

**ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ
МИОМЕТРИЯ МЕЖПЛАЦЕНТАРНЫХ ЗОН РОГОВ МАТКИ КРЫС
В ПЕРИОД ГЕСТАЦИИ**

О.В. Долгих, Ю.В. Агафонов*, А.Л. Зашихин*, М.В. Меньшикова**

*Северный государственный медицинский университет
(г. Архангельск)

Нормальное течение беременности и родов требует тесной кооперации между зонами матки, обладающими различной сократительной активностью, которая определяется особенностями структурно-функциональной организации гладкомышечного компонента миометрия. Цель настоящего исследования состояла в проведении сравнительного морфометрического и цитофотометрического анализа гладкой мышечной ткани миометрия плацентарных и межплацентарных зон рогов матки крысы на разных сроках гестации. Определялись морфометрические параметры изолированных гладкомышечных клеток, содержание ДНК в ядрах и суммарный белок цитоплазмы. В составе гладкой мышечной ткани выделены субпопуляции малых, средних и больших миоцитов, различающихся как по морфометрическим, так и по метаболическим характеристикам. Исследование изолированных гладкомышечных клеток показало, что динамика структурно-функциональной организации гладкой мышечной ткани плацентарных и межплацентарных участков до середины беременности имела однонаправленный характер. В 1-ю неделю беременности значительно увеличивалось количество малых клеток, имеющих наибольший пролиферативный потенциал в сравнении с другими субпопуляциями гладкомышечных клеток. На 2-й неделе основу популяции составляли средние миоциты, наблюдалось снижение пролиферативной активности и увеличение доли гладкомышечных клеток с высоким уровнем цитоплазматических белков. В конце гестационного периода структура гладкой мышечной ткани межплацентарной зоны значимо отличалась от структуры ткани плацентарных участков. В популяции преобладали средние гладкомышечные клетки, доля больших миоцитов была в два раза меньше, а малых клеток – в три раза больше, чем в плацентарной зоне. Наиболее высокое содержание малых и средних гладкомышечных клеток в межплацентарной зоне обуславливает более высокий потенциал миометрия для предстоящей послеродовой трансформации.

Ключевые слова: межплацентарная зона, миометрий, гладкий миоцит, гладкая мышечная ткань матки.

Ответственный за переписку: Долгих Ольга Васильевна, адрес: 163000, г. Архангельск, просп. Троицкий, д. 51; e-mail: olvado@mail.ru

Для цитирования: Долгих О.В., Агафонов Ю.В., Зашихин А.Л., Меньшикова М.В. Особенности структурно-функциональных преобразований миометрия межплацентарных зон рогов матки крыс в период гестации // Журн. мед.-биол. исследований. 2018. Т. 6, № 3. С. 236–242. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.3.236

Известно, что течение беременности и родов, состояние плода и новорожденного во многом определяются характером сократительной деятельности матки, а именно слаженностью работы гладкомышечных клеток (ГМК) миометрия различных отделов. Не вызывает сомнения тот факт, что фундаментальные знания о строении миоцитов миометрия и механизмах их сокращения необходимы для разработки эффективных методов профилактики и терапии патологий родовой деятельности. Следует отметить, что трудность исследований данного органа у человека в период беременности заключается в сложности получения материала, поэтому сравнительное изучение функциональной анатомии миометрия матки различных видов млекопитающих является единственным способом, который может помочь в раскрытии основных закономерностей трансформации тканей матки.

Матка у крыс, как и у человека, слоистого типа и образована эндометрием, миометрием и периметрием. Основная моторная функция матки преимущественно реализуется за счет деятельности миоцитов миометрия [1–3]. Однако матка крысы имеет особенности строения: состоит из тела, двух рогов и шейки. Маточные рога приспособлены для вынашивания плодов, а тело и шейка матки участвуют в родовом акте. Важным является и наличие участков, которые находятся между плодовместилищами и во время беременности могут выполнять сфинктерную функцию. В литературе нам не удалось обнаружить данных о структурно-функциональной организации и перестройках миометрия в межплацентарных зонах рогов матки крыс. В связи с этим целью исследования стало изучение морфологических характеристик миоцитов межплацентарных зон рогов матки крыс при беременности. Отличительной особенностью данного исследования является изучение изолированных ГМК, что позволит с

большой достоверностью определить линейные и структурно-метаболические параметры миоцитов матки, на основе этих данных установить структуру популяции и оценить пролиферативный потенциал гладкой мышечной ткани (ГМТ) разных зон рогов матки крысы в период гестации.

