

С.В. Диндяев ¹, Д.В. Касаткин ², Ф.А. Ромашин ¹, Т.С. Пупышева ¹

¹ Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии

ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России,
г. Иваново, Россия

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

СТРУКТУРНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ОБМЕНА ГИСТАМИНА В МЫШЕЧНОЙ ОБОЛОЧКЕ МАТКИ КРЫС ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ И ПОСЛЕРОДОВОМ ПЕРИОДЕ

В результате флуоресцентно-гистохимического исследования с применением ортофталевого альдегида изучено содержание гистамина в клеточных элементах мышечной оболочки тела матки крыс в течение беременности и послеродового периода. Наиболее высокое содержание гистамина в тучных клетках и гладких миоцитах миометрия матки крыс наблюдается перед родами и сразу после них. Установлена отрицательная корреляционная связь между количеством тучных клеток и содержанием в них гистамина. В течение до- и послеродового периодов изменениям уровня гистамина в тучных клетках и гладких миоцитах миометрия свойственна высокая положительная взаимосвязь.

Ключевые слова: миометрий, гистамин, тучные клетки, гладкие миоциты, беременность, послеродовой период.

S.V. Dindyaev ¹, D.V. Kasatkin ², F.A. Romashin ¹, T.S. Pupusheva ¹

¹ Department of Histology, Embryology, Cytology of FSBEI HE "Ivanovo State Medical Academy" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ivanovo, Russia

² Urological centre "Uromed", Ivanovo, Russia

STRUCTURAL SUPPORT OF HISTAMINE METABOLISM IN MYOMETRIUM DURING PREGNANCY AND POSTNATAL PERIOD IN RATS

Histamine content in cellular elements of myometrium in rats during pregnancy and postnatal period was studied by fluorescence histochemical examination with orthophthalic aldehyde. The highest content of histamine in mast cells and in smooth myocytes of rat uterine myometrium was observed before the birth and immediately after it. Negative correlation of mast cells quantity and histamine content in them was determined. There was a high positive relationship during pre- and postnatal periods for histamine level alterations in mast cells and smooth myocytes of myometrium.

Key words: myometrium, histamine, mast cells, smooth myocytes, pregnancy, postpartum period.

Введение

Гистамин является одним из важнейших биогенных аминов, участвующих в регуляции гистофизиологических процессов в клетках, тканях и органах [4, 7, 8, 15]. Гистамин стимулирует сократимость гладких миоцитов, в том числе в матке, вызывает расширение просвета артериол и гемокапилляров [5].

Содержание гистамина в структурах матки зависит от уровня половых стероидных гормонов [11]. При этом сам гистамин участвует в пролиферации эпителиоцитов, стимулированной эстрогенами [15].

Во время беременности гистамин принимает активное участие в ремодулировании тканей матки, влияет на их энергетический и азотный обмен, адаптацию к

гипоксии, регулирует ангиогенез [13, 19], стимулирует метаболическое перепрограммирование клеток, приводящее к пролиферации и дифференцировке клеток матки [15]. Этими же исследователями отмечается, что только те клетки, которые способны адаптировать свой внутриклеточный метаболизм к условиям беременности, могут сохранить собственный гомеостаз и выжить.

Тучные клетки, являясь основным источником гистамина в тканях [12], принимают активное участие в сложных, четко скоординированных гистогенетических процессах ремодулирования и реконструкции тканей матки в течение полового цикла, беременности и послеродового периода [2, 14].

Несмотря на имеющиеся работы, отсутствуют конкретные данные о содержании гистамина в различных структурах миометрия и их рабочей кооперации в различные сроки беременности и послеродового периода.

Цель работы

Изучить содержание гистамина в тучных клетках и гладких миоцитах мышечной оболочки тела матки крыс в течение беременности и послеродового периода.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на 125 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, 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.). Исследование выполнено с соблюдением Хельсинской декларации (2000 г.) и приказа Минздрава России «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (№ 199н от 01.04.2016 г.).

Для флуоресцентно-гистохимического выявления тканевого гистамина полученные срезы обрабатывали по методу Кросса-Эвана-Роста [9] с помощью ортофталевого альдегида («MERCK-Schuchardt», Германия).

Препараты изучали с помощью микроскопа ЛЮАМ-ИЗ (объектив 90 мм., окуляр 7). Контроль обеспечивался инкубацией препаратов без ортофталевого альдегида. Зондом 0,1 фотометрической насадки ФМЭЛ-1А (выходное напряжение 2100В, ФЭУ-73) микроскопа определяли в условных единицах регистратора содержание гистамина в тучных клетках, зондом 0,5 — в гладких миоцитах миометрия.

