

М.Ю. Жеглова, Р.К. Данилов, Е.А. Пустынная

Морфологическая характеристика эпителиальной выстилки маточно-влагалищного тракта в эмбриогенезе человека

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Изучили 50 эмбрионов и предплодов в возрасте 4–12 недель эмбриогенеза, а также 64 плода в возрасте 13–30 недель эмбриогенеза. Фиксацию материала осуществляли по смеси В.Я. Бродского, заливали в парафин, изготавливали срезы. Установлено, что на 9–11-й неделе эмбриогенеза вследствие сближения правого и левого парамезонефральных протоков происходит объединение их медиальных стенок, а мезонефральный проток постепенно встраивается в состав дорсальной стенки мочепоолового пространства, в эпителиоцитах которого выявлена экспрессия цитокератина 20. Впервые выявлено, что его выстилка характеризуется выраженной гетероморфией эпителиоцитов. В период с 15–16 недель эмбрионального гистогенеза закладываются основы морфологического взаимодействия эпителиальной выстилки органов мочепоолового тракта. В период с 17–30 недель развития происходит постепенная стабилизация процессов пролиферации и дифференциации и формирование клеточного состава эпителиальной выстилки органов женского поолового тракта. К 30-й неделе в слизистой оболочке маточно-влагалищного тракта формируется так называемый «гистологический эпителиальный стык». На базальной мембране под столбчатыми эпителиоцитами в области «стыка» выявляются дисперсно расположенные округлые (иногда – овальные) клетки, цитоплазма которых воспринимает маркер цитокератин 20. Выявлено, что в процессе гистогенеза происходит постепенная трансформация клеточного состава эпителиальной выстилки маточно-шеечного канала. В структуре эпителиальной выстилки обнаруживаются отдельные клетки, концентрация которых в области «стыка» с эпителием кожного типа увеличивается. Так формируется узкая «переходная зона», которая постепенно суживается до 2–3 клеток, располагающихся на базальной мембране, на границе целомического эпителия с кожным эпителием. Такие клетки, называемые «резервными клетками» шейки матки, не переходят в зону локализации цервикального эпителия. В реактивно измененных условиях они могут претерпевать дифференцировку с появлением признаков многослойного эпителия.

Ключевые слова: эмбриогенез женского поолового тракта, парамезонефральные протоки, мезонефральные протоки, мочепооловое пространство, шейка матки, влагалище, «резервные клетки», «переходная зона».

Введение. Основные этапы эмбриогенеза женской пооловой системы представлены в монографиях, написанных специалистами – эмбриологами и ставших уже библиографической редкостью [1, 3, 5, 7]. В классических гистологических исследованиях отмечается чрезвычайная сложность процессов, происходящих в ходе пренатального развития морфогенетических преобразований и механизмов регуляции женской пооловой системы. В этом кроется одна из причин существования многих противоречий и спорных вопросов по этой теме. К ним относится, например, дискуссия о том, за счет каких механизмов формируется «стык» морфологически и генетически различных эпителиев слизистой оболочки матки и влагалища, какова роль, так называемых резервных клеток в возникновении патологических процессов женской репродуктивной системы, существуют ли генетически обусловленные предпосылки для развития доброкачественных и злокачественных заболеваний женской репродуктивной системы.

Цель исследования. Морфологически охарактеризовать генетически различные эпителии маточно-влагалищного тракта в эмбриогенезе у человека.

