

EXAMEN DES CAPACITÉS MORPHOGÉNÉTIQUES ET HISTOCHIMIQUES DES CELLULES DE LA MUQUEUSE UTÉRINE DANS LES CULTURES DE TISSUS

György Kiszely

(Reçu le 30 juillet 1952)

Par leur aptitude de modification, de régénération et d'adaptation les tissus de la muqueuse utérine prennent une importance pour ainsi dire unique dans l'organisme et ont attiré depuis longtemps l'attention des chercheurs sur ce domaine. Les méthodes morphologiques et microtechniques utilisées habituellement se sont montrées bientôt insuffisantes à l'étude des tissus de la muqueuse utérine car, même complétées par des procédés biochimiques et des expériences physiologiques faits conjointement, ils ne pouvaient résoudre définitivement nombre de questions.

Lors de nos expériences faites au cours de l'étude des qualités spécifiques de la muqueuse utérine, nous avons utilisé le procédé de la culture des tissus.

Matériel et technique

Concernant la technique employée nous sommes à même de communiquer les données suivantes : Les utérus extraits par opération ont été traités deux heures au plus tard après l'intervention. Pour l'examen histologique quelques parcelles de la muqueuse utérine, excisées de l'utérus ouvert stérilement, ont été fixées dans de l'alcool 80% à 0°C et dans le formol de Zenker, et colorées à l'hématoxyline-éosine, Best-carmin et aussi pour la recherche de l'activité de la phosphatase alcaline.

Nous avons fractionné une parcelle de la muqueuse utérine dans la solution de Gey à la chaleur du corps, et l'avons explantée d'après la méthode de Maximow. Au moment de l'explantation la solution de Gey contenait 200 U de pénicilline par cc, mais au cours de la culture nous n'avons plus employé de pénicilline. Les cultures ont été faites sur plasma de poule avec extrait d'embryons de poulets à 20%, en trois groupes.

Nous avons ajouté au premier groupe une goutte de sérum placentaire, humain au deuxième une goutte de sérum masculin, et au troisième, le groupe témoin, une goutte de solution de Gey. Jusqu'à ce jour 16 explantations d'utérus ont été faites. Les utérus se trouvaient dans des phases variées du cycle, l'un d'eux était au deuxième et l'autre au quatrième mois de la grossesse. Nous avons lavé les cultures tous les trois jours et les avons nourris avec une solution contenant de l'extrait d'embryon ; dans le premier groupe la solution de Gey contenait du sérum placentaire, dans le second du sérum masculin. L'une des muqueuses utérines explantées provenait d'un sujet de 46 ans.

A part quelques exceptions la croissance des cultures commençait au bout de 24 heures. Dans trois cas, il n'y eut pas de croissance. Celle des cultures de caduque utérine n'a commencé que le troisième jour. De temps en temps, nous avons photographié les cultures vivantes et au

14ème jour de culture, un film de quelques mètres a été tourné provenant d'une culture de caduque de deuxième mois. De temps en temps, nous avons aussi fixé et traité quelques cultures par les méthodes ci-dessus mentionnées.

La durée de vie des cultures était en général de 10—12 jours. La plus brève de 5, la plus longue de 23, mais, en ce dernier cas, les cultures qui étaient viables et dont la croissance progressait parfaitement furent détruites par une infection.

Observations

Pour plus de clarté, nous avons groupé nos observations concernant les cultures selon trois types. Le premier groupe comporte la période de prolifération, le deuxième la période de sécrétion, et dans le troisième sont rangées les endomètres provenant d'uterus gravides. Au quatrième groupe nous relatons nos observations à l'égard de l'activité de la phosphatase alcaline. La croissance a paru la plus rapide et la plus intense dans les cultures traitées avec du sérum placentaire. Les cultures traitées avec du sérum masculin présentaient des aspects tellement variés que nous ne pouvons en parler sans études ultérieures.

