

## ПРИМЕНЕНИЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СТАДИЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ТКАНЕЙ

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

В процессе развития отдельных органов и организма в целом происходят количественные изменения, связанные с ростом клеток, и сменяющие их качественные изменения: детерминация, пролиферация и дифференцировка клеток. Для изучения закономерностей развития с математической точки зрения можно произвести замену каждого изучаемого объекта значениями его свойств, а в общей совокупности объектов — значениями соответствующей им случайной величины. Выражение изменения любого морфологического признака числом или мерой дает возможность применить адекватный задачам исследования математический аппарат для моделирования процесса.

**Цель исследования:** оценить информативность морфометрических методов для выявления стадий дифференцировки тканей на примере развития структур стенки бронха с 11 по 21 сутки эмбриогенеза белой крысы.

### Материалы и методы

В работе использованы срезы легкого 14 плодов белых крыс с 11 по 21 сутки эмбриогенеза из коллекции кафедры гистологии (табл. 1). Плоды фиксированы в 10 % формалине, залиты в парафин после проводки через спирт и хлороформ обычным способом. Изучались срезы толщиной 7–10 мкм, окрашенные гематоксилин-эозином.

Таблица 1

Материал исследования

Возраст плодов, сутки	Кол-во плодов	Кол-во изученных бронхов	Объем выборки	
			Кол-во ядер эпителия	Кол-во ядер мезенхимальных клеток
11	2	6	91	81
13	2	8	104	67
15	2	2	33	17
18	2	13	129	104
19	2	12	176	106
20	2	12	324	98
21	2	6	227	147
ВСЕГО	14	59	1048	620

Проводился морфометрический анализ структур стенки бронхов белой крысы с 11 по 21 сутки эмбриогенеза. В каждом случае измерялись площадь, периметр, максимальный и минимальный диаметр ядер эпителиальных и мезенхимальных клеток, вычислялись логарифм их площади, а также их фактор формы и элонгация. Внутри каждого срока развития для каждой из указанных количественных характеристик рассчитывалась описательная статистика: среднее, стандартное отклонение, стандартная ошибка, и пр. (дисперсия, коэффициент вариации, асимметрия, эксцесс) [1–3, 5].

Мы проанализировали развитие эпителиальной выстилки и соединительной ткани слизистой оболочки бронхов. Взаимодействие эпителиального слоя с прилежащими мезенхимальными клетками является хорошо изученным примером вторичной индукции. Только при непосредственном контакте этих двух эмбриональных структур происходит их своевременное развитие; при изоляции их в эксперименте нарушается дальнейшая дифференцировка и эпителиальных, и мезенхимальных структур [4]. Поэтому морфометрическое изучение обоих зачатков дает полную информацию о периодах дифференцировки.

Изменения размеров ядер в процессе гистогенеза носят закономерный характер и могут служить одним из косвенных критериев дифференциации клеточного материала. Фактор формы и элонгация, описывающие форму ядер, позволяют количественно оценить уплощение респираторного эпителия и ориентировку клеток в клеточных пластах.

Поскольку мы заранее знаем, что в изучаемых клеточных популяциях формируются клетки разных типов с разными значениями количественных характеристик (т. е. крупные и мелкие, округлые и уплощенные), то мы решили анализировать не средние значения указанных характеристик, а графически представить выборку целиком с помощью гистограмм.

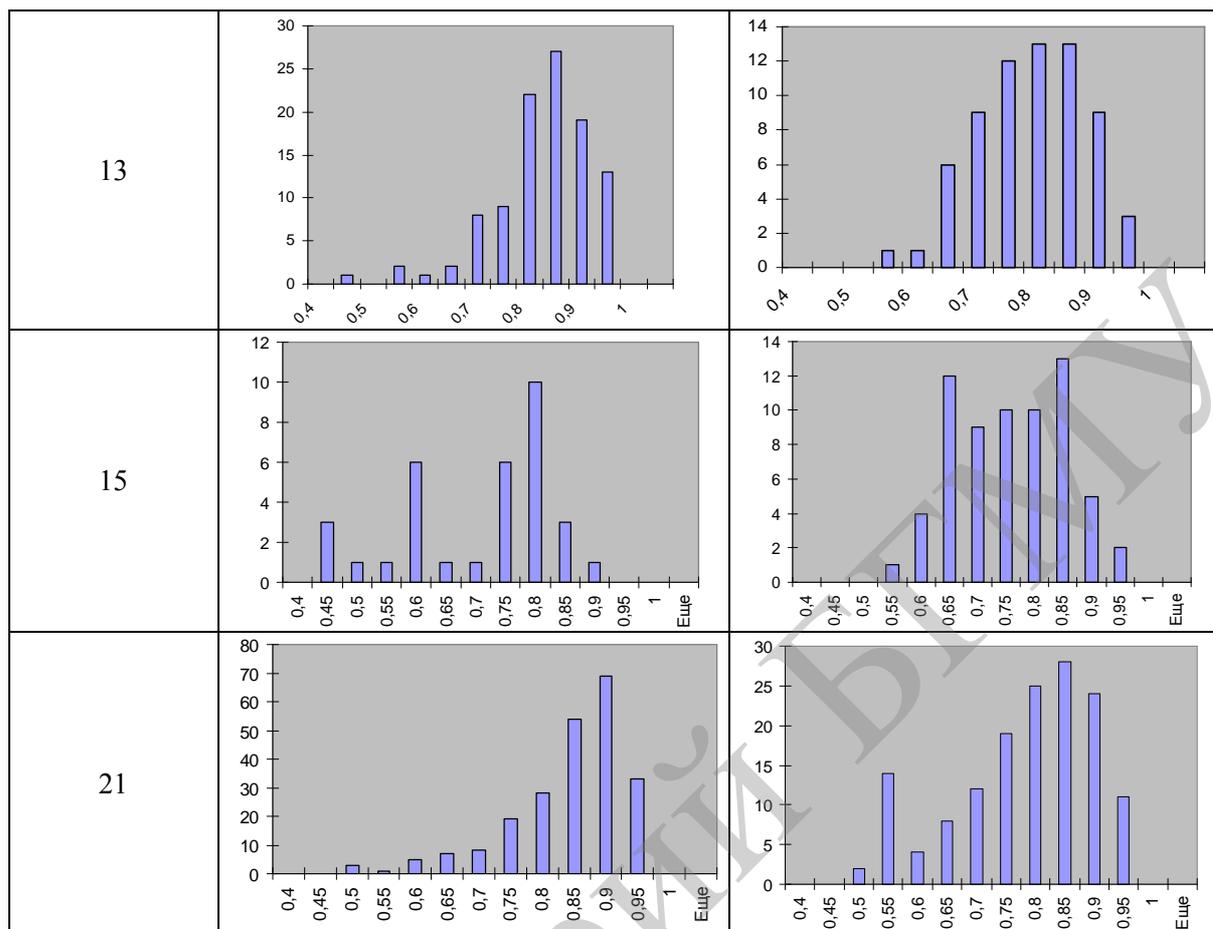
Мы изучили гистограммы распределения ядер эпителиальных и мезенхимальных клеток по всем указанным характеристикам, но наиболее интересной нам показалась динамика изменения формы ядер эпителиальных и мезенхимальных клеток. Изменения фактора формы ядер позволили нам сделать выводы о периодах дифференцировки в процессе развития.

