

© О.В. Шурыгина, Н.В. Ямщиков, 2010
УДК 611.671.018.6

О.В. Шурыгина и Н.В. Ямщиков

КЛЕТОЧНО-ДИФФЕРОННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ СТЕНКИ ВЛАГАЛИЩА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Кафедра гистологии и эмбриологии (зав. — проф. Н.В. Ямщиков), Самарский государственный медицинский университет;
e-mail: oks-shurygina@yandex.ru, y-n-v@mail.ru

Проведен комплексный гистологический анализ мышечных тканей стенки влагалища различных видов лабораторных животных (половозрелые самки — крысы, кошки, собаки) и человека. Мышечная оболочка стенки влагалища млекопитающих представлена двумя типами тканей: поперечнополосатой и гладкой. Поперечнополосатая мышечная ткань влагалища обладает специфичностью и образована двумя клеточными дифферонами: миосателлитоцитами и миосимпластами. Гладкая мышечная ткань влагалища представляет собой единый клеточный дифферон, в котором можно выделить мало-дифференцированные, дифференцирующиеся и дифференцированные клетки. Фенотипически в гладкой мышечной ткани влагалища различают: сократительные и сократительно-синтетические гладкие миоциты.

Ключевые слова: *мышечные ткани, влагалище, млекопитающие, человек.*

Изучение структурной организации тканей с позиций клеточно-дифферонной организации тканей является одной из актуальных проблем современной гистологии. Дифферон представляет собой совокупность клеточных форм, начиная со стволовой, и включает малодифференцированные, дифференцирующиеся, дифференцированные, стареющие и гибнущие клетки. Концепция дифферонной организации тканей позволяет рассматривать их как системы взаимодействующих дифферонов [4, 5, 7, 18]. Мышечные ткани входят в состав стенок практически всех полых органов; общепризнана их определяющая роль в нормальном функционировании этих органов [13, 17, 21, 22]. Исследование гистофизиологии мышечных тканей стенки влагалища половозрелых животных и человека представляется весьма актуальным для теоретической и практической медицины в связи с частыми нарушениями функционирования мускулатуры женских половых органов при акушерско-гинекологической патологии.

Цель настоящей работы — морфологический анализ тканевого состава мышечной оболочки стенки влагалища лабораторных животных и человека с позиций учения о клеточно-дифферонной организации тканей.

Материал и методы. Исследована стенка влагалища половозрелых самок млекопитающих: беспородных белых крыс (n=60), кошек (n=9), собак (n=9). Работа проведена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.). Изучено также гистологическое строение влагалища женщин (n=10), погибших вследствие ДТП. Материал для исследования взят в патоло-

гоанатомическом отделении 5-й Муниципальной больницы г. Тольятти.

Для светоптического исследования материал фиксировали в 10% нейтральном формалине на фосфатном буфере (pH 7,4) и заливали в парафин по стандартной методике. Для получения изолированных клеток использовали метод щелочной диссоциации тканей по В.Я. Бродскому [2]. Фрагменты влагалища фиксировали в холодном 10% нейтральном формалине на фосфатном буфере (pH 7,0), затем промывали проточной водой, и измельченные кусочки органа переносили в 50% раствор КОН на 12 ч. Далее материал помещали в холодную дистиллированную воду на 1 сут. После 2-часовой экспозиции при комнатной температуре воду заменяли на свежую и с помощью магнитной мешалки производили окончательное разделение клеток.

Определение гистохимического профиля поперечнополосатой мышцы влагалища проводили с помощью реакции выявления сукцинатдегидрогеназы по стандартной методике Нахласа [12].

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5% глутаральдегиде на 0,2 М какодилатном буфере (pH 7,4), дополнительно фиксировали в 1% OsO₄ и заливали в аралдит. Получали серийные полутонкие срезы толщиной 1–2 мкм, которые окрашивали 1% раствором метиленового синего. После идентификации необходимых объектов проводили ориентированную заточку блоков. Прицельные ультратонкие срезы толщиной 200–500 нм помещали на сетки, контрастировали уранилацетом и цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе Hitachi-HU-12 (Япония).

Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием системы визуализации Ultra Vision ONE с применением моноклональных антител к ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA), ki-67 (Labvision, США). После депарафинирования и регидратации срезов осуществляли демаскирование антигенов кипячением образцов в 10 мМ цитратном буфере на водяной бане. Визуализацию результатов после иммуногистохимической реакции с моноклональными антителами проводили с помощью непрямой

стрептавидин-биотиновой пероксидазной реакции. Срезы докрашивали гематоксилином Карацци и заключали в канадский бальзам.

Для изучения объема гладких миоцитов (ГМ), их ядер и ядерно-цитоплазменного отношения в ходе эстрального цикла у крыс брали фрагменты влагалища в различные фазы цикла. Для их определения у половозрелых крыс в возрасте 6 мес в утренние часы получали влагалищные мазки, которые исследовали после окраски азуром II-эозином по Романовскому [6].

Для морфометрического исследования использовали мазки изолированных ГМ. Измерение линейных размеров последних и их ядер проводили в двух взаимно перпендикулярных направлениях с помощью программы обработки и анализа изображений Image Tool версии 3.0. В соответствии с полученными цифровыми данными вычисляли объемы ГМ и их ядер [16], используя формулу эллипсоида: $V = \frac{1}{6} \pi a^2 b$, где a — малый диаметр, b — большой диаметр измеряемого объекта. По вычисленным объемам рассчитывали показатели ядерно-цитоплазменного отношения (ЯЦО) по формуле: $ЯЦО = V_{\text{ядра}} / (V_{\text{клетки}} - V_{\text{ядра}})$. Статистическое исследование данных проводили с использованием статистического пакета SPSS фирмы SPSS (США).

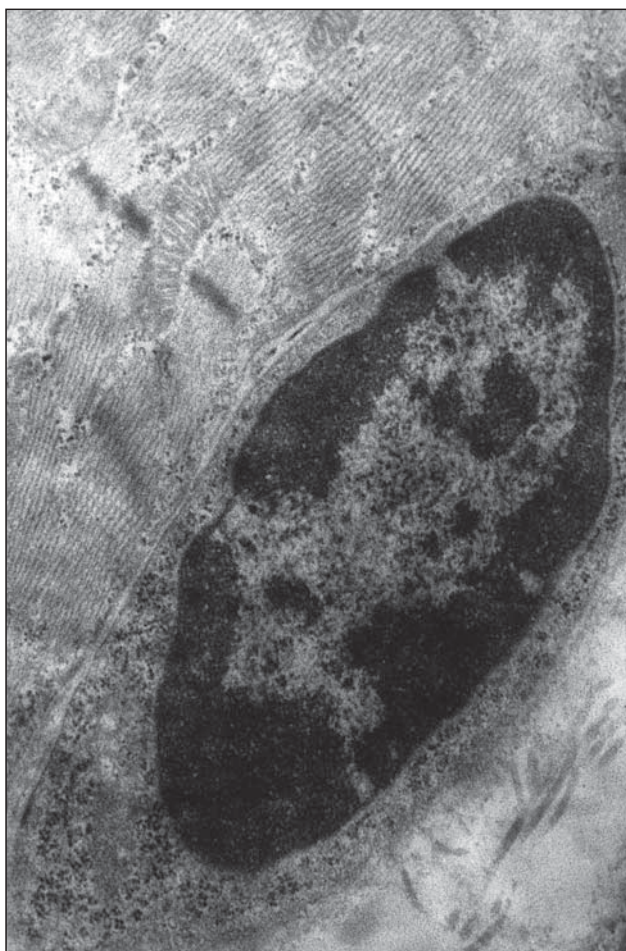


Рис. 1. Ультраструктура миосимпласта и миосателлитоцита поперечнополосатой мышечной ткани мышечной оболочки влагалища половозрелой крысы.
Ув. 25 000.