1. Dans la période de prolifération, les cellules qui poussent d'abord sont intimement accolées les unes aux autres et ont une forme allongée. Elles ne ressemblent ni aux cellules du tissu conjonctif, ni aux cellules habituelles des membranes épithéliales. Ces cellules épithélioïdes liquéfient fortement le milieu de culture, exactement comme les membranes épithéliales et, pour cela même pénètrent en forme d'arcades dans le milieu de culture et restent toujours fortement accolées. (I^{er} tableau, 1.) Dans plusieurs cas, des cultures contenant du sérum masculin mais ne provenant pas de la période de prolifération, présentaient un type de croissance similaire.

Cette croissance initiale, qui durait quelquefois 3—4 jours, a souvent été suivie immédiatement, ou, quelquefois d'une manière un peu retardée, par un deuxième type de croissance. Celui-ci présente plutôt l'aspect habituel des membranes épithéliales, quoique les cellules soient morphologiquement différentes de celles des cellules épithéliales. Ces cellules sont granuleuses, polygonales, largement étalées et peuvent, ainsi, être facilement différenciées du premier type de croissance (I^{er} tableau, 2.). Les deux types de cellules épithéliales deviennent cependant toujours plus ressemblants vers le 8^{ème} ou 10^{ème} jour de culture et, par la suite les transformations morphologiques les rendent indistinguibles. Les cellules abandonnent d'abord le premier type épithélial de croissance et l'état épithélial se dissocie. (II^{ème} tableau, 1.) Après, ou en même temps, la deuxième membrane épithéliale se détache et enfin le milieu de culture est envahi par des cellules grouillantes, semblables à des cellules phagocytantes macrophages (II^{ème} tableau, 2.). Vers le 20^{ème} jour de culture les cellules, originellement épithélioïdes, ont toutes été transformées à la manière des macrophages mais, même alors, en dépit de leur mouvements rapides, deux ou trois cellules restent accolées. (II^{ème} tableau, 3.)

Devant la membrane épithéliale poussent dans toutes les cultures de bonne croissance et, indépendamment de l'état de l'endomètre des cellules qui dès le début ont plus ou moins le caractère macrophage et sont faciles à identifier. Elles se retrouvent même plus tard par-ci par-là, loin dans le milieu de culture. Pendant les premiers 10 jours de culture des lymphocytes se montrent qui se déplacent vivement, mais disparaissent plus tard.

Elles sont probablement emportées lors du lavage ou elles sont en partie tuées. Vers le 20^{ème} jour de culture des lymphocytes se trouvent parfois de nouveau à la périphérie de la zone de croissance; probablement des cellules nouvellement différenciées. A partir d'explantations se trouvant dans la période de prolifération, et surtout à partir de cultures traitées avec du sérum masculin, il poussé parfois, dans la zone de liquéfaction, un troisième type de membrane épithéliale. Ces cellules présentent exactement l'aspect bien connu des cellules de la membrane épithéliale, aussi bien par la morphologie des cellules, que par leur type de croissance. A l'état vivant, ces cellules s'aplatissent presque invisiblement et ne proviennent pas, à notre avis, des éléments du stroma, mais probablement de l'endothélium des vaisseaux sanguins ou peut-être de l'épithélium superficiel de l'utérus.

2. Au début de la période de sécrétion, ou de la muqueuse utérine en phase de sécrétion, s'est développé d'emblée le deuxième type de membrane épithéliale observé dans le groupe précédent et la croissance en forme d'arcade n'a pas lieu. (I^{er} tableau, 3.) Vers le 8^{ème} jour cette membrane se dissocie aussi et ses cellules du type macrophage se comportent comme celles du groupe précédent.

3. Les cultures jeunes (deux mois) de caduque utérine n'ont montré aucun des types de croissance épithélioïde initiale, décrite ci-dessus. Quelquefois après une latence prolongée, une pointe épithélioïde s'est formée, au bout de laquelle les cellules se sont aussitôt détachées.

A part cela, la croissance correspondait presque d'emblée au type représentant la dernière phase de la croissance du type macrophage des cultures de prolifération. Les cellules ont montré, cependant, une vivacité de mouvement et un potentiel de phagocytose plus accentués que celles des deux premiers groupes. (III^{ème} tableau, 4.)

Dans les cultures provenant de la caduque utérine d'utérus au 4^{ème} mois de la grossesse, on notait l'apparition, en quelques minces placards isolés, de groupes de cellules qui correspondaient aux types des deux premières membranes épithéliales mais ces cellules se désagrégèrent rapidement.

