

СКОРОТЛИВІСТЬ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ МІОМЕТРІЮ У МИШЕЙ

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України (м. Київ)

Дослідження проводили в рамках планової теми відділу імунофізіології «Дослідження молекулярно-генетичних та імунопатологічних механізмів функціональних порушень жіночої репродуктивної системи та можливості їх корекції», № держ. реєстрації 0112U008233.

Вступ. Метод перфузії органу є одним із найбільш поширених для дослідження скоротливості міометрію матки *in vitro*. Аналіз параметрів скорочення, отриманих в експериментах з використанням даного методу, забезпечує розшифровку механізмів токолітичних чи утеротонічних ефектів. Представлені в літературі параметри скоротливої активності різних відділів міометрію матки значно різняться за величинами [7], що пов'язане як з різноманітністю використовуваних методик, так і умов проведення дослідів. Проблема уніфікації отриманих даних в дослідженнях з використанням міометрію залишається не вирішеною.

Клітини міометрію володіють автоматичною скоротливою активністю яка представлена в шийці та в різних відділах рогів матки. Доведено, що пейсмерні центри розташовані в цервікальному (ЦВ) і оваріальному (ОВ) відділах міометрію. Саме координація центрів автоматизму забезпечує напрямок скоротливої хвилі до шийки матки для реалізації просування плоду при пологах [6]. Проте скоротлива активність ЦВ і ОВ є мало дослідженою.

Метою роботи було дослідити за допомогою фазно-графічного аналізу скоротливість ЦВ і ОВ міометрію у мишей.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проводили на невагітних самках мишей лінії СВА масою 18-22 г з дотриманням усіх вимог щодо роботи з лабораторними тваринами (Міжнародна конвенція, Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Експериментальне системне імунокомплексне ушкодження (ЕСІУ) здійснювали за допомогою імунізації мишей бичачим сироватковим альбуміном (БСА, Sigma, USA) протягом 6 тижнів (табл.). Тваринам контрольних груп вводили фізіологічний розчин за аналогічною схемою експерименту.

Через 7 діб після останнього введення БСА тварин умертвляли під ефірним наркозом, вилучали ЦВ

Таблиця

Схема проведення імунізації мишей БСА

Імунізація (№ п/п) 1 раз/ тиждень	1	2	3, 4	5	6
Введена доза (мг/кг)	150	175	200	250	300

та ОВ матки. Далі ізольовані смужки міометрію переносили до експериментальної камери, фіксували і перфузували при температурі 37°C сольовим розчином Кребса (ммоль/л): NaCl – 120; KCl – 5,9; NaHCO₃ – 15,5; NaH₂PO₄ – 1,2; MgCl₂ – 1,2; CaCl₂ – 2,5; глюкоза – 11,5. Силу ізометричних скорочень вимірювали (після їх стабілізації протягом 30 хв.) механо-електричним перетворювачем сили (FT106).

Дослідження фазних скорочень міометрію здійснювалося за такими параметрами: амплітуда скорочення (Fmax, мН), частота скорочення (кількість за секунду), швидкість скорочення (CVmax) і розслаблення (RVmax) (мН/с), час між максимальною активацією (CVmax) і дезактивацією (RVmax) скорочення (T, с), тривалість скорочення при 50%-вій амплітуді (W50, с), індекс скоротливості («IC» індекс скоротливості, як добуток Fmax на CVmax/RVmax, мН) [7].

Результати експериментів статистично оброблялись програмою GraphPad Prism 5. 0 (GraphPad Software, San Diego, USA). Перевірку даних на нормальність розподілу проводили за тестом Колмогорова-Смирнова та порівнювали середні за t критерієм Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення.

