

Е. С. Ковалёва

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ БРОНХОВ БЕЛОЙ КРЫСЫ

*Научные руководители: канд. мед. наук, доц. Н. А. Юзефович,
ст. преп. И. А. Мельников*

*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии,
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

E. S. Kovaleva

MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE EPITHELIUM OF WHITE RAT BRONCHI

*Tutors: Candidate of Medical Sciences, docent N. A. Yuzefovich, senior teacher
I. A. Melnikov*

*Department of Histology, Cytology and Embryology,
Belarusian State Medical University, Minsk*

Резюме. В статье приведены данные морфометрического анализа гистологических препаратов бронхов белой крысы с 18,5 суток эмбриогенеза по 2 сутки постнатального периода. По мере развития органов дыхания эпителий слизистой оболочки бронхов претерпевал ряд изменений. Данные изменения характеризуют процессы дифференцировки клеточного материала в ходе эмбриогенеза, а также адаптацию бронхов к условиям пренатального и постнатального существования.

Ключевые слова: морфометрический анализ, эпителий, бронхи, эмбриогенез.

Resume. The article presents the data of morphometric analysis of histological preparations of bronchi of a white rat from 18.5 days of embryogenesis to 2 days of the postnatal period. As the respiratory system developed, the epithelium of the bronchial mucosa underwent a number of changes. These changes characterize the processes of differentiation of cells during embryogenesis, as well as the adaptation of the bronchi to the conditions of prenatal and postnatal existence.

Keywords: morphometric analysis, epithelium, bronchi, embryogenesis.

Актуальность. Исследование эмбрионального и постэмбрионального гистогенеза на основе качественных и количественных методов анализа морфологического материала позволяет оценить состояние системы, уровень ее организации и интенсивность протекающих в ней процессов.

Данные исследования позволяют изучить процессы нормального развития органов и систем, а также выявить адаптационные преобразования структурных компонентов к изменяющимся условиям существования. Полученные в ходе исследования результаты дают определённую информацию и для понимания патологически изменённого гистогенеза, в основе которого лежат те же механизмы, что и в основе нормального гистогенеза, но они срабатывают по-другому в силу вмешательства особых причин или изменения внешних и внутренних условий [1]. Поэтому возможности управления процессами морфогенеза и профилактики заболеваний находятся в зависимости от уровня познания структурной организации органа (лёгкого) как биологической системы в целом.

Цель: изучить количественные характеристики и установить качественные изменения эпителиальной выстилки слизистой оболочки стенки бронхов белой крысы с 18,5 суток эмбрионального развития до 2 суток постэмбрионального развития.

Задачи:

1. Изучить процесс развития бронхов белой крысы в период с 18,5 суток эмбрионального развития до 2 суток постэмбрионального развития.
2. Провести морфометрический и информационный анализ эпителиальных клеток в слизистой оболочке стенки бронхов белой крысы в период с 18,5 суток эмбрионального развития до 2 суток постэмбрионального развития.
3. Установить качественные изменения эпителиальной выстилки бронхов белой крысы в период с 18,5 суток эмбрионального развития до 2 суток постэмбрионального развития.

Материал и методы. Материалом для исследования послужили гистологические препараты срезов легкого 20 плодов белых крыс из коллекции кафедры гистологии с 18,5 суток эмбриогенеза по 2 сутки постэмбрионального периода. Проводился морфометрический анализ эпителия стенки бронхов белой крысы. В каждом случае измерялись площадь, периметр, максимальный и минимальный диаметр ядер эпителиальных клеток, вычислялись логарифм их площади, а также их фактор формы и элонгация [2, 7]. Методом точечного счета определяли удельную площадь ядер и цитоплазмы эпителия, рассчитывали показатель ядерно-цитоплазматического отношения [3]. Морфометрический анализ проводили с помощью программы ImageJ. Статистический анализ полученных данных проводился с использованием STATISTICA 10.

Результаты и их обсуждение. Источником развития органов дыхания являются прехордальная пластинка и мезенхима. Из прехордальной пластинки формируется эпителий, а мезенхима образует соединительную, хрящевую и гладкую мышечную ткани стенок органов дыхательной системы, кровеносные сосуды.

