

УДК 618.14–091.8:616–092.9:618.2/.4
© Ю. В. Григорьева, Г. Н. Суворова, 2016
doi: 10.18499/2225-7357-2016-5-4-16-19

ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ ОСНОВНЫХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ГИСТОГЕНЕЗА ТКАНЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ КРЫС В ХОДЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Ю. В. Григорьева, Г. Н. Суворова

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Самара, Россия

Проведено электронно-микроскопическое исследование постнатального развития тканей шейки матки крысы на уровне сфинктера. Установлено, что к моменту рождения крысы процессы гистогенеза не завершены. Сфинктер шейки матки приобретает дефинитивное строение только к моменту полового созревания. После рождения, и до наступления половой зрелости, в шейке матки продолжают процессы пролиферации клеток, генетически запрограммированной гибели, дифференцировки и интеграции. Выраженность данных процессов на разных этапах постнатального развития неодинакова. Процесс пролиферации клеток, который максимально выражен после рождения животных, способствует формированию оболочек стенки шейки матки и формированию слоев миометрия. Параллельно активно протекающей пролиферации отмечаются признаки специфической дифференцировки и интеграции тканей в функционально сложный аппарат – цервикальный сфинктер. Гистогенетическая гибель клеток в стенке шейки матки наблюдается в течение всего постнатального периода, однако максимальную значимость она имеет у особей первого месяца жизни и у стареющих животных. Апоптоз в первом случае играет главенствующую роль в формообразовательных процессах; во втором случае – свидетельствует о снижении функциональной активности специализированной ткани.

Ключевые слова: шейка матки, сфинктер, лейомиоциты, гистогенез, онтогенез.

© Yu.V. Grigor'yeva, G.N. Suvorova, 2016
Samara State Medical University, Samara, Russia

Features of the Basic Patterns of the Rats' Uterine Cervix Histogenesis During Postnatal Ontogenesis

Electron microscopic examination of the postnatal development of the tissues of the rats' uterine cervix at the level of the sphincter was performed. It has been established that at the time of rats' birth the processes of histogenesis are not complete. Cervical sphincter becomes definitive structure only at the time of puberty. After birth and until the onset of puberty, the processes of cell proliferation, genetically programmed cell death, differentiation and integration continue in the uterine cervix. Intensity of these processes at different stages of postnatal development varies. The process of proliferation of cells, which is expressed maximally after birth of the animals, promotes the formation of layers of the uterine cervix and the walls of the myometrium. At the same time with active proliferation, signs of a specific differentiation and integration of tissues into a complex apparatus - cervical sphincter occurs. Histogenetic cell death in the cervical wall is observed throughout postnatal period, but it has a maximum value at the first month of life and in aging animals. In the first case, apoptosis plays a leading role in the formative processes; in the second case, it indicates a decrease in the functional activity of specialized tissues.

Keywords: uterine cervix, sphincter, leiomyocytes, histogenesis, ontogenesis.

Введение

Изучение закономерностей базисных процессов развития тканей продолжает оставаться в центре внимания ученых и сегодня [1–3, 5–7]. Следует подчеркнуть, что изучение гладкой мышечной и других тканей, образующих всевозможные сфинктерные аппараты, является особенно актуальным [4]. До сих пор среди морфологов нет четкого представления о развитии тканей стенки матки и сфинктерного аппарата ее шейки, а также о морфофункциональных преобразованиях последнего в разные возрастные периоды постнатального развития до приобретения им дефинитивного строения. Стоит отметить, что половая система у млекопитающих окончательно формируется и начинает функционировать в онтогенезе значительно позже всех других систем организма. Следовательно,

процессы гистогенеза: пролиферация, дифференцировка, интеграция и другие продолжают в ходе постнатального развития.

Цель исследования – изучить особенности реализации основных базисных процессов гистогенеза шейки матки на уровне цервикального сфинктера у крысы в постнатальном периоде развития.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 25 белых беспородных крысах. Экспериментальную группу составили новорожденные крысята (n=5), особи в возрасте 10 суток после рождения (n=5), животные 1 месяца после рождения и окончания периода грудного вскармливания (n=5), крысы, достигшие половой зрелости, в возрасте 4–5 месяцев (n=5) и в возрасте 1.5–2 лет (n=5). Экспериментальные исследо-

вания проводили в соответствии с «Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных», а также с соблюдением правил гуманного обращения с животными.