Материалы и методы. Исследования проведены на 20 белых беспородных половозрелых крысах массой 200–250 г: первую (контрольную) группу составили небеременные крысы ($n = 5$), вторую группу – беременные самки ($n = 15$, по 5 особей на каждый период наблюдения). Экспериментальные исследования проводили в соответствии с «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных» (2011)¹. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом. Образцы тканей межплацентарных и плацентарных зон рогов матки брали утром: у небеременных (интактных) крыс – на стадии диэструса, у экспериментальной группы – на 4-, 12- и 20-е сутки беременности.

Для анализа мышечной ткани использовали метод прицельной клеточной диссоциации², позволяющий точно выделять фрагменты гладкой мускулатуры и осуществлять последующее разделение ГМК. ДНК в ядрах определяли в строго идентичных условиях по методу Фельгена, контролем служили мазки, не подвергнутые гидролизу в растворе соляной кислоты. Суммарный белок цитоплазмы выявляли амидо-черным 10Б. Цитоспектрофотометрию проводили одноволновым методом на сканирующем цитофотометре МФТХ-2М («ЛОМО», Россия), оборудованном монохроматором. Содержание ДНК в ядрах и суммарный белок цитоплазмы определяли методом сканирования. ДНК фотометрировали при длине волны 546 нм, а суммарный белок цитоплазмы – при 580 нм зондом диаметром 0,5 мкм. Одновременно устанавливали линейные размеры ГМК

¹Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C., 2011. 137 p.

²Способ получения препаратов изолированных клеток: пат. 2104524 Рос. Федерация / А.Л. Зашихин, Ю.В. Агафонов, Л.В. Лисишников. № 94018751/14Э; заявл. 23.05.1994, опубл. 10.02.98, Бюл. № 4.

и их ядер при помощи окулярного микрометра МОВ-1-15х в двух взаимно перпендикулярных плоскостях. Объемы ГМК и их ядер рассчитывали по формуле эллипсоида вращения. Пролиферативный потенциал оценивали, сравнивая содержание в популяции гиперплоидных клеток, которые выделяли на основе анализа гистограмм распределения показателей оптической плотности ДНК в ядрах ГМК.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Statistica 6.0». Определяли числовые характеристики переменных, проводили оценку соответствия вида распределения признака закону нормального распределения, оценку значимости различных количественных показателей в независимых выборках с использованием *t*-критерия Стьюдента. Результаты тестов считались статистически значимыми при $p < 0,005$.

Результаты. Анализ характера распределения гладких миоцитов по показателю их объема выявил, что в контрольной группе (небеременные крысы) ГМК представлена тремя типами клеток: малыми, средними и большими, различающимися по морфометрическим показателям.

Каждая субпопуляция ГМК отличалась уровнем синтеза ДНК в ядрах и суммарного белка в цитоплазме.

Сравнительный анализ изолированных миоцитов показал однонаправленную динамику среднего объема ГМК (рис. 1). Наблюдалось значительное снижение данного показателя в 1-ю неделю беременности в плацентарной ($1168,15 \pm 75,00$ мкм³) и межплацентарной зонах (1540 ± 114 мкм³) рогов по сравнению с контрольной группой – $2721,77 \pm 138,67$ мкм³ ($p < 0,001$). На 3-ей неделе беременности отмечалось увеличение объема с максимальными значениями в плацентарной и межплацентарной зонах $5335,47 \pm 240,36$ и $4649,96 \pm 382,43$ мкм³ соответственно ($p < 0,001$).