После флуоресцентно-гистохимического исследования срезы окрашивали по методу Дезага [10] альциановым синим и сафранином для выявления мукополисахаридов в тучных клетках. С помощью стандартной окулярной квадратно-узловой сетки (при использовании окуляра $\times 7$ и объектива $\times 90$ мм. шаг сетки равен 1 мкм) определялась плотность распределения флуоресцирующих тучных клеток (ТКФ) и тучных клеток, выявляемых с помощью метода Дезага (ТКД). За одну вариацию статистического массива принималось количество клеток в 10 полях зрения, начиная с позитивного замера.

Результаты исследования и их обсуждение

Тучные клетки (ТК) на гистологических препаратах дифференцировались по интенсивной зеленовато-желтой флуоресценции гранул в их цитоплазме.

Во время беременности наибольшее количество тучных клеток, выявляемых как флуоресцентно-гистохимическим методом, так и окраской по Дезага, отмечается на 10-е сутки. При этом уровень гистамина в ТК в этот срок один из наиболее низких ($2,08 \pm 0,37$ усл. ед.). Постепенно снижаясь, количество ТК достигает минимальных значений к 21-м суткам. После родов их количество увеличивается и к 10-м суткам пуэрперия достигает максимальных значений (рис. 1).

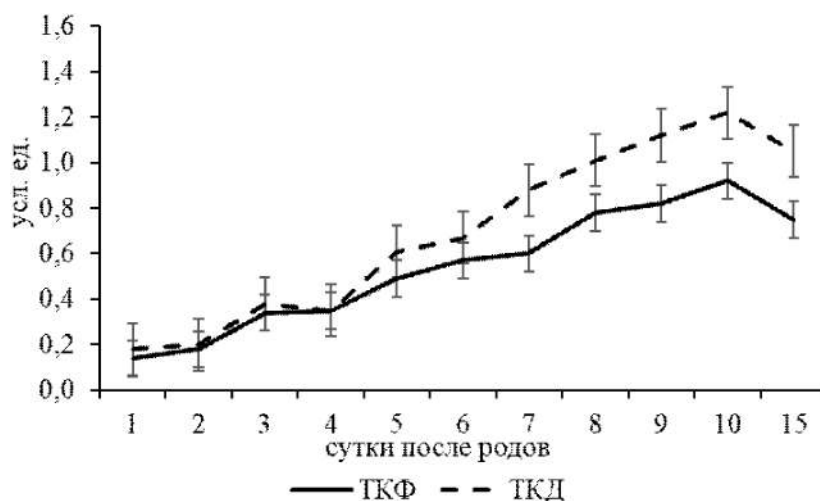


Рис. 1. Изменения в послеродовом периоде плотности тучных клеток в теле матки. ТКД — плотность пространственного распределения ТК при окраске альциановым синим и сафранином по методу Дезага, ТКФ — плотность пространственного распределения флуоресцирующих ТК

Самый высокий уровень гистамина в ТК мышечной оболочки тела матки выявляется в конце беременности и первые сутки послеродового периода (рис. 2). После родов отмечается увеличение содержания моноамина на фоне его плавного снижения 6–7-е сутки. Минимум показателя в теле приходится на 10-е сутки пуэрперия.

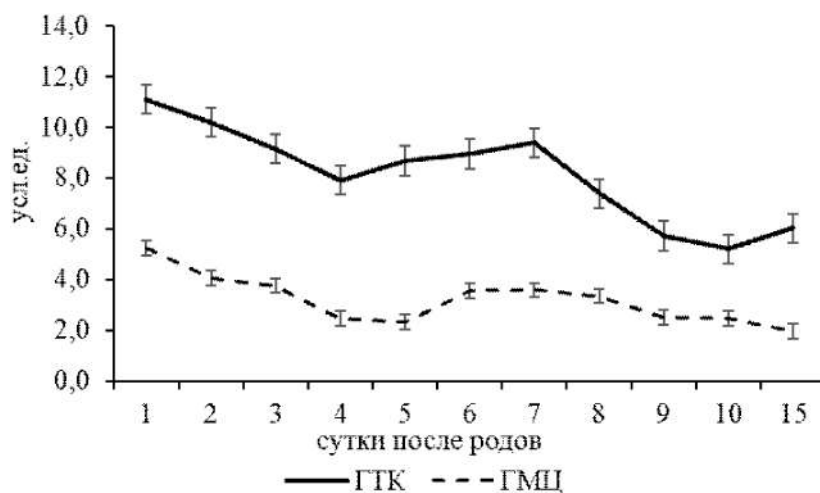


Рис. 2. Изменения в послеродовом периоде содержания гистамина в тучных клетках (ГТК) и гладких миоцитах (ГМЦ) мышечной оболочки тела матки крыс

Для показателей, оценивающих плотность ТК и содержание в них гистамина, характерна отрицательная взаимосвязь, как во время беременности, так и после родов ($R=-0,807-0,814$).