Встановлено різний характер скорочень досліджуваних відділів матки у інтактних мишей. У ЦВ скоротлива активність має вигляд одиноких фазних скорочень, а в ОВ вони є більш регулярними і рівномірними як за частотою, так і за амплітудою. Нами вперше показано, що IC у ЦВ вищий, ніж в ОВ на 40% (p<0,05), швидкість розслаблення на 33% (p<0,05) (рис.). За аналогічних умов частота скорочень у ОВ матки на 41% більша, ніж в ЦВ (p<0,05), що свідчить про виражену ритмогенність ОВ. При аналізі параметрів амплітуди, часу між максимальною активацією і дезактивацією скорочень та швидкості скорочень вірогідних відмінностей не було виявлено (рис.). Наявність особливостей скоротливої

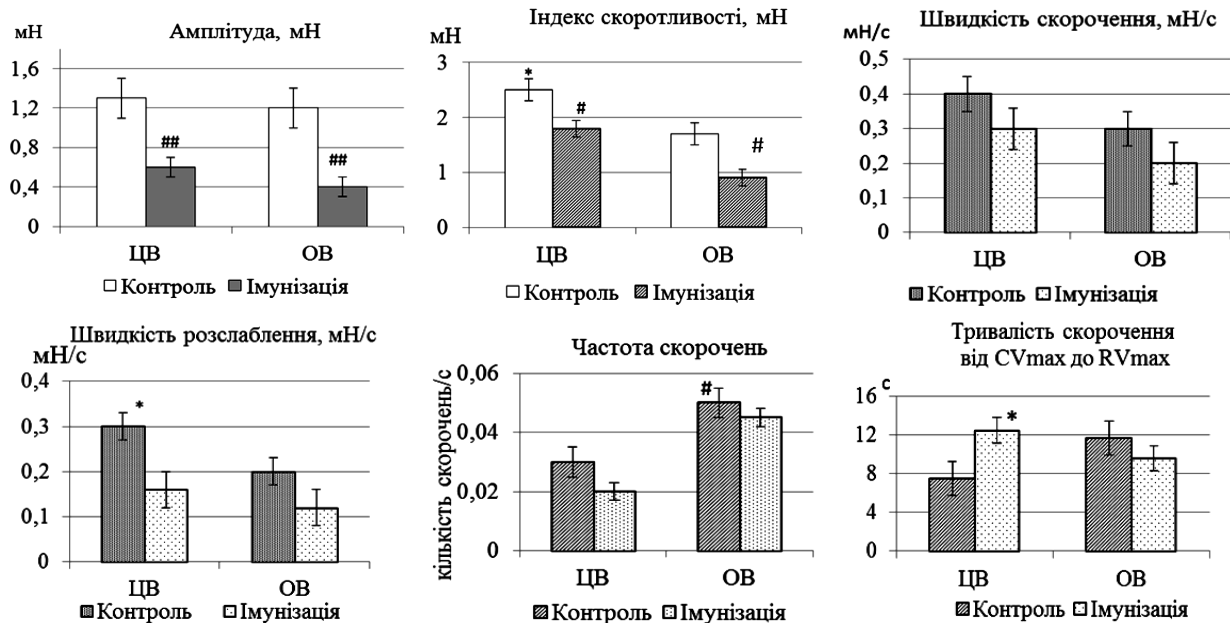


Рис. Параметри скоротливості цервікального і оваріального відділів міометрію у мишей.

Примітка: * – $p \leq 0,05$ – вірогідність відмінностей величин між ЦВ і ОВ у контрольних тварин; # – $p \leq 0,05$ – вірогідність відмінностей величин ЦВ і ОВ у контрольних та імунованих тварин; ## – $p \leq 0,01$ – вірогідність відмінностей величин ЦВ і ОВ у контрольних та імунованих тварин.

активності даних відділів може свідчити про їх функціональну спеціалізацію у здійсненні репродуктивної функції, а саме у забезпеченні транспортування яйцеклітини та сперматозоїдів, імплантації, виношуванні та пологах [5].

Імунізація БСА викликала пригнічення скоротливості ЦВ і ОВ міометрію порівняно з контролем. Показники амплітуди та ІС імунованих тварин мали такі зміни: у ЦВ амплітуда і ІС зменшувались на 64 і 30 % відповідно в порівнянні з контролем, у ОВ амплітуда зменшувалась на 70 %, а ІС – на 47 %. У ЦВ зріс показник Т на 35 %, в ОВ статистично вірогідних відмінностей не було виявлено. Зміни частоти скорочень, швидкості скорочення і розслаблення за умов імунізації в ЦВ і ОВ не були статистично значущі.