В основе изменения среднего объема ГМК лежало изменение структуры популяции, что привело на ранних сроках беременности к увеличению численности малых миоцитов с 17 до 71 % ($p = 0,0017$) в межплацентарной зоне и с 17 до 88 % ($p = 0,0043$) в зоне развития плода, а к концу беременности в популяции ГМК плацентарной зоны количество средних миоцитов составляло 51 % ($p < 0,001$), больших – 44 %

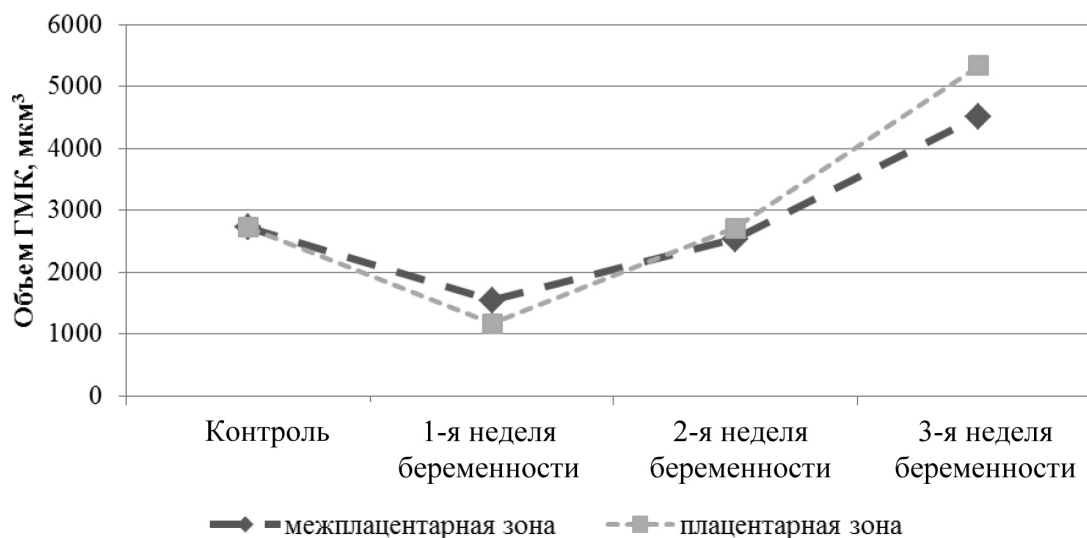


Рис. 1. Изменение среднего объема гладких мышечных клеток разных участков рогов миометрия крыс при развитии беременности

($p < 0,001$), в межплацентарной зоне преобладали средние миоциты (63 %; $p < 0,001$), количество малых и больших клеток было приблизительно равным (рис. 2).

Анализ распределения ГМК с учетом плоидности ядер показал, что на 1-й неделе беременности наблюдалось увеличение синтеза ДНК в миоцитах плацентарной и межплацентарной зон, а к концу гестационного периода происходило снижение количества гиперплоидных клеток в обоих участках – до 3 % ($p = 0,0067$) и 7 % ($p = 0,0038$) соответственно. Наибольшая доля гиперплоидных миоцитов наблюдалась в группе малых ГМК на всех сроках беременности, а также было отмечено значительное количество гиперплоидных клеток среди группы больших миоцитов до середины беременности в области между развивающимися плодами.

Содержание суммарного белка в цитоплазме миоцитов обеих зон рогов матки крыс во время беременности возрастало по сравнению с контрольной группой и достигало своего мак-

симума: в области плаценты – на 3-ей неделе беременности, а в межплацентарной зоне – на 2-й неделе. К концу гестационного периода отмечалось снижение данного показателя на межплацентарном участке.

Обсуждение. Ранее при исследовании разных отделов (рогов, тела, шейки) матки крысы при беременности нами было отмечено, что наиболее выраженные гистологические изменения и перестройки популяции ГМТ по сравнению с контрольной группой наблюдаются в рогах матки крыс [4]. Во время беременности каждый участок матки обладает различной сократительной активностью [5], что в конечном итоге не позволяет матке сокращаться целиком. Это способствует сохранению базального тонуса и стабильного внутриматочного давления [6]. Результаты настоящего исследования подтверждают взаимосвязь функциональной нагрузки и структурно-метаболических параметров ГМТ плацентарных и межплацентарных зон, обладающих различной сократительной

