

СИМПАТИЧЕСКИЙ НЕРВНЫЙ АППАРАТ МАТКИ КРЫС В ПРОЦЕССЕ БЕРЕМЕННОСТИ И ПОСЛЕРОДОВОЙ ИНВОЛЮЦИИ

Сергей Валерьевич Диндяев¹, Денис Витальевич Касаткин², Федор Александрович Ромашин¹

¹Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии

ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России, г. Иваново, Россия

²Медицинский центр «Уромед», г. Иваново, Россия

Аннотация. В эксперименте на 124 беспородных самках крыс репродуктивного возраста проведено флуоресцентно-гистохимическое изучение пространственной организации симпатического нервного аппарата тела матки крыс и изменений содержания катехоламинов и серотонина в нервных волокнах в течение беременности и послеродовой инволюции. Установлено, что к 15-м суткам беременности флуоресценция нервных волокон в матке полностью исчезает и начинает восстанавливаться с 3-х суток после родов. Максимальный уровень нейромедиаторов в нервных волокнах наблюдается в первые сутки беременности, в последующем он снижается до нулевых значений на 15-е сутки. Синхронно уменьшается количество клеток с положительной экспрессией гена Ki-67. В послеродовой период плотность распределения нервных волокон в миометрии и содержание в них катехоламинов и серотонина постепенно увеличиваются и достигают максимальных значений на 10-е сутки.

Ключевые слова: симпатические нервные волокна, серотонин, катехоламины, матка крыс, беременность, послеродовой период

Для цитирования: Диндяев С. В., Касаткин Д. В., Ромашин Ф. А. Симпатический нервный аппарат матки крыс в процессе беременности и послеродовой инволюции. Верхневолжский медицинский журнал. 2025; 24(1): 54–58

SYMPATHETIC NERVOUS APPARATUS OF THE UTERUS DURING PREGNANCY AND POSTPARTUM INVOLUTION IN RATS

S. V. Dindyaev¹, D. V. Kasatkin², F. A. Romashin¹

¹Ivanovo State Medical University, Ivanovo, Russia,

²Medical center «Uromed», Ivanovo, Russia

Abstract. In an experiment on 124 mongrel female rats of reproductive age, a fluorescence-histochemical study was carried out of the spatial organization of the sympathetic nervous apparatus of the rat uterine body and changes in the content of catecholamines and serotonin in nerve fibers during pregnancy and postpartum involution. It has been established that by the 15th day of pregnancy, the fluorescence of nerve fibers in the uterus completely disappears and begins to recover from the 3rd day after delivery. The maximum level of neurotransmitters in nerve fibers is observed on the first day of pregnancy, subsequently it decreases to zero values on the 15th day. The number of cells with positive expression of the Ki-67 gene decreases synchronously. In the postpartum period, the density of distribution of nerve fibers in the myometrium and the content of catecholamines and serotonin in them gradually increase and reach maximum values on the 10th day.

Key words: sympathetic nervous fibers, serotonin, catecholamines, rat uterus, pregnancy, postpartum postpartum period

For citation: Dindyaev S. V., Kasatkin D. V., Romashin F. A. Sympathetic nervous apparatus of the uterus during pregnancy and postpartum involution in rats. Upper Volga Medical Journal. 2025; 24(1): 54–58

Введение

Матка находится под регуляторным контролем многочисленных биологически активных веществ, не последнюю роль среди которых играют нейромедиаторы симпатического нервного аппарата [1–4]. Примечательно, что симпатическая иннервация матки может изменяться в зависимости от физиологических колебаний уровня половых гормонов [5]. Нарушения иннервации матки оказывают резкое и негативное влияние на гистофизиологию органа, снижают вероятность беременности, а также увеличивают риск ее невынашивания и недоношенности [6].

В имеющихся нейроморфологических работах, посвященных изучению симпатического аппарата матки в процессе беременности и пуэрперия, отсутствуют данные о количественных изменениях параметров, оценивающих пространственное распределение нервных элементов и содержание в них нейромедиаторов.

