

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ОБМЕНА БИОГЕННЫХ АМИНОВ В МИОМЕТРИИ МАТКИ КРЫС В ПРОЦЕССЕ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

Диндяев С.В., Виноградов С.Ю.

ГОУ ВПО ИвГМА Росздрава

Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии

РЕЗЮМЕ Изучены пространственные и гистохимические характеристики основных биоаминопозитивных структур миометрия тела и шейки матки крыс в течение полового цикла: симпатические периваскулярные сплетения и одиночные нервные волокна, тучные и макрофагические клетки, гладкие миоциты. Использован комплекс флуоресцентно-гистохимических методов, выявляющих катехоламины, серотонин и гистамин. В нервных волокнах микроспектрофлуориметрически дифференцированы катехоламины и серотонин, содержание которых в точках зондирования характеризуется высокой степенью линейной корреляции во все стадии полового цикла. Максимальное содержание биоаминов в большинстве структурных элементов симпатического нервного аппарата матки отмечено в поздний диэструс. Стадии раннего и позднего эструса, проэструса характеризуются низкими уровнями моноаминов в адренергических волокнах. В тучных клетках и макрофагах дифференцированы гистамин, серотонин и катехоламины, определено содержание биоаминов в различные фазы полового цикла. В гладких миоцитах постоянно содержатся гистамин и катехоламины. Установлен характерный спектр корреляционных связей между изменениями оценочных параметров биоаминопозитивных структур, активное участие биогенных аминов в регуляции морфофункционального состояния миометрия тела матки в течение полового цикла.

Ключевые слова: биоаминопозитивные структуры, половой цикл, матка крыс.

Значительная роль в многоуровневой системе регуляции матки принадлежит биогенным аминам, в том числе катехоламинам, серотонину и гистамину. Моноамины действуют на

рабочие клетки в качестве непосредственных агонистов, модуляторов или посредников их рецепторно-циклазных систем в режиме синергизма или антагонизма. Они индуцируют

Dindyaev S.V., Vinogradov S.Yu.

MORPHOFUNCTIONAL ASPECTS OF BIOGENIC AMINES EXCHANGE IN UTERUS MYOMETRIUM WITHIN SEXUAL CYCLE IN RATS

ABSTRACT We studied spatial and histochemical characteristics of miometrium main bioaminepositive structures of the neck and the body of the womb within sexual cycle in rats namely sympathetic perivascular plexus and single nervous fibers, fat cells and macrophages, smooth myocytes. Complex of fluorescence-histochemical methods which allowed to reveal catecholamines, serotonin and histamine was used in the study. Catecholamines and serotonin were differentiated in nervous fibers by microspectral fluorescence method. Their content in probing places were characterized by high degree of linear correlation at all stages of sexual cycle. Bioamines maximal concentration in the most structural elements of uterus sympathetic nervous apparatus was detected in late diestrus. Stages of early and late estrus and proestrus were characterized by monoamines' low levels in adrenergic fibers. Histamine, serotonin and catecholamines were differentiated in fat cells and macrophages; bioamines content in various phases of sexual cycle were determined. Histamine and catecholamines are constantly contained in smooth myocytes. Distinctive spectrum of correlations between changes of bioaminepositive structures evaluation parameters is revealed. Biogenic amines active participation is suggested in regulation of myometrium morphofunctional status of the body of the womb within sexual cycle.

Key words: bioaminepositive structures, sexual cycle, rat uterus.

динамику морфогенетических процессов, сопряженных с функциональной и регенеративной активностью тканевых компонентов органа [1, 4, 7].

Большинство работ нейроморфологического профиля посвящено изучению адренергической иннервации миометрия на описательном уровне без математического анализа динамики показателей внутриорганного обмена биогенных аминов в процессе полового цикла. Данные об участии других структур матки в их метаболизме неполны и разрозненны.