Лёгкие млекопитающих в течение пренатального развития проходят ряд стадий [4]. Мы изучали развитие бронхиального дерева в эмбриогенезе белой крысы. Данные литературы позволяют составить достаточно полные представления об основных стадиях развития этого органа [4, 8]. В эмбриогенезе легких белой крысы, как и других млекопитающих, выделяют 4 стадии:

1. Стадия закладки (9-12 сутки) - образование закладки лёгкого из вентрального дивертикула передней кишки и окружающей мезенхимы.
2. Псевдожелезистая стадия (13-16 сутки) - формирование воздухопроводящего отдела.
3. Каналикулярная стадия (17-18 сутки) - дифференцировка воздухопроводящих путей и формирование бронхиол и примитивных ацинусов.
4. Саккулярная стадия (19-21 сутки) - образование альвеол.

При проведении световой микроскопии на срезах определялись бронхи, отличающиеся размерами и разной степенью тканевой дифференцировки. В ряде бронхов визуализировалась эпителиальная выстилка с подлежащими недифференцированными клетками мезенхимы (рисунок 1а). Более крупные бронхи отличались наличием в стенке гладких миоцитов (рисунок 1б).

Учитывая разную степень дифференцировки клеточного материала для более детального морфометрического анализа бронхи были разделены на 3 группы (мелкие, средние и крупные) на основании различий в диаметре.

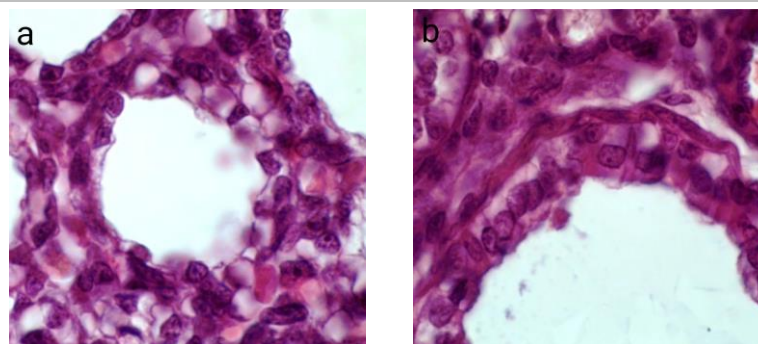


Рис. 1 – Бронхи белой крысы (а – мелкий, b – крупный) на 19,5 сутки эмбриогенеза, ув. 100х

Для дифференцирующихся клеток характерны определённые темпы роста на разных стадиях развития. О степени дифференцировки можно судить на основании изменений величины и формы клеток и их ядер [6].

Нами было проанализировано распределение ядер эпителиоцитов по логарифму площади и фактору формы (рисунок 2). Для наглядного представления всей выборки на гистограмме по оси абсцисс откладывали интервалы значений логарифма площади и фактора формы, а по оси ординат - частоту встречаемости значений в этих интервалах.