Проверка данных на соответствие нормальному распределению состояла из следующих процедур: а) построение гистограмм с наложенной нормальной кривой и нормальных вероятностных графиков; б) проверка на соответствие нормальному распределению одновыборочным тестом Колмогорова—Смирнова. Для описания выборочной совокупности данных использовали средние значения со стандартной ошибкой среднего показателя или стандартным отклонением, для определения статистически значимых различий между значениями показателей в группах данных были использованы непараметрические критерии Манна—Уитни (для двух независимых групп) и Крускала—Уоллиса (для более чем двух независимых групп).

Результаты исследования. Использование методов классической гистологии позволило установить, что тканевый состав мышечной оболочки стенки влагалища исследованных животных неодинаков в его различных отделах. В дистальном отделе она представлена поперечнополосатой мышечной тканью и наиболее широко — в мышечном аппарате влагалища собак. В средней трети влагалища встречается как поперечно-полосатая, так и гладкая мышечная ткань, располагающиеся в 2 слоя, из которых внутренний — циркулярный, а наружный — продольный. В проксимальном отделе мышечная оболочка представлена гладкой мышечной тканью. Мышечные волокна и пучки ГМ отделены друг от друга прослойками рыхлой волокнистой соединительной ткани. Ближе к шейке матки мышечная оболочка утолщается в результате появления третьего слоя ГМ.

Электронно-микроскопическое исследование поперечнополосатой мышечной ткани дистального отдела влагалища у половозрелых самок млекопитающих и человека свидетельствует о том, что она имеет клеточно-симпластическое строение (рис. 1). Ядра располагаются на периферии миосимпластов и характеризуются умеренной электронной плотностью, содержат мелкодисперсный хроматин. В них, как правило, выявляются 1–2 центрально расположенных крупных ядрышка. Сарколемма представляет собой типичную мембрану и прилегает к саркоплазме. Базальная пластинка повторяет контуры сарколеммы. Она отличается меньшей электронной плотностью, содержит в своем составе аморфное вещество и фибриллярные компоненты. Саркоплазма заполнена миофибриллами, имеющими четкий саркомерный принцип организации. В пределах саркомера хорошо определяются полосы А и I, линии Z, полосы H; отчетливо контурируются линии M. Отдельные миофибриллы отделены друг от друга участками саркоплазмы, в которой на уровне линий Z располагаются митохондрии, округлой или овальной формы. Их кристы располагают-

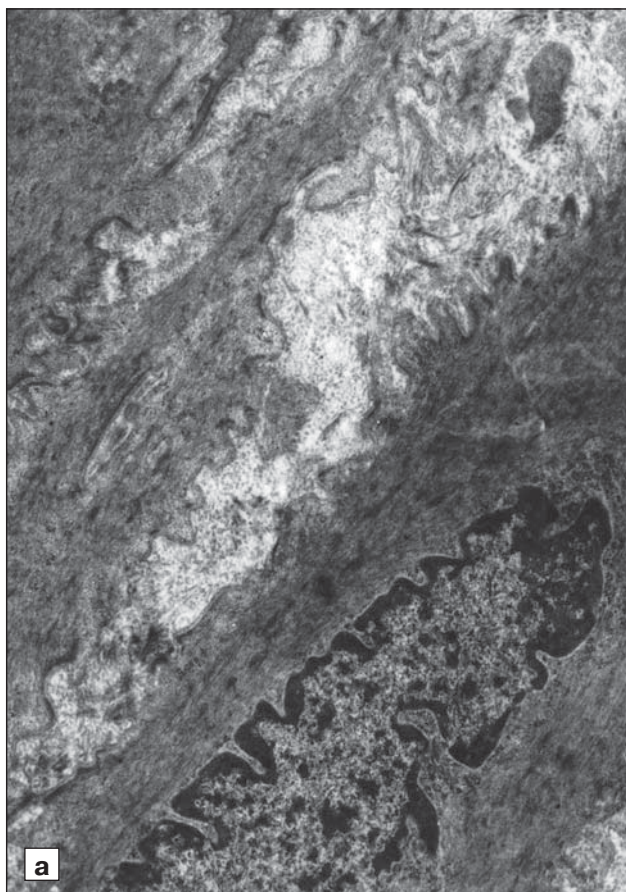
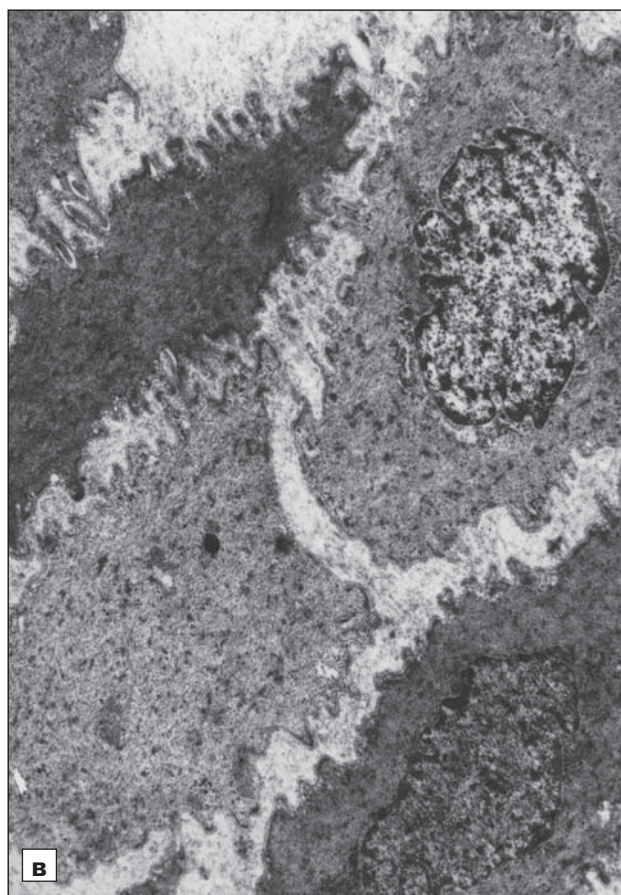


