

УДК 591.86+616-003.93

РЕАКТИВНОСТЬ МЫШЕЧНОГО АППАРАТА ВЛАГАЛИЩА ПОЛОВОЗРЕЛЫХ БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© 2007 О.В. Шурыгина,¹ Р.Б. Балтер, Р.Т. Невзорова, С.Н. Макаренко,
В.О. Катюшина²

Регенерация тканей и органов остается одной из важных медико-биологических проблем в современной морфологии и медицине. В ответ на любое повреждение происходит структурная реорганизация тканей органа. Морфологические изменения, возникающие в ответ на любой альтерирующий фактор, как правило, имеют стереотипный характер. Но, в зависимости от вида повреждения, они имеют свои особенности. В данной работе изучены особенности мышечного аппарата влагалища половозрелых белых крыс в норме и при использовании в качестве альтерирующего фактора фармакологического препарата — ваготил.

Введение

Изучение гистофизиологии мышечных тканей в нормальных и экспериментально измененных условиях является одним из важных направлений современных медико-биологических исследований. Многочисленные работы отечественных и зарубежных ученых посвящены изучению структурно-функциональных характеристик мышечных тканей [1–4]. Мышечные ткани входят в состав практически всех полых органов. Общеизвестна их определяющая роль в нормальном функционировании органов и при развитии реактивных состояний. В настоящее время усилия исследователей направлены на детальное изучение функциональной организации мышечных тканей с применением новых методов исследования в нормальных и экспериментально измененных условиях.

1. Цель исследования

Изучение реактивных изменений мышечных тканей влагалища в условиях многократного применения фармакологического препарата — ваготил, использующегося в акушерско-гинекологической практике.

¹Шурыгина Оксана Викторовна (oks-shurygina@yandex.ru), кафедры гистологии и эмбриологии Самарского государственного медицинского университета, 443001, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, 227.

²Балтер Регина Борисовна, Невзорова Румия Касировна, Макаренко Светлана Владимировна, Катюшина Вероника Олеговна, кафедры акушерства и гинекологии №2, кафедра акушерства и гинекологии №2 Самарского государственного медицинского университета, 443010, Россия, г. Самара, ул. Галактионовская, 21.

2. Материалы и методы

В работе использованы 2 группы лабораторных животных в соответствии с "Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных". Первой группе животных для изучения особенностей реактивных изменений мышечных тканей в условиях применения фармакологического препарата — ваготил в течение 3-х дней проводилось интравагинальное введение марлевых тампонов, смоченных 36% раствором ваготила. Вторую группу, контроль, составили интактные половозрелые самки. Материал забирали на 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 сутки после проведения эксперимента.

Ваготил — антибактериальное средство, обладающее выраженным прижигающим действием.

Проведено комплексное морфологическое исследование с применением методов световой и электронной микроскопии щелочной диссоциации тканей с получением изолированных клеток, иммуногистохимии с использованием моноклональных антител фирмы Labvision (США) — PCNA, ki-67, Apaf.

3. Результаты исследования и их обсуждение

Стенка влагалища половозрелых крыс состоит из слизистой, мышечной и адвентициальной оболочек, которая покрывает снаружи ретроперитонеальную часть. Серозная оболочка выражена только на проксимальном отделе влагалища.

Слизистая оболочка образует отчетливые продольные влагалищные складки и выстлана многослойным частично ороговевающим эпителием в дистальном отделе влагалища, который постепенно (на уровне средней трети) переходит в неороговевающий эпителий. Под эпителием располагается собственная пластинка слизистой оболочки, представленная рыхлой волокнистой соединительной тканью.

Мышечная оболочка в дистальном отделе влагалища представлена исчерченной мышечной тканью, которая постепенно заменяется гладкой мышечной тканью. В проксимальном отделе мышечная оболочка представлена гладкой мышечной тканью, которая располагается в 2 слоя: внутренний — циркулярный и наружный — продольный. Компартменты гладких миоцитов отделены друг от друга прослойками рыхлой волокнистой соединительной ткани.

