

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАННЕГО ГИСТОГЕНЕЗА ЛЕГКИХ ПРИ ЭКТОПИЧЕСКОЙ ИМПЛАНТАЦИИ Демьяненко И.А.

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.П.Георгиевского»

Демьяненко И.А. Морфологические и гистохимические особенности раннего гистогенеза трахеи и легких при эктопической имплантации // Украинський морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 40-42.

Были изучены 121 зародыш человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития при типичной имплантации и 49 зародышей при эктопической имплантации в маточную трубу. При маточной имплантации до 43 суток (зародыши 13 мм длины) количество гликогена преобладает над гликопротеинами. С середины второго месяца гликоген и гликопротеины преимущественно концентрируются в мезенхимных закладках.

При трубной имплантации наблюдается замедление развития зародышей, что сопровождается снижением биосинтеза ШИК-положительных веществ за счет недостаточной продукции гликополимеров.

Ключевые слова: эмбриогенез человека, дыхательная система, гликополимеры, трубная беременность

Дем'яненко І.О. Морфологічні та гістохімічні особливості раннього гістогенезу трахеї і легень в умовах ектопічної імплантації // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 40-42.

Були вивчені 121 зародки людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку при типовій імплантації та 49 зародків при ектопічній імплантації в маткову трубу. В умовах маткової імплантації до 43 доб (зародки 13 мм довжини) кількість глікогена в епітелії переважає кількість глікопротеїнів. З середини другого місяця глікоген і глікопротеїни переважно концентруються в мезенхімних закладах дихальної системи. В умовах ектопічної імплантації спостерігається уповільнення розвитку зародків, що супроводжується зниженням біосинтезу ШИК-позитивних речовин за рахунок недостатньої продукції глікополімерів.

Ключові слова: ембріогенез людини, дихальна система, глікополімери, трубна вагітність

Demyanenko I.A. Morphologic and histochemical features of the early histogenesis of trachea and lungs at ectopic implantation // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 40-42.

121 human embryos at the age of 21 days to 12 weeks of the intrauterine development and 49 embryos of ectopic tubal implantation were investigated.

At uterine implantation before 43 days (embryo 13 mm long) quantity of glycogen predominates over the glycoproteins. From the middle of the second month glycogen and glycoproteins mostly concentrate in mesenchymal germs. At tubal implantation the delay of embryo development occurs, which is accompanied by the decrease of biosynthesis of PAS-positive substances due to insufficient production of glycopolymers.

Key words: human embryogenesis, respiratory system, glycopolymers, tubal pregnancy.

Дифференцировка органов и тканей составляет качественную основу эмбрионального гистогенеза. При дифференцировке наряду с появлением клеточной гетерогенности происходит усложнение структурно-функциональной организации клеток в ходе реализации имеющихся потенциалов [1,7,8,11], ярким проявлением которой служит изменение углеводных детерминант плазматических мембран, секреторных включений и неклеточных структур [9]. Традиционно такие соединения определяли ШИК-реакцией, имеющей определенную селективность по отношению к отдельным классам гликополимеров [2]. Возможности гистохимии позволяют проследить особенности дифференцировки клеток и тканей в органах дыхательной системы человека на ранних стадиях эмбриогенеза. Поскольку направление и темпы дифференцировки клеток связаны непосредственно с налаживанием специфического биосинтеза, метаболический показатель в развивающейся системе является основным признаком, характеризующим состояние и потенциальные возможности клеток и их популяций [3].

Цель исследования – изучить содержание и перераспределение гликогена, гликопротеинов, репрессии и дерепрессии гликополимеров различной углеводной специфичности на поверхности и в цитоплазме клеток паренхимы, стромы и в тканевых экстрацеллюлярных структурах дыхательной системы в процессе становления её органной специфичности у зародышей человека при трубной имплантации в сравнении с зародышами, развивавшимися в матке.

Материал и методы. Исследование выполнено на 121 зародыше человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития при маточной имплантации и 49 зародышей человека при трубной имплантации от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гликоген и гликопротеины выявляли ШИК-реакцией с ферментативным контролем [6]. Количество ШИК-позитивных веществ в срезах измеряли с помощью цитоспектрофотометра. Содержание гликогена в препаратах определяли путем оценки разности между количеством ШИК-позитивных веществ в препаратах, предварительно обработанных α -амилазой при температуре 38⁰ в течение 1 часа. Гликозаминогликаны определяли с помощью окрашивания толудиновым синим при различных значениях pH (от 2,0 до 8,0) буфера Михаэлиса. Цифровые данные подвергали статистической обработке с вычислением первых параметров распределения. Аргирофильные волокна определяли импрегнацией серебром по методу Гомори.

