

## СКОРОТЛИВА АКТИВНІСТЬ МІОМЕТРІЮ МИШІ В УМОВАХ ЗМІНИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ МІТОХОНДРІЙ

Калейнікова О.М., Блашків Т.В., Янчій О.Р., Вознесенська Т.Ю.

*Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України*

Відомо, що скоротлива активність міометрію матки важлива як для транспорту гамет, так і для імплантації та розвитку ембріонів. Порушення скоротливої активності міометрії (дискоординовані скорочення, пригнічення чи посилення скорочень) визнається як важлива клінічна проблема, зокрема протягом вагітності та під-час пологів [1].

Вважають, що скоротлива активність гладеньких м'язів, і матки зокрема, залежить від стану скоротливого апарату, функціонування іонно-транспортних та ферментативних систем, клітинних органел тощо. Відомо, що мітохондрії задіяні у контроль внутрішньоклітинних кальцієвих транзїєнтів і, відповідно, в забезпеченні кальцієвої сигналізації в цитозолї, приймаючи таким чином участь у скороченні м'язової тканини. Встановлено, що мітохондрії приймають участь у регуляції роботи пейсмеркерних клітин гладеньких м'язів вісцеральних систем (в матці, фалопієвих трубах, простаті) [2].

Тому метою роботи стало вивчення з використанням методу фазно-графічного аналізу скоротливої активності міометрію миші в умовах зміни функціонального стану мітохондрій фармакологічним інгібуванням: Са уніпортеру, утворення АТФ, мембранного потенціалу, мітохондріального аспартатного переносника.

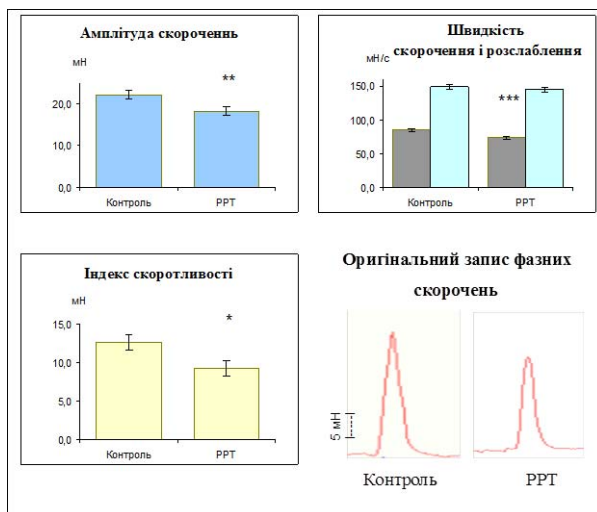
**Матеріали і метод дослідження.** Дослідження проведені на невагітних (8 тижнів, 16-18 г) самках мишей лінії СВА з дотриманням усіх вимог щодо роботи з лабораторними тваринами (Міжнародна конвенція, Страсбург, 1986). В день експерименту, в проміжку часу від 10:00-12:30, здійснювали забір матки і переносили їх в фізіологічний розчин (0,9 % NaCl) на льоду. Для аналізу, оцінки та кількісної характеристики скоротливої активності смужки міометрію застосовували метод фазно-графічного аналізу [3]. Для кількісної характеристики фазних скорочень були взяті наступні параметри скоротливої активності: амплітуда скорочення (мН), частота скорочення (кількість за секунду), тривалість скорочення і розслаблення (сек), тривалість скорочення при половинній амплітуді (W50) (сек), швидкість скорочення і розслаблення (мН/с). Розраховували індекс скоротливості (IC), як добуток Fmax на CVmax/RVmax, мН. Для реєстрації сили ізометричних скорочень смужки біометрію вирізали вздовж із рогів матки під мікроскопом МБС-10 (довжиною до 10 мм і ши-

