

К ВОПРОСУ О ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЗНАЧИМОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ МИОЦИТОВ НИЖНЕГО СЕГМЕНТА МАТКИ КРЫС ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И В РОДАХ

ГРИГОРЬЕВА Ю.В.¹, ЯМЩИКОВ Н.В.¹, РЕНЦ Н.А.², БОРМОТОВ А.В.², СУПИЛЬНИКОВ А.А.³, КУЛАКОВА О.В.¹

ON THE FUNCTIONAL ROLE OF MORPHOLOGICALLY DIFFERENT MYOCYTES OF LOWER UTERINE SEGMENT IN RATS DURING PREGNANCY AND DELIVERY

GRIGORIEVA JU.V., YAMSHCHIKOV N.V., RENC N.A., BORMOTOV A.V., SUPILNIKOV A.A., KULAKOVA O.V.

¹Кафедра гистологии и эмбриологии (зав. кафедрой – профессор Н.В. Ямщиков) ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, Самара; ²патолого-анатомическое отделение (зав. отделением – А.В. Бормотов) МУЗ КБН[№]5 г.о. Тольятти, г. Тольятти; ³кафедра морфологии и патологии (зав. кафедрой – профессор П.А. Гелашвилли) НОУ ВПО СМи «Реавиз», Самара.

Методами световой, фазово-контрастной и электронной микроскопии изучены особенности функциональной морфологии миоцитов нижнего сегмента матки крыс при беременности и родах. Установлено, что в миометрии отмечаются динамические изменения структуры клеток двух дифферонных рядов: миоцитов и фибробластов. Функционально значимыми являются субпопуляции больших лейомиоцитов в составе надсосудистого слоя миометрия, а малых - в составе подслизистого слоя. Беременность и роды способствуют фенотипической трансформации миоцитов с сократительных на синтетические с последующим активным синтезом межклеточного матрикса. Особое функциональное значение приобретает дифферон фибробластов, осуществляющий две приоритетных функции: секреторную и пейсмейкерную.

Ключевые слова: нижний сегмент матки, миометрий, лейомиоциты, беременность, роды.

The functional morphology of the lower uterine myocytes in rats during pregnancy and delivery was studied by light, phase-contrast, and electron microscopy. In the myometrium the dynamic changes were observed in the cells structure of two differon layers: myocytes and fibroblasts. Functionally significant subpopulations include the large leiomyocytes in supravascular layer of myometrium and small leiomyocytes in submucosal layer. Pregnancy and delivery contribute to phenotypic transformation of myocytes changing their function from contractile to synthetic with the following active extracellular matrix synthesis. Particular functional

importance belongs to differon of fibroblasts carrying out two priority functions: secretory and pacemaker.

Key words: lower uterine segment, myometrium, leiomyocytes, pregnancy, delivery.

Введение. Фундаментальные знания о строении и функционировании матки, морфологических преобразованиях ее различных отделов в период беременности и родов являются основой решения практически всех важнейших проблем родовспоможения, а именно, длительности течения родов, величины кровопотери, исхода родов для матери и ребенка [1, 2]. Все сказанное, в основном, зависит от моторной функции матки, которая реализуется за счет деятельности клеток – миоцитов миометрия [3, 4].

В настоящее время полученные ультраструктурные, гистохимические, молекулярные, генетические, биохимические, физиологические и фармакологические данные значительно изменили представления о функциональной анатомии миометрия в процессе родов [4, 5, 6, 7].

Тем не менее, наиболее дискуссионным остается вопрос о нижнем сегменте матки, функциональная значимость которого возрастает в период беременности и родов [4, 8, 9].

Имеются данные о функциональной гомогенности миометрия тела матки и гетерогенности мышечной оболочки её нижнего сегмента [5, 10], о наличии собственных сокращений гладких мышц шейки матки в латентную фазу родов, не связанных со схватками [7]. Не смотря на вышесказанное, не вызывает сомнения, что для разработки наиболее эффективных методов профилактики и терапии аномалий родовой деятельности требуются углубленные фундаментальные знания на субклеточном, клеточном и тканевом уровнях. Но доступность в исследовательском материале, в определенный промежуток времени, для комплексного морфологического анализа, сопряжена со значительными трудностями и обусловлена этической стороной вопроса, повышенным риском для матери и ребенка и врачебной ответст-

венностью за их жизнь.

Матка человека и крысы имеют в общем сходное строение [9, 11], а биохимические процессы, происходящие при формировании шейки матки так же протекают аналогично у крысы, и у человека.

Цель исследования - изучить морфологические преобразования миоцитов миометрия нижнего сегмента матки крысы при беременности и родах.

