

ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ГИСТОГЕНЕЗ СФИНКТЕРНОГО АППАРАТА ШЕЙКИ МАТКИ У ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Григорьева Ю.В.¹, Суворова Г.Н.¹, Кулакова О.В.¹, Тулаева О.Н.¹

¹ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гистологии и эмбриологии, г. Самара, Россия (443001, Самара, ул. Чапаевская, д. 227), e-mail:histology@br.ru

Методами фазово-контрастной и электронной трансмиссионной микроскопии проведено исследование постнатального развития тканей шейки матки крысы. Установлено, что после рождения происходит процесс пролиферации клеток как мышечной ткани миометрия, так и соединительной ткани в составе эндометрия и периметрия. Миометрий в этот срок представлен несформированными тонкими слоями. Пролиферация миоцитов после рождения животного приводит к формированию слоев будущего миометрия и сфинктера шейки матки. В подсосный период параллельно с активно протекающей пролиферацией отмечается морфологическая картина специфической дифференцировки мышечных клеток, устанавливаются межклеточные контакты, происходят их интеграция в функциональный синцитий. Позже пролиферативная активность клеток снижается, на первый план выступает внутриклеточная гипертрофия. Наряду с процессами пролиферации, дифференцировки и интеграции на разных этапах постнатального развития определяется гистогенетическая гибель клеток. Дефинитивное строение шейки матки принимает к моменту полового созревания.

Ключевые слова: шейка матки, сфинктер, гладкие миоциты, гистогенез

RAT CERVICAL SPHINCTER APPARATUS IN POSTNATAL HISTOGENESIS

Grigoreva Y.V.¹, Suvorova G.N.¹, Kulakova O.V.¹, Tulaeva O.N.¹

¹«Samara State Medical University», Department of Histology and Embryology, Samara, Russia, (443001 Samara, ul. Chapaevskaya, 227), e-mail:histology@br.ru

Rat cervix tissues postnatal development was studied with phase-contrast microscopy and transmission electron microscopy. We found myometrium smooth cell proliferation, also endometrium and perimetrium connective tissue proliferation after birth both. During this period myometrium is represented with unformed thin layers. The myocytes proliferation after birth contributes the myometrium layer and cervix sphincter formation. There are several parallel processes in suckling period: active proliferation, specific differentiation of muscle cells, intercellular contacts organization, and cell integration as a functional syncytium. The cell proliferative activity is reduced, against the background of intracellular hypertrophy. There is genetically determined cell death along the processes of proliferation, differentiation, integration in postnatal development. Cervix definitive structure cervix takes place in puberty.

Keywords: cervix, sphincter smooth muscle, histogenesis

На современном этапе развития медицинской науки без знания закономерностей базисных процессов развития тканей, как в составе органов, так и их функционально значимых отделов, невозможно понимание процессов патогенеза органов при соответствующих заболеваниях [3-6]. Актуальной проблемой является изучение висцеральных мышечных тканей, входящих в состав стенок полых органов и образующих всевозможные сфинктеры [1, 7]. Гладкая мышечная ткань, являясь ведущим структурно-функциональным компонентом практически всех трубчатых висцеральных органов, имеет большое значение в их функционировании в нормальных физиологических условиях, а также в возникновении реактивных состояний при патологии [2, 4]. Нижний сегмент матки – сложная структура, которая выполняет как сократительную функцию, так и опорно-

механическую функцию, и до настоящего времени является малоизученной. Среди морфологов нет четкого представления о развитии тканей стенки матки в ее нижнем сегменте и морфофункциональных преобразованиях последнего в разные возрастные периоды постнатального развития [3, 5, 8-10].

Цель исследования

Изучить особенности постнатального гистогенеза тканей шейки матки на уровне цервикального сфинктера у крысы методами фазово-контрастной и электронной микроскопии.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на 50 белых беспородных крысах; новорожденные крысята (n=10), крысята в возрасте 10 суток (n=10), 1 месяца после рождения и окончания периода грудного вскармливания (n=10), далее в возрасте 4–5 месяцев (n=10) и в возрасте 1,5–2 лет (n=10). Экспериментальные исследования проводились в соответствии с «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных», а также с соблюдением правил гуманного обращения с животными.

