

УДК 611.656.018.61:618.31

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ МАТОЧНЫХ ТРУБ В НОРМЕ И ПРИ ЭКТОПИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

©2013 г. А. Л. Зашихин, Н. Г. Истомина, Ю. В. Агафонов,
А. Н. Баранов

Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск

Гладкие миоциты истмической части маточных труб были исследованы в двух группах – у здоровых небеременных женщин, подвергнутых хирургической стерилизации, и пациенток с эктопической (ампулярной) беременностью. Использовался метод прицельной клеточной диссоциации. Проводили морфометрию, количественный гистохимический анализ (включая анализ содержания ядерной ДНК и содержания цитоплазматического белка). На основании различий структурно-метаболических параметров выделены три субпопуляции гладких миоцитов. Сравнительный анализ интактных и пораженных маточных труб выявил изменения в структуре популяции миоцитов, их оптической плотности цитоплазмы и пролиферативной активности.

Ключевые слова: гладкомышечные клетки, маточная труба, эктопическая беременность

Эктопической, или внематочной, беременностью называют любую беременность, при которой имплантация происходит вне полости матки, но в абсолютном большинстве случаев (>98 %) в маточной трубе [20, 21]. Частота случаев этого по-прежнему потенциально опасного для жизни состояния к настоящему времени достигла показателя одного случая на 80–100 всех беременностей [2, 9, 20]. При этом проблема этиологии трубной имплантации далека от разрешения [10, 19]. Поиск непосредственных причин эктопической беременности в основном носит описательный анамнестический характер. Тем не менее эти данные позволили сформулировать гипотезу о комбинации нарушенного трубного транспорта и изменений трубной среды, позволяющих имплантации произойти.

Исследования гладкой мускулатуры маточных труб свидетельствуют о сложной и особенной структурной организации лейомиоцитов [13, 16–18]. Известно, что клеточная популяция гладкой мышечной ткани, интегрированная в состав различных висцеральных органов, неоднородна [5, 12, 14]. При действии на нее различных раздражителей она отвечает динамическим изменением структуры популяции миоцитов [3, 4, 6]. При этом некоторые формы фенотипической модуляции гладких миоцитов, вероятно, могут носить обратимый или необратимый характер [11].

Изучение миоэпителиального комплекса с целью определения механизмов его реактивного ответа ранее не проводилось. Возможно, это частично связано с трудностями получения человеческого материала для исследований. В то же время решение данной задачи представляется весьма актуальным, в том числе и в контексте выбора наиболее оптимальной тактики лечения пациенток ввиду высокого риска повторной эктопической беременности и трубного бесплодия.

Методы

Исследование гладкомышечного компонента маточных труб было выполнено в двух различных группах. Группа пациенток с эктопической беременностью была представлена шестью образцами маточных труб, резецированных по поводу трубной беременности, группа сравнения – пятью образцами, полученными у небеременных пациенток, обратившихся для хирургической стерилизации. Во всех случаях для исследования забирали участок маточной трубы длиной 2–3 мм без видимых патологических изменений из истмического отдела. Выбор истмического отдела маточной трубы для данного анализа был обусловлен рядом факторов. Во-первых, именно в этом отделе мышечный слой является максимально выраженным и характеризуется наибольшей функциональной активностью [13, 15, 16]. Во-вторых, известно, что изменения в маточной трубе при трубной беременности имеются на ограниченном месте плацентации протяжении [1, 7, 22].

Наиболее частой локализацией для прикрепления плодного яйца является ампулярный отдел, при этом гистологическое исследование на уровне перешейка обычно не обнаруживает характерных для трубной беременности реактивных изменений, что позволяет оценить мышечную ткань маточной трубы в отсутствии повреждающего ее трофобласта.

