

ИЗМЕНЕНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И β -АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ ИЗОЛИРОВАННОГО МИОМЕТРИЯ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ПОД ВЛИЯНИЕМ ОЗОНИРОВАННОГО РАСТВОРА КРЕБСА

Сизова Е.Н., Циркин В.И., Дворянский С.А., Костяев А.А.

Вятский социально-экономический институт, Кировская государственная медицинская академия, Кировский НИИ гематологии и переливания крови

В опытах с 19 полосками миометрия, полученных от 5 женщин в конце доношенной беременности при плановом кесаревом сечении, установлено, что озонированный ($\approx 0,50$ мкг/мл) раствор Кребса ингибирует спонтанную сократительную активность миометрия и существенно уменьшает стимулирующий эффект адреналина, т.е. снижает его α -адренореактивность. Это объясняет эффективность озонотерапии при угрозе прерывания беременности и дискоординированной родовой деятельности

Озонотерапия успешно применяется при лечении острых и хронических воспалительных заболеваний репродуктивной системы у женщин [2,7]. Отмечена ее эффективность при лечении позднего гестоза [6,8], анемии беременных [5], плацентарной недостаточности [11] и невынашивания беременности [7]. Она снижает частоту оперативных вмешательств, послеродовых инфекций, материнского травматизма и других осложнений в родах, а также благоприятно влияет на течение периода новорожденности [5,10]. Считается [6], что эффективность озонотерапии обусловлена способностью озона оказывать противовоспалительное, бактерицидное, вирусолитическое, фунгицидное, цитостатическое, антистрессовое и анальгезирующее действия. Показано, что озонотерапия нормализует уровень ПОЛ и повышает активность ферментов антиоксидантной системы [8], повышает фагоцитарную активность нейтрофилов и Т- и В-лимфоцитов, снижает содержание циркулирующих в крови иммунных комплексов [6], положительно влияет на гормонпродуцирующую функцию фетоплацентарного комплекса, в частности, повышает продукцию прогестерона, эстрадиола, плацентарного лактогена и пролактина, а также нормализует уровень гистамина и серотонина [3], повышает влияние парасимпатической нервной системы, что проявляется в снижении частоты и уменьшении выраженности вегетативных кризов, а также в улучшении общего самочувствия и нормализации сна [9]. Вместе с тем до настоящего времени остается открытым вопрос о влиянии озонотерапии на сократительную активность (СА) и хемореактивность гладких мышц матки беременных женщин. Нами показано [14], что озон повышает СА продольных полосок рога матки небеременных крыс и одновременно сни-

жает их Р-адренореактивность. Эти наблюдения указывают на необходимость проведения подобных исследований и в отношении миометрия беременных женщин. Цель работы - изучить влияния озонированного раствора Кребса на спонтанную СА и адренореактивность изолированного миометрия беременных женщин.

Материал и методы исследования.

Исследовано 19 полосок миометрия, полученных от пяти женщин в конце доношенной беременности при биопсии во время планового кесарева сечения, проводимого по поводу рубца на матке после бывшего кесарева сечения (2), хронической внутриутробной гипоксии (1) и в связи с возрастом (> 30 лет) первородящей (2). Из биоптатов, которые до исследования хранили при 4°C в растворе Кребса (< 24 ч), иссекали полоски длиной 8-10 мм и шириной 2-3 мм. Регистрацию их СА проводили по методу [15,16] с использованием 6-канального «Миоцитографа» при 38°C , пассивной аэрации рабочей камеры (объемом в 1 мл) и скорости перфузии полосок раствором Кребса, равной 0,7 мл/мин; исходная нагрузка полосок - 4,9 мН. Стандартный раствор Кребса (рН-7,4) имел следующий состав (в мМ): NaCl-136, KCl-4,7, CaCl₂-2,52, MgCl₂-1,2, KH₂PO₄-0,6, NaHCO₃-4,7, C₆H₁₂O₆-11. Озонированный раствор Кребса готовили путем 20-минутного барботирования стандартного раствора Кребса озono-кислородной смесью, получаемой с помощью медицинского озонатора типа «Озон-М-50», в которой содержание озона достигало 5 мг/л. Согласно расчетам [1], содержание озона в таком растворе спустя 1-3 часа удерживается на уровне $\approx 0,50$ мкг/мл; это незначительно превышает терапевтические концентрации озона, которые, согласно [1,4,19], составляют