Материал и методы исследования. Объектом исследования служили матки половозрелых крыс с датированным сроком беременности. Работа выполнена на 20 крысах в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

В работе были использованы методы световой микроскопии, фазово-контрастной микроскопии и электронной микроскопии. Забор материала производился на 15, 17, 19, 20 сутки беременности и в период родов. Контролем служил материал от интактных половозрелых самок. Материал фиксировали в забуференном формалине, проводку осуществляли в гистологическом процессоре замкнутого типа с вакуумом Leica ASP 300. Заливали материал в парафин «Histomix» фирмы Bio Optica. Срезы готовили на роторном микротоме толщиной 6 мкм. Готовые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Массону; для иммуногистохимического исследования были использованы моноклональные антитела к гладкомышечному актину и к C-kit гену. Типирование осуществляли с использованием антител фирмы DACO. Постановку иммуногистохимической реакции проводили с одношаговой системой визуализации BioGenex (QD 630-XAK) Super Sensitive one-step Polymer – HRP Kit/DAB

Также в работе были использованы методы фазово-контрастной микроскопии и электронной микроскопии. Для этого материал фиксировали в глутаровом альдегиде и заливали в эпон-аралдитовую смесь, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, а далее готовили полутонкие и ультратонкие срезы.

Результаты исследования и их обсуждение. Использование методов классической и современной гистологии позволило нам установить, что миометрий матки крысы состоит из трех слоев: подслизистого (внутреннего), сосудистого (среднего) и надсосудистого (наружного). Мышечная оболочка представлена гладкой мышечной тканью. Миоциты в составе слоев во всех частях матки имеют различную ориентацию, так внутренний слой имеет циркулярное направление, средний с небольшим количеством гладких миоцитов, косопоперечного направления и наружный – косопродольного направления [9].

Общий принцип строения миометрия сохраняется по длине рогов, тела и шейки матки (рис. 1). В каудальном направлении парные рога матки сливаются, формируя двойное тело, переходящее в шейку [9].

Сформировавшийся нижний сегмент матки разделен срединной перегородкой. В своем строении она имеет подслизистые слои миометрия (чем ближе к наружному зеву матки, тем значительнее становится развитие слоев) и тонкую полосу сосудистого слоя, который наоборот, более выражен в теле. Со стороны латеральных стенок нижнего сегмента максимальное развитие также получает внутренний слой.

Миоциты миометрия нижнего сегмента матки преимущественно имеют веретеновидную форму с палочковидным ядром, но встречаются и отростчатые клетки. Миоциты объединяются в мышечные пучки, которые переплетаются в разных направлениях и окружены соединительной тканью. В прослойках соединительной ткани проходят кровеносные сосуды и нервные волокна.

При беременности и, особенно, в последние дни беременности, отмечается выраженный полиморфизм миоцитов. Наиболее заметные изменения первоначально наблюдаются в теле матки к 19-21 дню беременности. В наружном слое миометрия становятся заметными группы миоцитов отличающиеся крупными размерами и имеют выраженное волокнистое строение. Группы миоцитов объединяются в пучки, которые отделены друг от друга прослойками волокнистой соединительной ткани. Цитоплазма клеток просветленная оксифильная (рис. 2).

Помимо измененных больших миоцитов, в срезах сохраняются и лейомиоциты с обычной морфологией (рис. 3).

На сегодняшний день такие преобразования миоцитов, как гипертрофия, в матке расцениваются как вариант физиологической регенерации гладкой мышечной ткани, которая проявляется в условиях повышенных функциональных нагрузок. Миоциты увеличиваются в размерах, в цитоплазме становятся заметны миофибриллы (рис. 4).

Таким образом, в наружном слое миометрия во время беременности формируются большие миоциты, которые, представляют собой терминальное звено миобластического дифферона.

Безусловно, такая адаптационно-приспособительная реакция осуществляется не столько на тканевом, сколько на клеточном и субклеточном уровнях.

Электронно-микроскопически в гладкой мускулатуре матки, помимо больших, средних и малых миоцитов, выявляются миоциты, характеризующиеся различным уровнем электронной плотности цитоплазмы, то есть темные и светлые.

