

# TUBAAREPITEELI RAKKUDE TRANSFORMATSIOONIST

T. Suuroja

Käesolevaks ajaks on erialases kirjanduses ilmunud arvukalt imetajate emakatõrvede (*tubae uterinae*) anatoomiat, histoloogiat kui ka füsioloogiat käsitlevaid uurimusi. Seejuures käsitleb suurem osa nendest emakatõrve limaskestast epiteeli histomorfoloogiat, sest oma vahetu kokkupuute tõttu emakatõrve sisaldistega avaldab just organi epiteelkiht kõige vahetumat mõju organi valendikus toimuvatele viljastumise ja varajase embrüogeneesi protsessidele. Gameetide ja embrüote seisukohalt võime seega emakatõrvede epiteelkatet pidada organi tähtsaimaks ehituslikuks elemendiks.

Vaatamata emakatõrve ehitust ja talitlust käsitlevate tööde rohkusele on senini siiski rida probleeme, mis vajaksid edasist uurimist ja täpsustamist. Eelkõige on selleks epiteelirakkude geneesi ja klassifikatsiooni puudutavad küsimused, mille suhtes paljude uurijate seisukohad on täiesti erinevad.

Käesoleva uurimistöö eesmärgiks seatigi meie kahe peamise koduloomaliigi sea (emise) ja veise (lehma) emakatõrvede epiteelirakkude geneetiliste seoste uurimine, st. nende võimaliku transformatsiooni uurimine.

## Uurimismaterjal ja uurimismeetodid

Käesoleva uurimistöö objektiks olid 15-ne 2–7 aastase eesti punast tõugu, kliiniliselt terve ja mittetiine lehma ja 15-ne 110–150 kg raskuse eesti peekoni tõugu, kliiniliselt terve ja mittetiine emise emakatõrved. Kõikidel uuritutel loomadelt määrati östraaltsükli faas inna kindlakstegemiseks loomade välise vaatluse teel. Östraaltsükli faaside arvestus toimus lähtudes inna alguse päevast (päev 0). Et nimetatud 15 emise ja 15 lehma emakatõrved eemaldati elusalt loomadelt laparotoomia teel, siis lisaks arvestuslikule östraaltsükli faasi fikseerimisele toimus materjali võtmisel ka munasarjade, emaka, emakakaela ja emakatõrvede väline makroskoopiline vaatlus.

Emakatõrvede SEM meetodil uurimiseks sirutati nad välja puust alustele ja neist lõigati 1,5 cm pikkused ristisegmendid (lehtri keskosast, ampullist, munajuha keskosast ja ca 1,5 cm kauguselt uterotubaalühenduskohast ampulli suunas). Nimetatud SEM uuringuteks võetud lõikude tagant võeti 0,5 cm pikkused segmendid sisestamiseks EPON-i. Uurimiseks võetud materjal loputati 0,15 M Na-kakodülaatpuhvris (ph 7,4) ja paigutati seejärel tunniks 2,5% glutaaraldehüüdi lahusesse +4 °C juures. Materjal järelfikseeriti 1% OsO<sub>4</sub> +4 °C juures 2 tunni jooksul.

Osmiumfikseerimise järgselt pesti alustele paigutatud emakatõrve fragmente 6–4 portsjonis bidestilleeritud vees, misjärel nad veetustati tõusva kontsentratsiooniga etüülalkoholi lahuste reas. SEM uuringuteks eemaldati absoluutne alkohol materjalist CO<sub>2</sub>-ga kriitilise punkti meetodil. Kuivatatud koetükikesed monteeriti hõbepasta abil Al alustele ja kaeti kullakihi ionpommitamise meetodil. Sellisel ettevalmistatud preparaate uurimine ja fotografeerimine toimus skaneeriva elektronmikroskoobi TESLA-301 abil 15–20 kV kiirenduspingetel sekundarsete elektronide režiimil 0–10 °C-se nurga all.