Целью исследования явилось изучение пространственной организации симпатического нервного аппарата тела матки крыс и изменений содержания катехоламинов и серотонина в нервных волокнах в течение беременности и послеродовой инволюции.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на 124 беспородных самках крыс репродуктивного возраста стандартной массы, которые были распределены по 5 животных на следующие сроки эксперимента: 1, 4, 6, 7, 9, 10, 15, 16, 20, 21 дни беременности и 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 и 15 дни после родов. Для исследования применялись нефиксированные срезы тела матки толщиной 20 мкм, полученные с помощью криостата. Из эксперимента животных выводили с помощью дислокации шейных позвонков. На проведение работы получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России (протоколы № 4 от 06.05.2010 г., № 6 от 09.12.2015 г.).

Для флуоресцентно-гистохимического выявления симпатических нервных элементов полученные срезы обрабатывали по модифицированному методу А. Бьёрклунда [7]. Для оценки распределения флуоресцирующих нервных элементов в матке применяли метод точечного счета и линейного интегрирования [8].

Иммуногистохимическое исследование проводили с помощью набора для детекции ultraView Universal DAB Detection Kit производства Ventana Medical Systems (Ventana) с использованием мышинных моноклональных антител к белку: 1) МКАТ к белку Ki-67, направленными на С-концевую часть антигена Ki-67 — маркера пролиферации клеточных популяций; 2) МКАТ к гену, стимулирующему апоптоз — anti-p53 (BP53-11).

При проведении исследования использовали систему визуализации BioGenex (QD 630-ХАК) Super Sensitive one-step Polymer — HRP Kit/DAB. Коричневая окраска цитоплазмы свидетельствовала о положительной реакции на белок anti-p53, а коричневое окрашивание ядра — об экспрессии белка Ki-67. Подсчет положительно окрашенных клеток осуществляли в десяти полях зрения (увеличение $\times 400$), результат оценивали в процентах.

С помощью электронных таблиц Excel проводили статистический анализ полученных данных. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Симпатические нервные волокна дифференцировали по их флуоресценции ярко-зеленым цветом (рис. 1). Большинство из них входит в состав периваскулярных сплетений (ПВС). Реже встречаются одиночно расположенные нервные волокна (терминали).

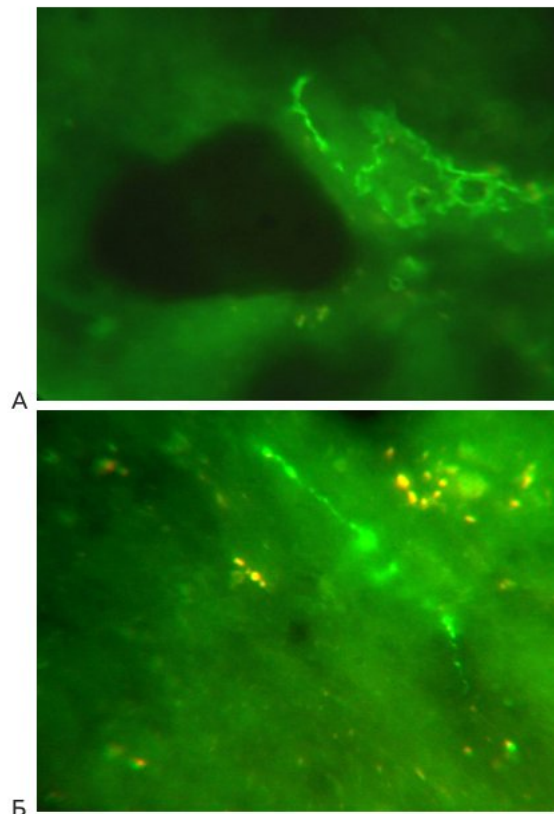


Рис. 1. Симпатические нервные волокна в составе периваскулярных симпатических сплетений (А) и одиночно расположенные нервные волокна (Б) мышечной оболочки тела матки крысы; 1-е сутки беременности. Метод Бьёрклунда в модификации; микроскоп ЛЮМАМ И3, об. 90 мм.; камера Levenhuk M500 Base, переходник Touptek Photonics FMA050

Fig. 1. Sympathetic nerve fibers in the perivascular sympathetic plexuses (A) and singly located nerve fibers (B) of the muscular layer of the rat uterus; 1st day of pregnancy. Modified Björklund's method; LUMAM I3 microscope, 90 mm focal length; Levenhuk M500 Base camera, Touptek Photonics FMA050 adapter

Основная часть элементов симпатического нервного аппарата локализуется в мышечной оболочке в составе ПВС. В слизистой оболочке нервные волокна нами обнаружены только в первые дни беременности. Некоторыми исследователями отмечается отсутствие симпатической иннервации эндометрия [9].