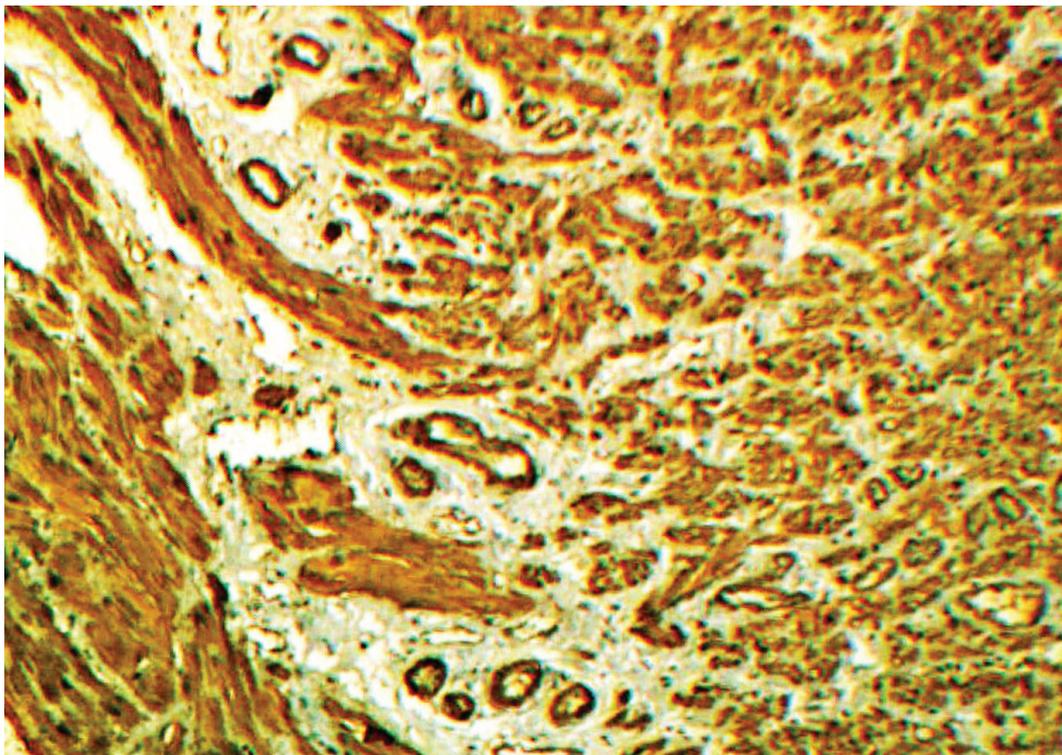


Рис. 1. Миометрий тела матки крысы на 20-е сутки беременности. Иммуногистохимия. Ув. 100.

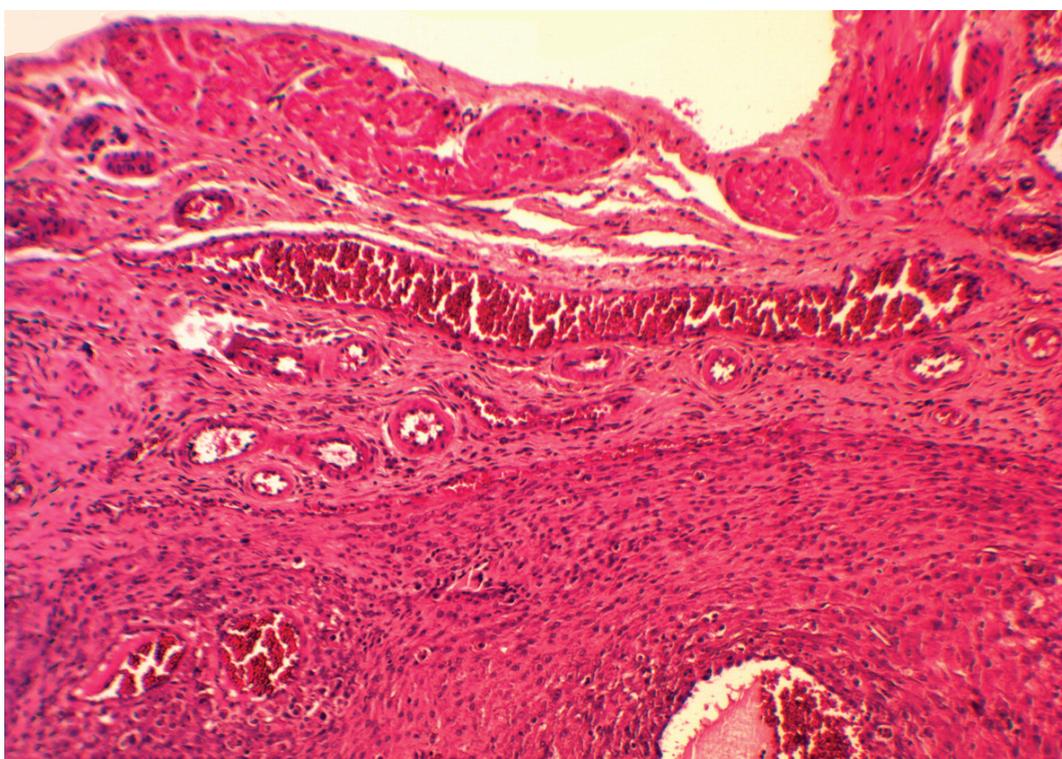


Рис. 2. Миометрий нижнего сегмента матки крысы 21-е сутки беременности. Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. 40.