TEM uuringuteks võetud materjal sisestati EPON-812-e standardmeetodil. Ultralõigud valmistati Reichert-2 ultratoomil ja kontrasteeriti uranülatsetaadi ja plumbumtsitraadiga. Neid uuriti ning fotografeeriti JEOL 100S TEM abil kiirenduspingetel 70–75 kV. EPON-i sisestatud materjalist lõigatud 1–1,5 µm paksused lõigud värviti asuur II metüleensinise meetodil ja neid uuriti ning fotografeeriti Nikon Mikrofot FXA mikroskoobi all.

## Uurimistulemused

Ripsmetega ja ripsmeteta rakud esinevad nii lehma kui ka emise tubaarepiteeli kõikides (lehter, ampull, kitsus) alaosades. Mõlemad rakuliigid kinnituvad basaalmembraanile (joonis 1).

Naaberrakkude pinnad on teineteisest eraldatud umbes 15 nm vahelise piluga. Rakkude vabade välispindade läheduses lähenevad naaberrakkude pinnad maksimaalselt teineteisele. Sageli esinevad ka rakumembraanide interdigiitatsioonid. Rakkude vabade välispindade läheduses lähenevad naaberrakkude pinnad maksimaalselt teineteisele. Ripsmetega ja ripsmeteta rakkude omavaheline suhe on emakatõrve epiteeli erinevates alaosades erinev. Ka sõltub ripsmetega ja ripsmeteta rakkude omavaheline arvuline vahekord östraaltsükli perioodist.

Ripsrakkusid leidub emise ja lehma tubaarepiteeli kõikides alaosades. Nimetatud rakkude apikaalne organi valendikupoolne pind on kaetud nii ripsmete kui ka mikrohattudega.

Tavaliste, rikkaliku ripskattega ripsrakkude kõrval esinevad emakatõrve kõikide alaosade epiteelis erilised, nn. “heledad” ripsrakud. Eriti rohkesti on selliseid ripsrakke nii lehma kui emise emakatõrve lehtri- ja ampullaarepiteelis 6–12 päeva peale inna algust. “Heledate” ripsrakkude kõige iseloomulikumaks tunnuseks on nende tsütoplasma väike elektronihihus. Nende rakkude ristilõige erineb tunduvalt neid ümbritsevate tavaliste ripsrakkude ristilõikest: “heledate” ripsrakkude ristilõige on maksimaalne nende tuumade tasapinnal, rakkude

apikaalsed ja basaalsed osad on ahenenud. Rakud on ristlõikes n.-ö. tünnikujulised, ovaalsed (joonis 2). “Heledate” ripsrakkude tuumad on reeglina suured ja ümmargused, nad paiknevad rakkudes tavaliselt tsentraalselt või on veidi nihutatud rakkude basaalse osa suunas. Tuumad sisaldavad väljapaistvalt suurt tuumakest, nad on vähese ja disperseerunud kromatiinisaldusega. “Heledate” ripsrakkude apikaalne tsütoplasma on väikese elektrontihedusega, vakuoliseerunud, sisaldab hulgaliselt heledaid vakuole diameetriga 0,1–1,0 µm. “Heledate” ripsrakkude mitokondrid on pundunud, ümmargused või ovaalsed, heleda vakuoliseerunud maatriksi ja harvade ebakorrapäraste harjadega (joonised 3 ja 4). Reeglina on selliste “heledate” ripsrakkude ripskate harv. Nende kergelt kokkutõmbunud apikaalsetel pindadel paiknevate lühikeste, harvade ripsmete kõrval leidub rohkesti pikki, aga vahel ka lühikesi, ristlõikes ebakorrapärase kujuga mikrohattusid (joonis 3). Kui tavaliste ripsrakkude ripsmed on paigutunud enam-vähem kindlas suunas, siis “heledate” ripsrakkude ripsmed on sageli n.-ö. sasisitud, nende lühikesed, sageli nagu murdunud ripsmed on rakkude apikaalpindadel paigutunud kindla orientatsioonita. Poolpaksudes (1–1,5 µm) lõikudes täheldati heledate ripsrakkude tuumapealsetes osades sekreedisõmerate taolisi moodustisi (joonis 2). TEM meetodil samast materjalist saadud fotodel on “heledate” ripsrakkude apikaalses tsütoplasmas nähtavad tüüpilised sekreedisõmerad (joonised 3 ja 4). See aga tähendab, et osadel tubaarepiteeli rakkudel esinevad samaaegselt tüüpilised kinotsiliaad rakkude pinnal ja sekreedisõmerad raku apikaalses tsütoplasmas. Nimetatud asjaolu viitab meie arvates selgesti sellele, et “heledad” ripsrakud on ripsmetute sekretoorsete rakkude ja ripsmeliste rakkude vahevormid.