Исчерченная поперечно-полосатая мышечная ткань при электронно-микроскопическом исследовании имеет типичное строение. Это клеточно-симпластические структуры, покрытые снаружи базальной мембраной, в которую вплетаются коллагеновые волокна эндомизия. На периферии миосимпластов располагаются ядра высокой электронной плотности с преобладанием гетерохроматина. Некоторые ядра содержат крупные ядрышки. В околоядерной области — скопления рибосом и гликогена.

Миофибриллы занимают большой объем саркоплазмы, располагаются вдоль оси волокна, имеют саркомерный принцип организации. Соседние миофибриллы отделены саркоплазмой, которая заполнена большим количеством гликогена и рибосом. Митохондриальный аппарат выражен умеренно: располагается на уровне Z-линий и небольшие скопления под сарколеммой. Саркоплазматическая сеть слабо развита.

Между мышечными волокнами располагается эндомизий, в межклеточном веществе которого преобладает аморфный матрикс. Волокнистый компонент представлен в основном коллагеновыми волокнами.

Замена скелетной мышечной ткани на гладкую происходит постепенно, на уровне средней трети влагалища.

Гладкая мышечная ткань представлена лейомиоцитами, которые, как правило, имеют веретеновидную форму. Встречаются единичные отростчатые клетки. У лейомиоцитов хорошо развита кавеоллярная система. Ядра имеют овальную форму, расположены в центре клетки. В них часто встречаются инвагинации кариеолеммы.

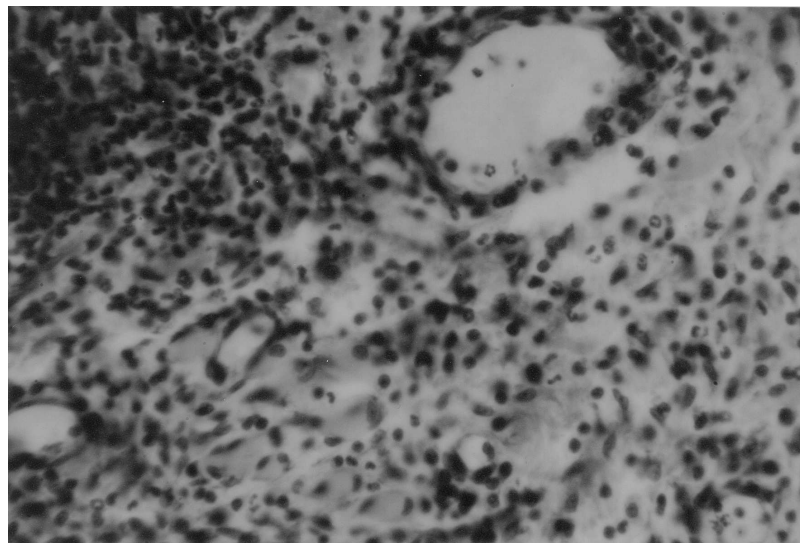


Рис. 1. Инфильтрация зернистыми лейкоцитами мышечной оболочки влагалища. 3-и сутки эксперимента. Окраска по Ван-Гизон. Об. 40, ок 7

Электронно-микроскопически гладкая мышечная ткань представлена разнородной популяцией гладких миоцитов: светлыми и темными — это дифференцированные клетки, которые отличаются разным функциональным состоянием. Органеллы лейомиоцита располагаются в перинуклеарной зоне и у полюсов. Митохондрии имеют округлую или овальную форму, располагаются по всей цитоплазме. Они могут образовывать скопления около ядра. Гранулярная эндоплазматическая сеть расположена как в центре, так и на периферии клеток. Пластинчатый комплекс встречается в виде небольших цистерн. Основным объемом клетки занимает сократительный аппарат. Между миофиламентами выявляются "плотные тельца". Они могут располагаться свободно в цитоплазме или фиксированы на внутренней поверхности плазмалеммы. Для светлых миоцитов характерна более рыхлое расположение контрактильного аппарата, кортикальная зона свободна от миофиламентов. Для темных клеток характерно более упорядоченная организация миофиламентов (параллельная ориентация, плотное расположение, однонаправленная локализация).

Все клеточные типы интегрированы в единую систему. Светлые и темные гладкие мышечные клетки в составе мышечного пласта располагаются беспорядочно, без определенной локализации.