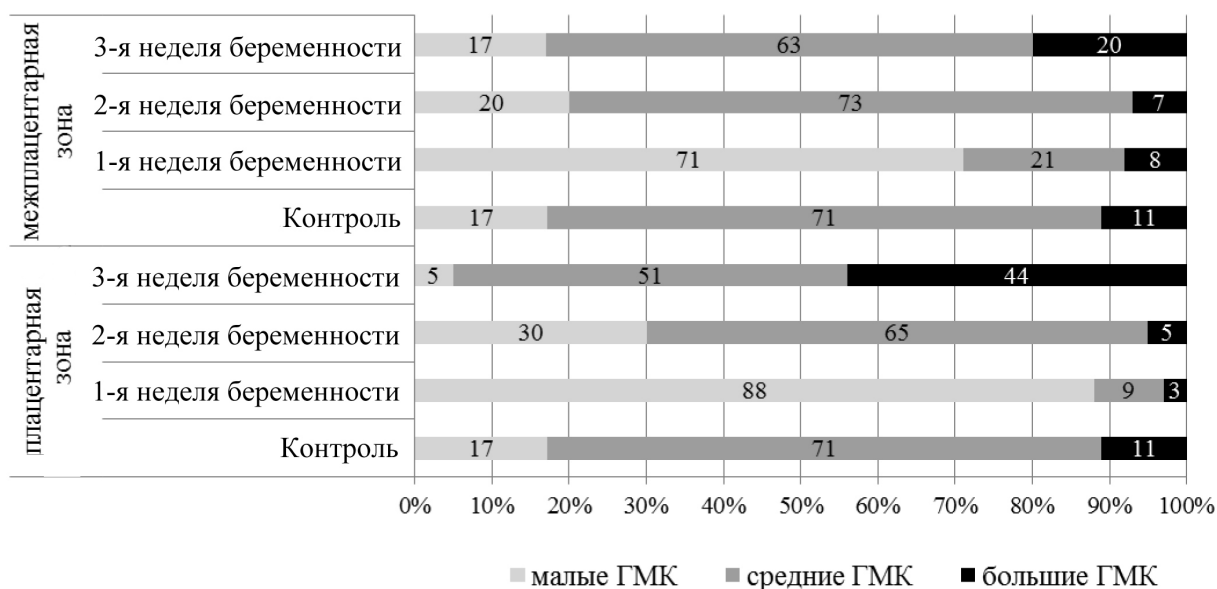


Рис. 2. Изменение структуры популяции гладких мышечных клеток разных участков рогов миометрия крыс при развитии беременности

активностью. Структура популяции плацентарной и межплацентарной зон рогов на 1-й неделе беременности характеризуется преобладанием малых клеток, связанным с увеличением пролиферативного потенциала матки, что обуславливает состояние гиперплазии миоцитов в первой половине беременности, которые затем подвергаются гипертрофии [7, 8]. К концу гестационного периода в плацентарной зоне рогов наблюдается увеличение среднего объема клеток и в структуре популяции значительно возрастает доля больших миоцитов. В то же время трансформация миометрия межплацентарных зон рогов сопровождается увеличением доли средних миоцитов – функционально-активной группы клеток, что позволяет выполнять этим участкам функцию сфинктера во время беременности.

Усиление синтеза ДНК на 1-й неделе беременности является необходимым условием для поддержания структуры популяции и достаточного камбиального потенциала, обеспечивающего физиологическую трансформацию и адаптацию к изменяющимся функциональным нагрузкам. Надо отметить, что, при общем снижении синтеза ДНК к концу беременности в ядрах ГМК обеих зон, большее количество гиперплоидных клеток наблюдается в межплацентарном участке.

На протяжении беременности происходит постепенное и закономерное повышение содержания цитоплазматических белков. Максимальных значений данный параметр достигает непосредственно перед родами. Это согласуется с полученными ранее данными о том, что миоциты с большим содержанием

сократительного аппарата в цитоплазме являются теми клетками, которые обеспечивают длительный тонический процесс сокращения матки в родах [9, 10]. Более низкое содержание цитоплазматических белков в конце беременности в области межплацентарных участков, вероятно, создает условия для быстрого растяжения этих зон рогов матки крыс при родовой деятельности.

Динамика структурно-функциональной организации ГМТ плацентарной и межплацентарной зон рогов матки крыс до 2-й недели гестации имеет схожий характер. В конце гестационного периода структура ГМТ межплацентарного участка значительно отличается от плацентарной зоны. В популяции ГМК преобладают средние миоциты, определяющие сфинктерную функцию данных участков в рогах матки крыс, почти в 2 раза меньше количество больших клеток и в 3 раза больше малых ГМК. Более высокое количество малых и средних миоцитов и большее содержание гиперплоидных клеток в межплацентарной зоне обуславливает более высокий адаптационный потенциал миометрия для предстоящей послеродовой трансформации.