Perioodil 2–8 päeva pärast inna algust, s.t. varajases ja keskmises kollaskeha faasis toimuvad mõlema liigi ripsrakkude pinnaepiteelise teatud muutused. Need seisnevad eelkõige ripsrakkude ripsmete paigutuse ja kuju muutustes, ja on kõige ilmekamad emakatõrve leetri- ja ampullaarepiteelis. Mõlema liigi ripsrakkude ripskate muutub innaaegsena võrreldes hõredamaks ja ebakorrapärasemaks, ripsmete puhmad on sasisitud väljanägemisega (joonised 5 ja 6). Eriti on see täheldatav mõlemal loomaliigil infundibulaar- ja ampullaarepiteelis. Perioodil 4–8 päeva peale inna algust võib mõlema loomaliigi tubaarepiteelis täheldada rakkusid, mille mõnevõrra munajuha valendikku kummuv pind on kaetud nii mikrohattude kui ka murdunud ja deformeerunud ripsmete fragmentidega (joonised 7 ja 8).

Östraaltsükli perioodil 8–12 päeva peale inna algust (hiline luteaalfaas) on mõlema liigi ripsrakkude ripskattes täheldatavad ulatuslikud detsiliatsiooninähtused. Nimetatud nähtused on nüüd kõige ilmekamad tubaarepiteeli leetri- ja ampullaarosades. Nn. “heledate” ripsrakkude ripskate on kas väga hõre või puuduvad nimetatud rakkude pinnal ripsmed üldsegi (joonised 7 ja 8).

## Arutelu

Käesoleva uurimistöö tulemused viitavad emise ja lehma tubaarepiteeli rakkude ehituses esinevatele olulistele tsüklilistele ja regionaalsetele erinevustele. Regionaalsete erinevuste põhjused on senini ebaselged. On andmeid, et tsüliogeneesi- ja detsiliatsioonitsüklid imetajate tubaarepiteeli rakkudel on seotud vere östrogeenide ja progesterooni tasemete muutustega (Brenner, 1967; Brenner jt., 1983; Odor jt., 1989; Verhage jt., 1990; Abe ja Oikawa, 1993).

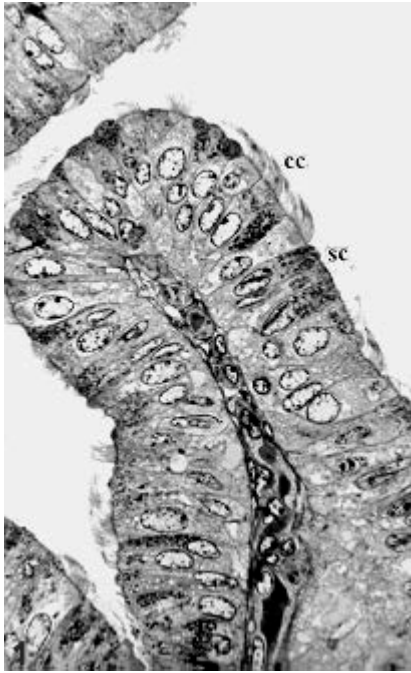
Verhage jt. (1979) märkisid, et ripskate atroofia ja detsiliatsioon on seotud vere plasma progesteroonisisalduse suurenemisega. Ripsmetega rakkude hüpertroofia ja retsiliatsioon leiavad aset kui vere progesteroonisisaldus on normaalsel tasemel ja östrogeenide tase on suhteliselt madal. Nende arvates tagab normaalne östrogeenide tase ka epiteeli normaalse struktuuri.

Arvatakse, et progesterooni mõju teostub östradioli retseptorite blokeerimise läbi (Brenner, 1974; Verhage jt., 1979; Verhage jt., 1990; Schultka jt., 1980; Stankova, 1990; Eriksen jt. 1994).