4. En cours de culture, l'activité de la phosphatase alcaline était positive même après 21 jours, aussi bien dans l'explantation, que dans la zone de croissance. Dans la parcelle explantée cette activité de la phosphatase ne s'est maintenue le plus souvent que dans les parois des vaisseaux sanguins, quelquefois dans l'épithélium glandulaire et a même pu être démontrée dans la

zone de croissance. (III^{ème} tableau, 3.) En des cas isolés l'activité de la phosphatase s'est accrue pendant la culture et s'est montrée d'une manière accentuée dans les cellules épithélioïdes de la zone de croissance. L'augmentation de l'activité phosphatasique a été surtout apparente dans les cultures traitées avec du sérum masculin. (III^{ème} tableau, 1—2.) Dans la zone de croissance la présence du glycogène n'a pu être démontrée, tout au plus avons nous obtenu une coloration diffuse, très faible.

La caduque utérine que nous avons fixée et examinée à la coupe au moment de l'établissement de la culture n'a donné de réaction phosphatasique active que dans les parois des vaisseaux sanguins. Les cellules mêmes de la caduque utérine étaient entièrement négatives à l'exception de légères réactions dans les noyau des cellules. Par contre la présence du glycogène a pu être démontrée facilement. Sous ce rapport il n'y a eut pas de dissemblance entre les caduques utérines prélevées des utérus du deuxième et du quatrième mois de grossesse. En cours de culture la réaction phosphatasique active des vaisseaux sanguins dans l'explantation a été la même dans les deux cas, après deux semaines de culture et, pour le moins aussi forte qu'au moment de l'explantation. En même temps, dans les cellules déciduales de l'explantation la réaction s'est accrue constamment. (III^{ème} tableau, 4.) Celles des cellules de la zone de croissance qui montraient encore le type épithélioïde donnaient une forte réaction, tandis que les cellules du type macrophage ne présentaient aucune réaction phosphatasique. Quant à la présence du glycogène, les cultures de la caduque ont démontré que les cellules de l'explantation ont perdu entièrement leur glycogène lorsque apparaissait la réaction phosphatasique positive. Dans les interstices des cellules une matière amorphe, se colorant vivement avec du carmin-Best, a été visible. Cette matière est probablement un genre de mucine. Nous n'avons pu démontrer du glycogène dans la zone de croissance.

Discussion

Les questions relatives aux capacités histogéniques et cytodynamiques de l'endomètre, surtout en ce qui concerne la caduque, ont été soulevées en 1908 par *Ulesko—Stroganoff*. Selon son opinion la caduque, est une forme spéciale de tissu protecteur, apte à la phagocytose qui se développerait surtout à la suite de l'excitation spécifique de la grossesse. D'après lui les cellules caractéristiques de la caduque proviennent surtout des mononucléaires se multipliant intensément. En 1951 *Aschheim* considèrait le stroma de la muqueuse utérine comme faisant partie du système réticuloendothélial (SRE) et attribue l'origine des cellules de la caduque aux lymphocytes. Entretemps plusieurs auteurs ont exprimé des vues similaires, ainsi *Maximow* et *Bloom*. Il est évident, et *Aschheim* lui-même l'a constaté, que la méthode de la culture des tissus apportera la décision finale en ce domaine.

Au cours de l'extension des méthodes de la culture des tissus, la muqueuse utérine a aussi été examinée. Mais d'une part ces recherches n'étaient pas systématiques, elles ne se faisaient pas sur toute l'étendue de la muqueuse utérine et ne tenaient pas compte des variations cycliques de ces tissus. Enfin ces cultures en majeure partie n'ont pas été faites sur matière humaine. Or, la muqueuse utérine humaine a, par suite de la phylogénèse, acquis des qualités nouvelles par lesquelles elle diffère essentiellement, même de la muqueuse utérine des mammifères, dont le placenta se rapproche par ailleurs le plus de la muqueuse utérine humaine.