риною не більше 1 мм, до 4 з одного рогу). В дослідах використовували: 1М розчин  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , з якого при додаванні в розрахованих кількостях до безкальцієвого середовища M0518 отримували 1,71 ммоль/л розчин  $\text{CaCl}_2$ , для приготування базового середовища використовували деіонізовану воду; розчин Кребса (ммоль/л): NaCl – 120; KCl – 5,9;  $\text{NaHCO}_3$  – 15,5;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  – 1,2;  $\text{MgCl}_2$  – 1,2;  $\text{CaCl}_2$  – 2,5; глюкоза – 11,5; мітохондрій-специфічну фарбу (Rh 123) – блокатор утворення АТФ мітохондріями (Sigma, США), яку додавали до розчину Кребса, отримуючи розчин з кінцевою концентрацією діючої речовини 10 мкмоль/л; блокатор кальцієвого уніпортеру (RuR) (Sigma, США, 1 мкмоль/л); інгібітор мітохондріального мембранного потенціалу (FCCP) (Sigma, США, 4 мкмоль/л); інгібітор аспартатного мітохондріального переносника піридоксал-5'-фосфат (інгібітор аспартатамінотрансферази) (PPT) (Sigma, США, 30 мкмоль/л); содіум октаноат (C.O.) (Sigma, США, 0,5 ммоль/л) використовували для відміни впливу інгібітора мітохондріальних переносників; мітохондріальний субстрат малат октаноат, (Sigma, США, 14 ммоль/л). Достовірність різниці середніх значень визначали за t критерієм Стьюдента.

**Результати дослідження.** В ході оцінки результатів дослідження встановлено, що в умовах дії Rh 123, RuR, FCCP та PPT (рисунок 1) зменшувались величина амплітуди скорочення, швидкість розслаблення та індекс скоротливості; тоді як швидкість скорочення вірогідно не змінювалася.

В ході оцінки результатів дослідження встановлено, що в умовах дії Rh 123 зменшувались амплітуда скорочення  $18,22 \pm 1,44$  мН ( $n=8$ ,  $p<0,001$ ) по відношенню до  $22,14 \pm 1,23$  мН в контролі, швидкість скорочення до  $73,39 \pm 2,34$  мН/с ( $n=9$ ,  $p<0,01$ ) по відношенню  $157,98 \pm 2,38$  мН/с в контролі та індекс скоротливості  $8,48 \pm 1,23$  мН ( $n=8$ ,  $p<0,001$ ) по відношенню до  $12,31 \pm 1,47$  мН в контролі. В умовах дії RuR відбувається зменшення амплітуди скорочення  $17,52 \pm 1,23$  мН ( $n=12$ ,  $p<0,001$ ) в порівнянні з  $22,13 \pm 1,47$  мН в контролі, швидкості скорочення до  $84,83 \pm 2,23$  мН/с ( $n=8$ ,  $p<0,01$ ) в порівнянні з  $151,75 \pm 2,83$  мН/с в контролі та індексу скоротливості до  $7,93 \pm 1,26$  мН ( $n=15$ ,  $p<0,001$ ) в порівнянні з  $12,36 \pm 1,73$  мН в контролі. В умовах дії FCCP відбувається зменшення амплітуди скорочення до  $7,32 \pm 1,37$  мН ( $n=9$ ,  $p<0,01$ ) по відношенню з  $72,18 \pm 2,23$  мН в

контролі, швидкості скорочення до  $84,82 \pm 2,13$  мН/с ( $n=9$ ,  $p<0,05$ ) в порівнянні з  $151,78 \pm 2,43$  мН/с в контролі та індексу скоротливості до  $6,16 \pm 1,12$  мН ( $n=8$ ,  $p<0,001$ ) в порівнянні з  $12,44 \pm 1,78$  мН в контролі. Встановлено, що в умовах дії PPT відбувається зменшення амплітуди скорочення до  $18,26 \pm 1,34$  мН ( $n=12$ ,  $p<0,01$ ) по відношенню з  $22,16 \pm 1,71$  мН в контролі, швидкості скорочення до  $84,93 \pm 2,33$  мН/с ( $n=8$ ,  $p<0,05$ ) в порівнянні з  $149,17 \pm 2,47$  мН/с в контролі та індексу скоротливості до  $9,26 \pm 1,17$  мН ( $n=8$ ,  $p<0,001$ ) в порівнянні з  $12,62 \pm 1,03$  мН в контролі. В умовах дії малат октаноату, відбувається збільшення амплітуди скорочення до  $26,75 \pm 1,22$  мН ( $n=9$ ,  $p<0,001$ ) в порівнянні з  $22,07 \pm 1,38$  мН в контролі, швидкості скорочення  $94,19 \pm 1,32$  мН/с ( $n=9$ ,  $p<0,05$ ) в порівнянні з  $84,05 \pm 1,39$  мН/с в контролі і розслаблення до  $171,33 \pm 2,14$  мН ( $n=9$ ,  $p<0,05$ ) в порівнянні  $149,08 \pm 2,37$  мН/с в контролі та індексу скоротливості  $14,70 \pm 1,37$  мН ( $n=11$ ,  $p<0,05$ ) в порівнянні з  $12,46 \pm 1,31$  мН в контролі.