Nähtavasti on normaalse tubaarepiteeli olemasoluks vajalik täpne östradioli tase ja progesterooni mõju on antagonistlik östradiolile vaatamata viimase jätkuvalle olemasolule süsteemis. On aga ka andmeid, et roti tubaarepiteelis ei saa ripskate detsiliatsiooni peatada östrogeeni manustamisega. (Reeder ja Shirley, 1999).

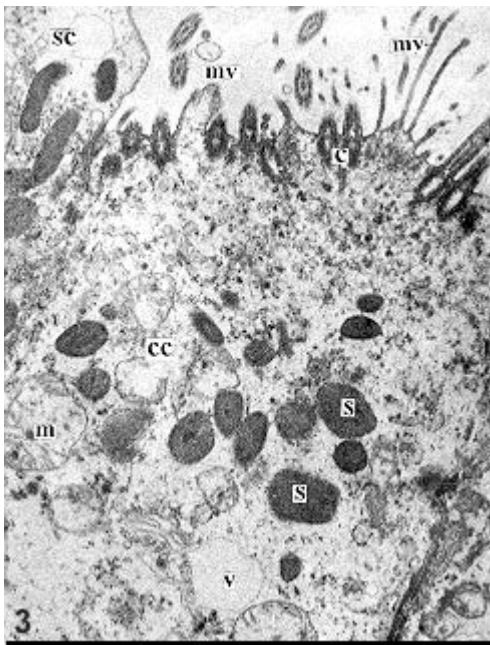
Nii lehma kui emise tubaarepiteelis esinevad “heledad” ripsrakud kõige arvukamalt organi ampullaar- ja kitsuseosa epiteelis 6–12-päeval peale inna algust, s.t. tsükli luteaalfaasis. Need oma struktuurilt tavalistest ripsrakkudest erinevad rakud sisaldavad oma apikaalses tsütoplasmas liigispetsiifilise sisestruktuuriga sekreedisõmeraid. Seega võib väita, et “heledad” ripsrakud on ripsmeliste ja sekretoorsete epiteelirakkude üleminekvormid. Meie andmeid kinnitavad ka rea varasemate uurijate (Schultka, 1989; Stankova, 1990; Eriksen, 1994) arvamus ripsmeliste ja sekretoorsete rakkude omavaheliste üleminekute võimalikkusest. Arvatavasti on nii ripsmetega kui ka ripsmeteta rakud tubaarepiteeli ühe ja sama rakuliigi erinevad funktsionaalsed staadiumid. Seda arvamus kinnitavad ka Baipai jt. (1980) andmed, kes täheldasid mittesuguküpsete ovarioektomeeritud makaakide emakatõrvete epiteeli ripsmeteta rakkude muutumist ripsmelisteks epiteelirakkudeks loomade östradioldipropionaadiga mõjustamise tagajärjel.

Hilisematest uurijatest on ülaltoodud hüpoteesi kinnitanud Reeder ja Shirley (1999a.), kes on demonstreerinud roti tubaarepiteeli ripsrakkude muutumist sekretoorseteks epitelotsüütideks ripsmete kadumise teel.



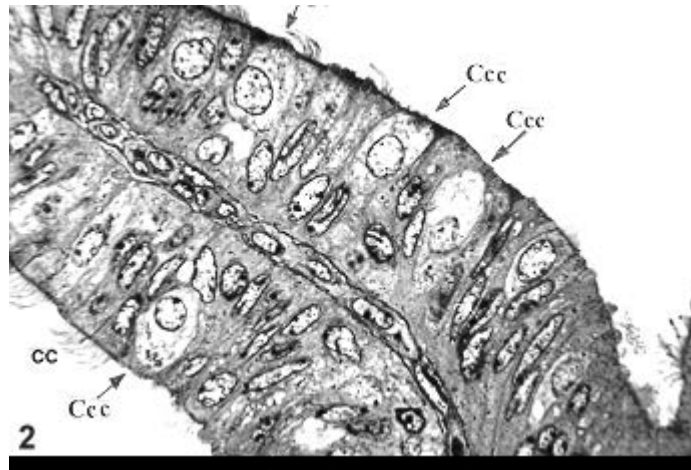
**Joonis 1.** Lehma emakatõrve kitsuse keskosa limaskestakurdude ristlõigud. 18–20 päeva peale inna algust. Suurendus 600x, **cc** – ripsmetega rakk, **sc** – sekretoorne rakk