Материалы и методы. Изучили 50 эмбрионов и предплодов в возрасте 4–12 недель эмбриогенеза, а также 64 плода в возрасте 13–30 недель эмбриогенеза. Эмбрионы и предплоды получили от женщин, поступивших в гинекологическое отделение Елизаветинской больницы г. Санкт-Петербурга на артифицированный аборт. Взятие плодного материала осуществляли после патологоанатомического вскрытия в Ленинградском областном детском патологоанатомическом бюро. На все виды исследования получены разрешения этической комиссии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова (СЗГМУ). Исследование выполнено в полном соответствии с международными этическими нормами, изложенными в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (протокол № 9 заседания локального этического комитета СЗГМУ от 08 октября 2014 г). Точное установление гестационного возраста эмбрионов и предплодов производили по данным морфометрического показателя изменения длины теменно-копчикового расстояния [3], а также руководствовались установлением гестационного срока в зависимости от стадии гистогенеза скелетной мышечной ткани [4]. Фиксацию материала осуществляли по смеси

В.Я. Бродского (формалин-спирт-уксусная кислота в соотношении 3:1:0,3), заливали в парафин, сагиттальные и поперечные гистологические срезы толщиной 5–7 мкм изготавливали на микротоме «МПС-2» фирмы «Точмедприбор» (Украина). Методы исследования – общегистологические, гистохимические (обработка на гликоген по Шабадашу, амидочерным 10 Б [4]), иммуногистохимические (реакция на ядерный белок Ki67, цитокератин 20, белки «цитокератинового коктейля», фирмы «SpringBioscience» (Соединенные Штаты Америки), цитофотометрия, статистическая обработка с помощью пакета прикладных программ Statistica.

Результаты и их обсуждение. Показано, что на ранних стадиях развития женской половой системы важное место принадлежит клеткам эпителиальной выстилки мочепоолового пространства, мезонефральным и парамезонефральным протокам (рис. 1)

Становление и тканевая дифференцировка женской половой системы протекают в неразрывной связи с выделительной системой. Парамезонефральные протоки, которые обнаруживаются уже у 4–5-недельного эмбриона, представляют собой две симметрично расположенные трубочки, которые тянутся вдоль первичной почки параллельно мезонефральным протокам. Парамезонефральный и мезонефральный протоки растут в

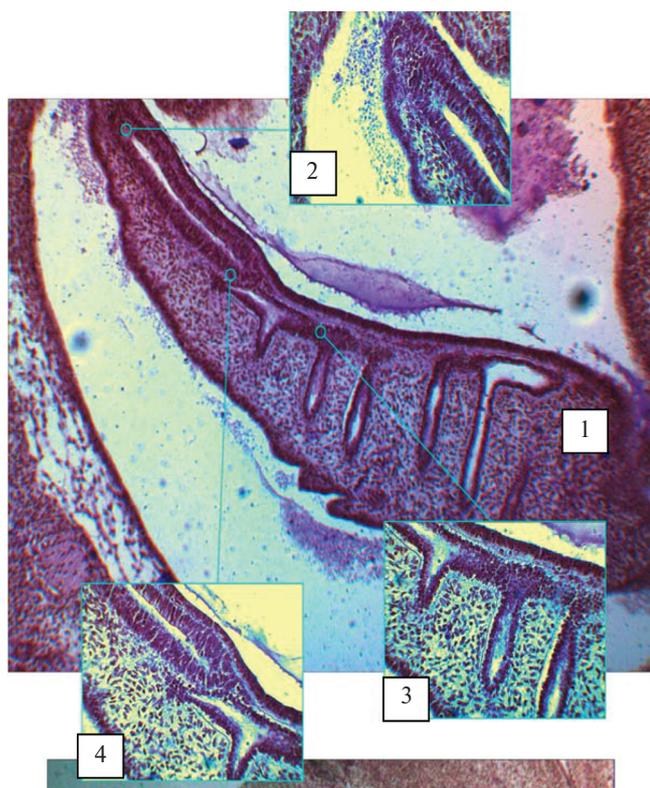


Рис. 1. Парамезонефральный и мезонефральный протоки в урогенитальной бластеме у 5–6-недельного эмбриона человека: 1 – первичная почка; 2 – парамезонефральный проток; 3 – мезонефральный проток; 4 – парамезонефральный проток и мезонефральный проток. Окраска гематоксилином и эозином. Панорамная фотография: Об. 10, ок. 10