0,01-0,20 мкг/мл. Протокол эксперимента состоял в том, что первоначально в течение 1,5-2 часов осуществлялась перфузия полосок стандартным раствором Кребса до появления устойчивой спонтанной СА. Затем (рис.1а,б) в течение 10 минут полоски перфузировали раствором Кребса, содержащим адреналин (10^{-7} г/мл), после чего в течение 10-20 минут их вновь перфузировали стандартным раствором Кребса. В течение следующих 20-30 минут полоски перфузировали озонированным раствором Кребса, причем вторую половину этого периода - совместно с адреналином (10^{-7} г/мл). После 10-минутного отмывания стандартным раствором Кребса проводили заключительное (третье) тестирование полоски адреналином (10^{-7} г/мл). По механограммам рассчитывали число спонтанных сокращений за 10 минут, их среднюю амплитуду (мН) и суммарную СА, т.е. сумму амплитуд фазных сокращений на 10-минутном интервале (мН/Юмин). Результаты исследования подвергнуты статистической обработке методом вариационной статистики; различия между показателями оценивали по критерию Фишера-Стьюдента, считая их достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования.

Установлено (табл., рис.1а,б), что все полоски обладают спонтанной СА. Озонированный раствор Кребса уменьшал частоту, амплитуду и суммарную СА полосок - эти показатели составили соответственно 71,4%, 76,5% и 58,1% от фонового уровня ($p < 0,05$). 10-Кратное разведе-

ние озонированного раствора Кребса не вызывало достоверных изменений СА.

Следовательно, утероактивные свойства озона зависят от его концентрации в среде. При тестировании полосок адреналином (10^{-7} г/мл) подтверждены данные литературы [16] о его способности повышать СА миометрия женщин, иссеченного накануне срочных родов: при воздействии адреналина частота, амплитуда и суммарная СА полосок достоверно ($p < 0,05$) увеличились до 169%, 125% и 272% от фонового уровня соответственно (табл., рис. 1а,б и 2а,б). На фоне озонированного раствора Кребса воздействие адреналина не приводило к достоверному увеличению фазной СА полосок (табл., рис. 1а и 2а) - частота сокращений составила 101% от фонового уровня, их амплитуда - 86,0%, а суммарная СА - 119%. Это свидетельствует о снижении под влиянием озонированного раствора Кребса способности адреналина повышать СА миометрия. При заключительном (3-м) тестировании адреналин вновь оказывал выраженное стимулирующее действие (табл., рис. 1а и 2а), т.е. повышал ($p < 0,05$) частоту СА (в среднем до 183% от фонового уровня), амплитуду (до 134%) и суммарную СА (до 264%). Таким образом, озонированный раствор Кребса обратимо снижает стимулирующее действие адреналина.

На фоне 10-кратного разведения озонированного раствора Кребса адренореактивность полосок миометрия не изменялась (табл., рис.1б и 2б).

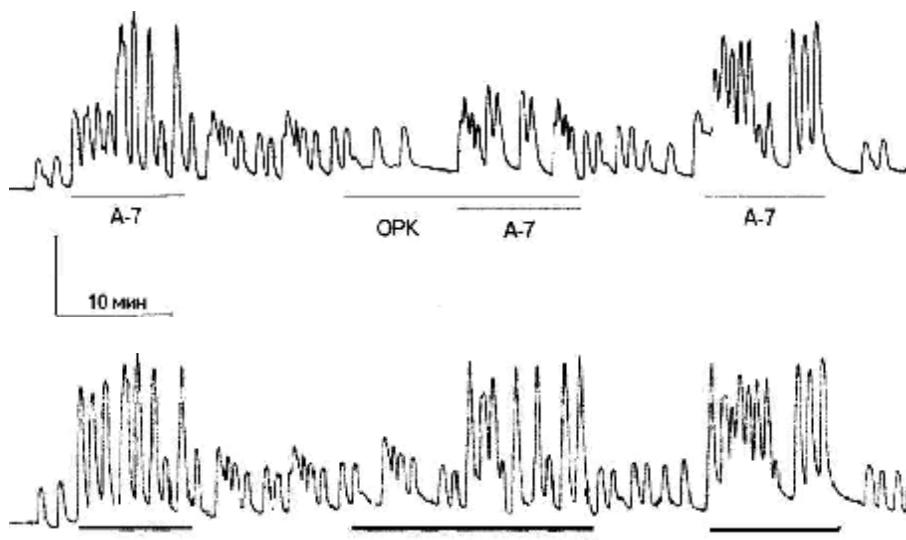


Рис.1.