D'après la littérature la muqueuse utérine fut cultivée la première fois par *Heim* et *Meyer* en 1926. Puis *Barta* et *Petrovics Cron* et *Gey* ainsi que beaucoup d'autres ont publié des rapports sur des cas réussis de cultures de la muqueuse utérine. *Caffier* a publié des expériences d'explantation de la muqueuse utérine en tenant compte de ses états variés, et il a réussi à maintenir en vie ses cultures humaines pendant 14 jours.

Galustjan présente des données cytologiques détaillées sur la culture des épithéliums utérins. *Chlopin* donne l'analyse cytologique de l'épithélium de l'utérus et des trompes chez la lapine. Dernièrement *Randall—Stein* et *Stuermer* rendent compte de cultures de la muqueuse utérine, s'étendant de la phase de prolifération jusqu'au stade caduc dans leurs différentes phases. Les auteurs ont réussi à maintenir en vie, *in vitro*, de cultures de l'endomètre jusqu'à 35 jours.

Les fonctions enzymatiques de la muqueuse utérine, spécialement l'activité phosphatasique dans les différentes phases du cycle, ont été examinées par beaucoup de chercheurs. L'une des plus récentes publications rend compte des recherches de *Lux* et *Görck* mais nous ne savons pas s'ils ont examiné l'action des enzymes dans la culture des tissus. La question qui se pose est la suivante : sont-elles les cellules de la muqueuse utérine sont capable de faire la synthèse de la phosphatase ou la prennent-elles toute-faite, du sang. La solution du problème ne semble possible qu'avec l'aide de la culture des tissus.

Lors de nos observations morphogénétiques-cytodynamiques nos résultats ont différé dans certains cas de celles de la littérature. Ainsi ils diffèrent en général de ces données par rapport à la croissance du type fibroblastique. Nous n'avons trouvé qu'exceptionnellement des croissances de ce type, et seulement dans certaines parties de l'explantation. Quelques fibroblastes se sont montrés exceptionnellement aussi dans la zone de croissance.

En résumant les résultats obtenus par la culture, il paraît évident que la muqueuse utérine est capable de grandes transformations et que le type multivalent de ses cellules est apte, sous l'action d'influences hormonales, de produire des transformations morphologiques et fonctionnelles très étendues.

Ainsi les résultats obtenus par la méthode de la culture des tissus appuient entièrement l'opinion selon laquelle les tissus de la muqueuse utérine feraient partie intégrante du système réticulo-endothéliale (SRE), qu'elles, appartiennent au type très spécial de celui-ci, très sensible à des variations hormonales. Les hormones contenues dans les sérums de placenta, ajoutés régulièrement aux cultures, sont capables de provoquer la transformation des cellules de la culture allant jusqu'au type caduque, le type le plus actif de caractère macrophage. Néanmoins, les aspects obtenus par la culture ne confirment pas l'opinion selon laquelle les cellules de la muqueuse utérine, spécialement les cellules de la caduque utérine proviendraient des lymphocytes. Le processus inverse, la transformation des cellules du stroma en lymphocytes, ne peut être exclu si l'on considère les résultats des cultures de ces tissus.

Les observations qui réalisent notre deuxième objectif, c'est à dire les examens de la phosphatase alcaline, n'ont, malgré quelques résultats, pas apporté de décisions.

Les observations faites, en utilisant la réaction phosphatasique paraissent indiquer que les cellules de la muqueuse utérine seraient capables de produire la synthèse de la phosphatase, car en cours de culture la réaction subit des changements variés elle ne se maintient pas seulement, mais, dans certains cas, elle s'exagère.

Cette supposition est appuyée par le fait que dans les cultures de la caduque l'apparition de la phosphatase va de pair avec la disparition du glycogène.

Cependant, vu l'utilisation de plasma et de sérum sanguin pendant la culture, la question ne peut être résolue d'une manière satisfaisante qu'à l'aide d'expériences d'explantations faites sur milieux de cultures synthétiques.

Résumé

Les cultures provenant de la muqueuse utérine humaine en leur différentes phases de cycle, prouvent, que les cellules de la muqueuse utérine représentent un type de cellules appartenant au système réticuloendothélial (SRE) et qu'elles réagissent morphologiquement nettement aux variations hormonales. Sous l'influence des hormones du sérum placentaire additionnés aux cultures, les cellules se transforment graduellement allant du type de croissance épithéliale jusqu'au type macrophage à mouvements rapides.