Полученные данные о различии структурно-метаболических параметров ГМК разных зон рогов матки крыс во время беременности расширяют и уточняют современные представления о физиологических механизмах адаптивной трансформации миометрия, что может найти применение при изучении гладкой мускулатуры матки при беременности и родах, а также служить основой для исследования патологических состояний в акушерстве.

Список литературы

1. *Cretoiu S.M., Cretoiu D., Marin A., Radu B.M., Popescu L.M.* Telocytes: Ultrastructural, Immunohistochemical and Electrophysiological Characteristics in Human Myometrium // *Reproduction*. 2013. Vol. 145, № 4. P. 357–370.
2. *Young R.C.* Myocytes, Myometrium and Uterine Contractions // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2007. Vol. 1101. P. 72–84.
3. *Escalante N.M.M., Pino J.H.* Arrangement of Muscle Fibers in the Myometrium of the Human Uterus: A Mesoscopic Study // *MOJ Anatomy & Physiology*. 2017. Vol. 4, № 2. P. 131–135.

4. Долгих О.В., Агафонов Ю.В., Зашихин А.Л. Адаптивная трансформация миометрия крыс при развитии беременности и после родов // *Морфология*. 2012. Т. 142, № 5. С. 59–63.

5. 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.

6. Григорьева Ю.В., Ямщиков Н.В., Ренц Н.А., Бормотов А.В., Хуторская Н.Н., Чемидронов С.Н. Ультраструктурная характеристика миометрия «зрелой» шейки матки крыс в родах // *Изв. Самар. науч. центра РАН*. 2014. Т. 16, № 5(2). С. 687–690.

7. Mosher A.A., Rainey K.J., Bolstad S.S., Lye S.J., Mitchell B.F., Olson D.M., Wood S.L., Slater D.M. Development and Validation of Primary Human Myometrial Cell Culture Models to Study Pregnancy and Labour // *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013. Vol. 13, suppl. 1.

8. Shynlova O., Kwong R., Lye S.J. Mechanical Stretch Regulates Hypertrophic Phenotype of the Myometrium During Pregnancy // *Reproduction*. 2010. Vol. 139, № 1. P. 247–253.

9. Григорьева Ю.В., Ямщиков Н.В., Ренц Н.А., Бормотов А.В. Морфологическая характеристика миоцитов миометрия матки крыс при беременности и родах // *Фундам. исследования*. 2013. № 12-2. С. 195–199.

10. Павлович Е.Р., Ботчей В.М., Подтетев А.Д. Количественный морфологический анализ миометрия матки первородящих женщин с физиологической родовой деятельностью // *Успехи соврем. естествознания*. 2005. № 12. С. 27–30.

References

1. Cretoiu S.M., Cretoiu D., Marin A., Radu B.M., Popescu L.M. Telocytes: Ultrastructural, Immunohistochemical and Electrophysiological Characteristics in Human Myometrium. *Reproduction*, 2013, vol. 145, no. 4, pp. 357–370.

2. Young R.C. Myocytes, Myometrium, and Uterine Contractions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2007, vol. 1101, pp. 72–84.

3. Escalante N.M.M., Pino J.H. Arrangement of Muscle Fibers in the Myometrium of the Human Uterus: A Mesoscopic Study. *MOJ Anatomy & Physiology*, 2017, vol. 4, no. 2, pp. 131–135.

4. Dolgikh O.V., Agafonov Yu.V., Zashikhin A.L. Adaptivnaya transformatsiya miometriya krysv pri razvitiy beremennosti i posle rodov [Adaptive Transformation of Rat Myometrium with the Progression of Pregnancy and After Parturition]. *Morfologiya*, 2012, vol. 142, no. 5, pp. 59–63.

5. Kazaryan K.V., Unanyan N.G., Akopyan R.R. Kharakteristiki elektrofiziologicheskikh svoystv raznykh otdelov matki i prigranichnoy s ney oblasti matochnoy trubyy u krysv [Characteristics of the Electrophysiological Properties of Different Uterus Regions and the Adjacent Uterine Tube in Rats]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*, 2010, vol. 96, no. 10, pp. 981–987.