При выявлении тканевого гистамина гладкие миоциты мышечной оболочки матки имеют слабую зеленоватую флуоресценцию. Для изменений уровня гистамина в гладких миоцитах в течение послеродового периода характерна волнообразность. Наибольший уровень этого параметра отмечается в первые сутки (рис. 2).

Сразу после родов начинается снижение содержания гистамина с достижением минимальных показателей на 4–5-е сутки. В последующем наблюдаются еще один период увеличения этого показателя: на 6–8-е сутки ($p < 0,05$).

Наиболее низкое содержание гистамина в миоцитах миометрия наблюдается на 15-е сутки после родов.

Изменения в течение послеродового периода уровня гистамина в тучных клетках и гладких миоцитах по данным рангового корреляционного анализа Спирмена характеризуются высокой взаимосвязью ($R=0,818$).

Таким образом, наиболее высокое содержание гистамина в ТК нами выявлено перед родами и сразу после них. Лычкова А.Э. [6] отмечает их повышенную секреторную активность во время родов. В то же время необходимо отметить, что до настоящего времени роль тучных клеток в родовом процессе практически не изучена [3], рассматривается вопрос участия ТК в инициации родов [18]. Установлено их значение в регуляции тонуса сосудов и изменение свойств соединительной ткани матки перед родами [3, 16].

Физиологические эффекты гистамина зависят от рецептора, экспрессируемого каждым типом клеток в каждом физиологическом случае, при этом часто вызывая противоположное действие на различные типы клеток [15]. Это, несомненно, осложняет анализ и обсуждение экспериментальных результатов.

После образования гистамина связывается рабочими клетками, превращается в неактивную форму или разрушается ферментом диаминооксидазой или гистаминазой [1]. Отмечено, что при любом способе инактивации гистамина образуются активные формы кислорода, которые могут вызывать макромолекулярные повреждения и старение клеток, особенно если в их микроокружении мало молекул антиоксидантов [15]. Возможно, это способствует апоптозу миоцитов во время послеродовой инволюции матки.

Для поддержания органного и тканевого гомеостаза тучные клетки должны осуществлять взаимодействие со многими другими типами клеток [20]. Эти коммуникации могут быть как прямыми, так и посредством высвобождения различных медиаторов, в том числе гистамина [21].

Поддержание гистаминаопосредованной аутокринной регуляции секреции тучных клеток является одним из ключевых факторов поддержания тканевого гомеостаза [17].

Заключение

Наиболее высокое содержание гистамина в тучных клетках миометрия матки крыс наблюдается перед родами и сразу после них. Для плотности пространственного распределения тучных клеток и содержания в них гистамина характерна отрицательная корреляционная связь. Высокая положительная взаимосвязь в течение до- и послеродового периодов свойственна изменениям уровня гистамина в тучных клетках и гладких миоцитах миометрия. По всей видимости, для гладкомышечных клеток миометрия именно ТК являются источником этого биоамина.