Рис. 2. Ультраструктура гладких миоцитов мышечной оболочки влагалища половозрелой крысы.

а — гладкие миоциты сократительного фенотипа; б — гладкие миоциты сократительно-синтетического фенотипа; в — светлые и темные гладкие миоциты. Ув.: а, в — 7000; б — 10 000.

ся компактно, матрикс имеет умеренную электронную плотность. Саркоплазматическая сеть в мышечных волокнах развита умеренно, каналцы расположены между миофибриллами. Скопления рибосом и гликогена, липидные включения (чаще округлой или овальной формы) определяются между миофибриллами и под сарколеммой. Миосателлитоциты являются постоянным компонентом поперечнополосатой мышечной ткани стенки влагалища. Они отделены от миосимпласта собственной плазмолеммой, а со стороны межклеточного вещества покрыты базальной мембраной; имеют плотное, богатое гетерохроматином ядро. Органеллы в миосателлитоцитах развиты слабо: в цитоплазме располагаются единичные мелкие митохондрии.

При определении гистохимического профиля волокна поперечнополосатой мышечной ткани у половозрелых крыс делятся на несколько типов:



красные (39,2%), белые (29,4%) и волокна промежуточного типа (31,4%), т.е. фенотип мышечных волокон дистального отдела влагиалища можно определить как смешанный.

При электронно-микроскопическом исследовании гладкой мышечной ткани влагиалища у половозрелых млекопитающих обнаруживаются различные фенотипы ГМ, что свидетельствует о полиморфизме клеточной популяции. Среди них можно выделить сократительные и сократительно-синтетические миоциты (рис. 2, а, б). Среди сократительных ГМ различаются светлые и темные, которые, видимо, находятся в разном функциональном состоянии (см. рис. 2, в). В светлых ГМ контрактильный аппарат расположен более рыхло, периферическая зона цитоплазмы свободна от миофиламентов. Для темных клеток характерна более упорядоченная организация сократительного аппарата (параллельная ориентация, плотное расположение и определенная локализация миофиламентов).

Сократительно-синтетические ГМ имеют в своей цитоплазме хорошо развитый синтетический аппарат — гранулярную эндоплазматическую сеть, комплекс Гольджи, многочисленные митохондрии, гранулы гликогена и секреторные включения. В периферической части цитоплазмы ГМ располагаются пучки миофиламентов. В составе мышечного пласта разные фенотипы ГМ располагаются без какой-либо упорядоченности.