кранио-каудальном направлении в сторону мочепоолового пространства, источником их развития является целомический эпителий. К 9–11-й неделе эмбриогенеза вследствие сближения правого и левого парамезонефральных протоков происходит объединение их медиальных стенок, а мезонефральный проток постепенно встраивается в состав дорсальной стенки мочепоолового пространства, в эпителиоцитах которого выявлена экспрессия цитокератина 20. Ряд авторов [2, 6, 11] указывает на то, что в женском организме, в отличие от мужского, мезонефральный проток со временем редуцируется, а тканевой и клеточный материал может стать причиной возникновения кист шейки матки и влагалища. Установлено, что в процессе гистогенеза мезонефральный проток встраивается в дорсальную стенку мочепоолового пространства, и редуцируется. Возможно, мезонефральный проток формирует мочепооловое пространство.

В период 13–20 недель эмбрионального развития формируется шейный канал (рис. 2), что в целом согласуется с литературными сведениями [5, 9, 10].

Впервые выявлено, что выстилка канала характеризуется выраженной гетероморфией эпителиоцитов (рис. 3). При этом эпителий слизистой оболочки

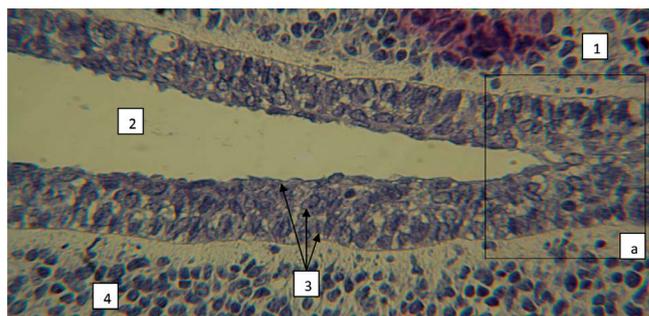


Рис. 2. Формирование полости матки 13–14-недельного плода человека: 1 – шейный канал; 2 – формирование полости матки; 3 – гетероморфия эпителиальной выстилки; 4 – клетки микроокружения. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 95, ок. 10

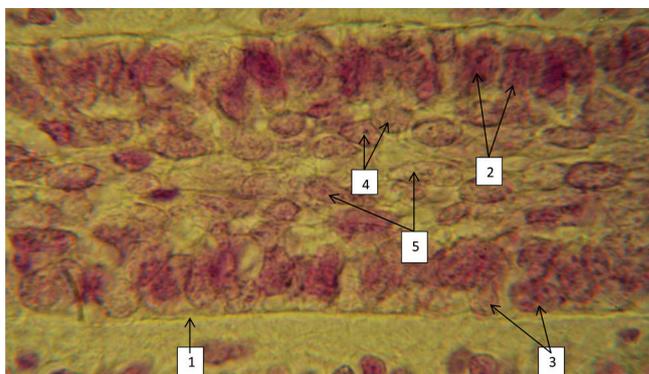


Рис. 3. Гетероморфия клеток шейного канала 13–14-недельного плода человека: 1 – базальная мембрана; 2 – базальные столбчатые эпителиоциты; 3 – базальные клетки с округлыми ядрами; 4 – парабазальные эпителиоциты с округлыми ядрами; 5 – поверхностные эпителиоциты. Обработка по Шабадашу. Об. 95, ок. 10

тела и дна матки определяется как однослойный столбчатый.

К 30-й неделе в слизистой оболочке маточно-влагалищного тракта формируется так называемый «гистологический эпителиальный стык», в составе которого между собой контактируют морфологически различные эпителии – однослойный столбчатый эпителий матки взаимодействует с многослойным влагалищным эпителием (рис. 4).