Показатели, оценивающие пространственное распределение нервных волокон, изменяются в процесс беременности и послеродовой инволюции. Начиная со 2-х суток беременности, они снижаются и достигают нулевых значений к 15-м суткам (рис. 2), до конца беременности флуоресценция нервных волокон больше не выявляется.

Подобно динамике плотности пространственно-распределения нервных волокон изменяется и содержание в них катехоламинов и серотонина (рис. 3).

В первые сутки беременности наблюдается максимальный уровень нейромедиаторных биоаминов в варикозных расширениях и межварикозных участках нервных волокон как в составе ПВС, так и свободно расположенных. В дальнейшем происходит постепенное снижение этого показателя вплоть до 15-х суток, когда исчезает флуоресценция нервных волокон во всех оболочках матки.

В послеродовом периоде выявляемость нервных волокон в мышечной оболочке отмечается с 3-х суток. Вначале дифференцируются редкие короткие нервные волокна с нечетко выраженными варикозными расширениями. В слизистой оболочке немногочисленные флуоресцирующие нервные волокна выявляются только на 10-е сутки после родов.

Показатели, оценивающие плотность пространственного распределения одиночных нервных волокон в мышечной оболочке, достигают максимальных значений на 10-е сутки, причем первые несколько суток изменения носят недостоверный характер (рис. 2).

Основная часть флуоресцирующих нервных волокон миометрия тела матки представлена периваскулярными сплетениями, флуоресценция которых

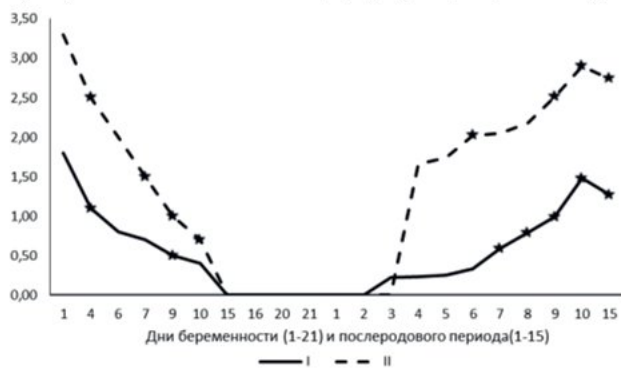


Рис. 2. Изменения показателей пространственной плотности распределения одиночных нервных волокон (I) и удельной плотности периваскулярных сплетений (II) в мышечной оболочке тела матки крыс в течение беременности и послеродового периода

Примечание: по оси ординат — средние показатели параметров, по оси абсцисс — сутки беременности (1–21) и после родов (1–15).

★ — достоверность отличий данного показателя от аналогичного в предыдущем сроке исследования

Fig. 2. Changes in the indices of spatial density of distribution of single nerve fibers (I) and specific density of perivascular plexuses (II) in the muscular membrane of the uterine body of rats during pregnancy and the postpartum period
 Note: The ordinate axis shows the average indices of the parameters, the abscissa axis shows the days of pregnancy (1–21) and after birth (1–15).

★ — reliability of differences of this index from the same one in the previous period of the study

наблюдается с 4-х суток. Показатели пространственной организации периваскулярных сплетений (площадь флуоресцирующего профиля сосудов, пространственная и удельная плотности) в исследуемый период имеют минимальные значения на 4-е сутки. Динамика указанных параметров в течение послеродовой инволюции аналогична изменениям пространственной плотности терминалей (рис. 2).

Среднее содержание исследуемых нейромедиаторов в нервных волокнах мышечной оболочки минимально на 3-5-е сутки, постепенно возрастая, оно достигает максимума к 10-м суткам (рис. 3).