Материалом для исследования служила шейка матки крысы. В работе использованы методы фазово-контрастной и трансмиссионной электронной микроскопии. Материал подвергали фиксации в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере с рН 7,4, затем материал помещали в 1%-ный раствор тетраоксида осмия, затем обрабатывали по общепринятой методике с заливкой в эпон-аралдитовую смесь. Контрастирование осуществляли уранилацетатом и цитратом свинца. Для установления прицельного участка исследования сначала готовили полутонкие срезы толщиной 1–2 мкм и далее ультратонкие срезы толщиной 200–500 нм. Полутонкие срезы изучали с помощью фазово-контрастного микроскопа, а ультратонкие срезы просматривали на электронном микроскопе JEOL JEM-1400 PLUS. Статистическая обработка проведена с использованием стандартного пакета MICROSOFT OFFICE 2000, в среде Windows XP. Полученные в работе данные обработаны методами вариационной статистики с определением средних и их ошибок. Степень вероятности отличий измеряемых структур вычисляли с помощью критерия Стьюдента при $p=0,95$.

Результаты исследований и их обсуждение

Известно, что в развитии матки, сложно взаимодействуя друг с другом, принимают участие парамезонефральные протоки, из которых образуются эпителий слизистой оболочки и мезенхима, дающая начало гладкой мышечной ткани, в составе миометрия и соединительной ткани, в составе всех оболочек. Мезотелий периметрия является производным висцеральных листков спланхнотомов.

В результате исследования установлено, что к моменту рождения животных слизистая оболочка шейки матки выстлана сформированным эпителием, который со стороны цервикального канала представлен однослойным призматическим (рис. 1), а со стороны влагалища уже выявляется многослойный неороговевающий эпителий (рис. 2). В последнем отсутствуют окончательно сформированные слои, о чем свидетельствуют множественные фигуры митозов во всех его слоях (рис. 2). Отличительной особенностью слизистой оболочки цервикального канала является отсутствие развитых шейечных желез (рис. 1). Цервикальный канал и канал влагалища также сформированы, но со стороны экзоцервикса канал закрыт пластинами эпителиальных клеток.

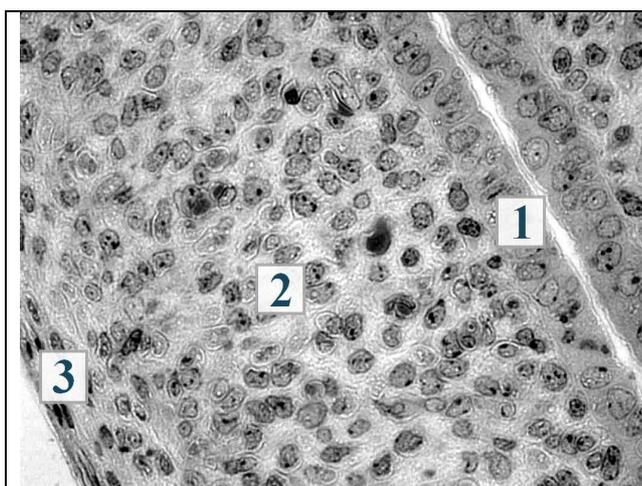


Рис. 1. Надвлагалищная часть шейки матки новорожденной крысы. 1 — однослойный цилиндрический эпителий слизистой оболочки без сформированных шейечных желез. 2 — недифференцированный миометрий. 3 — периметрий. Метод фазово-контрастной микроскопии. Увел. 200X.

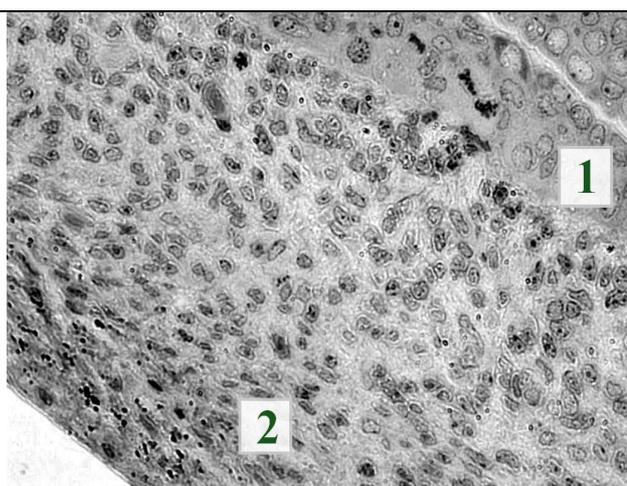


Рис. 2. Шейка матки новорожденной крысы на уровне сфинктера. 1 — эндометрий, выстланный многослойным плоским неороговевающим эпителием. 2 — полиморфизм в миометрии и периметрии. Метод фазово-контрастной микроскопии. Увел. 200X.