Результаты собственных исследований и их обсуждение. При маточной и трубной имплантации дыхательной системе свойственна сходная модель эмбриогенеза, заключающаяся во внедрении первоначального одного эпителиального тяжа в подлежащую неуплотненную мезенхиму. Тяж под влиянием окружающей мезенхимы растет, повторно дихотомически ветвится, дифференцируется, оказывая в свою очередь влияние на мезенхиму, при-

водящее к дифференцировке последней в различных производные [4,5,8].

Сложность сравнительной задачи в некоторой мере облегчалась единым принципом подбора материала и одинаковой гистологической, биометрической и гистохимической его обработкой.

На самых ранних стадиях развития эпителиальный покров передней кишки при обоих типах имплантации представлен однослойным низким кубическим эпителием. Мезенхима данной области зародыша состоит из недифференцированных звездчатых клеток. У зародышей 5-6 недельного возраста эпителий - многорядный, насчитывающий 3-4 ряда клеток в трахее и бронхах 1-го порядка и 1-2 ряда клеток в терминальных бронхах, за ним следует относительно широкий слой мезенхимы. Сходные описания имеются в работах [4,8]. К концу изученного периода - к 12-ти неделям развития при маточном развитии зародыша, принципиальное ветвление в дыхательной системе не завершается, однако имеются все основные древовидные закладки. Сохраняется многорядность и резкая поляризация эпителиальной выстилки.

При трубной беременности наблюдается отставание в развитии зародыша в среднем на 5 суток. Развитие дыхательной системы также замедленно и к концу изученного периода - к 60 суткам пренатального онтогенеза принципиальное ветвление не достигает такого, как у зародыша при маточной имплантации. Имеются только закладки бронхов четвертого порядка. Сохраняется типичная для дыхательной системы модель эмбриогенеза. На начальных стадиях развития эпителий многорядный. К 60 суткам в эпителиальном пласте сохраняется многорядность и резкая поляризация эпителиальной выстилки.

Дифференциация эпителия при обоих типах имплантации протекает гетерохронно. В каждый момент времени эпителиальный пласт проксималь-

ных отделов ветвящихся закладок имеет большее количество рядов клеток по сравнению с дистальными. Важным для современной эмбриологии является установленный рядом исследователей факт, что при маточной имплантации гистохимическая дифференцировка клеточных элементов и межклеточного вещества различных органов и тканей предопределяет морфологическую [12]. Нами изучены и сопоставлены закономерности гистохимической дифференцировки развивающихся трахей и легких при маточной и трубной беременности с учетом изменяющейся топографии органов. При маточной имплантации в эпителиоцитах дыхательной системы биосинтез гликопротеинов начинается с 32-34 суток развития. Отложения гликогена и гликопротеинов в эпителиальных закладках изученных органов происходит неравномерно: в проксимальных отделах древовидно ветвящихся закладок полисахариды появляются раньше и в больших количествах по сравнению с дистальными отделами, создавая основу для ускоренной дифференцировки клеток эпителиального пласта в проксимальных участках ветвления. Биосинтез гликогена, являющегося энергетическим и пластическим материалом, с увеличением возраста зародыша нарастает, а затем сменяется биосинтезом более сложных соединений - гликопротеинов (табл.1).

При трубной имплантации в эпителиоцитах биосинтез гликопротеинов начинается на самых ранних из изученных этапов. Закономерности усложнения углеводного обмена аналогичны таковым при маточной имплантации. Прослеживается снижение биосинтеза ШИК-положительных веществ на фоне общего замедления развития зародыша. В эпителиальных закладках количество ШИК - положительных соединений снижено за счет преимущественно меньшей продукции гликопротеинов, а в мезенхиме - за счет меньшей продукции гликогена (табл. 2).