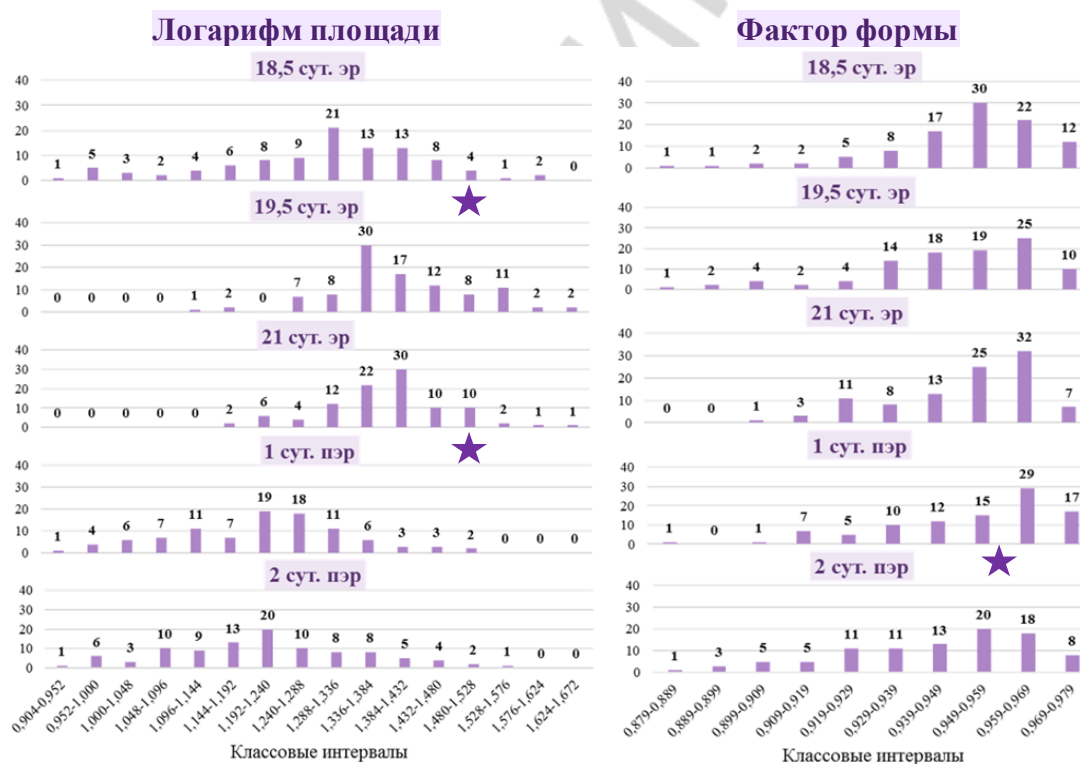


Рис. 2 - Гистограммы распределения ядер клеток бронхов по логарифму площади и фактору формы. ★ - статистически значимая достоверность отличий, $p < 0,05$;
 эр – эмбриональное развитие, пэр – постэмбриональное развитие

При анализе логарифма площади ядер эпителиальных клеток было выявлено, что распределение ядер достоверно меняется с 18,5 суток эмбриогенеза и отражает процессы формирования различных клеточных типов (рисунок 2). Изменение значений площади эпителиальных клеток после 21 суток (рождение) отражает не только

продолжающиеся процессы дифференцировки клеток эпителия, но и переход к новой среде обитания и воздействие на клетки нового фактора среды – воздуха.

Фактор формы - это показатель отклонения формы проекции ядра от формы круга. Чем более вытянуто ядро, тем ближе к 0 значения фактора формы, а чем больше проекция ядра напоминает окружность, тем его значение ближе к 1. В течение развития наблюдается тенденция к появлению большого количества клеток с вытянутыми ядрами, что отражает становление столбчатого типа эпителия. Достоверные отличия в распределении ядер по фактору формы после первых суток постэмбрионального периода, очевидно, свидетельствуют о продолжающихся процессах дифференцировки эпителиоцитов (рисунок 2).

Об уровне дифференцировки клеток также можно судить по изменению ядерно-цитоплазматического соотношения (рисунок 3). При изучении ЯЦО эпителия бронхов было выявлено постепенное увеличение этого показателя в течение эмбрионального периода развития с пиком на 21 сутки эмбриогенеза, что отражает увеличение уровня дифференцировки эпителия к моменту рождения. Колебательный характер изменений ЯЦО после рождения отражает структурно-функциональную перестройку эпителия бронхов при переходе из водной среды в воздушную.

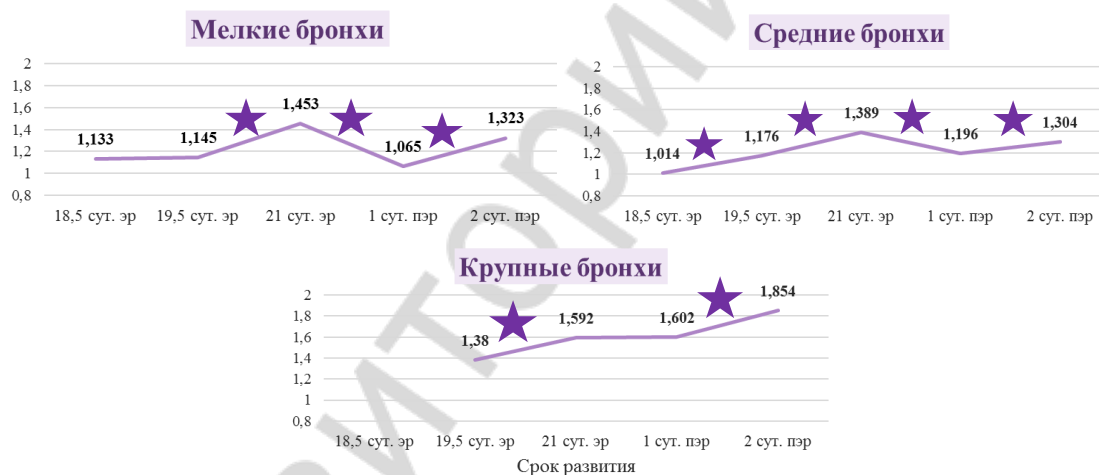


Рис. 3 - Изменение ЯЦО эпителиоцитов. ★ - статистически значимая достоверность отличий, $p < 0,05$; эр – эмбриональное развитие, пэр – постэмбриональное развитие