**Figure 1.** Cross section of mucosal folds in the middle of uterine tube isthmus. Cow, 18–20 days after beginning of heat. Light micrograph, magnification 600x, **cc** – ciliated cell, **sc** – secretorial cell



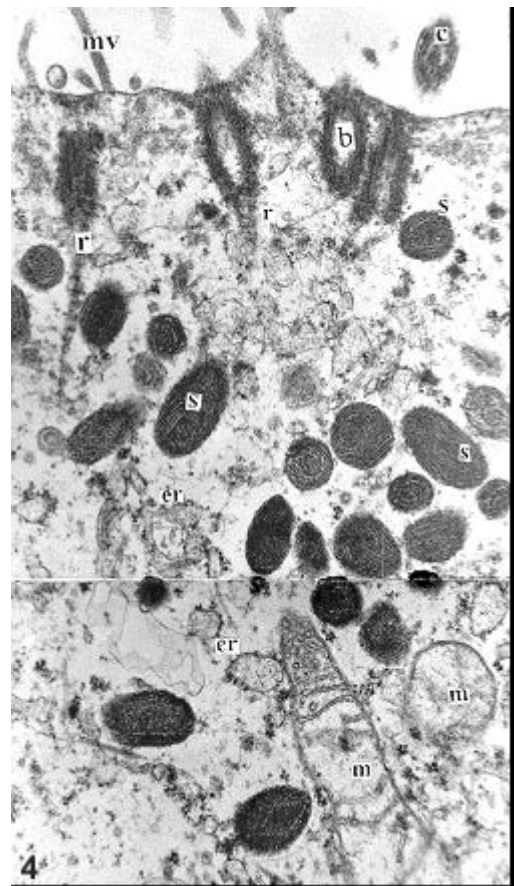
**Joonis 3.** Emise emakatõrve ampullaarosa epiteeli "heleda" ripsmelise raku supranukleaarne osa, 4–8 päeva peale inna algust. Suurendus 18000x (TEM), **m** – mitokondrion, **mv** – mikrohatt, **s** – sekreedi sõmer, **sc** – sekretoorne rakk, **v** – vakuool

**Figure 3.** The supranuclear part of "pale" ciliated epithelial cell in uterine tube ampullar part. Sow, 4–8 days after the beginning of heat. Magnification 18000x (TEM), **m** – mitochondrion, **mv** – microvilli, **s** – secrete granule, **sc** – secretorial cell, **v** – vacuole



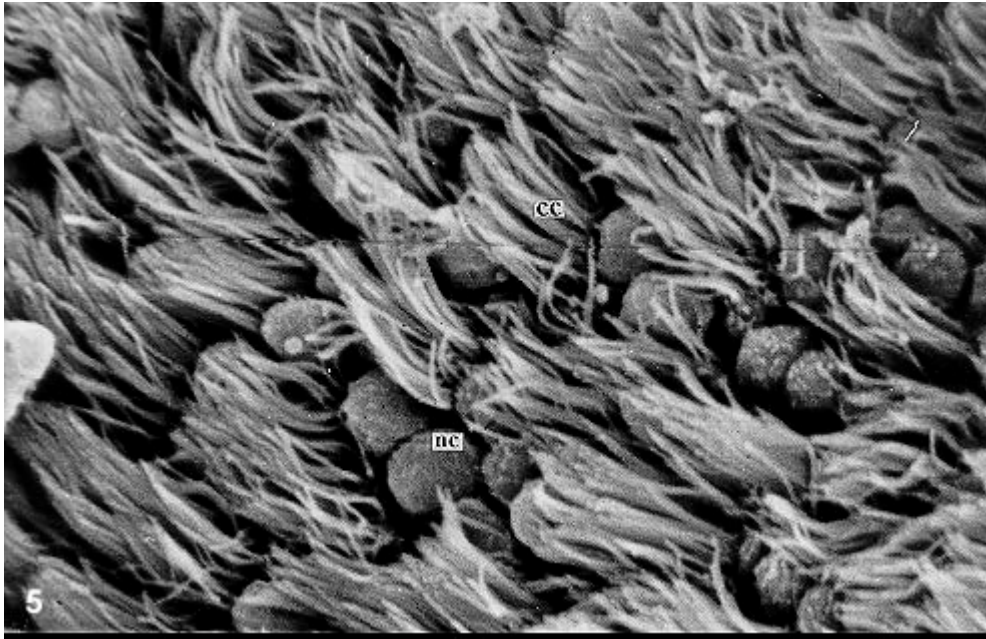
**Joonis 2.** Lehma emakatõrve kitsuse lõpuosa limaskestakurru ristlõik, 8–12 päeva peale inna algust. Suurendus 800x, **cc** – ripsmetega rakk, **Ccc** – "heledad" ripsmetega rakud