Корреляционные связи количественных отношений между уровнем катехоламинов и серотонина в каждой отдельной точке цитоспектрофлуориметрического зондирования флуоресцирующих нервных волокон в процессе беременности характеризуются высокой степенью линейной корреляции ($r = 0,82-0,89$) в течение всего периода активной флуоресценции нервных волокон. В послеродовом периоде в нервных волокнах в составе ПВС мышечной оболочки отмечается высокая степень линейной корреляции содержания нейромедиаторов ($r = 0,80-0,98$) во все исследуемые сроки. Для одиночных нервных волокон также характерна сильная связь содержания серотонина и катехоламинов ($r > 0,7$), и только в 3-и

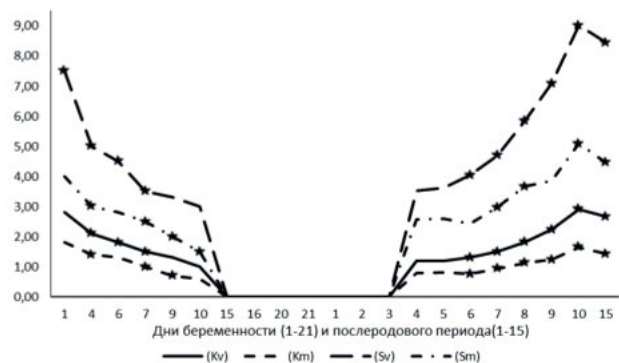


Рис. 3. Изменение содержания катехоламинов и серотонина в нервных волокнах в составе ПВС мышечной оболочки тела матки крыс в течение беременности и послеродового периода. По оси ординат — содержание нейромедиатора в условных единицах, по оси абсцисс — сутки беременности (1–21) и послеродового периода (1–15)

Примечание: (Kv) — содержание катехоламинов в варикозных расширениях, (Sv) — содержание серотонина в варикозных расширениях, (Km) — содержание катехоламинов в межварикозных участках, (Sm) — содержание серотонина в межварикозных участках

★ — означает достоверность отличий данного показателя от аналогичного в предыдущем сроке исследования

Fig. 3. Changes in the content of catecholamines and serotonin in nerve fibers in the PVS of the muscular coat of the uterus of rats during pregnancy and the postpartum period. The ordinate axis shows the content of the neurotransmitter in conventional units, the abscissa axis shows the day of pregnancy (1–21) and the postpartum period (1–15)

Note: (Kv) is the content of catecholamines in varicose veins, (Sv) is the content of serotonin in varicose veins, (Km) is the content of catecholamines in intervaricose areas, (Sm) is the content of serotonin in intervaricose areas

★ — reliability of differences of this indicator from a similar one in the previous period of the study

и 4-е сутки в варикозных расширениях терминалей тела коэффициент линейной корреляции составил 0,63 и 0,65, соответственно.

Таким образом, после родов происходит восстановление высокого уровня взаимосвязи уровней катехоламинов и серотонина в нервных элементах миометрия, необходимого для поддержания гомеостаза как в пределах отдельной оболочки, так и всего органа в целом [7, 8].

Наши исследования подтверждают данные литературы о снижении выраженности иннервации в ходе беременности с увеличением ее срока. Это явление часто трактуется как «симпатическая денервация» [9, 10]. Мы не исключаем того факта, что полной истинной симпатической денервации матки крыс в процессе беременности и не происходит. Наблюдаемое нами исчезновение флуоресценции нервных волокон может быть связано с исчезновением в них нейромедиаторов, особенно в ПВС. И они становятся так называемыми «молчащими» волокнами. Установлено, что в регуляции иннервации миометрия принимает активное участие фактор роста нервов NGF-в [9].

В.И. Циркин и соавт. считают, что при беременности происходит изменение природы медиатора [2]. Авторы предполагают, что вместо норадреналина и адреналина медиатором временно становится тирозин – аналог эндогенного сенсibilизатора бета-адренорецепторов (ЭСБАР).

На протяжении всего периода беременности в мышечной оболочке нами выявлялись клетки с положительной экспрессией гена Ki-67 (рис. 4А), количество которых уменьшалось с $5,45 \pm 0,43$ % в 1-е сутки беременности до $1,1 \pm 0,23$ % на 10-е сутки и незначительно увеличивалось до $2,12 \pm 0,34$ % на 20-е сутки.