Информационный анализ является одним из направлений, позволяющих характеризовать сложность организации биологических систем, состоящих из определенного набора элементов [5]. Основными параметрами информационного анализа являются энтропия (H) и избыточность (R). Чем больше неопределённость и неупорядоченность (в биологической системе - уровень её структурной организации), тем выше энтропия (H). Повышение организованности системы, ее упорядочение снижают энтропию. Снижение избыточности (R) является признаком дезорганизации, уменьшения гетерогенности структуры, увеличивается вероятность искажения информации при её передаче; чем выше избыточность, тем надёжнее передача.

На протяжении эмбрионального развития значения энтропии и избыточности имеют колебательный характер с постепенным уменьшением энтропии и увеличением избыточности к 21 суткам (рисунок 4). Это свидетельствует о повышении организованности системы и её упорядочению к моменту рождения.

После рождения наблюдается постепенное увеличение значений энтропии и уменьшение значений избыточности. Это связано с переходом организма в новые условия существования, следствием чего является дестабилизация системы и её дезорганизация с последующей адаптацией к воздушной среде обитания.

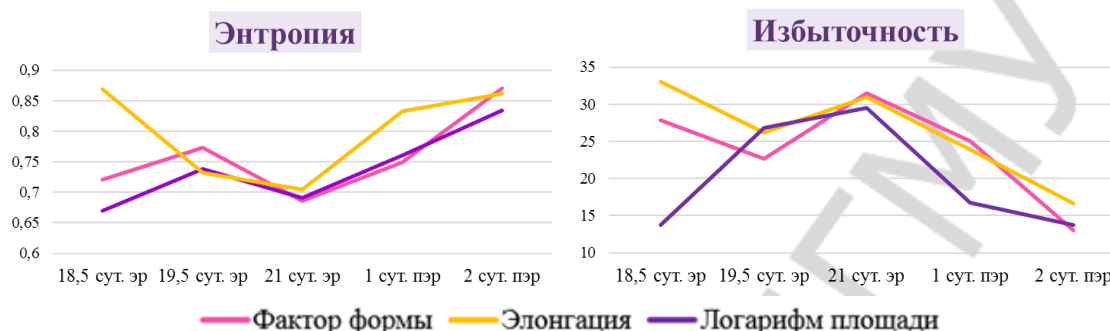


Рис. 4 - Изменение показателей энтропии и избыточности эпителиоцитов

Выводы:

1 Изменение показателей логарифма площади, фактора формы и ядерно-цитоплазматического отношения отражает процессы дифференцировки эпителиоцитов не только на протяжении эмбрионального развития, но и продолжение этих процессов в постэмбриональном периоде.

2 Информационные показатели ядер эпителиальных клеток отражают высокую степень дифференцировки клеточного материала к моменту рождения и структурно-функциональную перестройку эпителиоцитов после рождения при переходе в новую среду обитания.

Литература

1. Брусиловский А.И. Проблемы гисто- и органогенеза и задачи медицинской эмбриологии / А.И. Брусиловский // Актуальные проблемы развития человека и млекопитающих.- Симферополь, 1983.-Том 101, С. 88-89.
2. Гуцол А.А. Практическая морфометрия органов и тканей. Монография / А.А. Гуцол, Б.В. Кондратьев; Томск: Изд-во Томского ун-та, 1988.-134с.
3. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия : рук. / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 382 с.
4. Шишкин Г.С., Соболева А.Д., Валицкая Р.И. Развитие легких в эмбриональном и постнатальном периодах жизни. //Легкое в норме. – Новосибирск, 1975. –с.151-173.
5. Леонтьук А.С., Леонтьук Л.А., Сыкало А.И., Информационный анализ в морфологических исследованиях.- Минск: Наука и техника, 1981. -160 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов-4-е изд., перераб, и доп.- М.: Высшая школа, 1990.-352 с.
7. Moschopoulos M. Morphometric analysis of fetal rat lung development / M. Moschopoulos, P.H. Buirli // Anat. Rec.- 1993.- 237 (1).- С. 38-48
8. Merker H.J. Teratology of the lung. // BGA Schriften. -1986. -N4. –p.567-586.