**Figure 2.** Cross section of mucosal fold in isthmus end of uterine tube. Cow, 8–12 days after beginning of heat. Light micrograph, magnification 800x, **cc** – ciliated cell, **Ccc** – "pale" ciliated cell

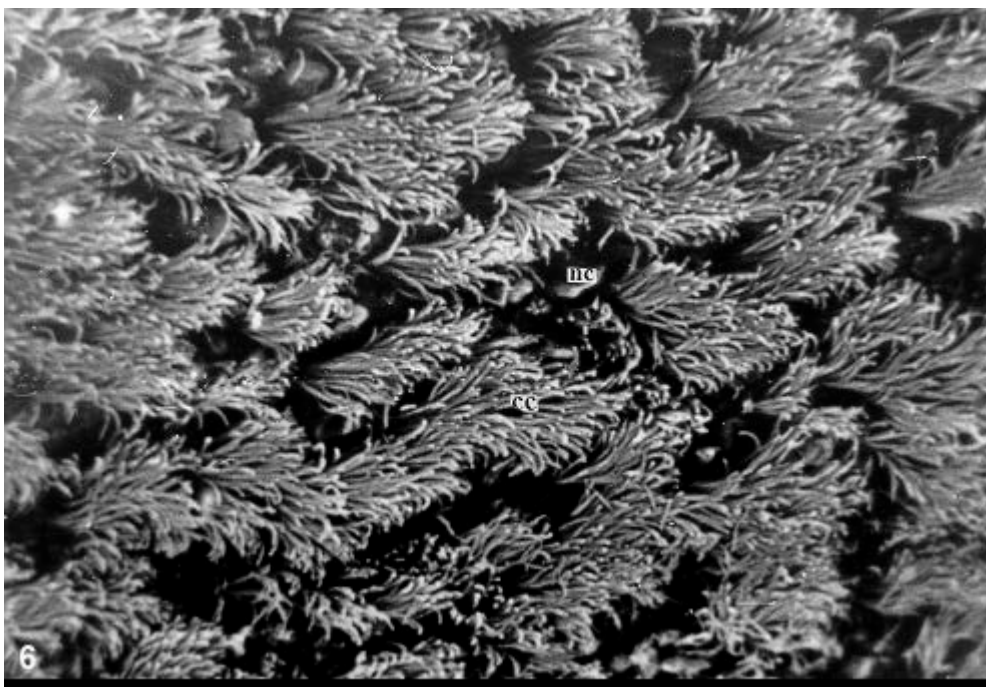


**Joonis 4.** Lehma emakatõrve ampullaarepiteeli heleda ripsraku apikaalne osa, 8–12 päeva peale inna algust. Suurendus 40000x (TEM), **b** – ripsme basaalkahe, **c** – ripse, **cc** – ripsmetega rakk, **cr** – tsütoplasmaatiline retiikulum, **m** – mitokondrion, **mv** – mikrohatt, **r** – ripsme juur, **s** – sekreedi sõmer