Результаты исследований О.В. Долгих с соавт. [11] согласуются с нашим мнением, что гиперплазия клеток миометрия во время беременности связана как с пролиферацией соединительнотканых клеток, так и гладких миоцитов. После 14-го дня беременности срыс, т.е. с того времени, когда нами установлено отсутствие флуоресценции симпатических нервных волокон, в миометрии активируется апоптоз миоцитов [11]. Возможно, уровень нейромедиаторов является одним из регуляторов апоптоза миоцитов миометрия.

Апоптоз миоцитов является одним из важнейших морфогенетических процессов в течение послеродовой инволюции матки [11]. По результатам нашего исследования, к 5-м суткам послеродового периода значительно снижается частота клеток мышечной оболочки с положительной экспрессией гена p53 апоптоза – до $35,2 \pm 0,38$ % (с $70,12 \pm 0,85$ % в предшествующие сутки) (рис. 4Б).

Отметим, что к 7-м суткам после родов содержание NGF и мРНК возвращается к норме [10]. Нам установлено, что с этого времени наблюдается значительное увеличение плотности флуоресцирующих нервных волокон в миометрии. Полное же восстановление симпатической иннервации матки крыс происходит к 10-м суткам послеродового периода, когда все исследуемые нами параметры соответствуют показателям, характерным для стадии позднего

диэструса эстрального цикла [8], а на 15-е сутки – для стадии проэструса. Это почти совпадает с данными А. Klukovits с соавт. [3] отмечавших, что восстановление симпатической иннервации матки крыс происходит на 8-е сутки.

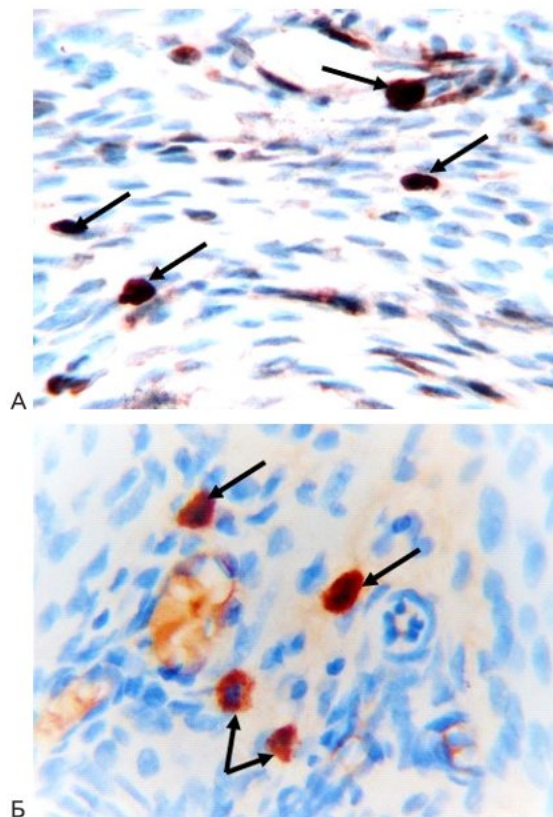


Рис. 4. Мышечная оболочка тела матки крысы: А – 3-и сутки беременности, Б – 7-е сутки послеродового периода. Иммуногистохимическая реакция к гену пролиферации Ki-67 (А), к гену, стимулирующему апоптоз – anti-p53 (Б), докраска гематоксилином; объектив 40; камера Levenhuk M500 Base. Клетки с положительной экспрессией к гену отмечены стрелкой

Fig. 4. Muscle membrane of the rat uterus: A – 3rd day of pregnancy, B – 7th day of the postpartum period. Immunohistochemical reaction to the proliferation gene Ki-67 (A), to the gene stimulating apoptosis – anti-p53 (B), counterstaining with hematoxylin; 40 objective; Levenhuk M500 Base camera. Note: Cells with positive expression of the gene are marked with an arrow

Заключение

Пространственная организация симпатического нервного аппарата тела матки крыс и уровень катехоламинов и серотонина в нервных волокнах претерпевают изменения в зависимости от срока беременности и пуэрперия. К 15-м суткам беременности в матке полностью исчезает флуоресценция нервных волокон, которая начинает восстанавливаться с 3-х суток послеродовой инволюции.