По степени дифференцировки в дефинитивной гладкой мышечной ткани при ультраструктурном исследовании можно выделить малодифференцированные, дифференцирующиеся и дифференцированные клетки. Процесс специфической дифференцировки обусловлен органоспецифической детерминацией. Он сопровождается изменением ультраструктурной организации и становлением межклеточных коммуникаций. Наличие ГМ с разной степенью дифференцировки является признаком гетерохронности данного процесса.

Среди ГМ встречаются клетки, имеющие ультраструктурные признаки малодифференцированных. Это клетки овальной формы с крупным ядром, в котором хроматин находится в активном состоянии. В цитоплазме содержатся рыхло расположенные миофиламенты, значительное количество рибосом и митохондрий.

Дифференцирующиеся ГМ представляют собой клетки веретеновидной формы с отростками. В их цитоплазме идет активный синтез миофиламентов, появляются плотные тельца, формируются прикрепительные полосы. Органеллы ГМ располагаются в перинуклеарной области, преимущественно у полюсов ядра.

Митохондриальный аппарат в ГМ хорошо развит. Митохондрии округлой или овальной формы имеют электронно-прозрачный матрикс и малое количество крист. В некоторых ГМ митохондрии образуют скопления, как в перикарионе, так и на периферии клеток. Канальцы гранулярной эндоплазматической сети заполнены аморфным содержимым, что, вероятно, свидетельствует об активно протекающих в них синтетических процессах. В ГМ также имеются участки скопления свободных рибосом и полисом, встречаются немногочисленные кортикальные пузырьки и липидные включения. Ядра в дифференцирующихся ГМ имеют овальную форму, хроматин в них расположен пристеночно.

Дифференцированные ГМ характеризуются более мощно развитым контрактильным аппаратом и кавеоларным комплексом. В центральной части клеток локализуются ядра овальной формы. Гетерохроматин содержится в незначительном количестве, он представлен мелкими глыбками, которые равномерно распределены по всей нуклеоплазме. Ядерная оболочка часто образует инвагинации. Уровень развития органелл зависит от функционального состояния клеток. Во многих ГМ отмечаются скопления гликогена, гипертрофированная гранулярная эндоплазматическая сеть, многочисленные рибосомы и полисомы. Наличие ГМ разной степени дифференцировки в дефинитивной гладкой мышечной ткани характеризует их популяцию как полиморфную.

Межклеточные контакты в гладкой мышечной ткани влагиалища представлены простыми мембранными контактами, в виде взаимных впячиваний, мостиков, нексусов. Нексусы являются обязательным типом контактов между ГМ и наиболее часто наблюдаются в области инвагинаций их плазмалемм. На протяжении контактирующих поверхностей ГМ в зоне нексуса отсутствуют участки специализации и уплотнения клеточных мембран. Обычно в этих местах мембран ГМ встречаются единичные микропиноцитозные пузырьки.

В сближенных боковых поверхностях ГМ обнаруживаются контакты, представленные параллельно ориентированными утолщенными мембранами. В этой зоне миофиламенты обычно отсутствуют, как правило, здесь концентрируются пузырьки и элементы эндоплазматической сети.

При иммуногистохимическом исследовании с применением моноклональных антител к PCNA, ki-67 в гладкой мышечной ткани половозрелых крыс обнаруживаются единичные пролиферирующие ГМ.

**Морфометрические показатели гладких миоцитов мышечной оболочки влагалища половозрелых крыс
в зависимости от стадий эстрального цикла ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Фаза эстрального цикла	Объем клетки, мкм ³	Объем ядра, мкм ³	Ядерно-цитоплазматическое отношение
Прозэструс	3266±381	181±21	0,086±0,009
Метэструс	3857±417	174±21	0,066±0,006
Диэструс	3718±508	152±17	0,059±0,003
Эструс	3591±336	151±12	0,065±0,005

Проведенный морфологический анализ мазков изолированных ГМ показал, что в пределах одной возрастной группы они различаются по размерам. Средний объем ГМ у половозрелой крысы составляет 3603 ± 275 мкм³, у кошки — 901 ± 61 мкм³, у собаки — 1718 ± 77 мкм³, у человека — 2659 ± 114 мкм³.