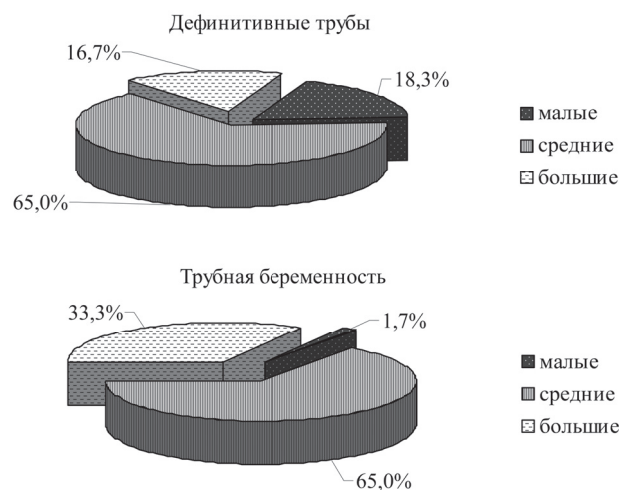
Анализ изолированных миоцитов проводился с использованием оригинального метода прицельной клеточной диссоциации [8]. Для данных препаратов при помощи цитоспектрофотометрии определяли плоидность мышечных ядер и содержание общего белка цитоплазмы. Морфометрический анализ гладкомышечных клеток проводили в мазках изолированных гладких миоцитов с помощью винтового окуляра-микрометра МОВ-1-15х в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Вычисляли объемы гладких миоцитов и их ядер, показатели ядерно-цитоплазматического отношения.

Результаты, полученные в ходе цитологического исследования, обрабатывали методами вариационной статистики, с вычислением средних и стандартных ошибок средних ($M \pm m$) и коэффициента вариации (V). Степень статистической достоверности отличий измеряемых величин определяли с помощью критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ объемных параметров лейомиоцитов дефинитивных маточных труб выявил неоднородность популяции, что соответствует данным, полученным при

изучении гладких миоцитов различных висцеральных органов [4, 5, 17]. В составе мускулатуры маточных труб выявлены три статистически достоверные подгруппы миоцитов. В дальнейшем анализ популяции проводился в подгруппах малых (менее 900 мкм³), средних (1 400–1 800 мкм³) и больших (более 3 000 мкм³) миоцитов. При этом доля средних лейомиоцитов составила 65,0 % всей популяции, а больших и малых клеток 16,7 и 18,3 % соответственно (рисунок).



Сравнительная структура популяции гладких мышечных клеток дефинитивных маточных труб и при трубной беременности

Основу популяции составляют лейомиоциты с диплоидным набором хромосом. Гиперпloidные

Таблица 1
Средние морфометрические и цитоспектрофотометрические показатели гладких миоцитов маточных труб в норме и при трубной беременности

Показатель	Эктопическая беременность		Группа сравнения	
	$M \pm m$	$V, \%$	$M \pm m$	$V, \%$
Объем миоцита, мкм ³	2515,01 ± 206,524	59,58	1625,12 ± 125,009	63,61
В том числе:				
малых	793,86 ± 36,258	24,88	547,76 ± 41,089	28,36
средних	1689,63 ± 64,499	32,45	1505,54 ± 78,24	23,84
больших	4210,55 ± 389,99	23,78	3276,58 ± 246,41	41,42
Объем ядер миоцитов, мкм ³	250,55 ± 22,587	66,19	137,49 ± 11,748	69,83
В том числе:				
малых	80,92 ± 15,368	48,47	59,65 ± 8,718	54,89
средних	211,80 ± 21,439	54,35	130,17 ± 11,33	63,22
больших	334,61 ± 48,562	39,93	251,68 ± 31,78	64,90
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,133 ± 0,013	49,71	0,102 ± 0,007	72,93
В том числе:				
малых	0,102 ± 0,010	53,26	0,109 ± 0,007	68,25
средних	0,125 ± 0,018	60,14	0,086 ± 0,005	74,29
больших	0,079 ± 0,009	57,28	0,077 ± 0,003	69,36
Оптическая плотность ДНК ядер, отн. ед.	0,706 ± 0,0134	5,65	0,689 ± 0,005	14,73
В том числе:				
малых	0,732 ± 0,009	3,49	0,687 ± 0,007	9,23
средних	0,708 ± 0,020	6,67	0,692 ± 0,007	17,98
больших	0,700 ± 0,007	2,21	0,682 ± 0,005	4,54
Оптическая плотность суммарного белка цитоплазмы миоцитов, отн. ед.	0,444 ± 0,001	2,18	0,440 ± 0,001	2,25
В том числе:				
малых	0,447 ± 0,004	2,18	0,438 ± 0,003	1,99
средних	0,445 ± 0,001	1,77	0,442 ± 0,001	1,95
больших	0,441 ± 0,002	3,23	0,435 ± 0,004	2,51