Установлена высокая степень корреляционной зависимости содержания катехоламинов и серотонина в каждой отдельной точке цитоспектрофлуориметрии флуоресцирующих нервных волокон во время беременности. После родов данная взаимосвязь сначала снижается, а затем восстанавливается до высокого уровня, необходимого для поддержания равновесия процессов анаболизма-катаболизма в соответствии с

гистофизиологическими условиями послеродовой инволюции матки. Восстановление симпатической иннервации мышечной оболочки матки происходит к 10-м суткам послеродового периода.

Список источников

1. Тайтубаева Г.К., Грибачева И.А. Изменения вегетативной нервной системы во время беременности. Уральский медицинский журнал. 2019; 5(173): 67–72.
2. Циркин В.И., Ноздрачев А.Д., Анисимов К.Ю., Сизова Е.Н., Полежаева Т.В., Хлыбова С.В., Морозова М.А., Трухин А.Н., Коротаева Ю.В., Куншин А.А. Механизмы положительной и отрицательной модуляции эффективности активации адренорецепторов и других рецепторов, ассоциированных с G-белком (Обзор литературы). Сообщение 2. Эндогенный сенсibilизатор в-адренорецепторов (ЭСБАР) как положительный модулятор. Вестник уральской медицинской академической науки. 2016; 3(58): 112–136. doi: 10.22138/2500-0918-2016-15-3-112-136
3. Klukovits A., Gáspár R., Sántha P., Jancsó G., Falkay G. Functional and histochemical characterization of a uterine adrenergic denervation process in pregnant rats. Biol Reprod. 2002; 67(3):1013–1017. doi: 10.1095/biolreprod.101.002287
4. Priyanka H.P., Nair R.S. Neuroimmunomodulation by estrogen in health and disease. AIMS Neurosci. 2020; 7(4): 401–417. doi: 10.3934/Neuroscience.2020025
5. Brauer M.M. Plasticity in Uterine Innervation: State of the Art. Curr Protein Pept Sci. 2017; 18(2): 108–119. doi: 10.2174/1389203717666160322145411
6. Kosmas I.P., Malvasi A., Vergara D., Mynbaev O.A., Sparic R., Tinelli A. Adrenergic and Cholinergic Uterine Innervation and the Impact on Reproduction in Aged Women. Curr Pharm Des. 2020; 26(3): 358–362. doi: 10.2174/1381612826666200128092256
7. Dindyaev S.V., Beeraka N.M., Kasatkin D.V., Mikhaylenko E.V., Somasundaram S.G., Kirkland C.E., Aliev G. The Role of Neurogenic Bioamines in Nerve Fibers of Uterus during the Postpartum Involution in Experimental Animal Models. Curr Pharm Des. 2021; 27(27): 3061–3073. doi: 10.2174/1381612827666210322141205
8. Dindyaev S.V., Vinogradov S.Y. The sympathetic neural apparatus of the rat uterus during the sexual cycle. Neurosci Behav Physiol. 2009; 39(3): 241–244. doi: 10.1007/s11055-009-9125-7
9. Lobos E., Gebhardt C., Kluge A., Spanel-Borowski K. Expression of nerve growth factor (NGF) isoforms in the rat uterus during pregnancy: accumulation of precursor proNGF. Endocrinology. 2005; 146(4):1922–1929. doi: 10.1210/en.2004-0925
10. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Ланда И.В. Фактор роста нервов (NGF) и его роль в условиях нормы и патологии. Успехи физиологических наук. 2019; 50(4): 64–80. doi: 10.1134/S0301179819040052
11. 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. Журнал медико-биологических исследований. 2018; 6(3): 236–242. doi: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.3.236

Диндяев Сергей Валерьевич (контактное лицо) – д.м.н., доцент, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России; 153012, Иваново, Шереметевский пр-т, д. 8; dindyaev@mail.ru

*Поступила в редакцию /
 The article received 18.11.2024.*

*Принята к публикации /
 Was accepted for publication 12.01.2025.*