Объектом исследования служила шейка матки. В работе использованы методы фазово-контрастной и трансмиссионной электронной микроскопии. Для этого материал подвергали фиксации в 2.5% растворе глutarового альдегида на 0.1M фосфатном буфере с pH 7.4. После фиксации материал помещали в 1% раствор тетраоксида осмия, промывали раствором фосфатного буфера, затем обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали 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. Материал изучали на электронном микроскопе JEOL JEM-1400 PLUS. Статистическую обработку проводили с использованием стандартного пакета MICROSOFT OFFICE 2000, в среде Windows XP. Полученные в работе данные обрабатывали методами вариационной статистики с определением средних величин и их ошибок. Степень вероятности различий измеряемых структур вычисляли с помощью критерия Стьюдента при $p=0.95$.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования установлено, что до наступления половой зрелости крысы, ее матка претерпевает значительные морфологические изменения, особенно после рождения, в подсосный период, и далее, к моменту полового созревания.

К моменту рождения животных шейка матки имеет в своем строении сформированный эпителий слизистой оболочки. Цервикальный канал также сформирован, но со стороны влагалищной части его просвет закрыт слущенным эпителием (рис. 1). Под базальной мембраной эпителиального слоя определяют рыхло расположенные клетки, характеризующиеся полиморфизмом, строение подавляющего большинства клеток не позволяет достоверно судить об их тканеспецифичности. В некоторых клетках видны фигуры митоза. Общая толщина слоя полиморфных клеток на уровне формирующегося сфинктера матки варьирует, со стороны передней и медиальной поверхностей составляет 56.6 ± 7.92 мкм, задней и латеральной поверхностей – 63.96 ± 7.83 мкм.

Ультраструктурный уровень исследования позволяет установить, что клетки, расположенные в тесной близости к эпителию, относятся к фибробластическому дифферону, секретирующему компоненты межклеточного

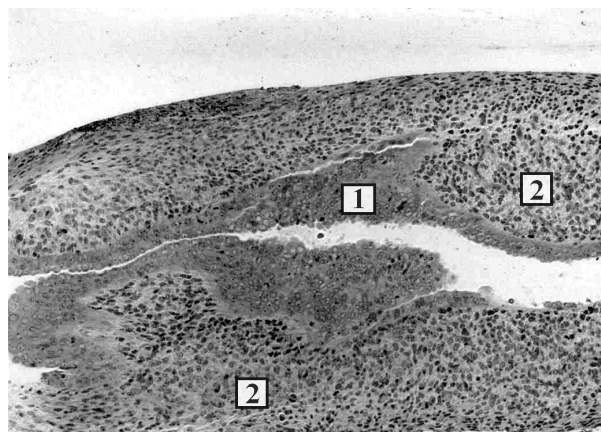


Рис. 1. Шейка матки новорожденной крысы на уровне сфинктера. Метод фазово-контрастной микроскопии. Ув. 100. Обозначения: 1 – эндометрий выстлан многослойным плоским эпителием; 2 – полиморфизм клеток, формирующихся эндометрия, миометрия и периметрия.

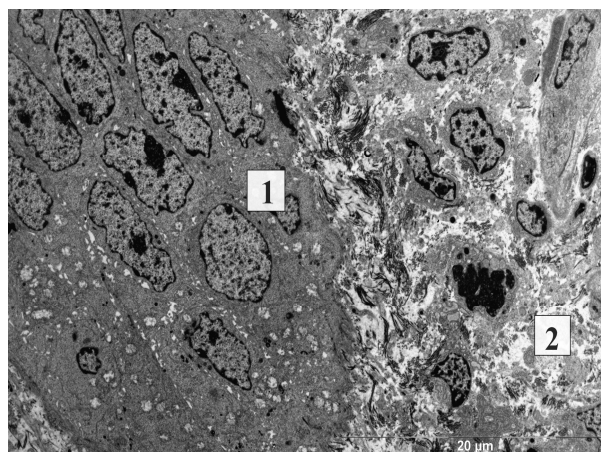


Рис. 2. Шейка матки новорожденной крысы на уровне сфинктера. ТЭМ. Ув. 1200. Обозначения: 1 – эндометрий выстлан многослойным плоским эпителием; 2 – полиморфизм клеток, формирующихся эндометрия и миометрия.

вещества соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки. Наиболее отдаленные от эпителия клетки дифференцируются в премиобласты, формируя в последующем мышечную оболочку (рис. 2). Со стороны наружной оболочки клетки также имеют признаки малодифференцированных фибробластов с формированием волокнистой соединительной ткани периметрия.

В участках формирования соединительной ткани в эндометрии, миометрии и периметрии отмечается дифференцировка ее клеток и межклеточного вещества. Клетки, рыхло расположенные в межклеточном веществе, по своим ультраструктурным особенностям соответствуют молодым фибробластам. Они имеют округлую форму (в диаметре достигают 5.63 ± 1.1 мкм) и вытянутую форму (размерами в длину – 7.92 ± 2.07 мкм и в ширину – 3.88 ± 1.46 мкм), округлое или овальное ядро, занимающее большую часть клетки. В цитоплазме некоторых из них появляется развитая

гранулярная эндоплазматическая сеть, что свидетельствует об уже начавшемся синтезе белков интерстициального матрикса. В шейке матки новорожденных крысят соотношение клеток и межклеточного вещества составляет 40–45% к 60–55% соответственно. Межклеточное вещество состоит из аморфной части, мелкодисперсных глыбок, а также небольшого количества ретикулярных, коллагеновых и единичных эластических волокон. Средний диаметр фибрилл составляет 53.7 ± 7.06 нм. При продольном направлении фибрилл в них видна поперечная исчерченность, а на поперечных срезах на поверхности фибрилл визуализируется выраженный гранулярный материал. В отдельных клетках наблюдаются признаки апоптоза. Апоптотически измененные клетки преимущественно локализуются в формирующихся эндометрии и периметрии и являются свидетельством активно протекающих формообразовательных процессов в этих оболочках.

Гистогенез мышечной ткани как специализированной происходит по сравнению с соединительной тканью позже. Ее дифференцировка в шейке матки на момент рождения только начинается. В толще стенки шейки матки, на месте будущего сфинктера некоторые из клеток удлинняются (рис. 2). В клетках пластинчатый комплекс развит слабо, отдельные мелкие митохондрии имеют немногочисленные кристы. В электронно-прозрачном матриксе цитоплазмы располагаются немногочисленные рибосомы, которые иногда объединяются в небольшие скопления.

К 10-м суткам после рождения крысы в шейке матки начинается компактизация клеток, со стороны периметрия вглубь миометрии отмечается рост кровеносных сосудов.

Электронно-микроскопически в клетках на уровне сфинктера обнаруживается увеличение количества эндоплазматической сети, в цитоплазме клеток достоверно определяются немногочисленные плотные тельца сократительного аппарата. Клетки сохраняют высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение, что дает наряду с признаками дифференцировки возможность идентифицировать их как миобласты. Миобласты области развития сфинктера шейки матки располагаются как одиночно, так и небольшими группами. С развитием межклеточного вещества формируется сарколемма мышечных клеток будущего сфинктера, устанавливаются межклеточные контакты: простые, десмосомы и немногочисленные щелевидные (рис. 3). В непосредственной близости к клеткам миометрии определяются безмиелиновые волокна. Их рост идет со стороны периметрия вглубь миометрии, где постепенно устанавливаются нервно-мышечные связи.

Направленный рост кровеносных сосудов и формирование нервно-мышечных кон-

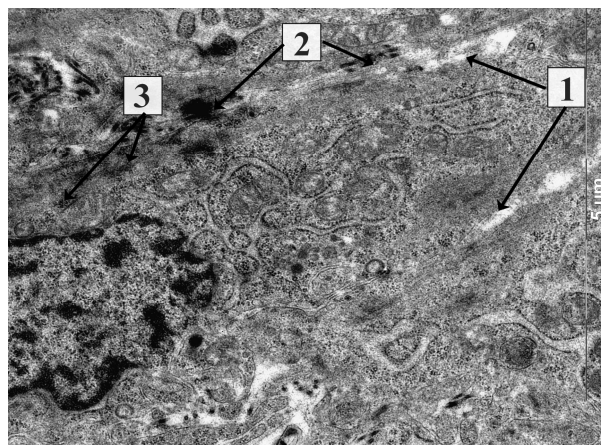


Рис. 3. Миобласт шейки матки крысы на уровне сфинктера на 10-е сутки онтогенеза. ТЭМ. Ув. 10000. Обозначения: 1 – формирующаяся сарколемма миобласта; 2 – десмосомы; 3 – плотные тельца в цитоплазме клетки.

тактов можно расценивать как факторы, являющиеся индукторами специфической дифференцировки тканей миометрии шейки матки.

Соотношение межклеточного вещества и клеток в данном участке сменяются в пользу последних, и соответствует 54–60 %. К этому сроку онтогенеза в межклеточном веществе миометрии накапливаются волокна. Они объединяются в пучки, расположенные в различных направлениях. Следует отметить, что эластический каркас в миометрии представлен единичными волокнами и в последующем не развивается, увеличивается содержание волокон коллагена.

К месячному возрасту крысы и окончанию подсосного периода четко определяется слоистое строение стенки шейки матки. Резкое увеличение толщины миометрии происходит, помимо гиперплазии клеток, путем внутриклеточной гипертрофии. На ультраструктурном уровне в цитоплазме клеток происходит накопление компонентов миофибрилярного аппарата. Среди миоцитов появляются различные по электронной плотности светлые или темные клетки. Однако процессы гистогенеза и дифференцировки тканевых элементов не завершаются.

К моменту половой зрелости тканевый состав в шейке матки принимает дефинитивное строение. В миометрии устанавливается слоистое строение. В циркулярном слое преобладают миоциты длиной 19.8 ± 4.6 мкм, шириной 3.7 ± 1.3 мкм, в то время как в наружном слое встречаются преимущественно более крупные миоциты длиной 48.5 ± 11.3 мкм и шириной 10.6 ± 3.9 мкм. В сосудистом слое миометрии немногочисленные миоциты имеют длину по оси 22.0 ± 6.2 мкм, ширина при этом составляет 4.6 ± 2.1 мкм. Цитоморфометрический анализ показывает, что гладкомышечные клетки в составе всех слоев варьируют по линейным параметрам. Поли-

морфизм миоцитов по морфометрическим параметрам позволяет выделить среди них популяции малых, средних и больших. Во внутреннем слое преобладают малые миоциты, а в наружном – большие. Гладкие миоциты интегрированы в единую систему и контактируют друг с другом при помощи функционально значимых контактов.

К 1.5–2 годам жизни гистоструктурная организация миометрия стенки сохраняет свое строение. Миоциты имеют типичное для них строение, при этом среди клеток на ультраструктурном уровне обнаруживается кариопикноз, что можно расценивать, как признаки начавшейся их генетически обусловленной гибели.

Выводы

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что в постнатальном онтогенезе, особенно после рождения и в подсосном периоде со стороны половой системы у самок крыс активно реализуются основные закономерности гистогенеза. Так, процесс пролиферации клеток, который максимально выражен после рождения животных способствует формированию оболочек стенки шейки матки и формированию слоев в миометрии. Наряду с активно протекающей пролиферацией происходят специфическая дифференцировка и интеграция тканей в функционально сложный аппарат – цервикальный сфинктер. Гистогенетическая гибель клеток в стенке шейки матки наблюдается в течение всего постнатального периода, однако максимальную значимость она имеет у особей первого месяца жизни и у стареющих животных. Апоптоз в первом случае играет главенствующую роль в формообразовательных процессах, во втором случае – свидетельствует о снижении функциональной активности специализированной ткани.

Список литературы

1. Баженов Д. В. Филогенез мышечной оболочки пищевода позвоночных / Д.В. Баженов, В.В. Банин, М.Б. Петрова. Тверь: «Альфа-Пресс», 2005. 160 с.
2. Созыкин А. А. Морфологические аспекты нормального гистогенеза и реактивных изменений гладкой мышечной ткани миометрия крыс: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.А. Созыкин. Волгоград, 2004. С. 32.
3. Ультроструктурные аспекты гистогенеза мышечных тканей стенки влагалища млекопитающих в постнатальный период развития / О.В. Шурыгина, Н.В. Ямщиков, В.Н. Абрамов, В.П. Балашов // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 3. URL: <http://www.science-education.ru/117-13787>.
4. Ямщиков Н. В. Сфинктерный аппарат прямой кишки: монография / Н.В. Ямщиков, Г.Н. Суворова. Самара: ГП «Перспектива», СамГМУ, 2003. 166 с.
5. Gao Y. TGFBR1 is required for mouse myometrial development / Y. Gao, K.J. Bayless, Q. Li. // Mol Endocrinol. 2014 Mar;28(3):380-94. doi: 10.1210/me.2013-1284. Epub 2014 Feb 7. PubMed PMID: 24506537; PubMed Central PMCID: PMC3938542.
6. Li Q. Transforming growth factor β signaling in uterine development and function. / Q. Li // J Anim Sci Biotechnol. 2014 Nov 14;5(1):52. doi: 1186/2049-1891-5-52.
7. Mehasseb M. K. The effects of tamoxifen and estradiol on myometrial differentiation and organization during early uterine development in the CD1 mouse. / M.K. Mehasseb, S.C. Bell, M.A. Habiba // Reproduction. 2009. Aug;138(2):341–50.

Сведения об авторах

Григорьева Юлия Владимировна – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры гистологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. 443001, г. Самара, ул. Чапаевская, 227. Histology@bk.ru

Суворова Галина Николаевна – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. 443001, г. Самара, ул. Чапаевская, 227.

Поступила в редакцию 16.05.2016 г.