Отримані результати свідчать про різну скоротливу активність ЦВ і ОВ за фізіологічних умов та зміну їх скоротливості при імунозапальних процесах. Казарян та спів. відмічають, що найбільшого пригнічення за умов ішемії зазнають параметри оваріальної зони рогів матки [2]. У проведених нами експериментах при імунокомплексній пригніченні скоротливості ОВ теж було більш вираженим, ніж у ЦВ. Це можна пояснити впливом ІК (імунні комплекси) [1, 3], які є сильними індукторами синтезу цитокінів (ФНП α , ІЛ-2, що зменшують скоротливу

активність міометрію [8]) та викликають судинні ушкодження [3,4]. Встановлено, що контрактурна активність міометрію залежить від його васкуляризації, яка є більш вираженою в ОВ. Це веде за собою зміни характеру скоротливої активності матки та порушення ритмогенезу в цервікальній, а особливо в оваріальній ділянці, оскільки за окремими даними саме ОВ має найбільш виражену пейсмеркерну активність і сприяє кординації всіх ритмогенних ділянок органа до самої шийки матки [2].

Висновок. Скоротливість ЦВ і ОВ має такі особливості: у ЦВ величини ІС та швидкості розслаблення вищі, відповідно, на 40 і 33 %, в порівнянні з такими в ОВ, у ОВ величина ЧС на 41 % більша, ніж в ЦВ. За умов ЕСІУ: у ЦВ величини амплітуди і ІС у порівнянні з величинами у контролі, зменшувались на 64 % і 30 %, відповідно, а величина Т збільшувалась на 35 %, у ОВ величини амплітуди зменшувались на 70 %, а ІС – на 47 %.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження скоротливості різних відділів матки можуть виявити особливості реакції їх гладеньких м'язів на гормональні та терапевтичні впливи, що необхідно враховувати під час пологів та при лікуванні розладів репродуктивної функції.

Література

- Беседін О. В. Удосконалення методів лікування хворих на генітальний ендометріоз шляхом корекції нейтрофіло-залежних механізмів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.01 «Акушерство та гінекологія» / О. В. Беседін – К., 2000. – 19 с.
- Казарян К. В. Влияние кровоснабжения на характеристики пейсмеркерной активности матки крысы / К. В. Казарян, Н. Г. Унанян, Н. Н. Мелконян // НАНА Физиология. – 2012. – Т. 112, №3. – С. 312-319.

3. Чоп'як В. В. Системні васкуліти: імунозалежні механізми розвитку та принципи імунотерапії: дис. . . . доктора мед. наук: спец. 14. 01. 29 / Чоп'як Валентина Володимирівна. – Львів, 1998. – 369 с.
4. Шелигін О. С. Патогенетичне обґрунтування інтерферонкоригуючої терапії в комплексному лікуванні хронічних запальних захворювань придатків матки: автореф. дис. на здобуття наук ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.01 «Акушерство та гінекологія» / О. С. Шелигін. – К., 2003. – 20 с.
5. Aguilar H. N. Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility / H. N. Aguilar, B. F. Mitchell // Human Reproduction Update. – 2010. – Vol. 16, № 6. – P. 725–744.
6. Garfield R. E. Physiology and electrical activity of uterine contractions / R. E. Garfield, W. L. Maner // Seminars in Cell & Developmental Biology. – 2007. – № 18. – P. 289–295.
7. Gullam J. E. Phase-plot analysis of the oxytocin effect on human myometrial contractility / J. E. Gullam., A. M. Blanks, S. Thornton, A. Shmygol // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2009. – Vol. 144, Suppl. 1. – P. 20–24.
8. Larrubia J. R. Cytokines – their pathogenic and therapeutic role in chronic viral hepatitis / J. R. Larrubia, S. Benito-Martinez, J. Miquel-Plaza // Rev. Esp. Enferm. Dig. – 2009. – Vol. 101, № 5. – P. 343–351.

УДК 612. 73: 611. 664

СКОРОТЛИВІСТЬ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ МІОМЕТРІУ У МИШЕЙ

Литвиненко А. П., Макогон Н. В., Янчій Р. І.

Резюме. З використанням фазно-графічного методу досліджено скоротливість цервікального (ЦВ) і оваріального (ОВ) відділів міометрію у мишей. Встановлено, що індекс скоротливості (ІС) у ЦВ вищий, ніж в ОВ на 40 %, швидкість розслаблення на 33 %, проте частота скорочень вища в ОВ на 41 %. За умов експериментального системного імунокомплексного ушкодження у ЦВ амплітуда та ІС зменшувались на 64 і 30 %, відповідно, в порівнянні з величинами в контролі, амплітуда у ОВ зменшувалась на 70 %, тоді як ІС – на 47 %.