Фактор формы — это показатель отклонения формы проекции ядра от формы круга. Он рассчитывается из соотношения площади ядра и квадрата периметра ( $4\pi S/P^2$ ). Фактор формы изменяется в границах от 0 до 1. Чем более вытянуто ядро, тем меньше значения фактора формы, и наоборот, чем больше проекция ядра напоминает окружность, тем ближе к 1 значение фактора формы.

Таблица 2

**Гистограммы распределения ядер клеток бронхов по фактору формы**  
(по оси абсцисс — значения фактора формы, по оси ординат — количество ядер)

Возраст, сут.	Ядра эпителиоцитов	Ядра мезенхимальных клеток
---------------	--------------------	----------------------------



Для наглядного представления всей выборки на гистограмме по оси абсцисс откладывают интервалы значений фактора формы, а по оси ординат — частоту встречаемости значений из этих интервалов. При анализе фактора формы ядер эпителиальных клеток выясняется (табл. 2), что до 15 сут. эмбриогенеза форма ядер эпителиальных клеток примерно однотипная, наблюдается тенденция к удлинению ядер. С 15 сут. выявляются разные по форме ядра (несколько вершин на гистограмме), что, очевидно, является показателем формирования разных типов эпителиоцитов. Лишь к концу эмбрионального развития гистограмма вновь становится одновершинной, что, видимо, говорит о формировании единого преобладающего эпителиального типа.

В клетках окружающей мезенхимы наблюдаются следующие изменения: до 15 сут. также имеет место одновершинная гистограмма, т. е. клетки мезенхимы достаточно однородны. С 15 сут. появляется группа клеток с более вытянутыми ядрами. Эти две группы клеток сохраняются до конца эмбрионального развития, что, очевидно, свидетельствует о формировании двух популяций: фибробластической и гладкомышечной.

### Результаты и обсуждение

Таким образом, морфометрические методы выявляют не только количественную характеристику динамики структурных изменений, но и устанавливают на их основе качественные изменения, определяя закономерности развития. Так в формировании слизистой оболочки бронхов можно выявить два этапа: до 15

суток, когда и эпителий, и подлежащая мезенхима незрелы и там, очевидно, происходят процессы детерминации. С 15 суток начинается дифференцировка тканей и формирование разных клеточных типов.

### **Выводы:**

1. Морфометрические методы позволяют проводить не только количественную оценку, но и изучать качественные изменения, раскрывая сущность процессов.

2. Использование только одного параметра — фактора формы ядер эпителиоцитов и мезенхимальных клеток слизистой оболочки бронхов — объективно показало наличие двух основных этапов формирования тканевых компонентов: до 15 суток, когда, очевидно, преобладают процессы детерминации и после 15 суток. В этот период начинается дифференцировка тканей и формирование разных клеточных типов.

3. Морфометрические методы доступны, объективны, показательны, что позволяет широко использовать их в медицинских исследованиях.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. *Автандилов, Г. Г.* Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. М. : Медицина, 1990. 384 с.
2. *Вейбель, Э. Р.* Морфометрия легких человека / Э. Р. Вейбель. М. : Медицина, 1970. С. 175.
3. *Гуцол, А. А.* Практическая морфометрия органов и тканей : монография / А. А. Гуцол, Б. В. Кондратьев. Томск : Изд-во Томского ун-та, 1988. 134 с.
4. *Masters, J. R. W.* Epithelial-mesenchymal interaction during lung development: The effect of mesenchymal mass / J. R. W. Masters // *Develop. Biol.* 1976. Vol. 51, № 1. P. 267–277.
5. *Moschopoulos, M.* Morphometric analysis of fetal rat lung development / M. Moschopoulos, P. H. Buirir // *Anat. Rec.* 1993. Vol. 237(1). P. 38–48.