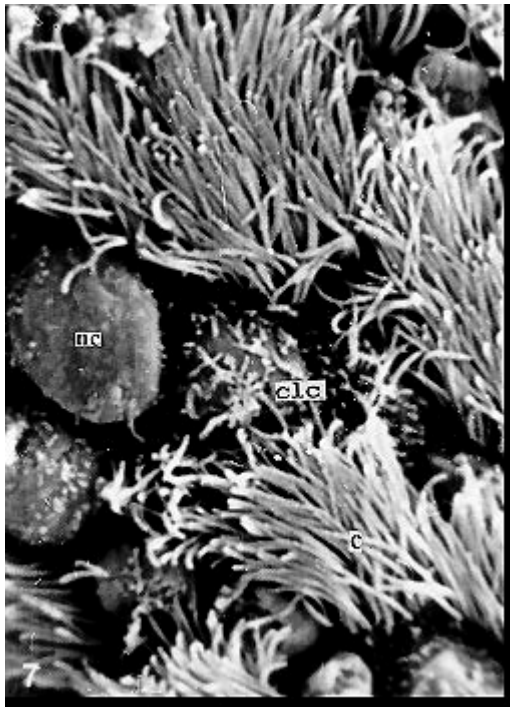
**Figure 4.** The apical part of pale, ciliated epithelial cell from the uterine tube ampullar part. Cow, 8–12 days after the beginning of heat. Magnification 40000x (TEM), **b** – basal body of cilia, **c** – ciliae, **cc** – ciliated cell, **m** – mitochondrion, **mv** – microvilli, **r** – root, **s** – secrete granule



**Joonis 5.** Lehma emakatõrve lehtriosa pind inna ajal. Suurendus 3400x (SEM), **cc** – ripsmetega rakk, **nc** – ripsmeteta rakk  
**Figure 5.** The surface from uterine tube infundibulum of cow in heat. Magnification 3400x (SEM), **cc** – ciliated cell, **nc** – non-ciliated cell



**Joonis 6.** Emise emakatõrve ampullaarosa alguse pind 18–20 päeva peale inna algust. Suurendus 5000x (SEM), **cc** – ripsmetega rakk, **nc** – ripsmeteta rakk  
**Figure 6.** The surface from the beginning of uterine tube ampullar part of sow, in heat. Magnification 5000x (SEM), **cc** – ciliated cell, **nc** – non-ciliated cell



**Joonis 7, 8.** Lehma emakatõrve kitsuse keskosa epiteeli pind 4–8 päeva peale inna algust. Suurendus 4400x (SEM), **c** – ripsmed, **clc** – ripsmed kaotanud rakk, **nc** – ripsmeteta rakk

**Figure 7, 8.** The surface of epithelial cells from the uterine tube isthmus central part. Cows 4–8 days after the beginning of heat. Magnification 4400x (SEM), **c** – ciliae, **clc** – deciliated cell, **nc** – non-ciliated cell

Nähtavasti toimub ripsmeliste ja ripsmetute rakkude populatsiooni arvukuse reguleerimine emise ja lehma tubaarepiteeli erinevates segmentides, östraaltsükli erinevatel perioodidel vastavalt organi funktsionaalsetele vajadustele oviaalhormoonide vahendusel epiteelirakkude östrogeenide ja progesterooni retseptorite mõjutamise teel. Kuna tubaarepiteeli pinna vaatlemisel on raske või isegi võimatu vahet teha sekretoorse materjali (sõmeraid) sisaldavate ripsmeteta rakkude ja ripsmed kaotanud ripsmeliste rakkude vahel, siis ei tohi meie arvates kasutada ka sünonüümidenäidatavaid mõisteid ripsmeteta ja sekretoorsed rakud. Sekretoorseteks tuleks nimetada rakkusid, mille tsütoplasmas on täheldatavad liigispetsiifilise struktuuriga sekreedisõmerad. Rakkusid, mille apikaalses tsütoplasmas esinevad samaaegselt nii sekretoorsed graanulid kui ka ripsmete basaalkehakesed ja ripsmejuured (kinotsiliad) tuleks aga nimetada ripsmetega sekretoorseteks rakkudeks.