Механограммы полоски миометрия беременной женщины, демонстрирующие утероингибирующее и α -адреноблокирующее влияние озонированного раствора Кребса (панель а) и отсутствие этих эффектов у 10-кратного его разведения. Горизонтальные линии под механограммой показывают момент воздействия озонированного раствора Кребса ($\approx 0,50$ мкг/мл, ОРК), 10-кратного его разведения (ОРК 1:10) и адреналина (10^{-7} г/мл, А-7). Калибровка 10 мН, 10 мин.

Таблица. Частота амплитуда и суммарная сократительная активность (СА) полосок миометрии беременных женщин при воздействии озонированного ($\approx 0,50$ мкг/мл) раствора Кребса (ОРК), его 10-кратного разведения и адреналина (10^{-6} г/мл)

Параметры сократительной активности (СА)	Этапы эксперимента						
	1	2	3	4	5	6	7
Кребс (исходная ССА)	Кребс	Адреналин, 1-е тестирование	Кребс (фоновая ССА ₁)	ОРК	ОРК+адреналин, 2-е тестирование	Кребс (фоновая ССА ₂)	Адреналин, 3-е тестирование
10-кратное разведение озонированного раствора Кребса (6 опытов)							
Частота, сокр/10мин	6,50±2,53	8,25±2,01	4,00±0,40	3,50±0,28	7,00±2,41	4,32±0,91	8,00±1,13
Частота, в %	100±0	212±31,5	61,5±12,1	90,0±10,0	175±39,5	66,4±7,39	185±21,1
Амплитуда, мН	3,92±0,00	5,39±0,68	3,82±0,12	3,77±0,12	4,49±0,83	3,77±0,78	5,32±0,26
Амплитуда, в %	100±0	138±18,5*	97,4±8,61	100±0	132±28,5*	96,3±16,4	141±17,5*
Суммарная СА, мН/10мин	15,7±1,56	41,2±5,39*	15,2±1,17	13,2±1,37	32,8±8,82	15,6±1,12	39,8±5,01
Суммарная СА, в %	100±0	265±33,5*	96,8±14,6	90,0±10,0	210±33,9*	104±7,10	255±33,8*
Озонированный раствор Кребса (10 опытов)							
Частота, сокр/10мин	3,50±0,22	6,13±0,77*	3,50±0,37	2,63±0,37	3,50±1,01	3,16±0,31	5,83±1,04*
Частота, в %	100±0	169±22,6*	100±7,89	71,4±4,23*	101±21,9*	91,4±8,64	183±27,4**
Амплитуда, мН	6,86±1,81	9,21±1,86	6,86±1,51	4,90±0,78	6,37±2,59	8,82±1,76	9,80±1,27
Амплитуда, в %	100±0	125±18,7	100±9,42	76,5±9,25*	86,0±19,1*	129±18,5	134±19,3 ^c
Суммарная СА, мН/10мин	24,0±7,35	55,9±12,7*	22,5±4,16	12,3±1,67	37,8±17,1	28,4±7,35	52,4±6,37*
Суммарная СА, в %	100±0	272±37,5*	93,8±12,3	58,1±9,37*	119±30,4*	117±21,5	264±31,7** ^c

Примечание 1: * - различия с исходным уровнем (1 этап эксперимента) достоверны, ($p < 0,05$); ^a, ^b, ^c - означают достоверность различий ($p < 0,05$) между значениями 2-ого и 5-ого (^a), 2-ого и 7-ого (^b), 5-ого и 7-ого (^c) этапами эксперимента

Примечание 2: относительные значения параметров ССА 2-ого и 3-его; 4-ого, 5-ого и 6-ого, а также 7-ого этапов эксперимента выражены в процентах соответственно к значениям этапов 1-ого, 3-его и 6-ого, т.е. к фоновой активности.