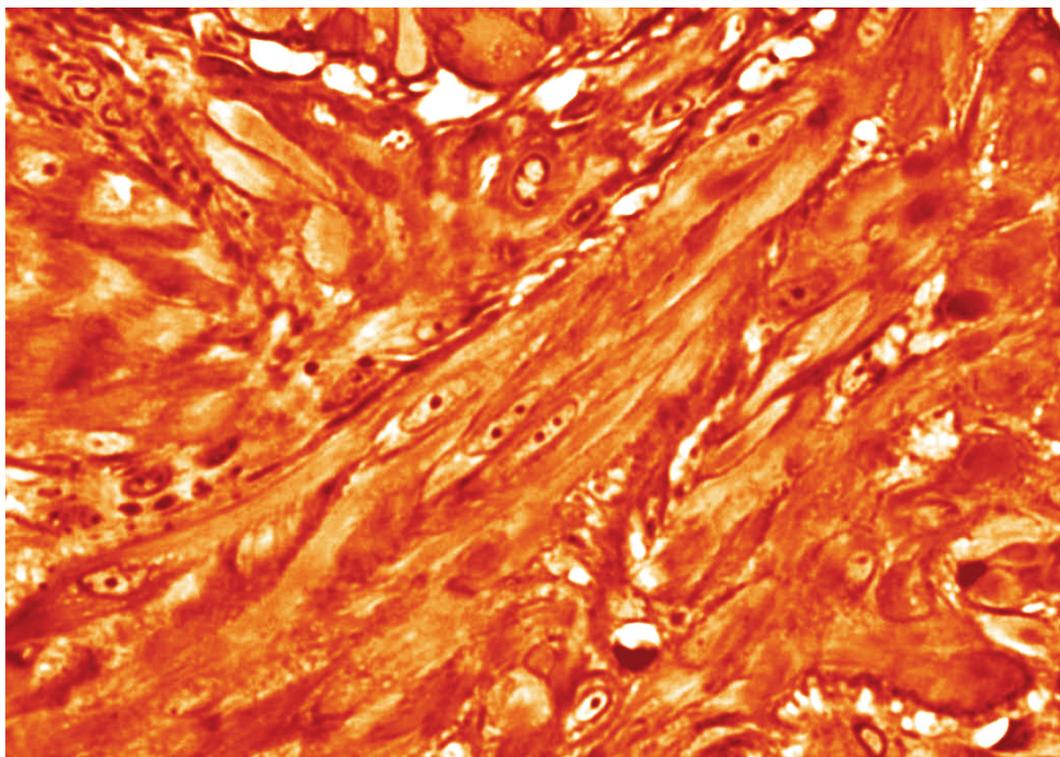


Рис. 3. Нижний сегмент матки крысы на 20-е сутки беременности. Фазово-контрастная микроскопия. Ув. 200.

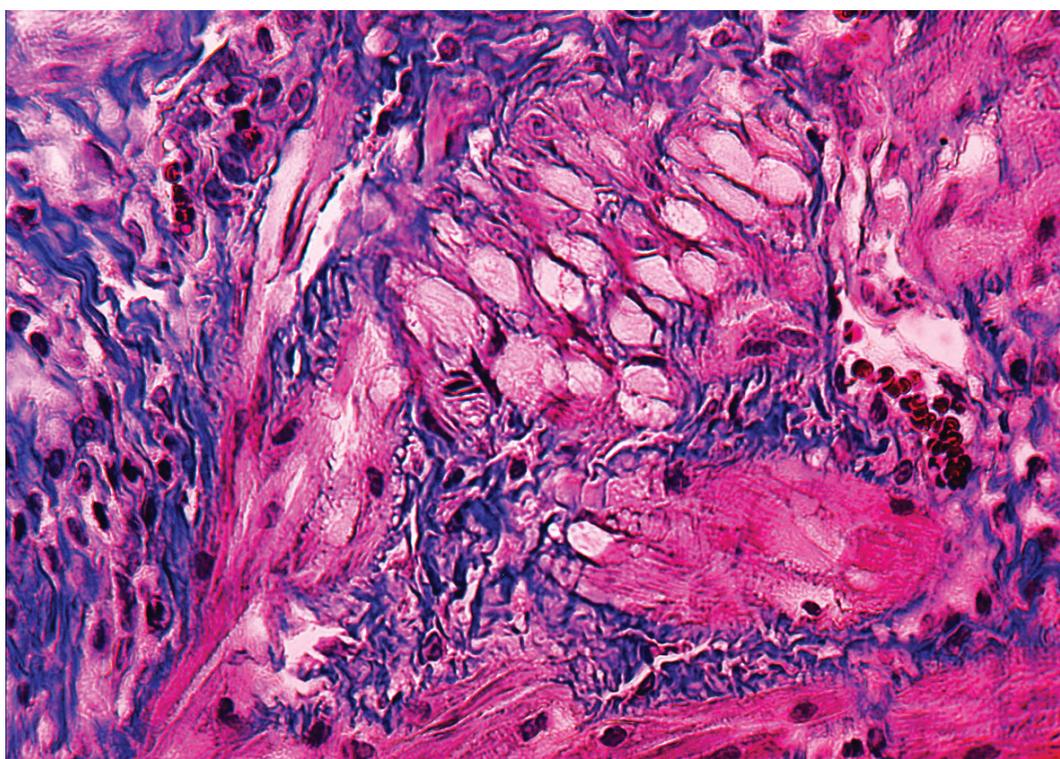


Рис. 4. Стенка тела матки крысы на 21-е сутки беременности. Окраска: по Массону. Ув. 200.