Таблица 1. Количественное содержание гликогена и гликопротеинов в клетках эпителия, мезенхимы и ЭСТ дыхательной системы у зародышей в возрасте 47 суток (18 мм длины)

Название закладки	ШИК-положительные вещества в у.е. $\bar{x} \pm S_x$	Гликопротеины в у.е. $\bar{x} \pm S_x$	Гликоген в у.е. $\bar{x} \pm S_x$
Эпителий трахей	31,94±0,11	4,95±0,03	26,99±0,08
Эпителий бронхов 1-го порядка	31,40±0,14	4,70±0,04	26,70±0,10
Эпителий бронхов 2-го порядка	30,06±0,11	4,23±0,07	25,83±0,04
Мезенхима трахей	46,99±0,15	14,36±0,06	32,63±0,09
Мезенхима бронхов 1-го порядка	46,70±0,15	14,30±0,06	32,40±0,09
Мезенхима бронхов 2-го порядка	46,16±0,13	13,98±0,04	32,18±0,09
Мезенхима между закладками бронхов	4,88±0,04	-	4,88±0,04

Таблица 2. Количественное содержание гликогена и гликопротеинов в клетках эпителия и мезенхимы дыхательной системы у зародышей в возрасте 47 суток (13 мм длины)

Название закладки	ШИК-положительные вещества в у.е. $\bar{x} \pm S_x$	Гликопротеины в у.е. $\bar{x} \pm S_x$	Гликоген в у.е. $\bar{x} \pm S_x$
Эпителий трахей	28,88±0,11	3,12±0,02	25,76±0,01
Эпителий бронхов 1-го порядка	28,0±0,10	2,8±0,02	25,2±0,12
Эпителий бронхов 2-го порядка	25,34±0,13	1,75±0,01	23,59±0,11
Мезенхима трахей	10,6±0,12	2,5±0,04	8,1±0,12
Мезенхима бронхов 1-го порядка	10,30±0,05	2,3±0,01	8,0±0,06
Мезенхима бронхов 2-го порядка	9,17±0,12	1,9±0,004	7,27±0,06
Мезенхима вдали от трахей и бронхов	-	-	-

Способность клеток мезенхимы дыхательной системы при обоих типах имплантации усложнять биосинтетические процессы и активно секретировать компоненты основного вещества соединительной

ткани - гликозаминогликаны знаменует трансформацию их в молодые фибробласты. Вначале синтезируется гиалуроновая кислота, затем более сложные биополимеры - хондроитинсульфаты А и С, а потом во-

локнистый компонент эмбриональной соединительной ткани. По всей очевидности увеличение содержания энергетического и пластического материала, каковыми являются на ранних этапах эмбриогенеза гликоген и гликопротеины в мезенхимных закладках развивающейся дыхательной системы, приводит к ускорению темпа их дифференцировки. Анализируя динамику цито- и гистохимических изменений, мы отмечаем, что при маточной имплантации этот процесс прослеживается со второй половины второго месяца развития, а при трубной имплантации – с конца второго месяца развития. Первое появление гиалуроновой кислоты в эмбриональной соединительной ткани трахеи при маточной беременности фиксируется в возрасте 45 суток, при трубной беременности – в возрасте 53 суток. Количество синтезированных гликозаминогликанов и аргирофильных волокон постепенно нарастает в соответствии с дистальным градиентом ветвящихся закладок, образуя своеобразный каркас в строении органов. Сеть более выражена в подэпителиальной зоне, где также в более значительном количестве обнаруживаются гликопротеины и гликозаминогликаны. На 12-й неделе эмбриогенеза содержание гликозаминогликанов снижается по мере коллагенизации аргирофильных волокон. При трубной имплантации у зародыша в возрасте 55 суток коллагенизация аргирофильных волокон не прослеживается (рис.1).

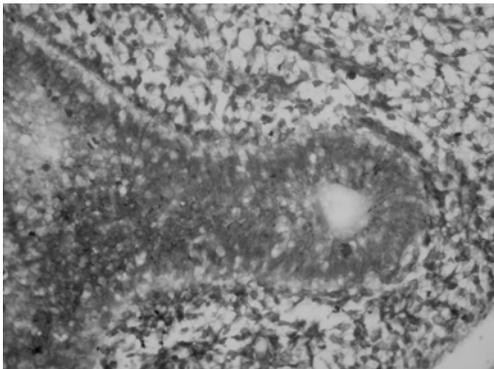


Рис. 1. Зародыш в возрасте 55 суток (22 мм длины). Гликозаминогликаны в ЭСТ легких вокруг бронхов 1-2-го порядка. Окраска толуидиновым синим. Увеличение: ок. 15, об. 20.