Изучение гладкой мышечной ткани свидетельствует о том, что в разные фазы эстрального цикла у половозрелых крыс объемы ГМ, их ядер и ядерно-цитоплазматические отношения варьируют (таблица). Выявлены статистически значимые различия при парном сравнении объемов клеток в следующие фазы: проэструс и метэструс, метэструс и эструс, диэструс и эструс; объемов ядер — проэструс и эструс, метэструс и диэструс, метэструс и эструс; ядерно-цитоплазматического отношения — проэструс и эструс, проэструс и диэструс, проэструс и эструс. Это, судя по всему, связано с изменением гормонального фона в течение эстрального цикла.

В мазках изолированных ГМ влагалища у лабораторных животных и человека определяются единичные клетки с фигурами митоза и двуядерные клетки.

При светооптическом и электронномикроскопическом исследовании контактов между элементами гладкой и поперечнополосатой мышечной ткани в мышечной оболочке влагалища не обнаружено.

Обсуждение полученных данных. При комплексном морфологическом исследовании установлено, что мышечная оболочка влагалища млекопитающих образована поперечнополосатой мышечной тканью в дистальном отделе и сменяющей ее в среднем и проксимальном отделах гладкой мышечной тканью.

Поперечнополосатая мышечная ткань стенки влагалища имеет типичное клеточно-симпластическое строение. Наличие миосателлитов, как маркеров соматической мышечной ткани, доказывает ее миотомное происхождение [5, 11, 23, 24]. Однако в этом органе поперечнополосатая мышечная ткань не участвует в локомоторных функциях, поэтому ее следует отнести

к группе мышц нелокомоторного (висцерального) аппарата, т.е. ее можно рассматривать как разновидность соматической мускулатуры, которая приобрела специфические черты строения в связи с особенностями иннервации и функционирования [1, 8, 11, 20, 23, 24].

Поперечнополосатую мышечную ткань влагалища (как и других внутренних органов — пищевода, сфинктеров прямой кишки, уретры) можно классифицировать как несердечную висцеральную поперечнополосатую мышечную ткань [15].

Известно, что в эмбриональном гистогенезе поперечнополосатой мышечной ткани, в результате дивергентной дифференцировки, из миотомных предшественников формируются два дифферона: миосателлитоциты и миосимпласты, которые сохраняются на протяжении всего онтогенеза [5, 9–11]. Согласно полученным в нашей работе данным, для несердечной висцеральной поперечнополосатой мышечной ткани влагалища также характерно наличие тех же двух дифферонов — миосателлитоцитов и миосимпластов.

Гладкая мышечная ткань влагалища представляет собой единый клеточный дифферон, в котором можно выделить малодифференцированные, дифференцирующиеся и дифференцированные клетки, т.е. во влагалище клеточно-дифферонная ее организация подобна таковой в других внутренних органах [3, 14, 19]. Фенотипически в гладкой мышечной ткани влагалища различают: сократительные и сократительно-синтетические ГМ.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что мышечная оболочка влагалища образована двумя типами мышечных тканей: полидифферонной несердечной висцеральной поперечнополосатой мышечной тканью и монодифферонной гладкой мышечной тканью.

Авторы приносят благодарность чл.-кор. РАМН проф. В.В. Банину за помощь в проведении электронномикроскопического исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баженов Д.В., Банин В.В. и Петрова М.Б. Филогенез мышечной оболочки пищевода позвоночных. Тверь, Альфа-Пресс, 2005.