На базальной мембране под столбчатыми эпителиоцитами в области «стыка» выявляются дисперсно расположенные округлые (иногда – овальные) клетки. Такие же клетки встречаются в области дна шейечных желез. «Резервные клетки» шейки матки часто упоминаются в работах акушеров-гинекологов, но до сих пор высказываются различные мнения об их происхождении. По мнению Н. Fritsch et al. [10], такие клетки участвуют во взаимодействии двух видов эпителия (цервикального и вагинального) и являются «мишенью» для вируса папилломы человека. Ранее считалось, что это могут быть и соединительнотканые клетки, вполне возможно, что они подобны внутриэпидермальным макрофагам (клеткам Лангерганса), что в определенной мере сближает однослойный эпителий слизистой оболочки матки с многослойным эпителием ее шейки, где такие клетки встречаются постоянно.

Морфологическая картина границы формирования «стыка» эпителиев свидетельствует об участии клеток мочевого синуса в ходе формирования связи маточно-шейечного канала с внешней средой. Детальное описание особенностей формирования и гистологического строения области контакта генетически различных эпителиев слизистой оболочки маточно-вагинального тракта в научной литературе практически отсутствует, имеются лишь отдельные сведения об экспрессии некоторых генов в эпителиоцитах анатомических отделов матки и влагалища, выполненные преимущественно на экспериментальных животных [8, 9, 12].

Результаты оценки пролиферативной активности клеток по изменению содержания дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и плоидности их ядер представлены на рисунках 5 и 6.

Одним из количественных показателей дифференцировки клеток является содержание в них суммарного белка. Результаты цитофотометрических измерений представлены на рисунке 7.

Полученные данные сопоставляли с количеством клеток, участвующих в цикле репродукции по метке на белок ядерной пролиферации Ki-67. Обнаружены следующие закономерности: индекс метки ядер в эпителиоцитах в эпителиальном тяжеле, идущем от мочевого пространства, составляет 90%; далее по мере увеличения гетероморфии клеток в краниокаудальном направлении индекс метки составляет в среднем 40%; далее в многослойном эпителии в базальном слое эпителиоцитов индекс метки составил 40%, в парабазальном и поверхностном слоях по 43%. По мере приближения к формирующемуся телу

матки и снижения степени гетероморфии клеточного состава эпителиальной выстилки шейечного канала индекс метки составляет 23–30%. В области тела матки в апикальной части ее эпителиальной выстилки индекс метки уменьшается и составляет 10–15%, в то время как в базальном слое индекс метки составил 7–8%.

Таким образом, к 15–16-й неделям развития в ядрах эпителиоцитов мочевого пространства среднее содержание ДНК возрастает в два раза. Это происходит параллельно с возрастанием площади сечения ядер. В эпителиоцитах несколько увеличивается содержание белка, что связано преимущественно с увеличением площади сечения клеток. В эпителиоцитах шейки матки также происходит увеличение (почти в два раза) среднего содержания ДНК. Гистограмма характеризуется возникновением группы клеток с 3n и 4n содержанием ДНК.

В последующие сроки с 17 по 25 недели развития наряду с уменьшением средних размеров клеток и ядер происходит снижение содержания ДНК как в эпителиоцитах мочевого пространства, так и в эпителиоцитах шейки матки.

Можно предположить, что в период с 15–16-й недели эмбрионального гистогенеза закладываются основы физиологического формирования дифференцировки эпителиальной выстилки органов мочевого тракта. В период с 17–30 недель развития происходит постепенная стабилизация процессов пролиферации и дифференциации и формирование окончательного клеточного состава эпителиальной выстилки органов женского полового тракта.

Анализ результатов иммуногистохимической реакции на цитоцератин у плодов 16–17 недельного развития демонстрирует повышение индекса метки в области шейечного канала. При этом метка обнаруживается преимущественно в апикальном слое эпителиальной выстилки шейечного канала и составляет в среднем 3–5%. Также цитоплазматическая метка обнаружена в эпителиоцитах мочевого пространства. Эти данные могут свидетельствовать об участии клеток мочевого пространства в гистогенезе эпителиальной выстилки шейечного канала и частично объяснять гетероморфию эпителиальной выстилки формирующейся слизистой оболочки цервикального канала.