клетки наблюдали только в группе средних миоцитов (7,69 %), а среди больших и малых их не было выявлено.

Оптические плотности ДНК ядер и белка цитоплазмы были несколько выше в субпопуляции средних лейомиоцитов (таблица). Ядерно-цитоплазматическое отношение было наибольшим у малых миоцитов, а наименьшим в группе больших клеток.

Сравнительный анализ мускулатуры истмического отдела маточных труб у фертильных небеременных женщин и у пациенток с трубной беременностью показал выраженные изменения средних структурно-метаболических параметров гладких миоцитов (см. таблицу). Объем гладкомышечных клеток при трубной беременности был больше, чем в группе сравнения (2 515,006 и 1 625,121 мкм³ соответственно, $p < 0,001$). При этом в подгруппе средних лейомиоцитов возросла степень гетероморфности популяции. Также при трубной беременности наблюдали увеличение средних объемов ядер гладкомышечных клеток (250,554 мкм³ против 137,490 в группе сравнения, $p < 0,001$) и средних значений ядерно-цитоплазматического отношения (0,133 против 0,102 в группе сравнения, $p < 0,001$). Структура популяции гладких миоцитов при трубной беременности характеризовалась значительным уменьшением доли малых клеток и нарастанием доли больших.

Исследование оптической плотности ядер миоцитов выявило увеличение среднего значения этого показателя в гладкомышечных клетках маточных труб при трубной беременности, особенно в субпопуляции малых клеток, но этот показатель не был статистически достоверным ($p = 0,25$).

Кроме того, при данной патологии в гладкомышечной ткани отмечено увеличение пloidности ядер, появление клеток с тетраплоидными ядрами. Важно отметить, что гиперплоидные ядра были обнаружены и в подгруппе больших миоцитов, в то время как в группе сравнения все гиперплоидные клетки относились к субпопуляции средних гладких миоцитов.

Содержание суммарного белка цитоплазмы было выше во всех классах гладкомышечных клеток при трубной беременности, в наибольшей степени это было характерно для субпопуляции малых миоцитов (средние 0,447 против 0,438 в группе сравнения, $p = 0,067$).

Обсуждение результатов

Исследование структуры популяции гладкой мышечной ткани дефинитивных маточных труб показало, что ее основу составляют средние миоциты (65,0 %). Эта подгруппа обладает наибольшей функциональной активностью, для нее характерны высокие уровни цитоплазматического и ядерного синтеза.

Изучение структурных параметров гладкомышечных клеток в составе стенки маточных труб при трубной беременности свидетельствует об изменении структуры клеточной популяции, сопровождающейся увеличением среднего объема гладких миоцитов — (2 515,01 ±

206,52) мкм³. Эти изменения явились результатом перестройки популяции, приведшей к снижению доли малых миоцитов (с 18,3 % до 1,7) и увеличению доли больших клеток (с 16,7 % до 33,3).

Выявленное увеличение показателя оптической плотности ядер миоцитов свидетельствует об активации синтеза ДНК. Также при эктопической беременности наблюдалось появление гиперплоидных клеток. В этот процесс оказались вовлечены большие миоциты, что может свидетельствовать об особенностях больших гладкомышечных клеток в мускулатуре маточных труб [4, 5].

Исследование содержания цитоплазматических белков при трубной беременности выявило увеличение этого показателя во всех классах миоцитов, что, вероятно, указывает на сохранение ими контрактильных филаментов и сократительной функции.

Известно, что перестройка структуры популяции гладкомышечной ткани является одним из существенных тканевых механизмов, обеспечивающих компенсаторную реакцию в патологической ситуации. При трубной беременности, на фоне признаков «старения» популяции, проявляющегося в увеличении доли больших и уменьшении количества малых лейомиоцитов, субпопуляция больших миоцитов сохраняет способность к адаптации и даже показывает пролиферативный потенциал, что требует дополнительного изучения, но, возможно, отражает изменения, характерные для периода беременности.

Это подтверждает различную роль субпопуляций малых и больших миоцитов миобластического дифференца. Изменения, выявленные нами в ходе исследования, отражают механизм тканевой адаптации гладкой мышечной ткани маточной трубы к условиям функционирования при эктопической беременности. Необходимы дальнейшие исследования для более полного понимания процесса перестройки популяции лейомиоцитов на фоне данной патологии и при физиологической беременности.

Список литературы

1. Акушерство: справочник Калифорнийского университета / К. Нисвандер, А. Эванс. М.: Практика, 1999. С. 364–378.
2. Гинекология от пубертата до менопаузы: практическое руководство для врачей / акад. РАМН, проф. Э. К. Айламазян. М.: МЕДпресс-информ, 2004. С. 347–368.
3. Зашихин А. Л., Бармина А. О., Селин Я. Цитологические механизмы трансформации гладкой мускулатуры бронхов при бронхоспастическом синдроме // Морфология. 2009. № 4. С. 61–62.
4. Зашихин А. Л., Башилова Е. Н., Селин Я., Архипов А. В. Реактивная трансформация гладкой мышечной ткани мочевыделительной системы человека при некоторых заболеваниях (структурно-метаболические аспекты организации) // Урология. 2006. № 6. С. 13–18.
5. Зашихин А. Л., Селин Я. Висцеральная гладкая мышечная ткань. Архангельск; Умео, 2001. 195 с.
6. Зашихин А. Л., Селин Я., Бармина А. О. Реактивные изменения гладкой мышечной ткани тонкой кишки

крыс при экспериментальной кишечной непроходимости // Морфология. 2010. № 2. С. 48–53.

7. Кириченко А. К., Милованов А. П. Структурные особенности трубной беременности // Архив патологии. 2004. № 5. С. 27–30.

8. Патент 2104524. Рос. Федерация. Способ получения препаратов изолированных клеток. № 94018751/14 / Зашихин А. Л., Агафонов Ю. В., Лисишников Л. В. : заявл. 23.05.1994, опубл. 10.02.98. Бюл. № 4. С. 11–13

9. Петрова Е. В. Внематочная беременность в современных условиях // Акушерство и гинекология. 2008. № 1. С. 31–33.

10. Borges L. E., Horne A. W., McDonald S. E., Shaw J. L. V. Attenuated tubal and endometrial urocortin 1 and corticotrophin releasing hormone receptor expression in ectopic pregnancy // Reproductive Science. 2011. Vol. 18(3). P. 261–268.

11. Burkhard F. C., Burkhard F. C., Monastyrskaya K., Studer U. E., Draeger A. Smooth muscle membrane organization in the normal and dysfunctional human urinary bladder: a structural analysis // Neurourology and Urodynamics. 2005. Vol. 24(2). P. 128–135.

12. Gabella G. Development of visceral smooth muscle // Results & Problems in Cell Differentiation. 2002. Vol. 38. P. 1–37.