Межклеточные контакты в гладкой мышечной ткани влагалища представлены простыми мембранными контактами, десмосомами, нексусами или в виде взаимных впячиваний.

В стенке влагалища в ответ на любое повреждение развиваются 2 основных процесса: воспаление (проявления которого отчетливо видны в ходе эксперимента) и восстановление структуры и функции поврежденной ткани (реактивная трансформация).

Применение ваготила вызывает сильную химическую альтерацию тканей стенки влагалища. Зона повреждения достаточно обширна. В слизистой оболочке сразу же после 3-кратного применения ваготила наблюдаются выраженные явления отека, происходит инфильтрация всех оболочек форменными элементами крови. В зоне повреждения на 3–5 сутки некротизируются волокна исчерченной мышечной ткани дистального отдела влагалища. Это проявляется гомогенизацией мышечных волокон, отсутствием поперечной исчерченности. Гладкие миоциты проксимального отдела также подвергаются гибели. Это вызывает в первые трое суток после повреждения образование некротического детрита и еще более сильную воспалительную реакцию. Она проявляется массивной инфильтрацией гранулярными лейкоцитами и появлением макрофагов (рис. 1).

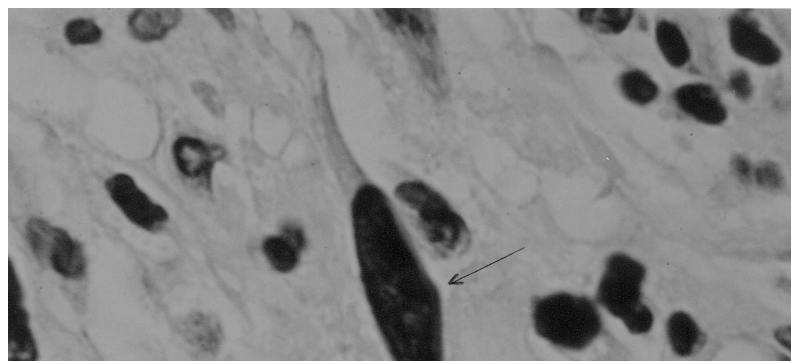


Рис. 2. Положительная экспрессия гладким миоцитом ki-67 (↑). 3-и сутки эксперимента. Об. 90, ок. 7

При иммуноцитохимическом исследовании с применением моноклональных антител, характеризующих пролиферативную активность (PCNA, ki-67), на 3 сутки после проведенного экспериментального многократного местного применения ваготила во всех тканях (эпителий, соединительная, мышечные ткани) обнаруживается положительная экспрессия клетками PCNA, ki-67. Уровень экспрессии этих маркеров в тканях различен.

В настоящее время установлено, что индекс PCNA коррелирует с 3Н-тимидиновой меткой, т.е. отражает общий уровень синтеза ДНК как в делящихся, так и в полиплоидных клетках, в то время как ki-67 экспрессируется только делящимися клетками.

На 3–5 сутки в зоне повреждения после применения ваготила происходит увеличение экспрессии PCNA эпителиоцитами, фибробластами, гладкими миоцитами, что отражает интенсификацию процесса редупликации ДНК в этих клетках. Это

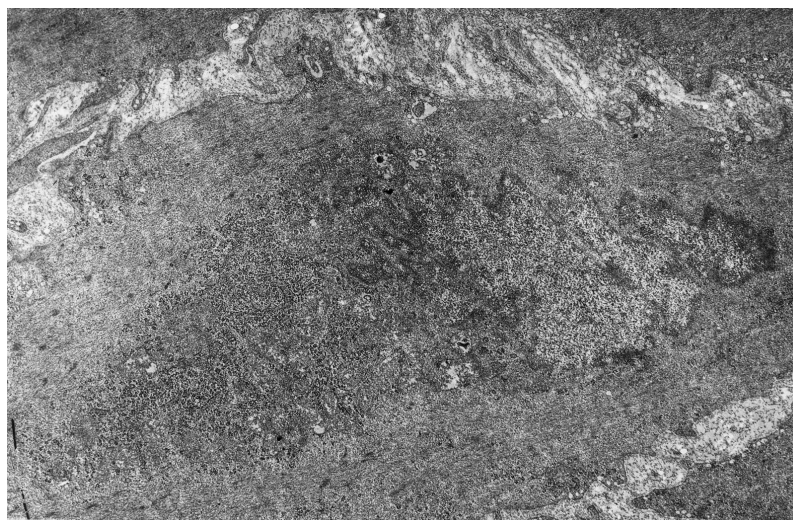


Рис. 3. Ультраструктура лейомиоцита с гипертрофированными профилями гранулярной эндоплазматической сети и скоплениями рибосом. 7-е сутки эксперимента. Ув. 10000