Заключение. Выявлено, что в процессе гистогенеза происходит постепенная трансформация клеточного состава эпителиальной выстилки маточно-шейечного канала. В структуре эпителиальной выстилки обнаруживаются отдельные клетки, концентрация которых в области «стыка» с эпителием кожного типа увеличивается. Так формируется узкая «переходная зона», которая постепенно суживается до 2–3 клеток, располагающихся на базальной мембране, на границе целомического эпителия с кожным эпителием. Такие клетки, называемые «резервными клетками» шейки матки, не переходят в зону локализации цервикального эпителия. В реактивно измененных условиях они

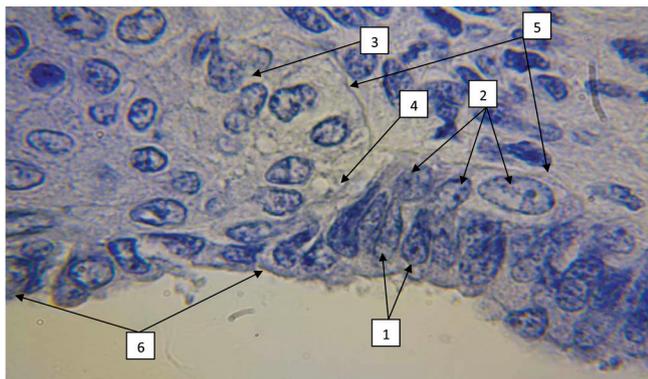


Рис. 4. Область взаимодействия эпителиев шейки матки 25–30-недельного плода человека: 1 – столбчатые эпителиоциты; 2 – базально расположенные округлые клетки в составе эпителиальной выстилки; 3 – многослойный плоский неороговевающий эпителий кожного типа; 4 – область взаимодействия эпителиев; 5 – базальная мембрана; 6 – «цепочка» шеечных эпителиоцитов. Окраска железным гематоксилином. Об. 95, ок. 10