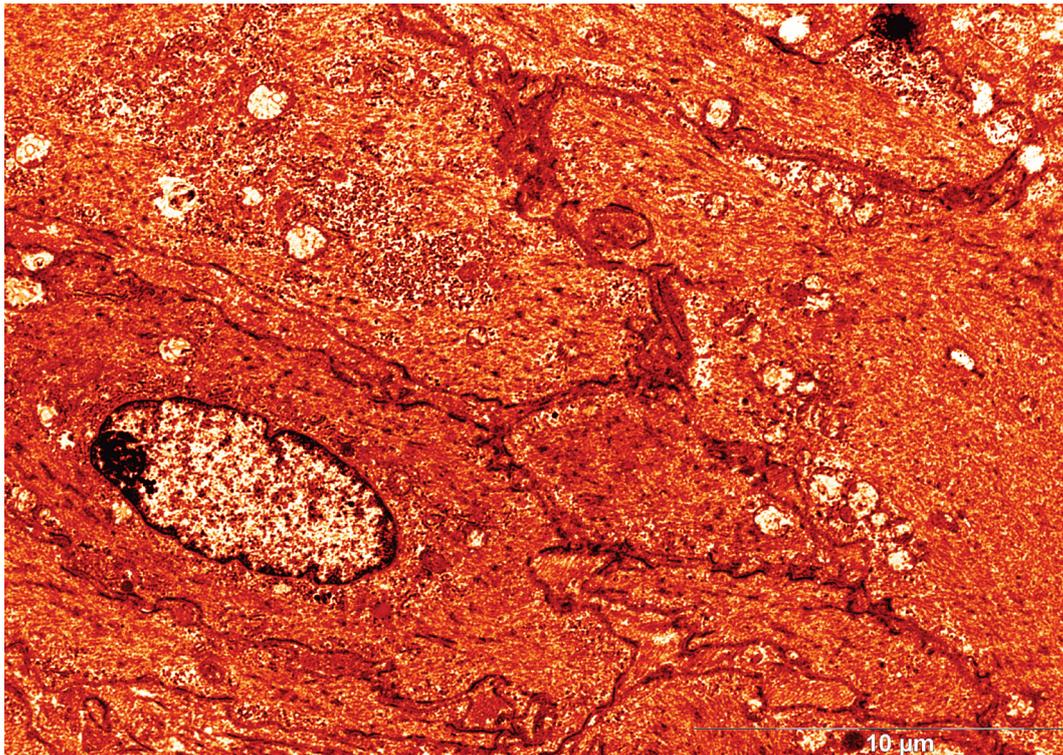


Рис. 5. Стенка тела матки крысы во время родов. ТЭМ. Ув. 2000.