Цель работы — определить основные биоаминопозитивные структуры миометрия матки крыс, выявить закономерности их пространственных коопераций и дифференцировать содержание и динамику в них катехоламинов, серотонина и гистамина в течение полового цикла.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 120 интактных самках беспородных белых крыс репродуктивного возраста в осенне-зимний период, которые были распределены на группы по стадиям полового цикла: ранний эструс, поздний эструс, метаэструс, ранний диэструс, поздний диэструс, проэструс. Содержание животных, опыты и эвтаназия проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минвуза от 13.11.1984 г № 724).

Материал исследования: криостатные нефиксированные срезы тела и шейки матки, взятые под глубоким нембуталовым наркозом (50 мг/кг).

Методы исследования: 1) флуоресцентно-гистохимический метод А. Бьерклунда в модификации В.Н. Швалева и Н.И. Жучковой и параформальдегидный метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной для выявления серотонина и катехоламинов [6]; 2) флуоресцентно-гистохимический метод Кросса-Эвена-Роста для дифференцировки гистамина [8]; 3) окраска парафиновых срезов альциановым синим-сафранином по Дезаго для дифференцированного выявления гликозаминогликанов [5]; 4) для выявления фагоцитирующих клеток (макрофагов) матки группе крыс вводили подкожно прижизненно 3 мл 1% раствора трипанового синего. Методом точечного счета и линейного интегрирования определялись пространственная и удельная плотности распределения волокон в составе периваскулярных симпатических спле-

тений (ПВС), количество нервных терминалей, макрофагов и тучных клеток на стандартную площадь [3].

Флуоресцентная микроскопия и цитоспектрофлуориметрический анализ проводились с помощью микроскопа ЛЮАМ-ИЗ и фотометрической установки ФМЭЛ-1А. Статистический анализ осуществляли с помощью электронных таблиц Excel. Достоверность различий при сравнении величин определялась с помощью критерия Стьюдента. Для выявления и анализа сопряжений изменения параметров в динамике полового цикла применялись линейный корреляционный анализ Пирсона (r) и ранговый корреляционный анализ Спирмена (R). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В миометрии тела матки нами дифференцированы следующие биоаминопозитивные структуры — симпатические нервные волокна, тучные клетки, макрофаги, гладкие миоциты (рис. 1, 2). Большинство нервных волокон входит в состав ПВС, флуоресцирующих изумрудно-зеленым цветом. От ПВС отходят отдельные терминали. По ходу нервных волокон прослеживаются их основные структурные элементы: ярко светящиеся расширения («варикозы») и более тонкие, с меньшей степенью флуоресценции межварикозные участки («межварикозы»). Микроспектрофлуориметрически в нервных волокнах нами идентифицированы катехоламины и серотонин. Обнаружение серотонина подтверждает немногочисленные литературные данные о его наличии в симпатических нервах половых органов, в том числе матки [9].

Большинство симпатических нервных сплетений миометрия образовано нервными волокнами с хорошо выраженными межварикозными участками и варикозными расширениями, обладающими яркой изумрудно-зеленой флуоресценцией (I тип сплетений). В других сплетениях (II типа) межварикозные участки характеризуются непостоянством специфической флуоресценции. В них имеются слабо выраженные небольшие варикозные утолщения. Данные цитоспектрофлуориметрического анализа подтверждают результаты визуального наблюдения: содержание катехоламинов и серотонина в сплетениях I типа достоверно выше, особенно в варикозных расширениях (рис. 3).

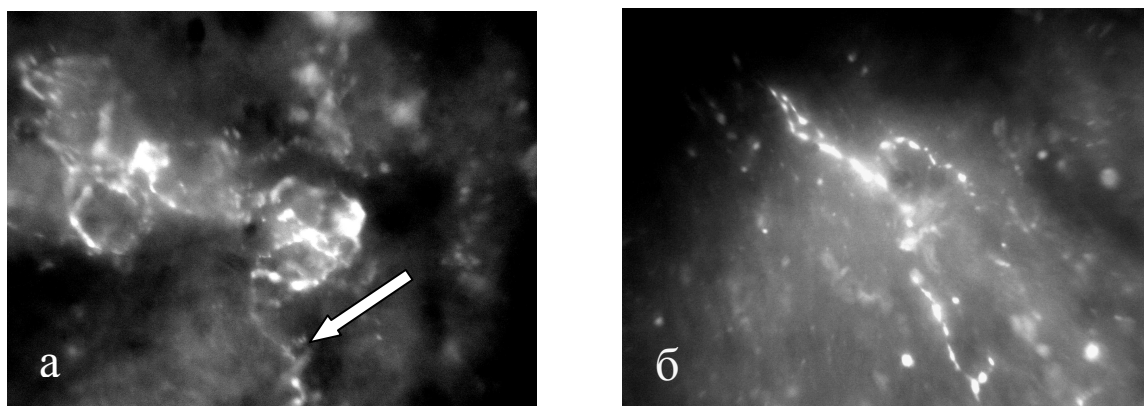


Рис. 1. Периваскулярное сплетение I типа (а) с отходящей от него терминалью (показана стрелкой) и одиночные нервные волокна (б) миометрия шейки матки крысы. Метод Бьерклунда в модификации; микроскоп ЛЮМАМ И3, об. 90 мм., гомаль 3; а — проэструс, б — поздний диэструс

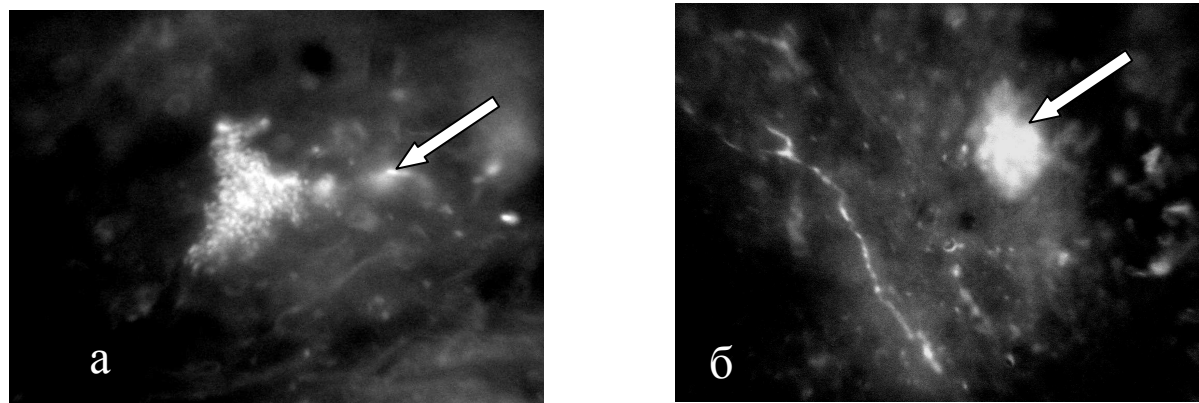


Рис. 2. Кооперация нервных волокон и тучных клеток (показаны стрелкой) миометрия тела матки крысы. Метод Фалька-Хилларпа в модификации, микроскоп ЛЮМАМ И3, об. 90 мм., гомаль 3; а — ранний эструс, б — поздний эструс

В миометрии тела матки параметры удельной плотности ПВС I типа минимальны в поздний эструс, максимальны — в поздний диэструс. В мышечной оболочке шейки матки эти параметры также имеют наименьшие значения в поздний эструс, а наибольшие — в ранний диэструс.

Изменения плотности пространственного распределения одиночных нервных волокон миометрия тела и шейки матки происходят однотипно: наибольшие значения отмечаются в ранний и поздний диэструс, наименьшие — в поздний эструс. Отметим, что в шейке эти изменения статистически менее достоверны.

Наибольшее содержание исследуемых биоаминов в ПВС и терминалях миометрия тела матки отмечается в поздний диэструс (рис. 3). Наиболее низкие концентрации указанных

биоаминов в структурных элементах ПВС выявлены в стадии проэструса, раннего и позднего эструса, а в терминалях — в фазы позднего эструса и метаэструса.

Динамика показателей насыщенности моноаминами нервных волокон мышечной оболочки шейки матки представлена в основном аналогично. В то же время в большинстве стадий полового цикла концентрация биоаминов в ПВС и терминалях этой части органа достоверно ниже по сравнению с телом.

Сопоставление полученных результатов с данными литературы о содержании в крови крыс половых стероидных гормонов в различные фазы эстрального цикла [2] позволяют предположить, что повышение уровня эстрадиола в стадии диэструса совпадает с увеличением уровня биоаминов в симпатических нервных волокнах миометрия.

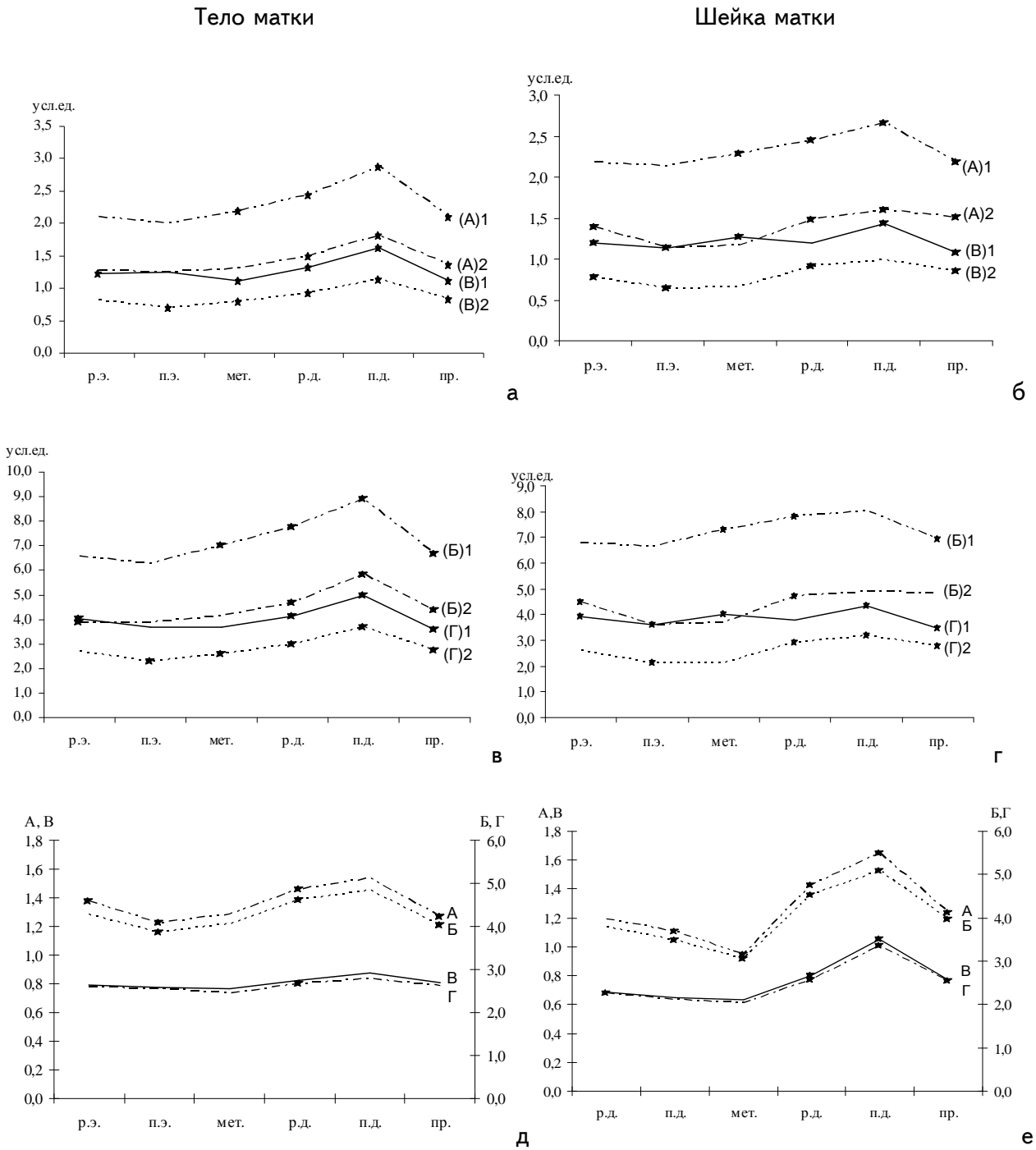


Рис. 3. Динамика биоамингистохимических характеристик периваскулярных сплетений (а—г) и терминалей (д, е) миометрия тела и шейки матки в процессе полового цикла:

1 — принадлежность к ПВС I типа, 2 — к ПВС II типа.

А — содержание катехоламинов в варикозах терминалей, Б — содержание серотонина в варикозах терминалей, В — содержание катехоламинов в межварикозах терминалей, Г — содержание серотонина в межварикозах терминалей, () — содержание моноаминов в аналогичных структурах ПВС.

р.э. — ранний эструс, п.э. — поздний эструс, мет. — метаэструс, р.д. — ранний диэструс, п.д. — поздний диэструс, пр. — проэструс.

★ — достоверность отличий данного оценочного параметра от такового в предыдущей стадии полового цикла ($p < 0,05$).

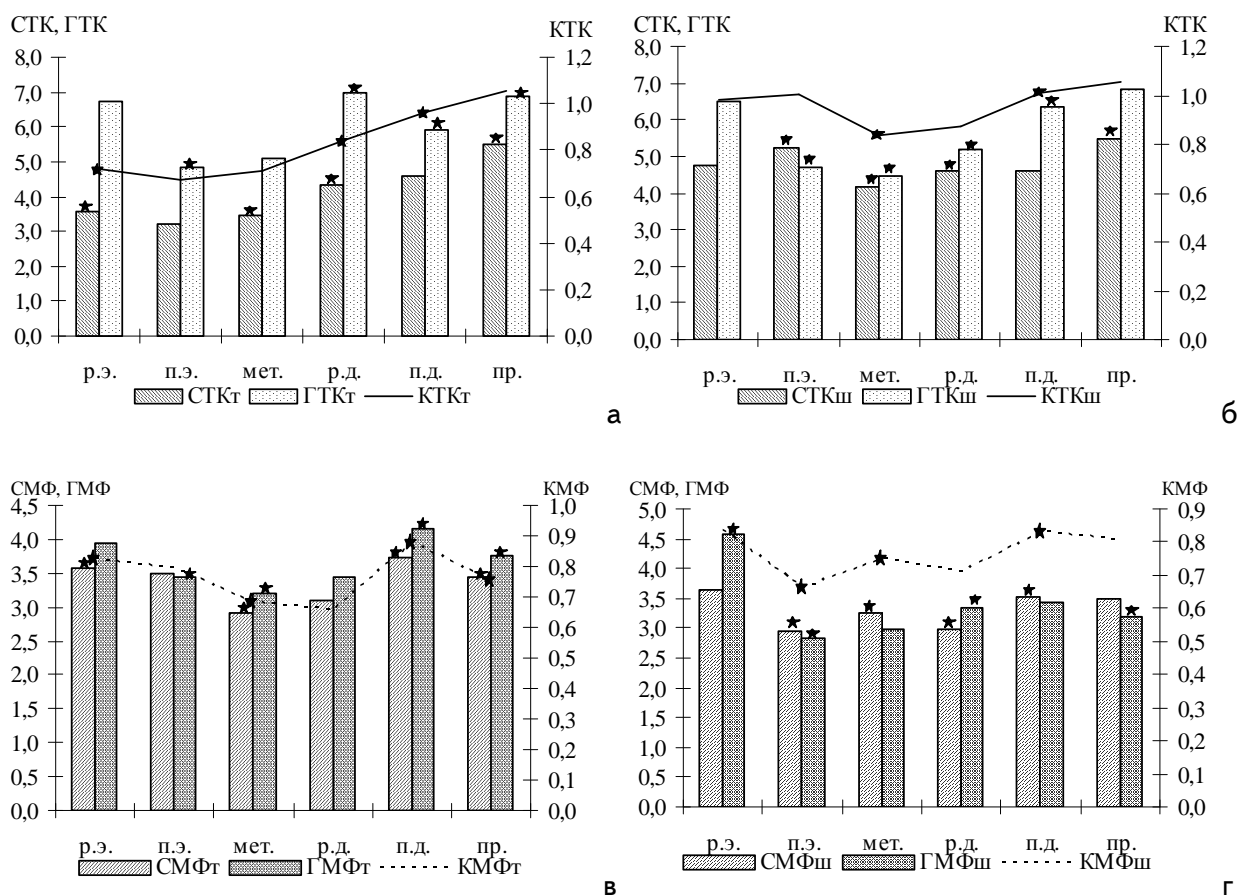


Рис. 4. Динамика биоамингистохимических характеристик тучных клеток (а, б) и макрофагов (в, г) миометрии тела (т) и шейки (ш) матки:

ГТК — содержание гистамина в тучных клетках, СТК — содержание серотонина в тучных клетках, КТК — содержание катехоламинов в тучных клетках, ГМФ — содержание гистамина в макрофагах, СМФ — содержание серотонина в макрофагах, КМФ — содержание катехоламинов в макрофагах.

р.э. — ранний эструс, п.э. — поздний эструс, мет. — метаэструс, р.д. — ранний диэструс, п.д. — поздний диэструс, пр. — проэструс.

★ — достоверность отличий данного оценочного параметра от такового в предыдущей стадии полового цикла ($p < 0,05$)