Ключові слова: оваріальний відділ, цервікальний відділ, експериментальне системне імунокомплексне ушкодження.

УДК 612. 73: 611. 664

СОКРАТИТЕЛЬНОСТЬ РАЗНЫХ ОТДЕЛОВ МИОМЕТРИЯ У МЫШЕЙ

Литвиненко А. П., Макогон Н. В., Янчий Р. И.

Резюме. С использованием фазно-графического метода исследовано сократительность цервикального (ЦВ) и овариального (ОВ) отделов миометрия у мышей. Установлено, что индекс сократимости (ИС) в ЦВ выше, чем в ОВ на 40 %, скорость расслабления на 33 %, тогда как частота сокращений выше на 41 % в ОВ ($p < 0,05$). В условиях экспериментального системного иммунокомплексного повреждения амплитуда и ИС в ЦВ уменьшались на 64 и 30 %, соответственно, в сравнении с величинами в контроле, амплитуда в ОВ уменьшалась на 70 %, тогда как ИС – на 47 %.

Ключевые слова: овариальный отдел, цервикальный отдел, экспериментальное системное иммунокомплексное повреждение.

UDC 612. 73: 611. 664

Contractility of Myometrium Various Parts in Mice

Lytvynenko A. P., Makogon N. V., Yanchiy R. I.

Abstract. Traditional organ bath is one of the most popular methods to evaluate the effects of tocolytics and uterotonic agents of myometrial contractility *in vitro*. Careful analysis of contraction parameters obtained in the organ bath experiments can provide valuable insight into mechanisms underlying the observed tocolytic or uterotonic effects. Phase-plot analyse by using parameter the contractility index (CI) should facilitate the comparison of contractile properties of myometrial samples with different proportions of contractile (smooth muscle) and non-contractile (connective tissue) elements.

Myometrium cells have automatic contractile activity represented in the horn and in different parts of the uterine. Published data demonstrate, that pacemaker centers are located in the cervical and ovarian parts of myometrium in mice, but contractile activity in this parts is not investigated in mice.

It has been estimated contractility of uterus myometrium cervical (CV) and ovarian (OV) parts with phase-plot analysis in mice.

Experiments were carried out in the female CBA mice (18–22 g). Immune complex-mediated failure (ICMF) was induced by the immunization with bovine serum albumin (BSA) once a week (150, 175, 200, 250, 300 mg). Uterine samples were taken from ovarian end (OV) and cervical end (CV) of the uterus and were bathed in Krebs solution. It has been recorded parameters such as: Fmax–amplitude of contraction, mN; W50–contraction duration at 50 % amplitude (s), CVmax–positive peak of the first derivative of contraction (maximum rate of contraction, mN/s), RVmax–negative peak of the first derivative of contraction (maximum rate of relaxation, mN/s), T–time interval between CVmax and RVmax (duration of the active state, s), CI –contractility index calculated by multiplying the Fmax by CVmax/RVmax, mN.

Results of experiments are statistically processed with program GraphPad Prism 5. 0 (GraphPad Software, San Diego, USA). Checking the normality of the distribution was carried out using the Kolmogorov-Smirnov test and used t-test to compare two means.

Contractility index (CI) and rate of relaxation of CP was by 40 % and 33 % higher compared to OP, but frequency of contraction was by 41 % higher in OP vs CP ($p < 0.05$). ICMF resulted in the decrease of amplitude and CI by 64 % in CV and by 70 % and 47 % in OV parts of the uterine respectively ($p < 0.05$) as compared with the control values.

Experimental systemic immune-complexes-induced failure. reduced the contractile response more in CV than in OV. This can be explained by immune complexes, which are potent inducers of cytokine synthesis and cause vascular damage. OV has strong vascularization and maybe therefore had more inhibition then.

Results suggest different contractile activity in uterus myometrium cervical and ovarian parts under physiological conditions and change their contractility in inflammatory processes.

Key words: uterus, ovarian part, cervical part, experimental systemic immune-complexes-induced failure.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 14. 03. 2014 р.