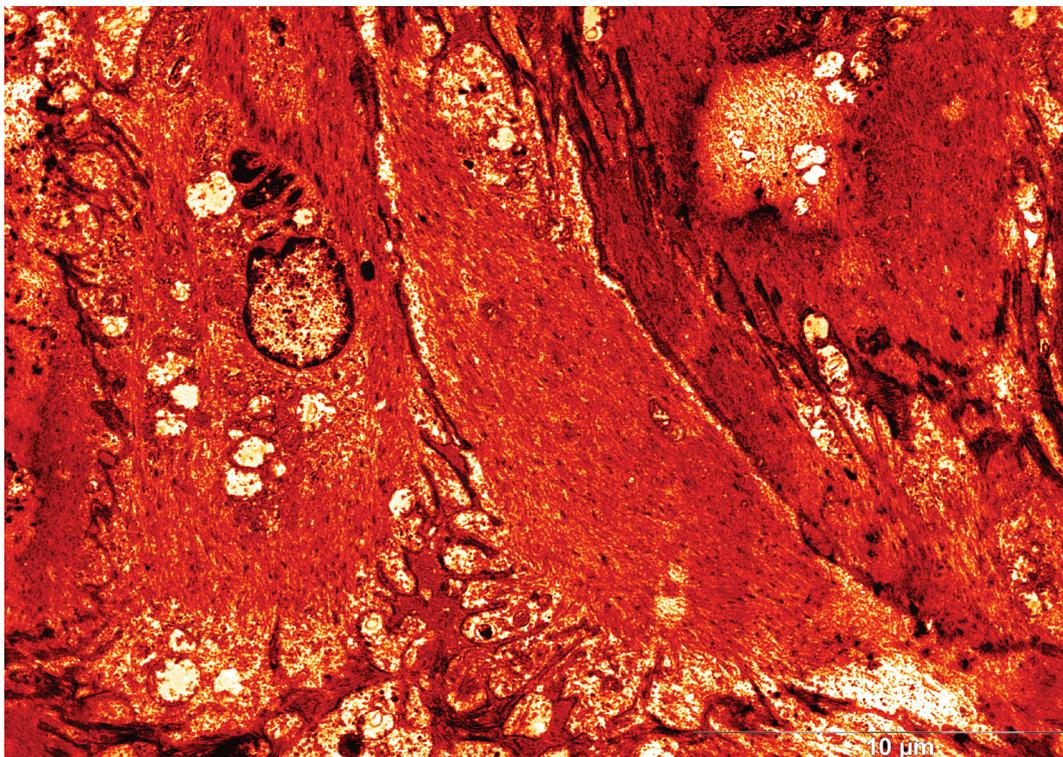


Рис. 6. Стенка шейки матки крысы во время родов. ТЭМ. Ув. 2000.

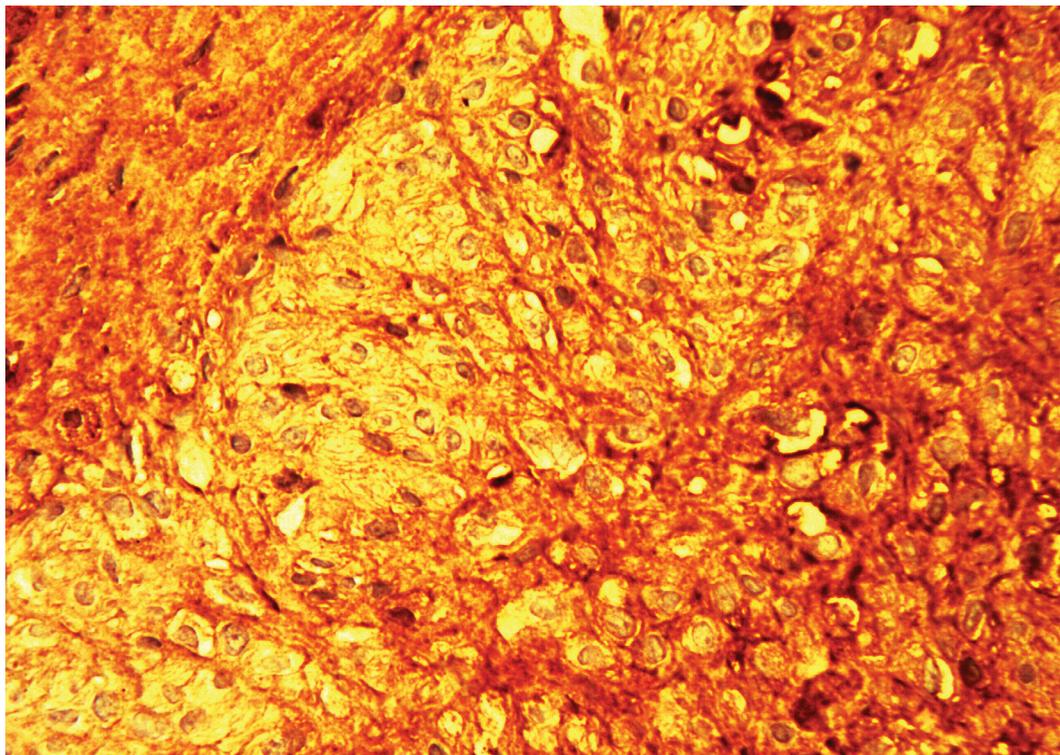


Рис. 7. Миометрий нижнего сегмента матки крысы во время родов. Иммуногистохимия. Ув. 200.

Темные и светлые гладкие миоциты интегрированы в единую систему, так называемый функциональный синцитий. Клетки контактируют друг с другом при помощи механических и функциональных контактов, а именно десмосом и щелевидных контактов (нексусов) (рис. 5)

Отличительной особенностью межклеточных взаимодействий в нижнем сегменте матки к концу беременности является увеличение их числа, и сохранение их в теле матки в период родов (рис. 5). В шейке матки, ближе к наружному зеву, в родах наблюдается резко противоположная реакция (рис. 6).

При изучении срезов из различных участков нижнего сегмента матки установлено, что в нижней части её тела преобладают темные миоциты, а в зоне цервикального канала количество светлых миоцитов незначительно увеличивается, но уменьшается количество больших миоцитов. Ближе к наружному зеву матки, функционального синцития нет. Миоциты округляются и обособляются. Их сарколема образует большое количество выпячиваний, в которых содержатся белковые гранулы и мелкие фибриллярные элементы межклеточного матрикса. В цитоплазме этих клеток количество миофибрилл уменьшается, но развивается синтетический аппарат. Интересным моментом является механизм выделения секре-

та. Он осуществляется путем отпочковывания участков цитоплазмы. Полученные морфологические данные дают основание предположить, что в период родоразрешения в шейке матки крыс наблюдается усиленный процесс биосинтеза белка и, что возможно, этот процесс может лежать в основе так называемого феномена «созревания» шейки матки.