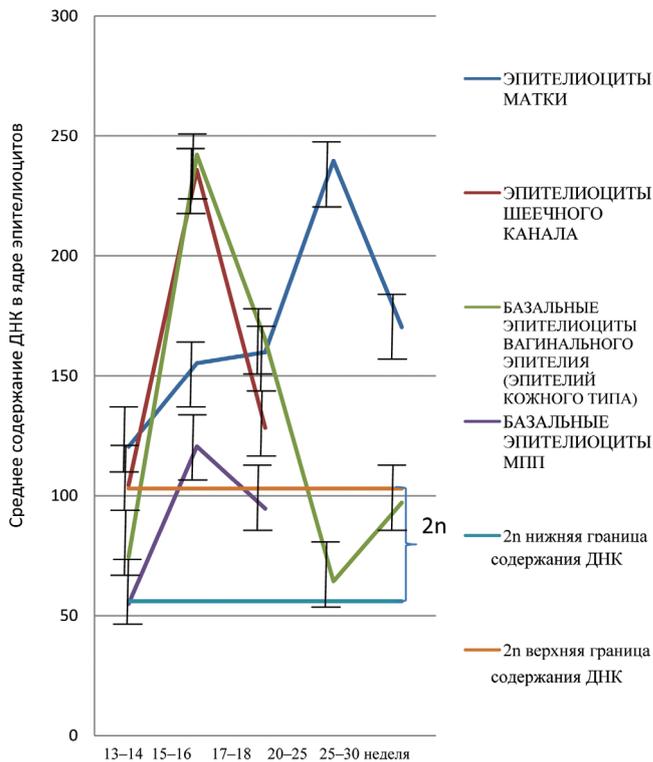


Рис. 6. Гистограмма плоидности ядер эпителиоцитов маточно-вагинального тракта

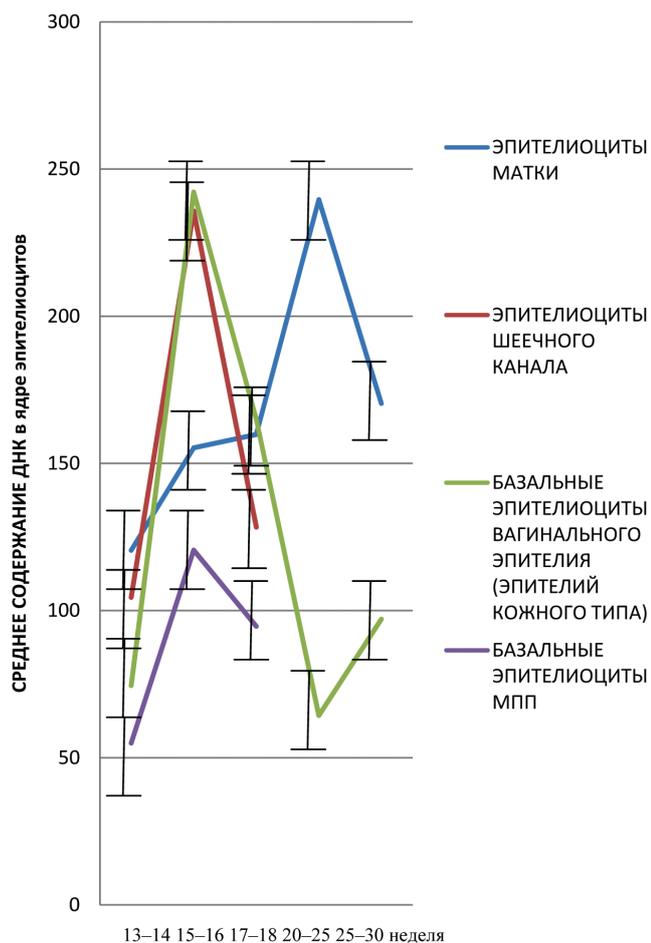


Рис. 5. Динамика изменения среднего содержания ДНК в ядрах эпителиоцитов маточно-вагинального тракта

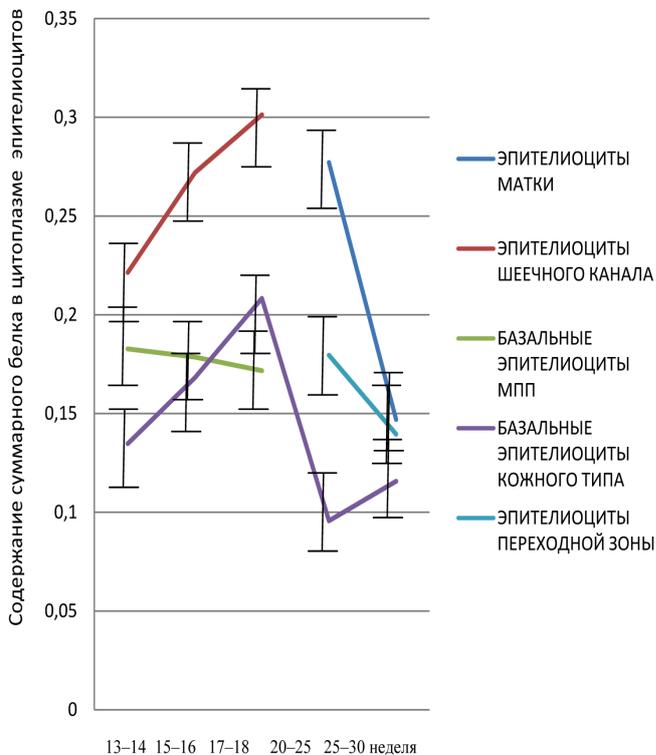


Рис. 7. Динамика изменения содержания общего белка в эпителиоцитах маточно-вагинального тракта

могут претерпевать дифференцировку с появлением признаков многослойного эпителия.