Под базальной мембраной эпителиального слоя внутренней оболочки шейки матки новорожденных крысят определяется мезенхима, состоящая из рыхло расположенных клеток. Толщина мезенхимного слоя со стороны маточной порции шейки составляет $37,98 \pm 3,78$ мкм, со стороны влагалищной порции — около $63,96 \pm 7,83$ мкм. В середине толщины мезенхимной закладки начинают разворачиваться процессы цитодифференцировки. Однако морфология подавляющего большинства клеток не позволяет достоверно судить об их тканеспецифичности.

В участках формирования соединительно-тканной основы эндометрия, миометрия и периметрия отмечается дифференцировка межклеточного вещества. Оно состоит из аморфной части, мелкодисперсных глыбок, а также небольшого количества коллагеновых волокон (рис. 3). При этом уровень развития межклеточного вещества происходит быстрее в пластинке слизистой эндометрия и соединительно-тканного слоя наружной оболочки шейки.

О скорости формирования этих слоев свидетельствует начавшаяся компактизация коллагеновых волокон с формированием из них пучков. Клетки, расположенные в соединительной ткани эндометрия и периметрия, лежат рыхло, неупорядоченно и по своим ультраструктурным особенностям соответствуют стволовым клеткам и малодифференцированным фибробластам. Последние имеют отростчатую форму, овальное или округлое ядро, занимающее большую часть клетки. В кариоплазме преобладает эухроматин, гетерохроматин располагается в виде неравномерно распределенных мелкодисперсных глыбок (рис. 3). Клетки, занимающие среднюю часть общей мезенхимной закладки, характеризуются удлинённой формой и более компактным расположением (рис. 4), что соответствует признакам начала образования миометрия. Это особенно заметно со стороны будущего цервикального сфинктера. В этот период во всех формирующихся оболочках видны фигуры митоза.

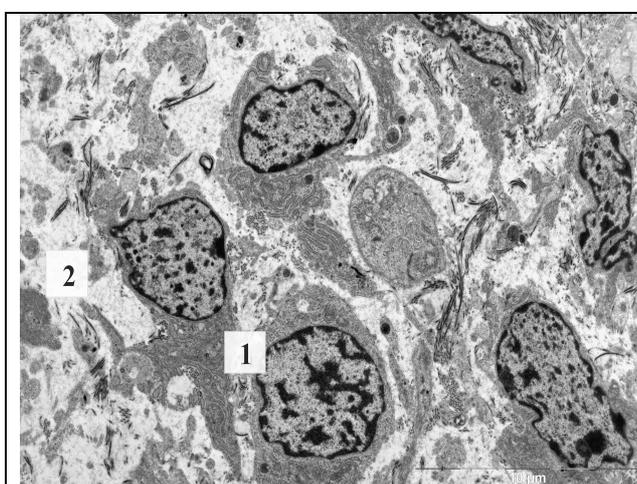


Рис. 3. Шейка матки новорожденной крысы. 1 — малодифференцированные фибробласты в формирующемся соединительнотканном слое эндометрия; 2 — межклеточное вещество, представленное аморфной частью с дисперсными включениями и отдельными волокнами. ТЭМ. Увел. 2000X.

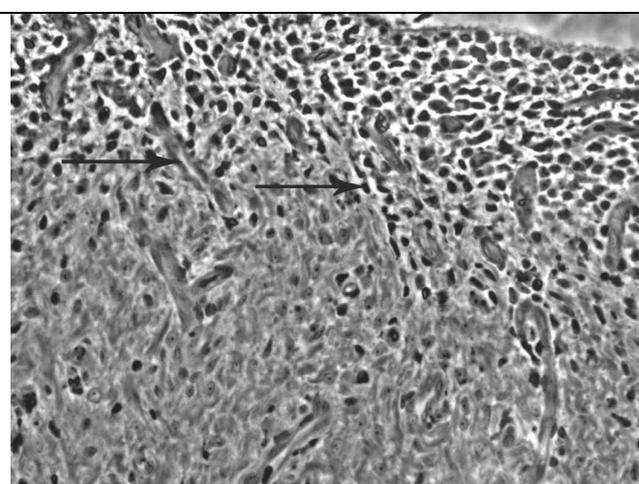


Рис. 4. Шейка матки крысы на 10-е сутки онтогенеза. Миометрий, состоящий из компактно расположенных клеток с врастающими в него кровеносными сосудами (указано стрелкой). Метод фазово-контрастной микроскопии. Увел. 200X.