**Рисунок 1.** Вплив блокатора мітохондріальних переносників (піридоксал-5'-фосфата, PPT) на параметри скоротливої активності міометрію миші. \* -  $p<0,001$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,05$  - вірогідність відносно контрольних тварин.

**Обговорення результатів дослідження.** Відомо, що параметри, які характеризують скоротливість міометрію, залежать від моделі «спряження-збудження-скорочення», прийнятої дослідниками. Детальні дослідження зразків міометрію людини, отриманого на кінець вагітності, встановили два типи кривих потенціалів дії: тип плато і тип вибуху. Обидва типи потенціалів дії викликали внутрішньоклітинний  $\text{Ca}^{2+}$  транзйєнт і скорочення, що передбачає синхронну активацію клітин в межах смужки, найбільш ймовірно електричним зчепленням через щільні контакти [4]. Важливо, що спонтанні тривалі  $\text{Ca}^{2+}$ -транзйєнти і скорочення спостерігаються в багатоклітинних препаратах міометрію

людини. Ізольовані ж клітини – нерухомі, або генерують тільки короткі спонтанні  $\text{Ca}^{2+}$ -транзйєнти. Вважають, що тривалий потенціал дії в міометрії людини - властивість клітинної мережі [5].

На сьогодні ще не розроблено детальної математичної моделі скорочення пучка міометрію, хоча для поодинокі клітини опублікована модель де відображено потенціалокеровані  $\text{Ca}^{2+}$ -транзйєнти, майже ідентичні тим, які спостерігають в експериментах на міометрії як людини, так і тварин [6]. Тому біофізична деталізація математичної моделі «спряження-збудження-скорочення» в міометрії людини повинна б відображати поведінку багатоклітинного пучка, а не тільки окремої клітини. Конфокальні відображення  $\text{Ca}^{2+}$  в шарах міометрію людини, забезпечують прямі докази того, що всі клітини в межах міометрального пучка підтримують високий рівень  $\text{Ca}^{2+}$  протягом всієї тривалості фазного скорочення [3].

Відомо, що величина IC ( $\text{Fmax-CVmax/RVmax}$ ) залежить лише від скоротливого стану тканини і відображає зміни в скоротливості незалежно від вмісту не скоротливої тканини в межах зразка [3]. Раніше показано, що на 4-5 день гестації спостерігали зменшення, а на 10-11 день гестації - збільшення індексу скоротливості [7]. Нами досліджено скоротливу активність міометрію не вагітної миші з використанням Rh 123, RuR, FCCP, PPT, малат октаноату та CO. Встановлено, що скоротлива активність міометрію зменшується при застосуванні Rh 123, RuR, FCCP і PPT і зростає при застосуванні малат октаноату. Спираючись на результати власних досліджень та на літературні дані, є підстави стверджувати, що індекс скоротливості змінюється у зв'язку із зміною функціонального стану міоцитів, який залежить як від функціонального стану субклітинних структур (мітохондрій, саркоплазматичного ретикулуму, міофіламентів та ін.), так і від активності клітинних ферментів, стану іонно-транспортних систем тощо.

Важливо наголосити, що вирішальним і основним показником в розрахунку індексу скоротливості, як інтегрального показника скоротливої активності міометрію миші, є величина амплітуди скорочення, яку в свою чергу слід розглянути з врахуванням її температуральних особливостей в умовах зміни функціонального стану мітохондрій.