Литература

1. Валькович, Э.И. Общая и медицинская эмбриология / Э.И. Валькович. – СПб.: ФОЛЛИАНТ, 2003. – 320 с.
2. Волкова, О.В. Эмбриогенез и возрастная гистология внутренних органов человека / О.В. Волкова, М.И. Пекарский. – М.: Медицина, 1976. – 415 с.
3. Данилов, Р.К. Общая и медицинская эмбриология / Р.К. Данилов, Т.Г. Боровая. – СПб.: СпецЛит, 2003. – 232 с.
4. Данилов, Р.К. Очерки гистологии мышечных тканей / Р.К. Данилов. – Уфа: Башкортостан, 1994. – 50 с.
5. Кнорре, А.Г. Эмбриональный гистогенез / А.Г. Кнорре. – Л.: Медицина, 1971. – 432 с.
6. Макиян, З.Н. Аномалии женских половых органов : систематизация и тактика оперативного лечения: автореф. дис. ... докт. мед. наук / Н.М. Зограб. – М., 2010. – 50 с.
7. Пэттен, Б.М. Эмбриология человека; пер. с англ. / Б.М. Пэттен. – М.: Мир, 1959. – 468 с.
8. Шурыгина, О.В. Особенности эмбрионального развития влагалища млекопитающих / О.В. Шурыгина // Современные наукоемкие технологии. – 2013. – № 1. – С. 112–113.
9. Cai, Yi. Revisiting old vaginal topics: conversion of the mullerian vagina and origin of the «sinus» vagina / Yi. Cai // Int. J. Dev. Biol. – 2009. – Vol. 53, № 7. – P. 925–934.
10. Fritsch, H. Development of epithelial and mesenchymal regionalization of the human fetal utero-vaginal anlagen / H. Fritsch [et al.] // J. Anat. – 2013. – Vol. 222, № 4. – P. 462–472.
11. Sadler, T.W. Langman's Medical Embryology: Urogenital System / T.W. Sadler. – 9th ed. – Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. – 534 p.
12. Troiano, R. N. Mullerian duct anomalies: imaging and clinical issues / R.N. Troiano, S.M. McCarthy // Radiology. – 2004. – Vol. 233, № 1. – P. 19–34.

M. Yu. Zhiglova, R. K. Danilov, E. A. Pustynnaya

Morphological characteristics of epithelial lining of uterine – vaginal tract in human embryogenesis

Abstract. We have studied 50 embryos and prefetuses aged 4–12 weeks of development, as well as 64 fetuses at the age of 13–30 weeks of embryogenesis. The material was fixed by a mixture of V. Ja. Brodsky, embedded in paraffin and sectioned. It is found that at the 9–11-th week of embryogenesis due to convergence of the right and left paramesonephric ducts the medial walls are united, and mesonephric duct gradually integrates into the dorsal wall of the urogenital area, and the expression of cytokeratin 20 is revealed in its epitheliocytes. We are the first to have found that its lining is characterized by the marked heteromorphy of epithelial cells. The basics of morphological interaction of the urogenital tract epithelial lining are laid between 15–16 weeks of embryonic histogenesis. Between 17–30 weeks of development a gradual stabilization of the proliferation and differentiation processes occurs and the cellular composition of the female genital tract epithelial lining is formed. By the 30-th week the so-called «histological epithelial junction» is formed in the mucosa of uterovaginal tract. On the basal membrane under the columnar epithelial cells in the «junction» area the dispersed located round (sometimes – oval) cells whose cytoplasm perceives marker of cytokeratin 20 are revealed. In the structure of the epithelial lining the individual cells whose concentration increases in the area of «junction» with the skin type epithelium are detected. Thus, a narrow «transition zone» is formed, and it gradually narrows to 2–3 cells, located on the basement membrane, on the border of the coelomic epithelium with the cutaneous epithelium. Such cells, called the «reserve cells» of the cervix, do not move into the cervical epithelium localization zone. Under reactively changed conditions they may undergo differentiation with the appearance of the stratified epithelium signs.

Key words: the embryogenesis of the female genital tract, paramesonephric ducts, mesonephric ducts, urogenital area, the cervix, vagina, «reserve cells», «transition zone».

Контактный телефон: 8-911-815-42-00; e-mail: 6767150@rambler.ru