К 10-м суткам постнатального онтогенеза во всех оболочках шейки матки отмечается снижение пролиферативной активности клеток. Часть клеток подвергается запрограммированной гибели. Максимальная выраженность последней наблюдается в соединительно-тканном слое периметрия. Мышечная оболочка шейки матки по сравнению с соединительно-тканными слоями эндометрия и периметрия заметно утолщается. На долю миометрия в зоне цервикального сфинктера приходится около 60% от общей толщины стенки. Клетки развивающегося миометрия увеличиваются в размере, удлиняются, ядерно-цитоплазматическое соотношение сменяется в пользу цитоплазмы. В цитоплазме хорошо развита эндоплазматическая сеть, пластинчатый комплекс развит слабо, имеются отдельные

мелкие митохондрии овальной формы, в которых кристы слабо развиты. В электронно-прозрачном матриксе цитоплазмы располагаются немногочисленные рибосомы, иногда они объединяются в небольшие скопления. В цитоплазме появляются немногочисленные миофиламенты, что дает возможность идентифицировать такие клетки как миобласты. В межклеточном веществе формируются короткие коллагеновые фибриллы, имеющие в своем строении чередующиеся светлые и темные полосы. В эндометрии и периметрии коллагеновые волокна располагаются хаотично, иногда группами, лежат в разном направлении, в миометрии начинают образовывать тонкие пучки коллагеновых волокон, располагающиеся вдоль удлинённых мышечных клеток.

К месячному возрасту крысы (и окончанию подсосного периода) четко определяется слоистое строение стенки шейки матки, однако процессы гистогенеза и дифференцировки тканевых элементов не завершены. Со стороны периметрия вглубь миометрия отмечается рост кровеносных сосудов, что и позволяет судить о дифференцировке слоев миометрия (рис. 4).

Резкое увеличение толщины миометрия происходит за счет роста клеток. На ультраструктурном уровне в их цитоплазме происходит накопление компонентов сократительного аппарата. Между миоцитами устанавливаются межклеточные связи (рис. 5). В миометрии определяются безмиелиновые волокна в непосредственной близости с миоцитами. Значительным изменениям подвергается соединительная ткань, в которой происходит накопление коллагеновых волокон (рис. 5). Отмечается сборка фибрилл в пучки, имеющие различное направление, заполняющие межклеточные пространства. Аморфная часть межклеточного вещества при этом относительно уменьшается.

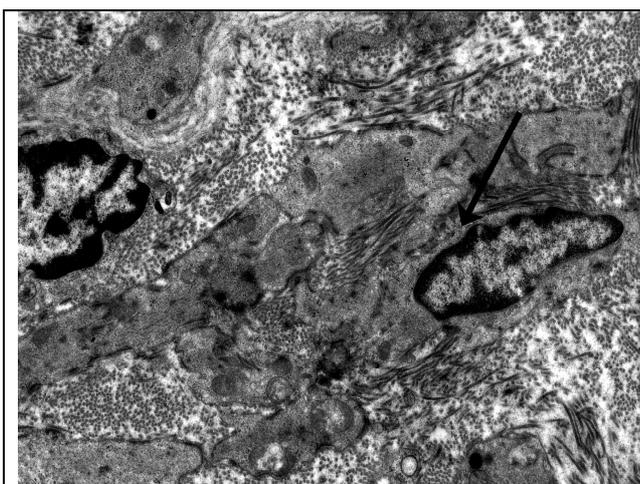


Рис. 5. Миометрий шейки матки крысы в возрасте 1 месяца. Миоциты с неравномерной электронной плотностью цитоплазмы (указано стрелкой). ТЭМ. Увел. 6000X

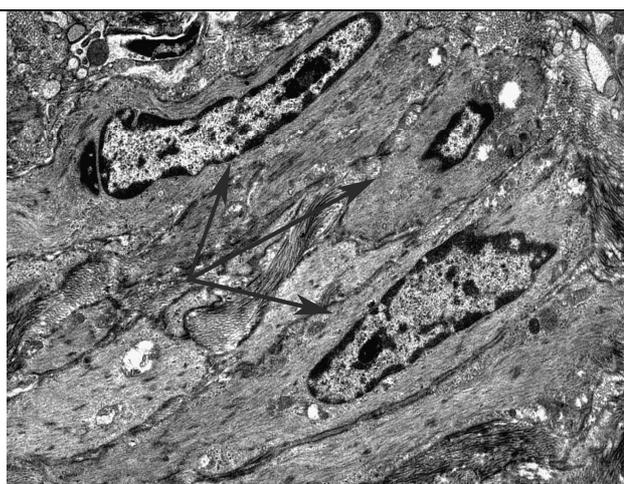


Рис. 6. Миометрий шейки матки половозрелой крысы. Миоциты в структуре функционального синцития (указано стрелкой). ТЭМ. Увел. 3500X