Kokkuvõtteks võib öelda, et kuigi meie uurimus kinnitab arvamust, et tubaarepiteeli ripsmetega ja ripsmeteta rakud on ühe ja sama rakuliigi erinevad funktsionaalsed staadiumid, ei ole selge, kas ripsmetega rakud muutuvad sekretoorseteks rakkudeks ripsmete kaotamise teel, või vastupidi, sekretoorsed rakud, lõpetades sekretoorse tsükli, muutuvad ripsmelisteks rakkudeks tsiliogeneesi teel. Nimetatud protsesside mehhanism vajaks kindlasti edaspidist põhjalikku uurimist.

## Kirjandus

- Abe, H., Oikawa, T. Observations by scanning electron microscopy of oviductal epithelial cells from cows at follicular and luteal phases. *Anat. Rec.*, 235, p. 399...410, 1993.
- Bajpai, V. K., Pathak, R. K., Shipstone, A. C., Harper, M. J. K., Herbert, D. C. Does interconversion occur in tubal epithelium? *Anat. Rec.*, 196, 3, p. 12...13, 1980.
- Brenner, R. M. Electron microscopy of estrogen effects of ciliogenesis and secretory cell growth in Rhesus monkey oviduct. *Anat. Rec.*, 157, p. 218...237, 1967.
- Brenner, R. M., Carlisle, K. S., Sandow, B. A., West, N. B. Morphology of the oviduct and endometria of *Cynomolgus* macaques during the menstrual cycle. *Biol. Reprod.*, 29, p. 1289...1302, 1983.
- Eriksen, T., Terkelsen, O., Hyttel, P., Greve, T. Ultrastructural features of secretory cells in the bovine oviduct epithelium. *Anat. Embryol.*, 190, 6, p. 583...90, 1994.

- Odor, D. L., Gaddum-Rosse, P., Rumery, R. E. Secretory cells of the oviduct of the pig-tailed monkey, *Macaca nemestrina*, during the menstrual cycle and after estrogen treatment. *Amer. J. Anat.*, 166, p. 149...172, 1983.
- Reeder, R. L., Shirley, B. Deciliation in the ampulla of the rat oviduct and effects of estrogen on the process. *J. Exp. Zool.*, 283, p. 71...80, 1999.
- Schultka, R. Zum Nachweis von Glycogen im menschlichen Eileiterepithel. *Acta histochem.*, 87, 2, p. 137...139, 1989.
- Stankova, I. Ultrastructural characteristics of the oviductal epithelium in the follicular phase in women of fertile age. *Cech. S. Ser. Med.*, 63, p. 173...181, 1990.
- Verhage, H. G., Bareither, M. L., Jaffe, R. C., Akbar, M. Cyclic changes in ciliation, secretion and cell height of the oviductal epithelium in women. *Am. J. Anat.*, 156, p. 505...522, 1979.
- Verhage, H. G., Mavrogians, P. A., Boice, M. L., Li, W., Fazleabas, A. T. Oviductal epithelium of the baboon: hormonal control and the immuno-gold localization of oviduct specific glycoproteins. *Am. J. Anat.*, 187, p. 81...90, 1990.

## **Transformation of Tubar Epithelial Cells**

T. Suuroja

Summary

Ultra structure of uterine tube epithelium was studied with SEM, TEM and LM techniques. For light microscopy thick sections (1  $\mu$ m) were used. These investigations are based on analysis of uterine tubes from 15 clinically healthy cows and from 15 sows.

In all parts of uterine tube epithelium the ciliated and non-ciliated cells are present. Their relation depend on location in uterine tube and also on oestrus cycle. Ciliated cells dominate in infundibulum and ampullar part immediately before heat and in heat.

Ultrastructural changes, closely correlated with oestrus cycle, take place in ciliate and non-ciliated secretory cells. The deciliation process was observed in all parts of uterine tube epithelium. This process was especially rapid in infundibulum and ampullar part on the middle and late luteal phase.

Cilia and secrete granules was simultaneously in the same epithelial cells (ciliated secretory cells). It is possible that ciliated and non-ciliated cells are different functional stages of one tubular epithelium cell type. Relation between ciliated and non-ciliated cells in different parts of uterine tube is controlled in accordance with functional requirements. The "pale ciliated cells" may be different transformation stage of epithelial cells.