2. Бродский В.Я., Цирекидзе Н.Н. и Коган М.Е. Изменение абсолютного числа клеток в сердце и печени. Количественное сохранение белков и ДНК в изолированных клетках. Цитология, 1983, № 3, с. 260–265.
3. Данилов Р.К. Раневой процесс: гистогенетические основы. СПб., изд. ВМедА им. С.М.Кирова, 2008.
4. Данилов Р.К., Боровая Т.Г. и Клочков Н.Д. Экспериментально-гистологический анализ гистогенеза и регенерации тканей (некоторые итоги XX века и перспективы дальнейших исследований). Морфология, 2000, т. 118, вып. 4, с. 7–16.
5. Зашихин А.Л. и Селин Я. Висцеральная гладкая мышечная ткань. Архангельск, Издательский центр СГМУ, 2001.
6. Зуссман Э. Биология развития. М., Мир, 1977.
7. Клишов А.А. Гистогенез и регенерация тканей. Л., Медицина, 1984.
8. Клишов А.А., Графова Г.Я., Гололобов В.Г. и др. Клеточно-дифферонная организация тканей и проблема заживления ран. Арх. анат., 1990, т. 98, вып. 4, с. 5–23.
9. Кузнецов С.Л. Функциональная морфология и гистохимия волокон скелетной мышечной ткани. М., Блок, 1999.
10. Одинова И.А. Регенерационный гистогенез в кожно-мышечной ране: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2004.
11. Одинова И.А., Чепурненко М.Н., Деев Р.В. и др. Структурные взаимоотношения клеток в ходе эмбрионального и репаративного гистогенеза. Морфол. вед., 2004, № 1–2, с. 115–116.
12. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М., Изд-во иностр. лит-ры, 1962.
13. Руководство по гистологии, Т. 1. Общая гистология (учение о тканях). Под ред. Р.К. Данилова и В.Л. Быкова. СПб., СпецЛит, 2001.
14. Созыкин А.А. Морфологические аспекты нормального гистогенеза и реактивных изменений гладкой мышечной ткани миометрии крыс: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Волгоград, 2004.
15. Terminologia Histologica. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов. Под ред. В.В. Банина и В.Л. Быкова. М., ГЭОТАР-Медиа, 2009.
16. Хесин Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. М., Медицина, 1967.
17. Шубникова В.А., Юрина Н.А., Гусев Н.Б. и др. Мышечные ткани. М., Медицина, 2001.
18. Ямщиков Н.В. и Скворцов О.И. Клеточно-дифферонная организация сердечной мышечной ткани. Морфология, 1997, т. 112, вып. 4, с. 97–98.
19. Ямщиков Н.В. и Суворова Г.Н. Морфология сфинктерного аппарата прямой кишки. Самара, Перспектива, 2003.
20. Appell H. and Hammerson F. The fiber composition of the semitendinosus muscle of the rabbit. Cell Tissue Res., 1979, v. 196, № 3, p. 511–539.
21. Chen Y.H., Chen Y.L., Lin S.J. et al. Electron microscopic studies of fenotip modulation of smooth muscle cell in coronary arteries of patients with unstable angina pectoris and postangioplasty resynthesis. Circulation, 1997, v. 95, № 5, p. 1169–1175.
22. Gartner L.P. and Hiatt J.L. Histology. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007.
23. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1961, v. 9, p. 493–495.
24. Molnar G., Ho M. and Schroedl N. Evidence for multiple satellite cell populations and a non-myogenic cell type that is regulated differently in regenerating and growing skeletal muscle. Tissue Cell, 1996, v. 28, p. 547–556.

Поступила в редакцию 25.05.09

Получена после доработки 13.01.10

CELLULAR-DIFFERON ORGANIZATION OF VAGINAL WALL MUSCULAR TISSUES IN MAMMALS

O.V. Shurygina and N.V. Yamschikov

Complex histological analysis of vaginal wall muscular tissues was carried out in several species of laboratory animals (mature rats, cats, dogs) and humans. The muscular tunic of vaginal wall was found to be represented by two types of tissue: striated and smooth muscle. Striated muscular tissue of vagina has specific features and consists of two cellular differons: myosimplasts and satellite cells. The smooth muscular tissue is formed by a single cellular differon, in which undifferentiated, differentiating and differentiated cells could be distinguished. Phenotypically, within vaginal smooth muscular tissue, contractile and contractile-secretory smooth myocytes were demonstrated.

Key words: *muscular tissues, vagina, mammals, man.*

Department of Histology and Embryology, Samara State Medical University