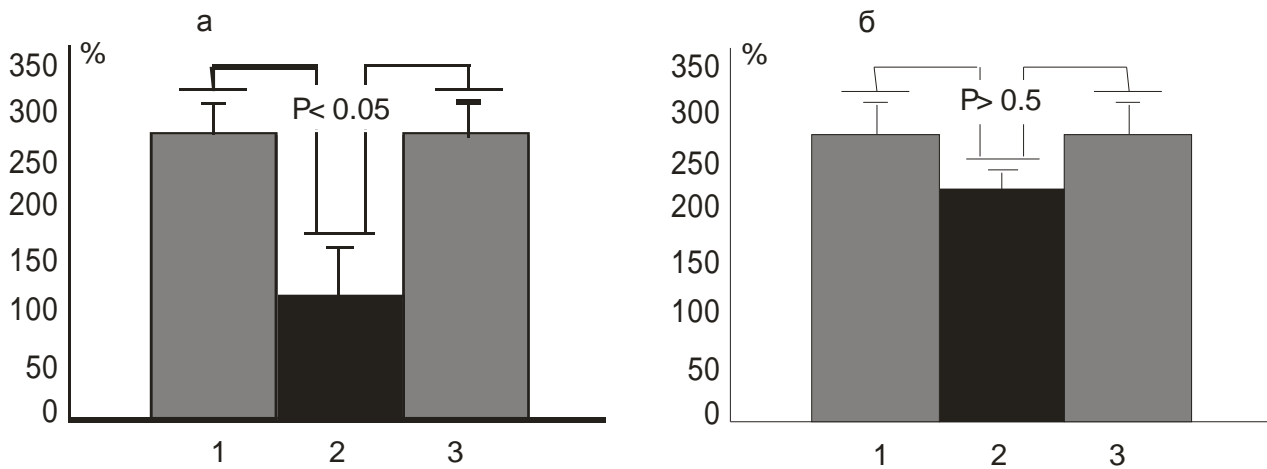


Рис. 2.

Величина суммарной сократительной активности полосок миометрия беременных женщин, вызванная адреналином (10^{-7} г/мл) до (1), на фоне (2) и после (3) воздействия озонированного ($\approx 0,50$ мкг/мл) раствора Кребса (панель *а*) и его 10-кратного разведения (панель *б*).

Обсуждение.

Ранее было показано [14], что в аналогичных условиях озонированный ($\approx 0,50$ мкг/мл) раствор Кребса повышает фазную СА миометрия крысы и коровы, а также тоническую СА гладких мышц коронарной артерии свиньи и трахеи коровы. Это означает, что способность озонированного раствора Кребса понижать СА миоцитов матки женщины является весьма специфичной. Исходя из представлений [16,17], можно предположить, что утероингибирующее действие озона по отношению к миоцитам матки беременных женщин, вероятно, связано с тем, что озон снижает их P_{Ca} , либо активизирует работу кальциевых насосов или снижает активность киназы легких цепей миозина. Полагаем, что будущие исследования позволят получить более определенный ответ на этот вопрос.

Однако, независимо от механизма, лежащего в основе утероингибирующего действия озона, по нашему мнению, в акушерской практике озонотерапия может применяться в тех случаях, когда возникает потребность в торможении сократительной деятельности матки (СДМ), например, при угрозе прерывания беременности или при чрезмерной родовой деятельности. С этих позиций результаты наших исследований объясняют эффективность озонотерапии при угрозе прерывания беременности, отмеченную рядом авторов [3,7].

Способность озонированного раствора Кребса снижать *a*-адренореактивность миометрия беременных женщин (что можно также расценивать как способность повышать *b*-адренореактивность миометрия) представляет большой интерес, так как, согласно концепции о *b*-адренергическом механизме [16], это создает дополнительные условия для ингибирования

СДМ, в том числе при угрозе прерывания беременности. Относительно механизма, лежащего в основе *a*-адреноблокирующего действия озонированного раствора Кребса, можно предположить, что озон снижает эффективность активации *a*-АР, т.е. снижает передачу сигнала от *a*-АР до внутриклеточных эффекторов. Возможно, это обусловлено тем, что озон разобщает взаимодействие *a*₁-АР с G_j-белком или с аденилатциклазой (за счет изменения их конформационной структуры). Результаты наших исследований в определенной степени согласуются с данными [20] о том, что свободные радикалы кислорода (O_2^*) снижают число и сродство *a*₁-АР миокарда крысы, при активации которых реализуются положительные хронотропный и инотропный эффекты; в то же время они не влияли на число и сродство *b*-АР. С другой стороны, нами установлено [14], что на объектах, обладающих исходно высокой *b*-адренореактивностью (гладкие мышцы матки крысы, трахеи коровы и коронарной артерии свиньи) озонированный раствор Кребса, повышая СА, одновременно приводит к выраженному, но обратимому снижению *b*-адренореактивности этих объектов. Это также можно объяснить нарушением передачи сигнала от *b*-АР к внутриклеточным эффекторам.