Литература

1. Грачев, В. И. Биохимическая регуляция функций организма / В. И. Грачев, И. О. Маринкин, Н. В. Суслонova. — Текст : непосредственный // *Norwegian Journal of development of the International Science*. — 2019. — № 31. — С. 20-34.
2. Тучные клетки в системе биоаминового обеспечения матки / С. В. Диндяев, Ф. А. Ромашин, А. А. Урпинаев [и др.]. — Текст : непосредственный // *Российский иммунологический журнал*. — 2015. — Т. 9 (18), №1 (1). — С. 53-55.
3. Кириленко, В. П. Преобразования клеточного состава соединительной ткани шейки матки на протяжении беременности / В. П. Кириленко, Л. М. Небышинец, И. В. Зеленко. — Текст : непосредственный // *Репродуктивное здоровье. Восточная Европа*. — 2021. — Т. 11, № 3. — С. 305-318.
4. Кучер, А. Н. Гены гистаминового метаболического пути и многофакторные заболевания человека / А. Н. Кучер, Н. А. Черевко. — Текст : непосредственный // *Генетика*. — 2018. — Т. 54, № 1. — С. 15-32.
5. Лусс, Л. В. Применение антигистаминных препаратов в клинической практике врача / Л. В. Лусс. — Текст : непосредственный // *Терапевтический архив*. 2014. № 8. С. 106109.
6. Лычкова, А. Э. Серотонинергическая регуляция эндокринной и мочеполовой систем / А. Э. Лычкова. — Москва : Издательство РАМН, 2014. — 467 с. — Текст : непосредственный.
7. Смирнова, С. С. Эозинофилы как возможные регуляторы уровня гистамина в печени крыс / С. С. Смирнова, Е. А. Григорьева, В. А. Голенкова. — Текст : непосредственный // *Морфология в теории и практике : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 95-летию со дня рождения д-ра мед. наук, профессора Д.С. Гордон, (Чебоксары, 22 нояб. 2017 г.)*. — Чебоксары : Изд-во Чувашского ун-та, 2017. — Вып. 3. — С. 221-223.
8. Benly, P. Role of Histamine in Acute Inflammation / P. Benly. — Text : visual // *J. Pharm. Sci. & Res.* — 2015. — Vol. 7 (6). — P. 373-376.
9. Cross, S. W. D. A study of the methods available for the cytochemical localisation of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde / S.W. D. Cross, S.W.B. Ewen, F.W. D. Rost. — Text : visual // *Histochem. J.* — 1971. — Vol. 3. — P. 471-476.
10. Desaga, J. Die zytochemische Identifikation der Mastzellvorstufen bei der Ratte / J. Desaga, M. Parwaresch, S. Мӓller-Hermelink. — Text : visual // *Z. Zellforsch.* — 1971. — Vol. 121, № 2. — P. 292-300.
11. Elieh, Ali Komi D. Significance of mast cells in spermatogenesis, implantation, pregnancy, and abortion: Cross talk and molecular mechanisms / Ali Komi D. Elieh, F. Shafaghat, G. Haidl. — Text : visual // *Am. J. Reprod Immunol.* — 2020. — Vol. 83 (5) : e13228.
12. Hallgren, J. Granule maturation in mast cells. Histamine in control / J. Hallgren, M. F. Gurish. — Text : visual // *Eur. J. Immunol.* — 2014. — Vol. 44. — P. 33-36.

13. Lopez-Garcia, C. Transcriptomic analysis of polyamine-related genes and polyamine levels in placenta, yolk sac and fetus during the second half of mouse pregnancy / C. Lopez-Garcia, A. J. Lopez-Contreras, A. Cremades [et al.]. — Text : visual // Placenta. — 2009. — Vol. 30 (3). — P. 241-249.
14. Maxovб, H. Mast cells—a new view of the old acquaintances / H. Maxovб, M. Vнzek. — Text : visual // Cas. Lek. Cesk. — 2010. — Vol. 149 (7). — P. 319-323.
15. Histamine, Metabolic Remodelling and Angiogenesis: A Systems Level Approach / A. A. Moya-Garcна, A. Pino-Enges, F. Sбnchez-Jimњnez [et al.]. — <https://doi.org/10.3390/biom11030415>. — Text : electronic // Biomolecules. — 2021. — Vol. 11 (3). — P. 415.
16. Mast cell involvement in human cervical ripening / A. Norstrћm, N. Vucas Radulovic, M. Bullarbo, E. Ekerhovd. — doi: 10.1016/j.ejogrb.2019.05.010. — Text : electronic // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. — 2019. — Vol. 238. — P. 157-163.
17. Histamine-mediated autocrine signaling in mesenteric perilymphatic mast cells / S. Pal, O. Y. Gasheva, D. C. Zawieja [et al.]. — Text : visual // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2020. — Vol. 318 (3). — P. 590-604.
18. Immune cells and preterm labour: do invariant NKT cells hold the key? / S. F. Rinaldi, A. G. Rossi, P. T. K. Saunders, J. E. Norman. — Text : visual // Molecular Human Reproduction. — 2015. — Vol. 21 (4). — P. 309-312.
19. Soares, M. J. Hypoxia and placental development / M. J. Soares, K. Iqbal, K. Kozai. — Text : visual // Birth defects research. — 2017. — Vol. 109, №. 17. — P. 1309-1329.
20. The Multifaceted Roles of Mast Cells in Immune Homeostasis, Infections and Cancers / A. Sobiepanek, J. Kuryk, M. Garofalo [et al.]. — doi: 10.3390/ijms23042249. — Text : electronic // Int. J. Mol. Sci. — 2022. — Vol. 23 (4). — P. 2249.
21. Sumpter, T. L. Cutaneous immune responses mediated by dendritic cells and mast cells / T. L. Sumpter, S. C. Balmert, D. H. Kaplan. — doi:10.1172/jci.insight.123947. — Text : electronic // JCI Insight. — 2019. — Vol. 4 (1).e123947.

Сергей Валерьевич Диндяев (контактное лицо), д.м.н., доцент, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

153012, Иваново, Шереметевский проспект, 8, медицинская академия, кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, тел. раб. +7(4932) 32-90-65, тел. моб. 8-910-698-68-43, E-m: dindyayev@mail.ru