6. Grigor'eva Yu.V., Yamshchikov N.V., Rents N.A., Bormotov A.V., Khutorskaya N.N., Chemidronov S.N. Ul'trastrukturnaya kharakteristika miometriya "zreloy" sheyki matki krysv v rodakh [The "Mature" Cervical Rats Myometrium Ultrastructure in Labour]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN*, 2014, vol. 16, no. 5, pp. 687–690.

7. Mosher A.A., Rainey K.J., Bolstad S.S., Lye S.J., Mitchell B.F., Olson D.M., Wood S.L., Slater D.M. Development and Validation of Primary Human Myometrial Cell Culture Models to Study Pregnancy and Labour. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2013, vol. 13, suppl. 1.

8. Shynlova O., Kwong R., Lye S.J. Mechanical Stretch Regulates Hypertrophic Phenotype of the Myometrium During Pregnancy. *Reproduction*, 2010, vol. 139, no. 1, pp. 247–253.

9. Grigor'eva Yu.V., Yamshchikov N.V., Rents N.A., Bormotov A.V. Morfologicheskaya kharakteristika miotsitov miometriya matki krysv pri beremennosti i rodakh [Morphological Characteristics of Rat Uterus Myometrium Myocytes During Pregnancy and Labour]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 2013, no. 12-2, pp. 195–199.

10. Pavlovich E.R., Botchey V.M., Podtetev A.D. Kolichestvennyy morfologicheskiy analiz miometriya matki pervorodiyashchikh zhenshchin s fiziologicheskoy rodovoy deyatel'nost'yu [Quantitative Morphological Analysis of Uterus Myometrium During First Labor with Normal Physiological Activity in Women]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, 2005, no. 12, pp. 27–30.

*Ol'ga V. Dolgikh**, *Yuriy V. Agafonov**, *Andrey L. Zashikhin**, *Marina V. Men'shikova**

*Northern State Medical University
(Arkhangelsk, Russian Federation)

PECULIARITIES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL TRANSFORMATIONS IN INTERPLACENTAL MYOMETRIAL REGIONS OF RAT UTERINE HORNS DURING GESTATION

For gestation and parturition to take a normal course, there should be close cooperation between the uterus regions with different contractile activity which is determined by the structural and functional organization of myometrial smooth muscle tissue (SMT). The purpose of this study was to conduct a comparative morphometric and cytophotometric analysis of SMT in placental and interplacental myometrial regions of rat uterine horns at different stages of gestation. Morphometric parameters of isolated smooth muscle cells (SMCs), DNA content in the nuclei, and total cytoplasmic protein were determined. In the composition of SMT, subpopulations of small, medium-sized and large myocytes were identified, differing in their morphometric and metabolic characteristics. The research revealed that the dynamics of the structural and functional organization of SMT in placental and interplacental regions was unidirectional until mid-gestation. In the first week of gestation, the number of small cells with the greatest proliferative potential increased significantly compared to other subpopulations of SMCs. In the second week, the population was mostly comprised of medium-sized myocytes; proliferative activity decreased and the share of SMCs with high levels of cytoplasmic proteins increased. At the end of gestation period, the structure of SMT in interplacental regions differed significantly from that of placental regions. Medium-sized SMCs prevailed in the population, while the share of large myocytes was half and that of small cells thrice as large as in placental regions. Such prevalence of small and medium-sized SMCs in interplacental regions increases the potential of the myometrium for subsequent post-natal transformation.

Keywords: *interplacental region, myometrium, smooth myocyte, uterine smooth muscle tissue.*

Поступила 13.03.2018
Received 13 March 2018

Corresponding author: *Ol'ga Dolgikh*, address: prosp. Troitskiy 51, Arkhangelsk, 163000, Russian Federation; e-mail: olvado@mail.ru

For citation: Dolgikh O.V., Agafonov Yu.V., Zashikhin A.L., Men'shikova M.V. Peculiarities of Structural and Functional Transformations in Interplacental Myometrial Regions of Rat Uterine Horns During Gestation. *Journal of Medical and Biological Research*, 2018, vol. 6, no. 3, pp. 236–242. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.3.236