Оценивая с помощью общегистологических и гистохимических методов эпителио-мезенхимные отношения, складывающиеся в органах, в которых именно они обеспечивают гистогенетические и формообразовательные процессы, следует отметить преимущественную дифференцировку эпителиальных закладок изученных органов при типической имплантации до семи недельного возраста, при эктопической имплантации – до восьми недельного возраста, развивающуюся, возможно, под индуцирующим влиянием мезенхимы. Со второй половины второго месяца и конца второго месяца эмбриогенеза соответственно ускоренное развитие отмечается в мезенхиме что, вероятно, происходит под влиянием эпителия.

Выводы:

1. Гистохимическое маркирование клеток эпителиальных и мезенхимных производных в закладках дыхательной системы на псевдожелезистой стадии при маточной имплантации обнаружило генетически детерминированное в процессе дифференци-

ровки перераспределение гликополимеров. До 43 суток (зародыши 13 мм длины) количество гликогена преобладает над гликопротеинами. С середины второго месяца гликоген и гликопротеины преимущественно концентрируются в мезенхимных закладках.

2. При трубной имплантации наблюдается замедление развития зародышей, что сопровождается снижением биосинтеза ШИК-положительных веществ за счет недостаточной продукции гликополимеров.

Перспективы дальнейших исследований.

Использование методов гистохимии углеводов и лектинов для изучения характера трансформации углеводных детерминант клеточных мембран и неклеточных тканевых структур дыхательной системы эмбрионов человека, развивавшихся в условиях атипической имплантации в сравнении с нормальным гисто- и органогенезом дыхательной системы может способствовать выработке объективных критериев оценки биологической полноценности органов, формирующихся при трубной беременности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Клишов А. А. Гистогенез и регенерация тканей. – Л.: Медицина, 1984. – 232 с.
2. Луцк А.Д., Деток Е.С. Применение лектинов в светооптической гистохимии (методические аспекты) // Архив анат. – 1987. – Т.92, №6. – С.74-89.
3. Мажуга П.М. Некоторые закономерности клеточной дифференцировки в производных мезенхимы // Дифференцировка клеток в гисто- и органогенезах. – Киев: Наукова думка, 1975. – С.15-19.
4. Сырцов В. К. Морфофункциональные особенности эпителиальных элементов трахеи и бронхов человека и животных в онтогенезе // Актуальные вопросы морфологии: Тезисы докладов III съезда АГЭТ УССР. – Черновцы, 1990. – С. 309.
5. Троценко Б.В., Барсуков Н.П. Особенности межтканевых взаимоотношений в раннем органогенезе человека // Влияние антропогенных факторов на структурные преобразования органов, тканей, клеток человека и животных: Матер. 2-й Всерос. конф.; Саратов, 16-18 сент., 1993 г. – Саратов, 1993. – Ч.4. – С.79.
6. Хэм А., Кормак Д. Гистология. – М.: Мир, 1982. – Т.1, Т.2. – 272 с., 292с.
7. Шаповалова Е. Ю. Ранний гистогенез углеводных компонентов тканей и волокнистого каркаса органов производных экто- и энтодермы у человека // Таврический медико-биологический вестник. – 2001. – Т.4, № 1-2. – С. 171-176.
8. Carlson B.M. Human embryology and developmental biology. – St. Louise: Mosby, 1994. – 185 p.
9. Castells M., Ballesta J., Madrid M. Characterization of glycoconjugates in developing rat respiratory system by means of conventional and lectin histochemistry // Histochemistry. – 1991. – Vol.95. – P.419-426.
10. Moens C.B., Auerback A.B., Conlon R.A. A targeted mutation reveals a role for N-myc in branching morphogenesis in the embryonic mouse lung // Genes Dev. – 1992. – N6. – P.691-704.
11. Salih SM, Taylor HS. HOXA10 gene expression in human fallopian tube and ectopic pregnancy // Am J Obstet Gynecol. – 2004. – V. 190, N 5. – P. 1404-1406.
12. Shannon J.M. Induction of alveolar type II cell differentiation in fetal tracheal epithelium by grafted distal lung mesenchyme // Develop. Biol. – 1994. – Vol.166. – P.600-614.

Надійшла: 16.09.2012 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко