

## **БИОАМИНПОЗИТИВНЫЕ СТРУКТУРЫ МАТКИ КРЫС В ПРОЦЕССЕ ПОЛОВОГО ЦИКЛА**

**Диндяев С.В., Виноградов С.Ю.**

ГОУ ВПО ИвГМА Росздрава

Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии

**РЕЗЮМЕ** С помощью комплекса флуоресцентно-гистохимических и цитоспектрофотометрических методов исследования определены основные структуры матки крыс, содержащие биогенные амины. Выявлены закономерности их пространственных коопераций. Проведен дифференцированный анализ содержания в них серотонина, катехоламинов и гистамина в течение полового цикла. Выделен внутриорганный комплекс биоаминового обеспечения матки, включающий периваскулярные симпатические сплетения, одиночные нервные волокна, тучные клетки, макрофаги, гладкие миоциты миометрия, эпителиоциты эндометрия, сосуды микроциркуляторного русла.

**Ключевые слова:** матка, биогенные амины, половой цикл.

Матка, как гетерогенный полифункциональный орган, имеет многоуровневую систему регуляции, основанную на принципе иерархического взаимодействия филогенетически более древних и более молодых способов биоуправления. Биогенные амины, в т.ч. катехоламины, серотонин и гистамин, действуют на рабочие клетки в качестве непосредственных агонистов, модуляторов или посредников их рецепторно-циклических систем в режиме синергизма или антагонизма. Они индуцируют динамику морфогенетических процессов, сопряженных с функциональной и регенеративной активностью тканевых компонентов органа [6]. Весьма разнообразно и неоднозначно влияние биоаминов на кровеносную систему [3, 4, 12, 16, 24]. Обнаружение гистамина во всех основных структурных элементах матки свидетельствует об участии его в регуляции ее функции [7, 18]. От сложного комплекса нейрогуморальных воздействий и особенностей внутриклеточных

точных метаболических процессов в миометрии во многом зависит состояние мышечного тонуса матки [1].

Необходимо отметить, что к настоящему времени большинство работ нейроморфологического профиля посвящено изучению адренергической иннервации миометрия на описательном уровне без количественного анализа показателей внутриорганного обмена биогенных аминов в процессе полового цикла. Данные об участии других структурных элементов матки в их метаболизме неполны и разрозненны [7, 8, 24].

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

**Dindyayev S.V., Vinogradov S.Yu.**

## **BIOAMINE POSITIVE STRUCTURES OF UTERUS IN THE PROCESS OF SEXUAL CYCLE IN RATS**

**ABSTRACT** Main structures of rat uterus which contain biogenic amines are defined by complex of fluorescent-histochemical and cytospectrophotometric methods. Regularities of their space cooperations are revealed. Differentiated analysis of serotonin, catecholamines and histamine content in them is made. Intraorganic complex of uterus bioamines supply is singled out. It includes perivascular sympathetic plexus, single nervous fibers, mast cells, macrophages, smooth myocytes of myometrium, epitheliocytes of endometrium and vessels of microcirculatory channel.

**Key words:** uterus, biogenic amines, sexual cycle.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в осенне-зимний период на 75 интактных беспородных самках крыс репродуктивного возраста стандартной массы, распределенных по фазам эстрального цикла: ранний эструс, эструс, метаэструс, ранний диэструс, поздний диэструс, проэструс.

Материал исследования: 1) криостатные нефиксированные срезы рогов и шейки матки, изъятые под глубоким нембуталовым наркозом (50 мг/кг), 2) парафиновые срезы этих органов после фиксации в 10%-ном нейтральном формалине.

Методы исследования: 1) флуоресцентно-гистохимический метод А. Бьерклунда в модификации В.Н. Швалева и Н.И. Жучковой [14] и параформальдегидный метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной [11] для выявления серотонина и катехоламинов; 2) флуоресцентно-гистохимический метод Кросса-Эвена-Роста для дифференцировки гистамина [19]; 3) окраска парафиновых срезов альциановым синим-сафранином по Дезаго [20] для выявления гликозаминогликанов; 4) для идентификации макрофагов группе крыс (35 наблюдений) вводили подкожно 3 мл 1%-ного раствора трипанового синего [10].

Флуоресцентная микроскопия и цитоспектрофлуориметрический анализ проводились с помощью микроскопа ЛЮМАМ-ИЗ и фотометрической установки ФМЭЛ-1А [9]. С целью исключения аутофлуоресценции исследовались препараты, не обработанные реагентом.

Статистический анализ осуществляли с помощью электронных таблиц Excel, достоверность различия показателей оценивали по критерию Стьюдента. Для выявления и анализа сопряжений изменения параметров в динамике полового цикла применялся метод рангового корреляционного анализа Спирмана. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате собственных цитоспектрофлуориметрических исследований и анализа данных литературы нами выделены основные структуры матки, содержащие биогенные амины (табл.).

Адренергические нервные волокна выявляются во всех оболочках матки как в свободном состоянии, так и в составе сосудистых стенок.

Наиболее выражены миоэпителиальные сплетения, от которых отходят ветвящиеся или одиночные безмиелиновые нервные волокна к периметрию или эндометрию. В варикозных расширениях и межварикозных участках симпатических волокон идентифицируются серотонин и катехоламины. Взаимосвязь цифровых показателей их концентраций по точкам флуориметрического зондирования подчинена законам линейной положительной корреляции, а колебания их отношений отражают динамику баланса содержания биоаминов-антагонистов в течение полового цикла.

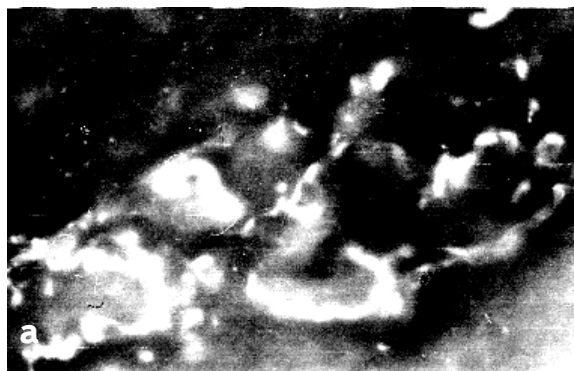
Большинство симпатических нервных сплетений миоэпителия образовано нервными волокнами с хорошо выраженными межварикозными участками и варикозными расширениями, обладающими изумрудно-зеленой флуоресценцией (I тип сплетений) (рис. 1). В сплетениях II типа межварикозные участки характеризуются непостоянством специфической флуоресценции. В них имеются небольшие варикозные утолщения.

Данные цитоспектрофлуориметрического анализа подтверждают результаты визуального

**Таблица.** Локализация биогенных аминов в матке (результаты собственных исследований)

Биоаминпозитивные структуры	Катехоламины	Серотонин	Гистамин
Периваскулярные симпатические нервные сплетения	+	+	-
Одиночные симпатические нервные волокна (терминали)	+	+	-
Тучные клетки	+	+	+
Макрофагические клетки	+	+	+
Гладкие миоциты миоэпителия	±	редко	+
Покровный эпителий слизистой оболочки матки	±	±	+
Эпителий маточных желез	±	±	+
Секрет маточных желез	редко	редко	+

Примечание: ± — непостоянное содержание



**Рис. 1.** Периваскулярные сплетения миометрия шейки матки крысы:  
а — сплетение I типа, б — сплетение II типа. Метод Бьерклунда, объектив 90. Проэструс.

наблюдения: содержание катехоламинов и серотонина в сплетениях I типа достоверно выше, особенно в варикозных расширениях (в среднем на 60%), по сравнению со сплетениями II типа. Выделение некоторыми исследователями [13] в матке крыс трех типов нервных сплетений не подтверждается нашими наблюдениями.

В динамике полового цикла параметры внутриорганных симпатических нервных сплетений, так же как и баланс содержания в нервных волокнах серотонина и катехоламинов, претерпевают закономерные изменения. Наибольшее содержание исследуемых биоаминов в периваскулярных сплетениях и свободных нервных волокнах миометрия тела матки отмечается в стадию позднего диэструса (рис. 2).

В слизистой оболочке флуоресцирующие нервные волокна расположены преимущественно на границе с миометрием в виде одиночных слабоветвящихся терминалей. Выявляемость их крайне непостоянна. Нами они дифференцированы только в стадии позднего эструса и диэструса. Периваскулярные сплетения в эндометрии при этом не обнаружены. Частое отсутствие в эндометрии специфически светящихся волокон можно объяснить наличием в симпатических сплетениях резервных («молчащих») нервных волокон, в которых на момент исследования нет медиаторов. Перманентность появления биоаминпозитивной флуоресценции в этих волокнах, вероятно, связана с накоплением в них не утилизируемых биоаминов, количество которых варьибельно в зависимости от фазы полового цикла [5]. Описанное явление лежит в основе изменений плотности пространственного распределения флуоресцирующих нервных волокон.

Выявленная в наших исследованиях неоднозначность оценочных параметров интраму-

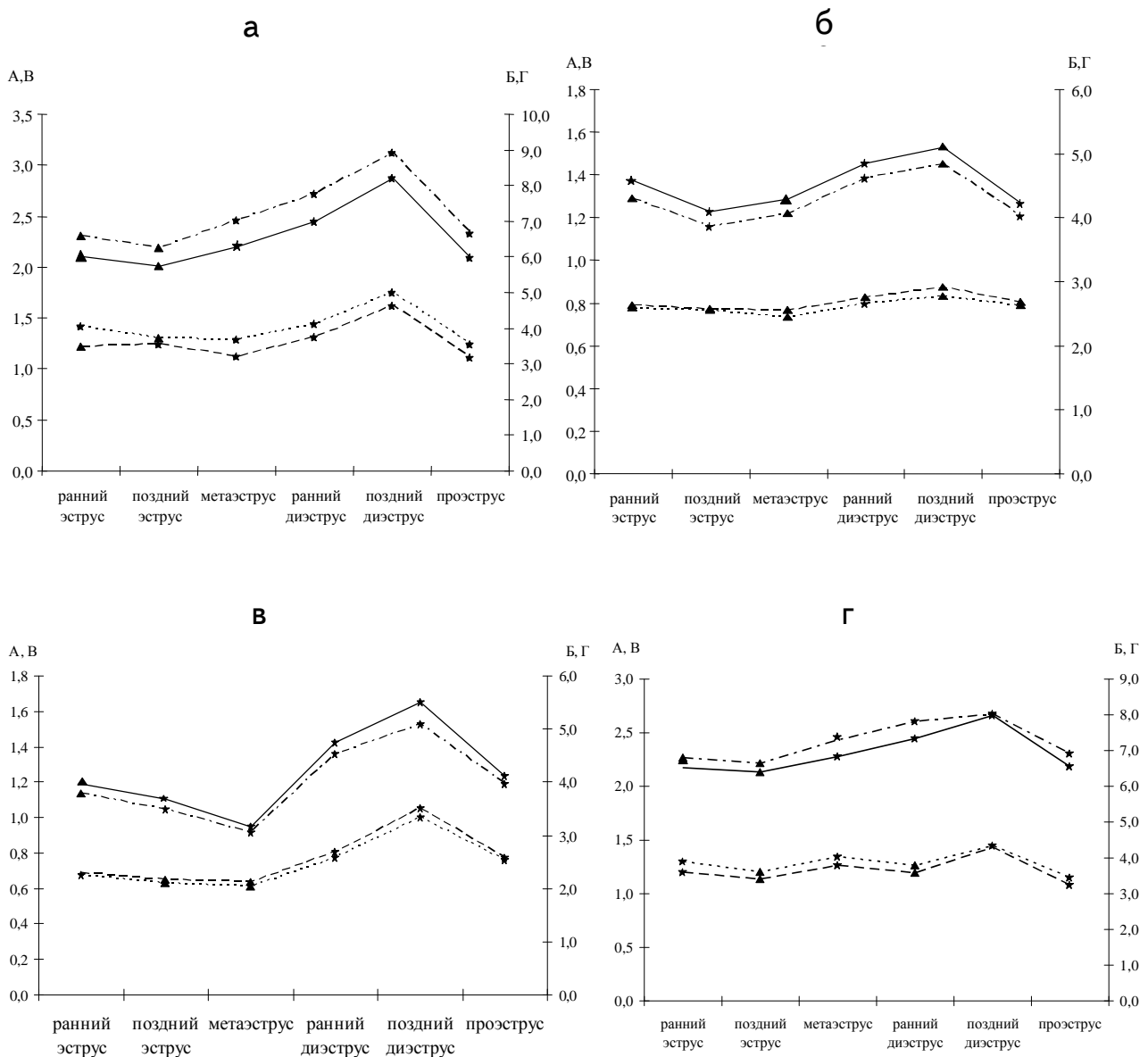
рального симпатического аппарата матки крыс может свидетельствовать о перемежающейся динамике механизмов регуляции ее мышечного сокращения, секреторной активности и физиологической регенерации в процессе полового цикла.

Нам не удалось обнаружить в шейке матки адренергических нервных клеток, локализуемых вблизи кровеносных сосудов, которые были описаны отдельными авторами [15].

Биогенные амины выявлены нами в тучных клетках и макрофагах, большинство которых в миометрии располагается рядом с нервными волокнами. Часть тканевых базофилов находится в составе эндометрия и периметрия, некоторые на наружной поверхности последнего — со стороны абдоминальной полости.

По результатам флуоресцентного исследования нами выделены два типа тучных клеток оболочки матки: 1) крупные, овальные или полигональные с хорошо различимой зернистостью в цитоплазме и нефлуоресцирующим ядром; 2) мелкие, круглые или овальные, ярко флуоресцирующие со сливающейся зернистостью и экранированным ядром. Второй тип клеток встречается значительно реже. Разная степень флуоресценции тучных клеток может быть объяснена их различной функциональной активностью во внутриорганном обмене биогенных аминов.

Расположение тучных клеток в непосредственной близости с гладкими миоцитами, сосудами микроциркуляторного русла, фибробластами подтверждает их важную роль в физиологической регенерации эндометрия в течение полового цикла (рис. 3). Реализация этих влияний осуществляется благодаря участию тучных клеток в обмене биогенных аминов [17, 22, 23].



**Рис. 2.** Динамика содержания биоаминов в периваскулярных сплетениях I типа (а, в) и терминалях (б, г) миометрия тела (а, б) и шейки (в, г) матки крыс в процессе полового цикла.

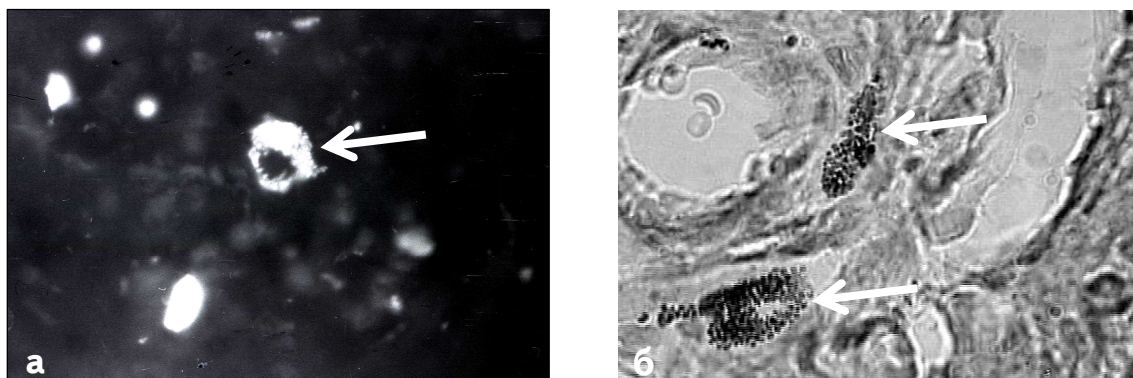
А — содержание катехоламинов в варикозных утолщениях, Б — содержание серотонина в варикозных утолщениях, В — содержание катехоламинов в межварикозных участках, Г — содержание серотонина в межварикозных участках;

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

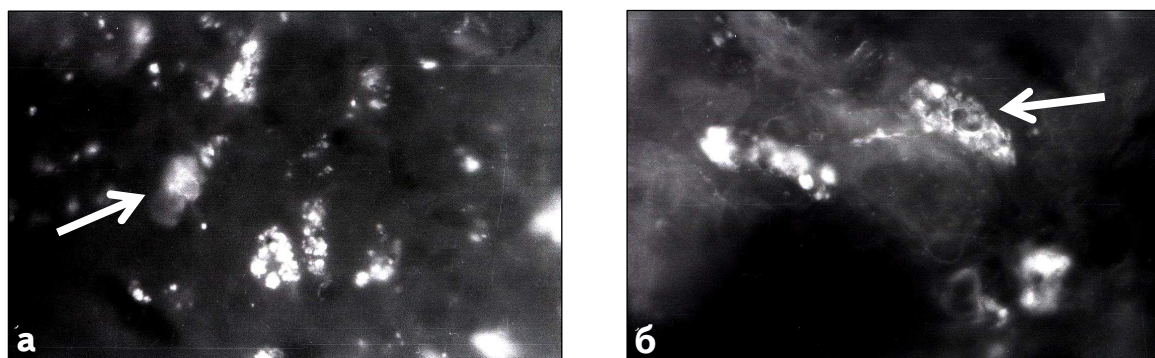
— А    - - - - Б    - - - - В    - - - - Г

Макрофагические клетки располагаются преимущественно в эндометрии единично или небольшими скоплениями. Они содержат гранулы серотонина, катехоламина и гистамина разной величины и интенсивности флуорес-

ценции, нередко сливающиеся между собой (рис. 4). У макрофагов, цитоплазма которых плотно заполнена включениями вводимой краски, флуоресценция слабая или отсутствует. В эндометрии некоторые из макрофагов



**Рис. 3.** Тучные клетки миометрия шейки матки: а — флуоресцирующие (метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной, объектив 90); б — окрашенные альциановым синим-сафранином в прописи Дезаго, объектив 90. Прозэструс.



**Рис. 4.** Флуоресцирующие макрофагические клетки эндометрия рога (а) и шейки (б) матки крысы. Метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М.Крохиной. Объектив 90. Ранний эструс.

располагаются под эпителием или непосредственно в нем, единичные — в просвете желез и полости матки.

В эндометрии биогенные амины обнаружены также в эпителиоцитах и секрете маточных желез. Катехоламины и серотонин в отличие от гистамина в указанных структурах встречаются непостоянно. Эпителиальные клетки, содержащие гистамин, имеют зеленоватую флуоресценцию. В эпителиоцитах иногда выявляется мелкая желтовато-зеленая зернистость.

По нашим данным, гладкие миоциты миометрия и стенки кровеносных сосудов содержат значительное количество гистамина. Этот факт косвенно подтверждает данные о том, что гистамин участвует в передаче нервного импульса с нервного волокна на миоциты матки и является одним из местных регуляторов сократительной активности миоцитов [1].

Максимальному уровню эстрогенов в крови крыс в стадию проэструс [2] соответствует, по нашим данным, высокое содержание гистамина в гладких миоцитах миометрия и тучных клетках матки, что в определенной степени подтверждает гипотезу А.Г. Гунина с соавт. об уча-

стии гистамина в вызываемом эстрогенами усилении пролиферации клеток [8, 21].

Проведенное исследование в совокупности с анализом данных литературы позволили нам выделить внутриорганный комплекс биоаминового обеспечения (ВКБО) матки. К его основным структурным элементам, участвующим в синтезе, захвате, функциональной реализации, накоплении, транспорте, инактивации серотонина, катехоламинов и гистамина, мы относим периваскулярные симпатические сплетения, одиночные нервные волокна, тучные клетки, макрофаги, гладкие миоциты миометрия, покровные и железистые эпителиоциты, сосуды микроциркуляторного русла.