Отмеченное нами снижение содержания биоаминов в проэструс можно расценить как результат полезной утилизации серотонина и катехоламинов для активизации клеточных рецепторов к стероидным гормонам.

Количественные отношения между концентрациями серотонина и катехоламинов в каждой отдельной точке зондирования нервных волокон характеризуются высокой степенью линейной корреляции ($r > 0,9$) во все стадии полового цикла.

В тучных клетках и макрофагах, располагающихся преимущественно вокруг кровеносных сосудов, цитоспектрофлуориметрически нами дифференцированы гистамин, серотонин и катехоламины (рис. 4). В обеих клеточных популяциях концентрация гистамина ми-

нимальна в поздний эструс и метаэструс, максимальна в ранний диэструс (в тучных клетках) и поздний диэструс (в макрофагах).

В метаэструс и ранний диэструс отмечается снижение содержания в исследуемых клетках серотонина и катехоламинов. В тучных клетках миометрия максимум концентрации указанных моноаминов отмечается в проэструс, в макрофагах — в поздний диэструс.

Сравнение пространственных и гистохимических параметров оценки биоаминового статуса тучных и макрофагических клеток мышечной оболочки различных отделов матки выявляет ряд региональных различий:

- плотность пространственного распределения тучных и макрофагических клеток выше в теле органа;

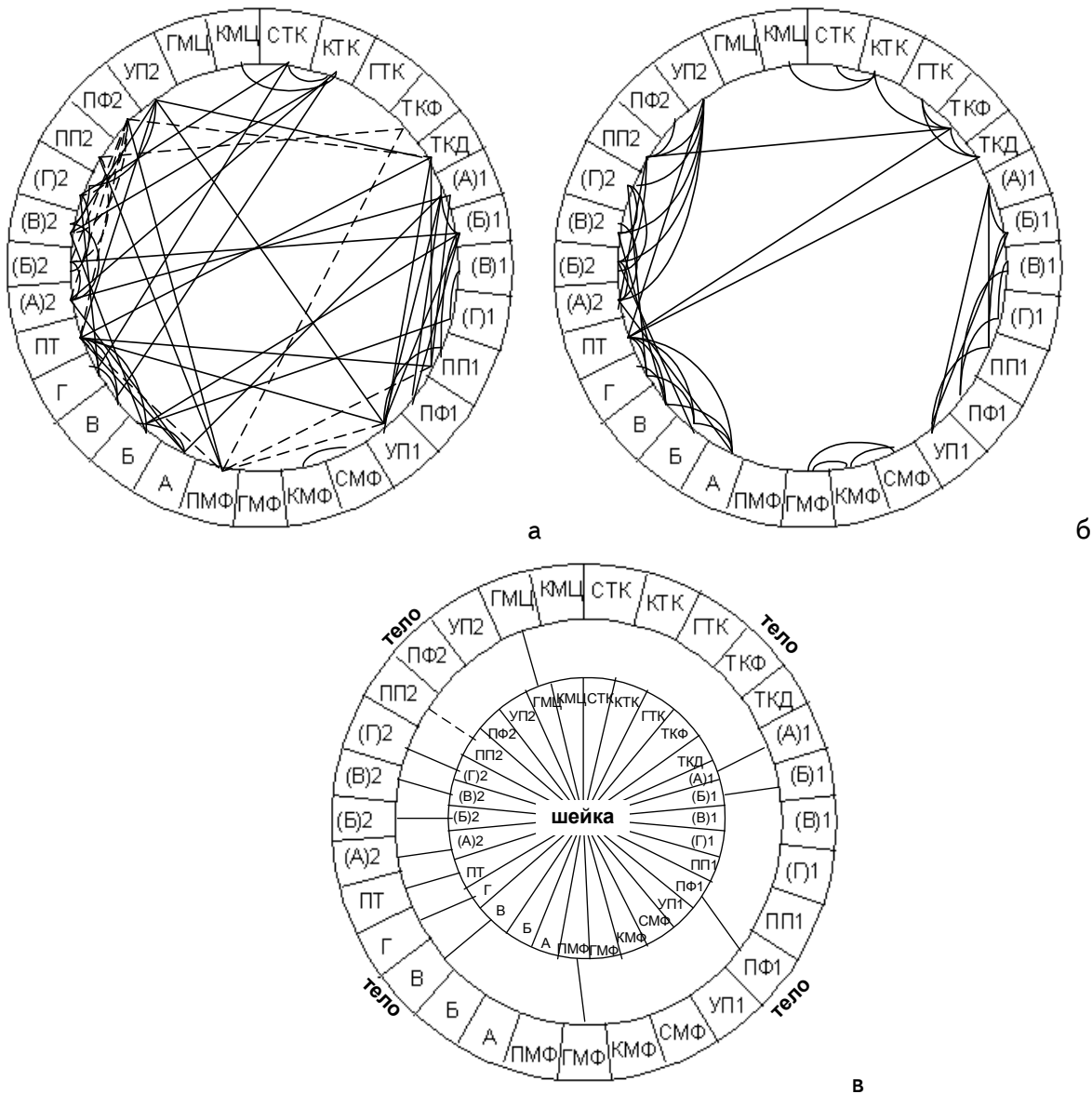


Рис. 5. Циклограммы внутри- (а, б) и межрегиональных (в) достоверных ранговых корреляций между изменениями оценочных параметров биоаминопозитивных структур миометрия тела (а) и шейки (б) матки в течение полового цикла (сплошная связующая линия — положительность корреляции, пунктирная — отрицательность корреляции):

А — содержание катехоламинов в варикозах терминалей, Б — содержание серотонина в варикозах терминалей, В — содержание катехоламинов в межварикозах терминалей, Г — содержание серотонина в межварикозах терминалей, () — содержание моноаминов в аналогичных структурах ПВС; ГТК — содержание гистамина в тучных клетках, СТК — содержание серотонина в тучных клетках, КТК — содержание катехоламинов в тучных клетках, ГМФ — содержание гистамина в макрофагах, СМФ — содержание серотонина в макрофагах, КМФ — содержание катехоламинов в макрофагах, ТКД — средняя плотность пространственного распределения тучных клеток, выявляемых по методу Дезага, ТКФ — средняя плотность пространственного распределения флуоресцирующих тучных клеток, ПП — средняя пространственная плотность нервных волокон в составе периваскулярных сплетений, ПТ — средняя пространственная плотность одиночных нервных волокон (терминалей), ПФ — средняя площадь флуоресцирующего профиля сосуда, УП — средняя удельная плотность периваскулярных сплетений, ПМФ — средняя плотность пространственного распределения флуоресцирующих макрофагов, ГМЦ — средняя концентрация гистамина в гладких миоцитах миометрия, КМЦ — содержание катехоламинов в гладких миоцитах.

1 — принадлежность к ПВС I типа, 2 — к ПВС II типа

- тучные клетки шейки в большинстве фаз цикла характеризуются достоверно более высоким содержанием катехоламинов и серотонина и меньшим уровнем гистамина;
- насыщенность серотонином и особенно гистамином наиболее высока в макрофагах миометрия тела матки.

На протяжении всего полового цикла корреляционный анализ демонстрирует высокую степень линейной зависимости между концентрациями серотонина и катехоламинов как в тучных клетках, так и в макрофагах ($r > 0,81$).

Гладкие миоциты миометрия матки характеризуются постоянным присутствием гистамина и катехоламинов. Наиболее высокая концентрация в них катехоламинов отмечается в проэструс, гистамина — в поздний эструс. Минимальное содержание обоих моноаминов наблюдается в ранний диэструс.

Проведенный ранговый корреляционный анализ выявляет блок достоверных внутри- и межрегиональных корреляций изменений во времени полового цикла пространственных и гистохимических параметров биоаминопозитивных структур (см. рис. 5). В частности, отмечается высокая степень положительной взаимосвязи изменений средних концентраций серотонина и катехоламинов между структурными элементами нервных волокон. Высокой степенью положительного хроносопряжения характеризуются также изменения концентраций серотонина и катехоламинов в тучных клетках, макрофагах, структур-

ных элементах нервных волокон. Следует особенно подчеркнуть значительную тесноту связи между колебаниями уровней гистамина и других исследуемых моноаминов в обеих клеточных популяциях в процессе полового цикла ($R = 0,714—0,829$).

ВЫВОДЫ

Таким образом, в результате проведенного исследования нами установлены закономерности пространственной архитектоники биоаминопозитивных структур миометрия, динамики содержания в них серотонина, катехоламинов и гистамина в течение полового цикла, региональные особенности биоаминового обмена.

В зависимости от рабочей ситуации одни и те же биоамины могут оказывать часто разнонаправленное влияние на клетки [1, 4, 5]. Динамика конкурентных отношений биоаминов, характер взаимодействия более древних и более молодых в филогенетическом отношении интраорганных элементов биоаминового обеспечения рабочих структур во многом отражают периодичность и фазовость процессов морфогенеза и функционирования миометрия тела матки крысы в процессе полового цикла.

Учитывая биологическое значение биоаминных аминов, можно предположить их активное участие в регуляции морфофункционального состояния миометрия тела матки в течение полового цикла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В., Капленко О.В. Адренергические средства в акушерской практике. — СПб.: ТОО ТК «Петрополис», 2000. — 272 с.
2. Бабичев В.Н. Нейроэндокринная регуляция репродуктивной системы. — Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. — 227с.
3. Виноградов С.Ю. Применение в функционально-морфологических исследованиях регрессивного анализа и элементов дифференциального исчисления // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1984. — Т. 87, № 8. — С. 74—81.
4. Виноградов С.Ю., Погорелов Ю.В. Функциональная морфология нейромедиаторного биоаминового обеспечения щитовидной железы в условиях адаптации // Вестн. Ивановской медицинской академии. — 1997. — Т. 2, № 3. — С. 6—14.
5. Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Зеленова И.Г. Нейромедиаторы лимфоидных органов. — Л.: Наука, 1982. — 128 с.
6. Диндяев С.В., Виноградов С.Ю., Погорелов Ю.В. и др. Флуоресцентно-гистохимическое выявление катехоламинов и серотонина // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии: Сб. науч. работ. — Томск, 2004. — Т. 4, № 1. — С. 84—85.
7. Лычкова А.Э. Механизмы синергизма отделов вегетативной нервной системы // Успехи физиол. наук. — 2006. — Т. 37, № 1. — С. 50—67.
8. Cross S.W.D., Ewen S.W.B., Rost F.W.D. A study of the methods available for the cytochemical localisation of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde // Histochem. J. — 1971. — Vol.3. — P. 471—476.
9. Frohlich P.F., Meston C.M. Evidence that serotonin affects female sexual functioning via peripheral mechanisms // Physiol. Behav. — 2000. — Vol. 71, № 3—4. — P. 383—393.

Поступила 12.03.2007 г.