свидетельствует как об их подготовке к митозу, так и о процессе полиплоидизации клеточных ядер. При оценке ki-67 было установлено увеличение числа меченых ядер по сравнению с контролем (рис. 2), т.е. происходит усиление процесса пролиферации в ответ на повреждение. Однако уровень экспрессии обоих маркеров пролиферации выше на 3 сутки, чем на 5-е. Определяется положительная экспрессия Araf — маркера апоптоза.

На 7-е сутки процессы деструкции сохраняются: в месте повреждения на месте миосимпластов остаются сарколеммные чехлы. Между мышечными волокнами видны расширенные капилляры. Активизируются макрофаги, которые осуществляют фагоцитоз некротизированных волокон.

Электронно-микроскопически между гладкими миоцитами сохраняются явления отека, происходит усиление синтетической функции гладкомышечных клеток (хорошо развиты профили гранулярной эндоплазматической сети, скопления рибосом) (рис. 3). Обращает внимание появление между миоцитами фибробластов, деятельность которых направлена на возрастающую потребность в коллагенообразовании для заполнения межклеточных пространств.

На 10-е сутки после 3-х кратного применения ваготила светооптически между поврежденными компартментами гладких миоцитов и исчерченных мышечных волокон обнаруживаются прослойки хорошо развитой соединительной ткани, которая заполняет детрит (рис. 4). Это происходит за счет мигрирующих фибробластов, которые активно продуцируют компоненты межклеточного вещества.

К 30-суткам от начала эксперимента происходит восстановление анатомической целостности органа, между компартментами гладких миоцитов мышечной оболочки располагается грубая соединительная ткань. Усиленной пролиферативной активности не наблюдается. Образование молодых мышечных волокон протекает вяло. Мышечная ткань в дистальном отделе представлена волокнами с хаотично расположенными миофибриллами. Усиления пролиферативной активности гладких миоцитов в ходе эксперимента не наблюдается.

Таким образом в опыте после 3-кратного применения 36% раствора ваготила

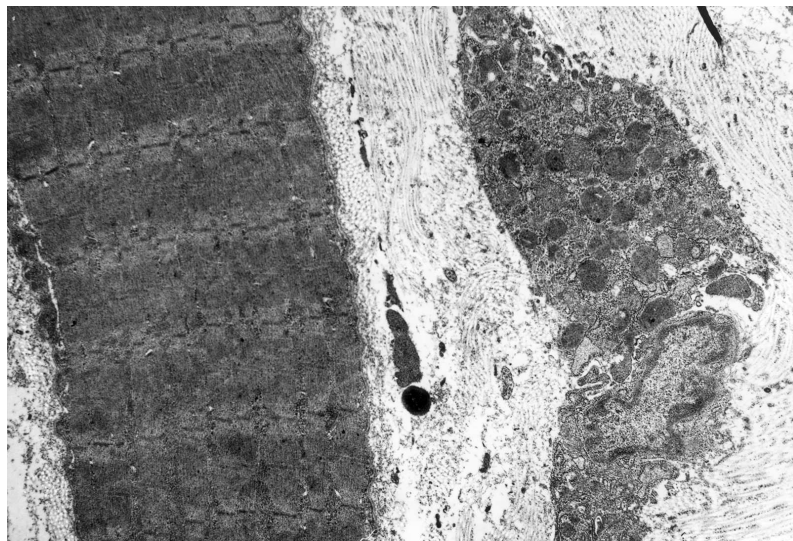


Рис. 4. Ультраструктура волокон поперечно-полосатой мышечной ткани дистального отдела влагалища с хорошо развитыми прослойками эндомизия. 10-е сутки эксперимента. Ув. 10000

восполнение дефекта осуществляется в основном за счет активной синтетической функции гладких миоцитов, а также миграции фибробластов и усиления их коллагенообразующей способности. Проллиферативная активность гладкомышечных клеток невысокая, т.е. восстановление тканей после повреждения идет преимущественно по заместительному типу с формированием грубой соединительной ткани.

