Fertil. Dev., 1991b, v.3, p.185-199.

7. *Garfield R.E., Maner W.L.* Physiology and electrical activity of uterine contractions. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 2007, v.18, 3, p.289-295.
8. *Marshall J.M.* Regulation of activity in uterine smooth muscle. *Physiol. Rev. Suppl.*, 1962, v. 5, p.213-227.
9. *Mancinelli R., Guariglia L., Racanicchi C., Bertuzzi A., Salinari S., Vitelli R.* In vitro motility of non-pregnant rat uterine horns. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1988, v.73, 4, p.459-469.
10. *Parkington H.C., Coleman H.A.* Ionic mechanisms underlying action potentials in myometrium. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 1988, v.15, 9, p.657-665.
11. *Shmygol A., Gullam J., Blanks A., Thornton S.* Multiple mechanisms involved in oxytocin-induced modulation of myometrial contractility. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2006, v.27, 7, p.827-832.
12. *Wray S., Duggins K., Iles R., Nyman L., Osman V.* The effects of metabolic inhibition and acidification on force production in the rat uterus. *Exp. Physiol.*, 1992, v.77, 2, p.307-319.