В целом, результаты исследования свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения возможности применения озонотерапии в акушерской практике. Однако при этом следует учитывать, что введение озона в организм женщины, например, в виде озонированного физиологического раствора, ингибируя СДМ, одновременно может повысить тонус миоцитов коронарных артерий или дыхательных путей. В этом отношении, вероятно, более перспективно

применение озона совместно с факторами, повышающими (*b*-адренореактивность миоцитов, например, исходя из данных литературы, гистидина, триптофана и тирозина [12,16] или предуктала и милдроната [13, 18].

Список литературы

1. Бояринов Г.А., Соколов В.В. Озонированное искусственное кровообращение. - Н. Новгород: Изд-во «Покровка», 1999.- 317 с.
2. Гречканев Г.О. // Місцеве та парентеральне використання озонотерапії в медицині: Сб. наукових робіт.-Харків, 2001.- С.72 - 74.
3. Гречканев Г.О., Качалина Т.С., Перетягин С.П. //Озон в биологии и медицине: Тезисы докл. II Всеросс.научно-практ. конф.- Н. Новгород, 1995. С.88.
4. Густов А.В., Котов С.А., Конторщикова К.Н., Потехина Ю.П. Озонотерапия в неврологии.- Н. Новгород: Литера, 1999.- 178 с.
5. Добротина А.Ф., Шакутина М.К. // Нижегород. мед. ж.- 1995.- № 4.- С.52-55.
6. Зуев Б.М., Побединский Н.М., Джибладзе Т.А. // Акуш. и гинекол. - 1998.-№3.-С.3-5.
7. Качалина Т.С., Гречканев Г.О., Шахова Н.М. //Озон и методы эфферентной терапии в медицине: Тезисы докл. III всеросс. научно-практ.конф.- Н. Новгород, 1998.- С. 50-51.
8. Качалина Г.С., Конторщикова К.Н., Усачева О.Н. и др. // Озон в биологии и медицине: Тезисы докл. II Всеросс. научно-практ. конф.- Н. Новгород, 1995.-С. 65.
9. Котов С.А., Густов А.В., Конторщикова К.Н. // Там же, - С.79.
10. Микашинович З.И., Рымашевский Н.В., Логинов И.А. и др. // Озон и методы эфферент-

ной терапии в медицине: Тезисы докл. III Всеросс. научно-практ. конф.- Н. Новгород, 1998.- С. 53.

11. Наумов Н.В.; Николаенко Л.Ю.; Щетинкина Е.С. // Новые подходы к диагностике и лечению.- Воронеж, 1998.
12. Ноздрачев А.Д. Туманова Т.В., Дворянский С.А. и др // Докл. РАН.- 1998.- Т. 363, № 1. - С. 133-136.
13. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Подтетенев А.Д. и др. // Рос. кардиол. журн.-2002.- № 2 (34).- С. 50-56.
14. Сизова Е.Н., Циркин В.И., Костяев А.А. и др. // Биология - наука XXI века: Тез. докл. VI школы-конференции молодых ученых - Пушкино, 2002.- С. 139.
15. Циркин В.И., Дворянский С.А., Ноздрачев А.Д., и др. //Докл. РАН.-1997.-Т.352,№1.- С.124-126.
16. Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции).- Киров, 1997.- 270 с.
17. Циркин В.И., Трухина СИ. Физиологические основы психической деятельности и поведения человека. М.: Медицинская книга, 2001. - 524с.
18. Циркин В.И., Сизова Е.Н., Подтетенев А.Д. и др // Рос. кардиол. журн. - 2002. - № 1 (33). - С. 45-52.
19. Яворская В.А., Малахов В.А., Хвсюк В.В., и др. // Мюцеве тапарентеральне використання озонотерапії в медицині!: Сб. наукових робіт.-Харьов, 2001.- С. 45-46.
20. Gong Hai-Bin, Han Qi-De. //Shengli xuebao, - 1996, - №1, - P - 48-52

Exchange of contractile activity and *b*-adrenoreactivity of isolated pregnant female myometrium by influence of ozonized Krebs' solution

Sizova Ye. N, Tsirkin V. I., Dvoryansky S. A., Kostjaev A. A.

It was investigation 19 stripes of the myometrium, received from 5 pregnant females in the end pregnancy during Ceasarian section. Ozonized (<0,50 mcg/ml) Kreb's solution inhibit spontaneous contraction activity of the myometrium and essentially reduces stimulating effect of adrenalin, i.e. its *a*-adrenoreactivity. That explains efficiency ozonotherapy at threat of interruption of pregnancy, diskoordinated delivery activity.