13. Germana A., Cassata R., Cristarella S. Three-dimensional architecture of the myosalpinx in the mare as revealed by scanning electron microscopy // Anat. Rec. 2002. Vol. 267(3). P. 235–241.

14. Halayko A. J., Stelmack G. L., Yamasaki A., McNeill K. Distribution of phenotypically disparate myocyte subpopulations in airway smooth muscle // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2005. Vol. 83(1). P. 104–116.

15. Hunter R. H. The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? // Reprod. Nutr. Dev. 2005. Vol. 45(3). P. 281–290.

16. Muglia U., Motta P. M. A new morpho-functional classification of the Fallopian tube based on its three-dimensional myoarchitecture // Histology and histopathology. 2001. Vol. 16(1). P. 227–237.

17. Popescu L. M., Ciontea S. M., Cretioiu D., Hinescu M. E. Novel type of interstitial cell (Cajal-like) in human fallopian tube // J. Cell. Mol. Med. 2005. Vol. 9(2). P. 479–523.

18. Shafik A., Shafik A. A., El Sibai O., Shafik I. A. Specialized pacemaking cells in the human Fallopian tube // Mol. Hum. Reprod. 2005. Vol. 11(7). P. 503–505.

19. Shaw J. L. V., Dey S. K., Critchley H. O. D., Horne A. W. Current knowledge of the aetiology of human tubal ectopic pregnancy // Human Reproduction Update. 2010. Vol. 16(4). P. 432–444.

20. Varma R., Gupta J. Tubal ectopic pregnancy // Clin Evid. 2012. Vol. 10. P. 1406.

21. Walker J. J. Ectopic pregnancy // Clin. Obstet. Gynecol. 2007. Vol. 50. P. 89–99.

22. Yanai-Inbar I., Silverberg S. G. Mucosal epithelial proliferation of the fallopian tube: prevalence, clinical associations, and optimal strategy for histopathologic assessment // Int. J. Gynecol. Pathol. 2000. Vol. 19(2). P. 139–144.

References

1. Akusherstvo. Spravochnik Kaliforniiskogo universiteta [Obstetrics. Guide of University of California], K. Nisvander, A. Evans. Moscow, 1999, pp. 364–378. [in Russian]

2. Ginekologiya ot pubertata do menopauzy. Prakticheskoe rukovodstvo dlya vrachei [Gynecology from pubertal period to menopause. Practice guidelines for physicians], ed. E. K. Ailamazyan. Moscow, 2004, pp. 347–368. [in Russian]

3. Zashikhin A. L., Barmina A. O., Selin Ya. Morfologiya [Morphology]. 2009, no. 4, pp. 61–62. [in Russian]

4. Zashikhin A. L., Bashilova E. N., Selin Ya., Arkhipov A. V. Urologiya [Urology]. 2006, no. 6, pp. 13–18. [in Russian]

5. Zashikhin A. L., Selin Ya. Vistseral'naya gladkaya myshechnaya tkan' [Visceral smooth muscle tissue]. Arkhangelsk ; Umeo, 2001, 195 p. [in Russian]

6. Zashikhin A. L., Selin Ya., Barmina A. O. Morfologiya [Morphology]. 2010, no. 2, pp. 48–53. [in Russian]

7. Kirichenko A. K., Milovanov A. P. Arkhiv patologii [Pathology records]. 2004, no. 5, pp. 27–30. [in Russian]

8. Patent 2104524. Ros. Federacija. Spособ poluchenija preparatov izolirovannykh kletok [Licence 2104524. Rus. Federation. Way of production of single cell preparations], Zashihin A. L., Agafonov Ju. V., Lisishnikov L. V., no. 94018751/14, zajavl. 23.05.1994, opubl. 10.02.98, bjul. no. 4, pp. 11–13. [in Russian]

9. Petrova E. V. Akusherstvo i ginekologiya [Obstetrics and Gynecology]. 2008, no. 1, pp. 31–33. [in Russian]

10. Borges L. E., Horne A. W., McDonald S. E., Shaw J. L. V. Attenuated tubal and endometrial urocortin 1 and corticotrophin releasing hormone receptor expression in ectopic pregnancy. Reproductive Science. 2011, vol. 18(3), pp. 261–268.