Как известно в отличие от гладких миоцитов другой локализации, в матке они являются гормонально зависимыми, и кроме того обладают функциональными свойствами фибробластов. Последние относятся к фибробластическому дифференному ряду, но характеризуются миобластическим фенотипом, то есть, приобретением специализированной сократительной функции.

По мнению ряда авторов, не исключена, однако, и гиперплазия клеток. Вероятно, что гиперплазия возможна именно за счет пролиферации и трансформации фибробластов. Как известно, в составе гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта выявлена группа клеток, получившая название интерстициальных клеток Кахаля [11, 12], которые экспрессируют протоонкоген C-kit, кодирующий рецептор клеточной мембраны тирозинкиназу [13, 14]. В настоящее время иммуногистохимическая технология с использованием антител к C-kit гену применяется для идентифика-

ции интерстициальных клеток Кахала в кишечнике человека и лабораторных животных и считается наиболее специфичной для клеток данного типа.

Процесс активации дифференцировки фибробластов в миофибробласты происходит под влиянием цитокинов, продуцируемых локально клетками воспаления. Такие активированные фибробласты (прото-миофибробласты) формируются под действием стресса разной природы (механического, осмотического, оксидативного, дизрегуляторного) [12, 15].

К ключевым индукторам формирования миофибробластов относятся гепарин: тромбин, фибронектин и факторы механического напряжения [12]. Именно реализация этих фактов имеет место при беременности и достигающая максимума в период родов.

Кроме того, на примере миофибробластов желудочно-кишечного тракта доказана их роль как электрических пейсмеккеров, которые контролируют перистальтику [13, 14].

При иммуногистохимическом окрашивании тканей нижнего сегмента матки крысы к антигену C-kit (CD117) установлена его положительная экспрессия как в одиночных клетках, так и отдельных группах клеток подслизистого слоя миометрия (рис. 7).

На основании данных проведенного исследования установлено, что важным компонентом адаптационно-приспособительного механизма в период беременности и родов, в миометрии нижнего сегмента матки крысы является динамичное изменение структуры клеток двух дифференцированных рядов: фибробластов и миоцитов.

Среди гладких миоцитов миометрия нижнего сегмента матки, также как в других висцеральных органах, встречаются три их субпопуляции: малые, средние и большие. Установлено, что большие миоциты являются преобладающей субпопуляцией в составе надсосудистого слоя миометрия, в то время как малые доминируют в подслизистом слое.

На ультраструктурном уровне в составе миометрия тела и шейки матки определены темные и светлые миоциты, количественное соотношение которых к началу родовой деятельности меняется в пользу светлых, особенно в шейке матки ближе к наружному зеву.

Беременность и роды в шейке нижнего сегмента матки способствуют фенотипической трансформации миоцитов с сократительных на синтетические. Таким образом в родах запускается активный синтез белка межклеточного матрикса.

В связи с этим можно считать, что активный синтез коллагенового белка - основа морфологического «созревания» шейки матки.

При этом особое функциональное значение приобретает дифферон фибробластов, осуществ-

ляющий две приоритетных функции: секреторную и пейсмекерную.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Воскресенский С. Л. Оценка состояния плода. «Книжный дом» 2004. - 304 с.
2. Хечинашвили Г. Г. Клиническое значение определения готовности организма к родам. Л., 1974. 192 с. 10.
3. Ермошенко Б. Г. Структурно-функциональная основа координации сократительной деятельности в родах / Ермошенко Б. Г., Дорофеев И. В., Шубич Н. Г. // Рос. Вестник акуш. гин. — 2003. — Т. 3, № 5. — С. 21–27.
4. Савицкий А. Г. Роль нижнего сегмента в родовом процессе / Савицкий А. Г., Абрамченко В. В., Савицкий Г. А. // Ж. акуш. жен. болезн. — 2005. — Т. LIV, Вып. 3. — С. 19–27.
5. Воскресенский, С. Л. Особенности маточной гемодинамики при схватках // Акушерство и гинекология. - 1995. - N2. - С. 44-45.
6. Савицкий Г. А. О некоторых фундаментальных механических свойствах миометрия / Савицкий Г. А., Савицкий А. Г. // Ж. акуш. жен. болезн. — 1999. — Вып. 2. — С. 12-16
7. Alvarez H., Caldeyro-Barcia R. Contractility of the human uterus recorded by new methods // Surg. Gynaec. Obstet. 1950. Vol. 91, № 1. P. 1-13.
8. Бахмач В. О., Чехонацкая М. Л., Яннаева Н. Е., Забозлаев Ф. Г., Гришаева Л. А. Изменения матки и шейки матки во время беременности и накануне родов (обзор) // Саратовский научно-медицинский журнал. 2011. Т. 7, № 2. С. 396–400.
9. Григорьева Ю. В., Ямщиков Н. В., Бормотов А. В., Гарифуллина К. Ф. Особенности строения миометрия нижнего сегмента матки лабораторных крыс. Фундаментальные исследования, 2012 №12(1), С. - 48-51.
10. Garfield RE, Maner WL. Physiology and electrical activity of uterine contractions. Semin Cell Dev Biol. 2007 Jun; 18(3):289-95. Epub 2007 May 18. Review. PubMed PMID: 17659954; PubMed Central PMCID: PMC2048588.
11. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA (May 2002). «Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling». Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 3 (5): 349–63.
12. Баринов, Э. Ф., Сулаева О. Н. Гастроинтестинальные миофибробласты - роль в регуляции физиологической активности и репарации желудочно-кишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2010. - Т. 20, N3. - С. 9-18.
13. Huizinga J. F., Thuneberg I., Kluppel M. et al. C-kit gene required for the interstitial pacemaker activity // Nature. 1995. Vol. 373. № 26. P. 347–349.
14. Maeda H., Yamagata A., Nishikava S., Yoshinada

K. et al. Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system // *Development*. 1992. Vol. 116. P. 369–375.

15. Grotendorst G.R., Duncan M.R. Individual domains of connective tissue growth factor regulate fibroblast proliferation and myofibroblast differentiation // *FASEB J.* – 2005. – Vol. 19. – P. 729–738.

REFERENCES:

16. Voskresenskij S. L. Ocenka sostojanija ploda. «Knizhnyj dom» 2004. - 304 s.

17. Hechinashvili G. G. Klinicheskoe znachenie opredelenija gotovnosti organizma k rodam. L., 1974. 192 s. 10.

18. Ermoshenko B. G. Strukturno-funkcional'naja osnova koordinacii sokratitel'noj dejatel'nosti v rodah // Ermoshenko B. G., Dorofeev I. V., Shubich N. G. // *Ros. Vestnik akush. gin.* – 2003. – T. 3, № 5. – S. 21–27.

19. Savickij A. G. Rol' nizhnego segmenta v rodovom processe / Savickij A. G., Abramchenko V. V., Savickij G. A. // *Zh. akush. zhen. bolezni.* – 2005. – T. LIV, Vyp. 3. – S. 19–27.

20. Voskresenskij, S. L. Osobennosti matochnoj gemodinamiki pri shvatkah // *Akusherstvo i ginekologija.* - 1995. - N2. - S. 44-45.

21. Savickij G. A. O nekotoryh fundamental'nyh mehanicheskikh svojstvakh miometrija / Savickij G. A., Savickij A. G. // *Zh. akush. zhen. bolezni.* – 1999. – Vyp. 2. – S. 12-16

22. Bahmach V. O., Chehonackaja M. L., Jannaeva N. E., Zabozaev F. G., Grishaeva L. A. Izmenenija matki i shejki matki vo vremja beremennosti i nakanune rodov (obzor) // *Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal.* 2011. T. 7, № 2. S. 396–400.

23. Grigor'eva Ju.V., Jamshnikov N.V., Bormotov A.V., Garifullina K.F. Osobennosti stroenija miometrija

nizhnego segmenta matki laboratornyh kryс. *Fundamental'nye issledovanija*, 2012 №12(1), S.-48-51.

24. Barinov, Je. F. Sulaeva O. N. Gastrointestinal'nye miofibroblasty - rol' v reguljacii fiziologicheskoj aktivnosti i reparacii zheludochno-kishechnogo trakta // *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii.* - 2010. - T. 20, N3. - S. 9-18.

Авторская справка:

1. Григорьева Юлия Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии и эмбриологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, г. Самара, Россия (443001, Самара, ул. Чапаевская, д. 227), e-mail: JuliaG.va@yandex.ru

2. Ямщиков Николай Васильевич, профессор, доктор медицинских наук, зав. кафедрой гистологии и эмбриологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, г. Самара, Россия (443001, Самара, ул. Чапаевская, д. 227)

3. Ренц Николай Альфредович, главный врач МУЗ КБ№5 г.о. Тольятти, г. Тольятти, Россия (445846, Тольятти, бульвар Здоровья, 25)

4. Бормотов Александр Васильевич, заведующий патологоанатомическим отделением МУЗ КБ№5 г.о. Тольятти, г. Тольятти, Россия (445846, Тольятти, бульвар Здоровья, 25)

5. Супильников Алексей Александрович, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры морфологии и патологии НОУ ВПО СМи «Реавиз» г. Самара, Россия (443001, Самара, ул. Чапаевская, д. 227)

6. Кулакова Олеся Викторовна, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры гистологии и эмбриологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, г. Самара, Россия (443001, Самара, ул. Чапаевская, д. 227).