Динамика изменений концентрации биоаминов в указанных структурах ВКБО носит колебательный сопряженный во времени характер. Эта закономерность может отражать и определять интеграцию морфофункционального состояния биоаминопозитивных структур матки при переходах организма на новые уровни гомеостаза, соответствующие фазам полового цикла.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В., Капленко О.В. Адренергические средства в акушерской практике. — СПб. : Петрополис, 2000. — 272 с.
2. Бабичев В.Н. Нейроэндокринная регуляция репродуктивной системы. — Пущино : ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. — 227 с.
3. Бельская Г.Д. Роль биогенных аминов в механизме маточных кровотоков при миоме матки // Акушерство и гинекология. — 1990. — № 2. — С. 17—21.
4. Вайсфельд И.Л., Кассиль Г.Н. Гистамин в биохимии и физиологии. — М. : Наука, 1981. — 278 с.
5. Виноградов С.Ю., Диндяев С.В. Симпатическая иннервация матки крыс в динамике эстрального цикла // Морфология. — 2006. — Т. 129, № 2. — С. 28.
6. Виноградов С.Ю. Функциональная морфология внутриорганного нейромедиаторного биоаминового обеспечения адапционно-компенсаторных реакций щитовидной железы / Дис. ... д-ра мед. наук. — Иваново, 1989. — 417 с.
7. Гордон Д.С., Гунин А.Г. Локализация гистамина в структурах матки // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1988. — Т. XCV, № 12. — С. 66—68.
8. Гунин А.Г., Гордон Д.С., Семенов В.Д. Влияние эстрадиола на распределение гистамина в структурах матки крыс в норме и при экспериментальном введении гормона // Пробл. эндокринологии. — 1991. — Т. 37, № 4. — С. 49—51.
9. 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.
10. Диндяев С.В., Погорелов Ю.В. Внутриорганный комплекс биоаминового обеспечения (ВКБО) яичников: его составные элементы и их кооперация // Успехи физиол. наук. — 1993. — Т. 24, № 4. — С. 71—78.
11. Крохина Е.М., Александров П.Н. Симпатический (адренергический) компонент эффекторной иннервации сердечной мышцы // Кардиология. — 1969. — № 3. — С. 97—102.
12. Пыцкий В.И., Адрианова Н.В., Артомасова А.В. Патогенез аллергических процессов // Аллергические заболевания. — 2-е изд., перераб. и доп. — М. : Медицина, 1991. — С. 28—78.
13. Шалыпина В.Г., Ракицкая В.Г., Абрамченко В.В. Адренергическая иннервация матки. — Л. : Наука, 1988. — 143 с.
14. Швалёв В.Н., Жучкова Н.И. Улучшение гистохимического выявления адренергических нервных элементов в растворе глиоксиловой кислоты при посредстве диметилсульфоксида (ДМСО) // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1987. — Т. XCIII, Вып. 10. — С. 91—92.
15. Adham N., Schenk E. Autonomic innervations of the rat vagina, cervix and uterus and cyclic variation // Amer. J. Obstet. Gynecol. — 1969. — Vol. 104, № 4. — P. 508—600.
16. Alsip N.L., Asher E.F. Serotonin constricts uterine arterioles in the gravid rat // Abstr. Annu. Meet. Prof. Res. Sci. «Exp. Biol.», New Orleans, La, Apr. 6—9, 1997 / FASEB Journal. — 1997. — № 3. — P. 478.
17. Artuc M., Steckelings U.M., Henz B.M. Mast Cell Fibroblast Interactions: Human Mast Cells as Source and Inducers of Fibroblast and Epithelial Growth Factors // J. of Investigative Dermatology. — 2002. — Vol. 118, № 3. — P. 391—395.
18. Bytautiene E., Vedernikov Y.P., Saade G.R., Romero R., Garfield R.E. et al. Effect of histamine on phasic and tonic contractions of isolated uterine tissue from pregnant women // Am. J. Obstet. Gynecol. — 2003. — Vol. 188, № 3. — P. 774—778.
19. 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.
20. Desaga J., Parwaresch M., Müller-Hermelink S. Die zytochemische Identifikation der Mastzellvorstufen bei der Ratte // Z. Zellforsch. — 1971. — Vol. 121, № 2. — P. 292—300.
21. Gunin A.G., Sharov A.A. Role of mast cells in oestradiol effects in the uterus of ovariectomized rats // Journal of Reproduction and Fertility. — 1998. — Vol. 113. — P. 61—68.
22. Mori A., Zhai Y.L., Toki T. et al. Distribution and heterogeneity of mast cells in the human uterus // Hum. Reprod. — 1997. — Vol. 12, № 2. — P. 368—372.
23. Rudolph M.I., Rojas I.G., Penissi A.B. Uterine mast cells: a new hypothesis to understand how we are born // Biocell. — 2004. — Vol. 28, № 1. — P. 1—11.
24. Spitaler M.M., Hammer A., Malli R., Graier W.F. et al. Functional analysis of histamine receptor subtypes involved in endothelium-mediated relaxation of the human uterine artery // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. — 2002. — Vol. 29, № 8. — P. 711—716.

Поступила 12.10.2006 г.