Dans les cultures de la caduque on peut observer, dès le début, un accroissement prépondérant des cellules du type macrophage.

L'activité de la phosphatase alcaline des cultures n'est, en général, pas atténuée, au contraire, elle est accrue en quelques cas. La caduque explantée, qui d'abord était riche en glycogène et n'a pas montré d'activité phosphatasique, a perdu, au cours de la culture son glycogène et certaines de ses cellules ont produit des réactions phosphatasiques positives. Ces réactions ont de nouveau disparu dans les cellules du type macrophage.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ascheim, S. : (1951) A propos de la cellule décidua. Gynécologie, 152.
2. Barta, E., Petrovics, L. : (1928) The morphology of the tissues of the adult organism in vitro. Arch. f. exp. Zellf. 6. 81.
3. Caffier, P. : (1928) Über Endometriumexplantation : Bisherige Ergebnisse, Wachstumsmechanik und Kritik. Zbl. f. Gyn. 52. 1.
4. Chlopin, N. C. : (1946) Leningrad. Общебиологические и экспериментальные основы гистологии.
5. Galustjan, Sch. : (1933) Über die Verwandlungen des Epithels der Gebärmutter im Explantat. Arch. exp. Zellf. 13.
6. Hall, J. E. : (1950) Alkaline phosphatase in human endometrium. Am. J. Obst. et Gyn. 60. 1.
7. Heim, K. : (1927) Weitere Ergebnisse bei Auspflanzungsversuchen von Placenta und Decidua. Zbl. f. Gynäk. 51.
8. Heim, K. : (1928) Zur Frage der Endometriumkultur. Zbl. f. Gynäk. 52.
9. Lux, J.—Görös, J. : (1951) Endometriumok alkalifosfatase vizsgálata. Magyar Nőorvosok Lapja. XIV. 12. (Hung.)
10. Maximov—Bloom : (1949) Textbook of Histology.
11. Mayer, A.—Heim, K. : (1926) Auspflanzungsversuche von Placenta und Decidua, Zbl. f. Gyn. 50.
12. Ober, K. G. : (1950) Die wechselnde Aktivität der alk. Phosphatase im Endometrium und Ovar, während des mensuellen Zyklus, sowie im Endometrium unter der Geburt. — W. Wochenschr. 21. 1.
13. Randall, K. H., Stein, R. J.—Stuermer, V. M. : (1950) Cytodynamic Properties of Human Endometrium I. Am. J. Obst. et Gyn. 60. 4.
14. Stuermer, V. M.—Stein, R. J. : (1950) Cytodynamic properties of human Endometrium II. Am. J. Obst. et Gyn. 60. 6.
15. Ulesco — Stroganoff : (1908) Zur Frage von den feinsten Bau des Deciduagewebes, seiner Histogenese, Bedeutung und dem Orte seiner Entwicklung im Genitalapparat der Frau. Arch. f. Gyn. 86.
16. Ulesco — Stroganova : (1924) Zbl. f. Gyn. cit. Ascheim.

ИССЛЕДОВАНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ГИСТОХИМИЧЕСКИХ СПОСОБНОСТЕЙ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ МАТКИ В ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУРАХ

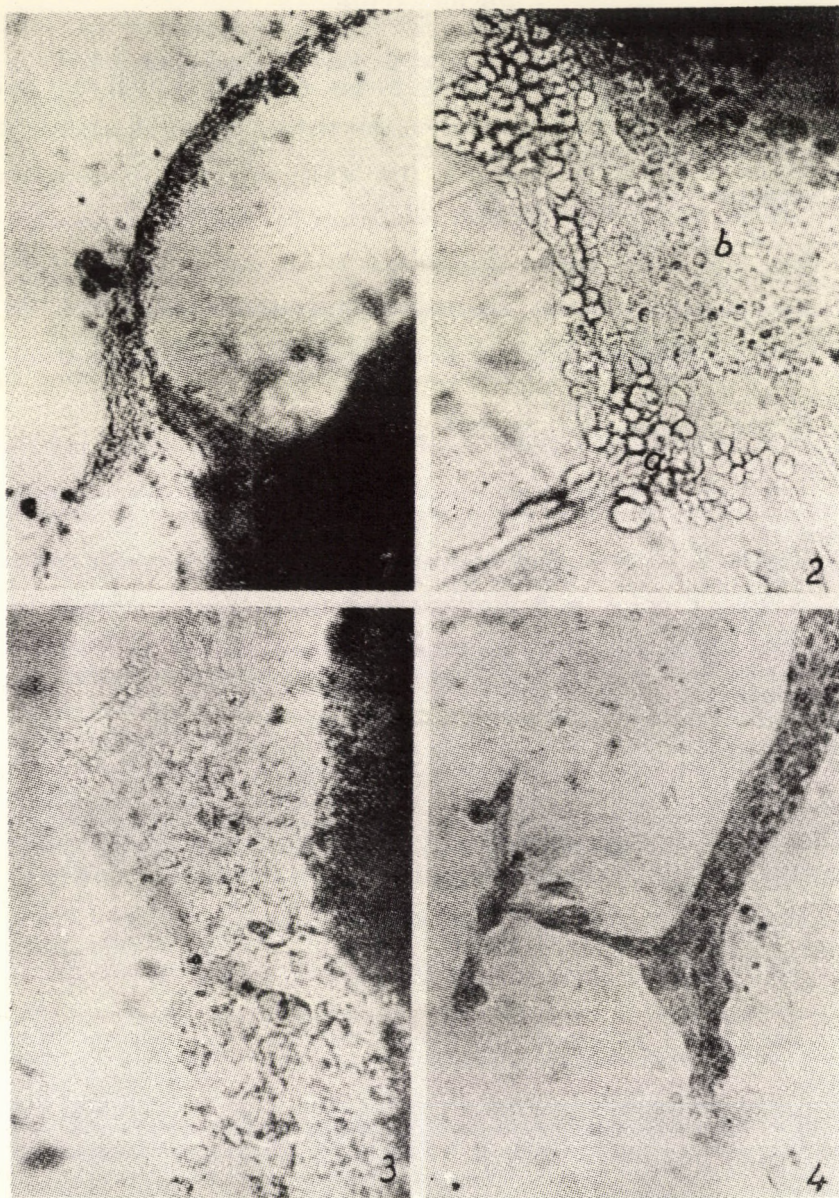
Дь. Кисели

Резюме

Тканевые культуры, происходящие из слизистой матки женщин, находящихся в разных фазах цикла, доказывают, что клетки слизистой матки являются элементами ретикуло-эндотелиальной системы и резко реагируют морфологически на гормональные изменения.