К моменту половой зрелости животных тканевый состав в шейке матки принимает дефинитивное строение. Миометрий приобретает слоистость, в нем становятся различимы внутренний, средний (сосудистый) и наружный слои. В циркулярном слое преобладают миоциты с длиной $19,79 \pm 4,62$ мкм, шириной $3,75 \pm 1,27$ мкм, в то время как в наружном слое встречаются преимущественно миоциты с длиной $48,49 \pm 11,26$ мкм и шириной $10,61 \pm 3,87$ мкм. В сосудистом слое миометрия немногочисленные миоциты имеют длину по оси $22,0 \pm 6,22$ мкм, ширина при этом составляет $4,57 \pm 2,12$ мкм. Таким образом, цитоморфометрический анализ показывает, что гладкомышечные клетки в составе всех слоев варьируют по линейным параметрам – во внутреннем слое преобладают малые миоциты, а в наружном – большие миоциты.

Кроме того, электронно-микроскопически к этому сроку постнатального развития среди миоцитов определяются два типа клеток, характеризующихся различным уровнем электронной плотности цитоплазмы: темные и светлые. Для темных клеток характерны упорядоченная организация миофиламентов, более плотное и однонаправленное их расположение. В светлых миоцитах элементы контрактильного аппарата расположены рыхло и беспорядочно, кортикальная зона свободна от миофиламентов (рис. 6). Гладкие миоциты интегрированы в единую систему при помощи функционально значимых контактов, а именно – десмосом, нексусов и простых неспециализированных контактов (рис. 6).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что после рождения шейка матки у крыс представлена несформированными окончательно оболочками, цервикальный сфинктер отсутствует. Сразу после рождения крыс в их шейке матки активно идут процессы пролиферации клеток, которые к 10-м суткам постнатального онтогенеза замедляются. В подсосном периоде имеет место гипертрофия клеток, особенно в миометрии, что приводит к формированию цервикального сфинктера. Через месяц после рождения и до половой зрелости преобладают процессы дифференцировки и интеграции клеток, что приводит к образованию слоев миометрия. Дефинитивного строения шейка матки у крыс достигает только к моменту половой зрелости.

Список литературы

1. Григорьева Ю.В. Гисто-, цито- и ультраструктурная организация сфинктерного аппарата шейки матки половозрелых крыс // *Фундаментальные исследования*. — 2014. — № 7 (5). — С. 927–930.
2. Зашихин А.Л., Агафонов Ю.В. К вопросу о фенотипических различиях гладких миоцитов, входящих в состав висцеральной и сосудистой гладкой мышечной ткани //

Вопросы морфологии XXI века. – 2010. – Вып. 2. — С. 134–138.

3. Санькова И.В., Овсенко Т.Е., Смирнова А.В. Возрастные особенности строения стенки матки // Морфология. 2006. Т. 129, — № 4. — С. 109.
4. Созыкин А.А. Морфологические аспекты нормального гистогенеза и реактивных изменений гладкой мышечной ткани миометрия крыс: Автореф. на соискание ученой степени канд. мед. наук. Волгоград. 2004. – С. 32.
5. Туаева З.С., Тотоева О.Н., Тотоева З.Н. Гистотопография мышечного слоя матки на протяжении постнатального онтогенеза // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2012. – Т. 1, № 4. – С. 49–54.
6. Шурыгина О.В. Ямщиков Н.В., Абрамов В.Н., Балашов В.П. Ультраструктурные аспекты гистогенеза мышечных тканей стенки влагалища млекопитающих в постнатальный период развития // Современные проблемы науки и образования, 2014. — № 3. URL:<http://www.science-education.ru/117-13787>.
7. Ямщиков Н.В., Суворова Г.Н. Сфинктерный аппарат прямой кишки: Монография. — Самара: ГП «Перспектива», СамГМУ, 2003. – 166 с.
8. Brody JR, Cunha GR. Histologic, morphometric, and immunocytochemical analysis of myometrial development in rats and mice: I. Normal development. Am J Anat. 1989 Sep;186(1):1-20. PubMed PMID: 2782286.
9. Carroll TJ, Park JS, Hayashi S, Majumdar A, McMahon AP. (2005). Wnt9b plays a central role in the regulation of mesenchymal to epithelial transitions underlying organogenesis of the mammalian urogenital system. Dev Cell 9, 283–292.
10. Cunha GR, Young P, Brody JR. Role of uterine epithelium in the development of myometrial smooth muscle cells. Biol Reprod. 1989 Apr;40(4):861-71. PubMed PMID:2752077.

Рецензенты:

Колсанов А.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оперативной хирургии и клинической анатомии с курсом инновационных технологий ГБОУ ВПО СамГМУ, г. Самара;

Федорина Т.А., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой общей и клинической патологии ГБОУ ВПО СамГМУ», г. Самара.