Заключение

Проведенный гистологический анализ методами световой, электронной микроскопии, иммуногистохимии позволили установить, что мышечная оболочка стенки влагалища половозрелых белых беспородных крыс представлена в дистальном отделе поперечно-полосатой исчерченной мышечной тканью, которая постепенно заменяется на гладкую мышечную ткань. Волокна исчерченной мышечной ткани имеют типичное строение, однако обращает внимание малое количество митохондрий и хорошо развитая эндоплазматическая сеть. Гладкая мышечная представлена гладкими миоцитами с рядом характерных признаков: сократительными миофиламентами в цитоплазме и прикрепительных полосок, многочисленными кавеолами и околоклеточной базальной мембраной. Специфических контактов между поперечно-полосатой и гладкой мышечной тканью не обнаружено.

В ответ на повреждение, путем многократного местного применения ваготила, который имеет широкое распространение в практической медицине, происходит восстановление анатомической целостности органа, обильное разрастание соединительной ткани и кровеносных сосудов. Место повреждения в мышечной оболочке образовано небольшими беспорядочно расположенными пучками гладких миоцитов с хорошо развитой межмышечной соединительной тканью. В наружном отделе происходит восстановление волокон исчерченной поперечно-полосатой мышечной ткани, окруженных хорошо развитой соединительной тканью. Одна-

ко реактивная трансформация мышечного аппарата влагалища в ответ на экспериментальное применение ваготила имеет специфичные проявления: восполнение дефекта осуществляется, в основном, за счет активной синтетической функции гладких миоцитов, а также миграции фибробластов и усиления их колагенообразующей способности. Пролиферативная активность гладкомышечных клеток невысокая. Т.е. восстановление тканей после повреждения идет преимущественно по заместительному типу с формированием грубой соединительной ткани.

Литература

- [1] Ямщиков, Н.В. Морфология сфинктерного аппарата прямой кишки / Н.В. Ямщиков, Г.Н. Суворова. – Самара, 2003.
- [2] Баженов, Д.В. Филогенез мышечной оболочки пищевода позвоночных / Д.В. Баженов, В.В. Банин, М.Б. Петрова. – Тверь, 2005. – 159 с.
- [3] Зашихин, А.Л. Висцеральная гладкая мышечная ткань / А.Л. Зашихин, Я. Селин. – Архангельск: Умео, 2001. – 171 с.
- [4] Electron microscopic studies of fenotip of fenotip modulation of smoot muscle cell in cjrjinary arteries of patients with unstable angina pectories and postangioplaste resyenosys / Y.H. Chen [et al.] // Circulation. – 1997. – V. 95. – No. 5. – P. 1169–1175.

Поступила в редакцию 13/XII/2006;
в окончательном варианте — 13/XII/2006.

MORPHOLOGICAL RESEARCH OF POSTTRAUMATIC CHANGES IN A SIDE OF VAGINA OF MATURE RATS

© 2007 O.V. Shurygina³, R.B. Balter, R.K. Nevzorova, S.N. Makarenko, V.O. Katyushina⁴

One of the most important problems of modern medicine is tissue regeneration. After every alteration the structural reorganization of organ tissues takes place. Morphologic changes inducted with every injuring factor have the stereotypical signs. But they have their own specific properties because of kind of the alteration. In this work the typical signs of muscular apparatus of the white rat vagina after using pharmacological remedy vagotil as injuring factor are studied.

Paper received 13/XII/2006.
Paper accepted 13/XII/2006.

³Shurygina Oksana Viktorovna (oks-shurygina@yandex.ru), Dept. of histology, cytology and embryology, State Medical University, Samara, 443001, Russia.

⁴Balter Regina Borisovna, Nevzorova Rumiya Kasirovna, Makarenko Svetlana Vladimirovna, Katyushina Veronika Olegovna, Dept. of histology, cytology and embryology, Dept. of Obstetrics and Gynaecology, State Medical University, Samara, 443010, Russia.