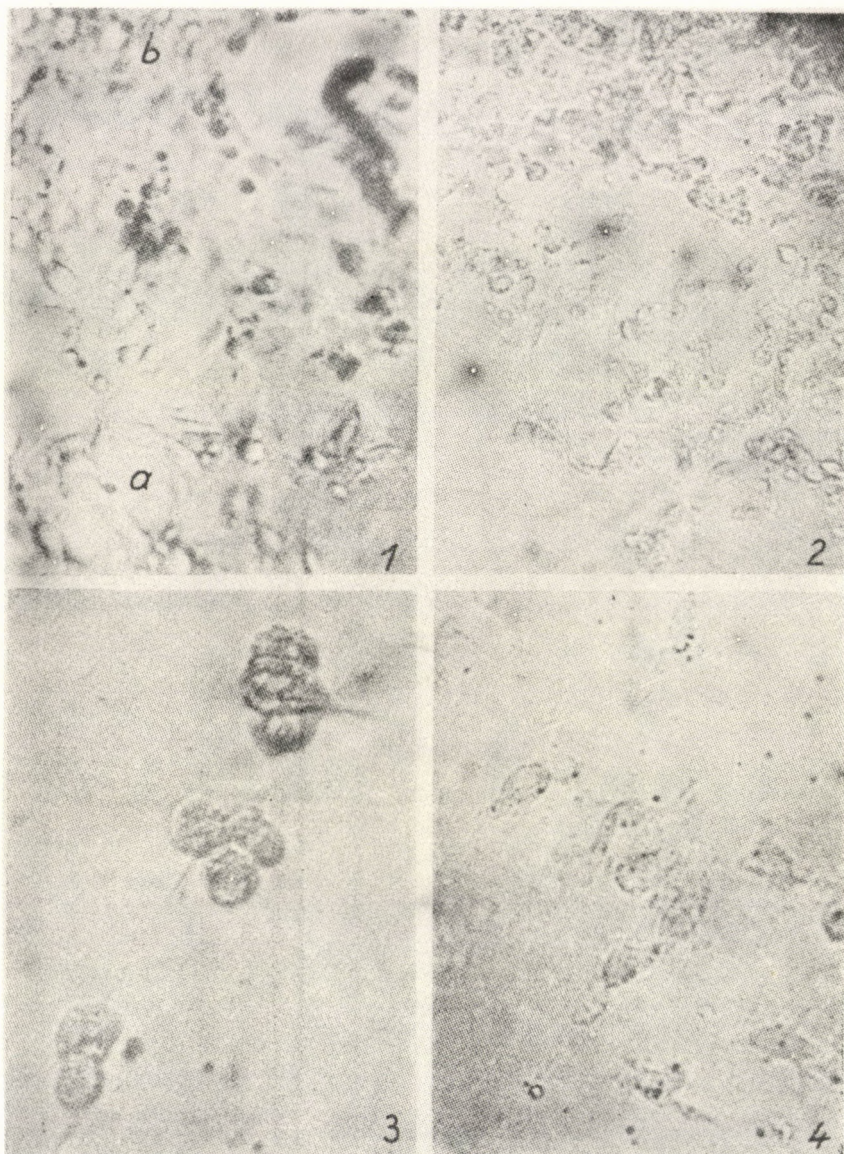
Под влиянием гормонов сыворотки плаценты, прибавленной к тканевой культуре, клетки проявляют постепенные изменения, включающие все переходы от типа роста эпителия до живо движущихся макрофагов. В тканевых культурах, происходящих из отпадающей оболочки, с самого начала наблюдается главным образом рост клеток, принадлежащих к типу макрофагов.

Активность щелочной фосфатазы тканевых культур вообще не понижается, а наоборот в некоторых случаях даже повышается. Эксплантированная ткань отпадающей оболочки, являющаяся вначале богатой гликогеном и не проявляющая активности щелочной фосфатазы, в течение времени потеряла свой гликоген, и отдельные клетки дали положительную реакцию на фосфатазу; в клетках типа макрофагов, однако, эта реакция снова исчезла.

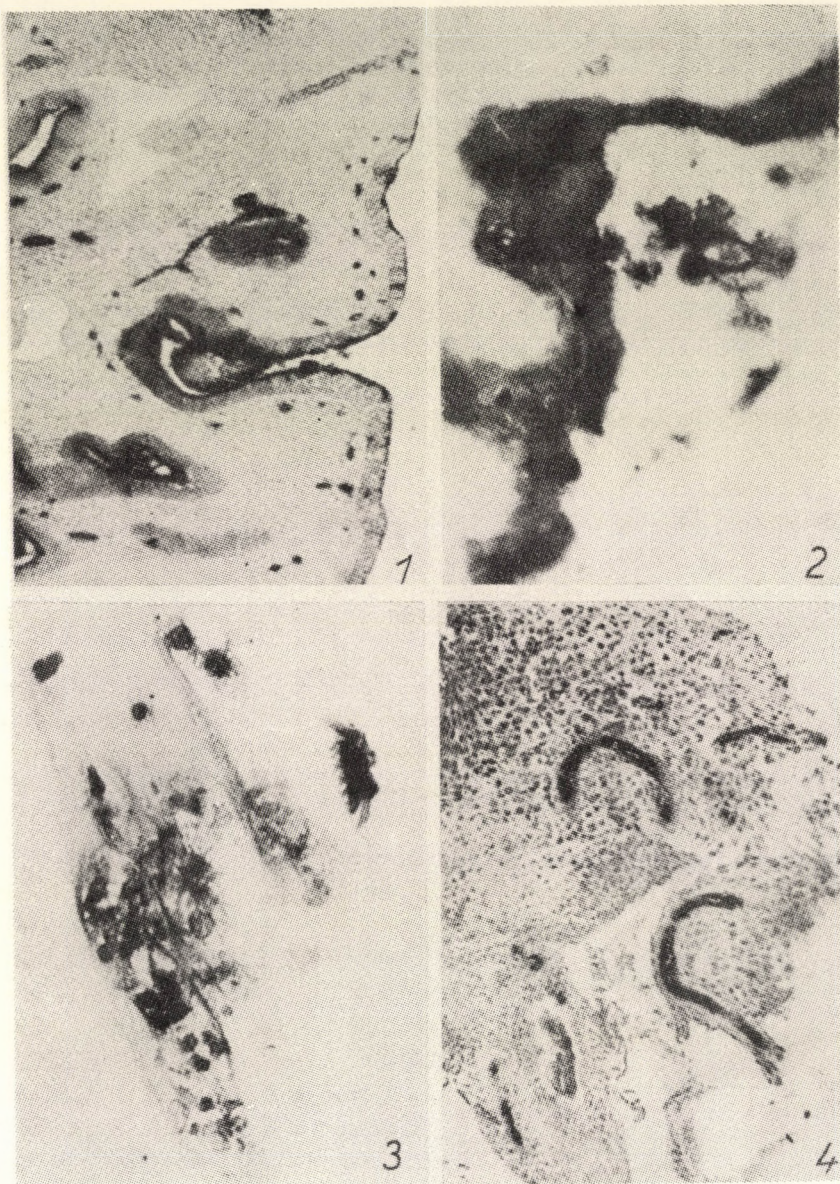


1^{er} tableau.

1. Culture de muqueuse utérine en sa phase de prolifération, trois jours après l'explantation.
2. Culture de muqueuse utérine en sa phase de prolifération, 6 jours après l'explantation. Les cellules de la première surface de croissance (a) ont commencé leur dissociation. Derrière les cellules a déjà paru le deuxième type de caractère épithélial (b). Culture vivante.
3. Culture de muqueuse utérine en sa phase de sécrétion au 4^{ème} jour de culture. Le premier type de croissance en forme d'arcades, fait défaut. Culture vivante.
4. Culture de muqueuse utérine en sa phase de sécrétion au 7^{ème} jour de culture. Les pointes formées de cellules de caractère épithélial se sont dispersées. Coloration à l'hématoxyline.

II^{ème} tableau

1. Culture de muqueuse utérine en sa phase de prolifération au 7^{ème} jour de culture. Les cellules du premier type, poussées en forme d'arcade se sont déjà dispersées. La croissance épithéliale a cessé (a). Les cellules poussées ultérieurement sont encore disposées en membrane épithéliale (b). Culture vivante.
2. Culture de muqueuse utérine en sa phase de prolifération le 11^{ème} jour de culture. Les deux croissances épithéliales ont cessé. Les cellules se sont partout dissociées, elles sont de caractère macrophage. Culture vivante.
3. Culture de muqueuse utérine en sa phase de prolifération au 21^{ème} jour de culture. Des cellules de caractère macrophage se meuvent ensemble en petits groupes. Culture vivante.
4. Culture de muqueuse utérine de l'utérus dans le 3^{ème} mois de la gravidité, au 14^{ème} jour de culture. Les macrophages se meuvent vivement. Un carré de la bande micro-cinématographique.



III^{ème} tableau.

1. Coupe de la muqueuse utérine au début de la première phase de sécrétion. Réaction de phosphatase alcaline.
2. La figure représente une culture faite de la muqueuse utérine au 8^{ème} jour de la culture. Forte activité enzymatique dans la zone de croissance. Coupe d'une culture traitée avec du sérum masculin. Réaction de phosphatase alcaline.
3. Culture faite de muqueuse utérine en sa phase de prolifération. La zone d'accroissement au 10^{ème} jour de culture. Une partie des cellules donne encore de fortes réactions positives de phosphatase alcaline. (Coupe.)
4. Culture au 14^{ème} jour d'une muqueuse utérine au III^{ème} mois de la grossesse. Dans la caduque explantée la réaction phosphatasique alcaline devient positive. (Coupe.)