11. Burkhard F. C., Burkhard F. C., Monastyrskaya K., Studer U. E., Draeger A. Smooth muscle membrane organization in the normal and dysfunctional human urinary bladder: a structural analysis. Neurourology and Urodynamics. 2005, vol. 24(2), pp. 128–135.

12. Gabella G. Development of visceral smooth muscle. Results & Problems in Cell Differentiation. 2002, vol. 38, pp. 1–37.

13. Germana A., Cassata R., Cristarella S. Three-dimensional architecture of the myosalpinx in the mare as revealed by scanning electron microscopy. Anat. Rec. 2002, vol. 267(3), pp. 235–241.

14. Halayko A. J., Stelmack G. L., Yamasaki A., McNeill K. Distribution of phenotypically disparate myocyte subpopulations in airway smooth muscle. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. 2005, vol. 83(1), pp. 104–116.

15. Hunter R. H. The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? Reprod. Nutr. Dev. 2005, vol. 45(3), pp. 281–290.

16. Muglia U., Motta P. M. A new morpho-functional classification of the Fallopian tube based on its three-dimensional myoarchitecture. Histology and histopathology. 2001, vol. 16(1), pp. 227–237.

17. Popescu L. M., Ciontea S. M., Cretioiu D., Hinescu M. E. Novel type of interstitial cell (Cajal-like) in human fallopian tube. J. Cell. Mol. Med. 2005, vol. 9(2), pp. 479–523.

18. Shafik A., Shafik A. A., El Sibai O., Shafik I. A. Specialized pacemaking cells in the human Fallopian tube. Mol. Hum. Reprod. 2005, vol. 11(7), pp. 503–505.

19. Shaw J. L. V., Dey S. K., Critchley H. O. D., Horne A. W. Current knowledge of the aetiology of human tubal ectopic pregnancy. Human Reproduction Update. 2010, vol. 16(4), pp. 432–444.

20. Varma R., Gupta J. Tubal ectopic pregnancy. Clin Evid. 2012, vol. 10, p. 1406.

21. Walker J. J. Ectopic pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* 2007, vol. 50, pp. 89-99.

22. Yanai-Inbar I., Silverberg S. G. Mucosal epithelial proliferation of the fallopian tube: prevalence, clinical associations, and optimal strategy for histopathologic assessment. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2000, vol. 19(2), pp. 139-144.

**COMPARATIVE STUDY OF THE UTERINE TUBES
SMOOTH MUSCLE MORPHOPHYSIOLOGICAL
ORGANIZATION IN ECTOPIC PREGNANCY
AND IN HEALTHY NONPREGNANT WOMEN**

A. L. Zashikhin, N. G. Istomina, Yu. V. Agafonov,
A. N. Baranov

Northern State Medical University, Archangelsk, Russia

Smooth muscle cells (SMC) of the human uterine tube isthmus have been studied in two groups — healthy non-pregnant women who underwent surgical sterilization and

patients with ectopic (ampullar) pregnancies. The method of target cell dissociation was used. An analysis was performed using the methods of morphometry and quantitative histochemistry (including the analysis of nuclear DNA content, and cytoplasmic protein content). Three types of myocytes with different structural-metabolic parameters have been revealed. The comparative analysis of intact and affected SM of the tubal isthmus demonstrated changes in the structure of leiomyocytes population, optic density of cytoplasmic protein and proliferative activity of myocytes.

Keywords: smooth muscle cells, uterine tubes, ectopic pregnancy

Контактная информация:

Истомина Наталья Георгиевна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: служебный

E-mail: nataly.istomina@gmail.com