**Висновки:** Досліджено скоротливу активність міометрію не вагітної миші з використанням Rh 123, RuR, FCCP, PPT, малат октаноату та CO. Вперше встановлено, що порушується скоротлива активність міометрію миші в умовах зміни функціонального стану мітохондрій (за допомогою фармакологічних препаратів: блокаторів роботи Са уніпортеру, величини мітохондріального потенціалу,

функціонування аспартатного переносника, малат октаноату).

Метою подальшого дослідження має стати вивчення темпоральних особливостей ве-

личини амплітуди скорочень міометрію миші за експериментальних умов фармакологічного інгібування аргінази II та NOS.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. **Fanchin R., Ayoubi J.** Uterine dynamics: impact on the human reproduction process // *Reprod. Biomed. Online.* – 2009. – V. 18, № 2. – P. 57-62.
2. **Bursian A.** Pacemakers of visceral systems // *Usp. Fiziol. Nauk.* – 2008. – V. 39, № 4. – P. 3-13.
3. **Gullam J., Blanks A., Thornton S., Shmygol A.** Phase-plot analysis of the oxytocin effect on human myometrial contractility // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – V. 144, № 1. – P. 20-24.
4. **Shynlova O., Tsui P., Jaffer S., Lye S.** Integration of endocrine and mechanical signals in the regulation of myometrial functions during pregnancy and labour // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2009. – V. 144, № 1. – P. 2-10.
5. Control of uterine  $Ca^{2+}$  by membrane voltage: toward understanding the excitation-contraction coupling in human myometrium / **A.Shmygol, A.Blanks, G.Bru-Mercier [et al.]** // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2007. – V. 1101. – P. 97-109.
6. **Bursztyn L., Eytan O., Jaffa A., Elad D.** Mathematical model of excitation-contraction in a uterine smooth muscle cell // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2007. – V. 292, № 5. – P. 1816-1829.
7. **Сердюк О.М., Бідзіля Ю.П., Янчій Р.І.** Фазно-графічний аналіз скоротливості міометрію миші в умовах гестації // *Перспективи медицини і біології.* – 2010. – №2. – С. 34-39.

**Калейнікова О.М., Блашків Т.В., Янчій О.Р., Вознесенська Т.Ю.** Скоротлива активність міометрію миші за умов зміни функціонального стану мітохондрій // *Український медичний альманах.* – 2013. – Том 16, № 1. – С. 186-188.

За допомогою фармакологічних препаратів та з використанням методу фазно-графічного аналізу вперше встановлено, що порушується скоротлива активність міометрію миші в умовах зміни функціонального стану мітохондрій.

**Ключові слова:** скоротлива активність міометрію, фазно-графічний аналіз, мітохондрії.

**Калейнікова О.Н., Блашків Т.В., Янчій О.Р., Вознесенская Т.Ю.** Сократительная активность миометрия мыши в условиях изменения функционального состояния митохондрий // *Український медичний альманах.* – 2013. – Том 16, № 1. – С. 186-188.

С помощью фармакологических препаратов и с использованием метода фазно-графического анализа впервые показано, что нарушается сократительная активность миометрия мыши в условиях изменения функционального состояния митохондрий.

**Ключевые слова:** сократительная активность миометрия, фазно-графический анализ, митохондрии.

**Kalejnikova O.N., Blashkiv T.V., Yanchiy O. R., Voznesenskaya T.Yu.** Miometrium contraction activity in conditions of mitochondrion functional changes at mice // *Український медичний альманах.* – 2013. – Том 16, № 1. – С. 186-188.

For the first time it has been investigated miometrium contraction activities of contraction at mice miometrium in conditions of action mitochondrion carriers inhibitor, the mitochondrion pours activator, calcium uniporters inhibitor by the phase-plot analysis.

**Key words:** miometrium contraction activities, phase-plot analysis, mitochondrion.

*Надійшла 18.11.2012 р.*

*Рецензент: проф. Т.П.Тананакіна*