

МИНСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

СТУДЕНИКИНА Татьяна Михайловна

ЭПИТЕЛИЙ РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ И АМНИОНА  
БЕЛОЙ КРЫСЫ В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МАЛОВОДИИ  
(анатомо-гистологическое и морфометрическое исследование)\o

14.00.23. Гистология, цитология, эмбриология

14.00.02. Анатомия человека

\д Автореферат

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук\o

Минск - 1994

+

Работа выполнена в Минском ордена Трудового Красного  
Знамени государственном медицинском институте.

Научный руководитель - доктор медицинских наук,  
профессор А.С.Леонтьук

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук  
профессор А.П.Амвросьев

доктор медицинских наук  
ведущий научный сотрудник  
И.А.Кириллова

Ведущее учреждение - Витебский государственный  
медицинский институт

Защита состоится 29 ноября 1994 года в \_\_\_ час.  
на заседании специализированного совета К.077.01.04 при  
Минском государственном медицинском институте (220798,  
г.Минск, пр-кт Дзержинского, 83).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке  
Минского медицинского института.

Автореферат разослан " \_\_\_ " \_\_\_\_\_ 1994 года.

Ученый секретарь  
специализированного совета,  
доктор медицинских наук,  
профессор Г.И.Кравцова

+ - 3 -

#### \д ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Проблема формирования органов и систем в динамике морфогенеза продолжает привлекать внимание исследователей и остается актуальной в связи с ее не только теоретическим, но и очевидным прикладным значением, поскольку изменение хода морфогенеза может приводить к различным нарушениям в организме. Изучение процесса развития органов и систем при различных экспериментальных воздействиях и при патологических отклонениях развития могут служить основанием как для углубления представлений о механизмах нормального морфогенеза, так и для раскрытия существа нарушений процессов развития, необходимых для разработки мер по предупреждению нежелательных отклонений в онтогенезе.

Объект нашего исследования - дыхательная система - избран в связи с тем, что пороки органов дыхания являются причиной смерти 4.2% детей, погибших в перинатальном периоде (Т.Е.Ивановская, 1989). Частым пороком является гипоплазия легких, которая представляет собой нарушение ветвления бронхов или недостаточное развитие респираторного отдела. Гипоплазия может быть первичной, но значительно чаще является вторичной, результатом формирования легких в уменьшенной по объему грудной полости и при маловодии (Ю.В.Гулькевич, М.Ю.Маккавеева, Б.И.Никифоров, 1968; Г.И.Лазюк, 1979; Т.Е.Ивановская, 1989). Данные литературы свидетельствуют о том, что маловодие - одна из тяжелых форм нарушения беременности. Оно проявляется дефицитом амниотической жидкости и является существенным повреждающим фактором для развивающихся легких, в частности, их респираторного отдела. Поэтому экспериментальное маловодие использовано в качестве модели, с помощью которой можно изучить нарушенный морфогенез легкого и раскрыть сущность этих нарушений, а с их помощью - попытаться глубже понять процессы нормального морфогенеза легких. Поскольку за секрецию амниотической жидкости ответственен эпителий амниона, то возникла необходимость изучить развитие этого вида эпителия.

Данные литературы о развитии эпителия респираторного отдела легких и амниона белой крысы в норме и при маловодии показывают, что многие стороны его морфогенеза исследованы достаточно

детально. Вместе с тем, работы, в которых оцениваются изменения указанных органов объективными количественными методами, немногочисленны и затрагивают лишь отдельные аспекты проблемы. В частности, отсутствуют количественные морфометрические характеристики эпителия изучаемых органов в динамике их развития в норме и в

+ - 4 -

условиях экспериментального воздействия; не производилась интегральная оценка развития структурной организации клеточных популяций; не изучены корреляционные связи между структурами респираторного отдела легких и амниона в процессе их формирования в норме и при маловодии.

\д Цель исследования: \о установить закономерности пренатального и раннего постнатального морфогенеза эпителия респираторного отдела легких и амниона белой крысы в норме и при экспериментальном маловодии.

\д Задачи исследования:\о

1. Изучить качественную и количественную динамику эпителия респираторного отдела легких и амниона в течение пренатального и раннего постнатального периода развития белой крысы в норме.

2. Выявить качественные и количественные изменения эпителия респираторного отдела легких и амниона при экспериментальном маловодии.

3. Определить по морфометрическим характеристикам корреляционные взаимоотношения между эпителием респираторного отдела легких и амниона в процессе развития у интактных и экспериментальных плодов.

\д Научная новизна работы: \о впервые комплексно с использованием количественного анализа установлены онтогенетические закономерности формирования респираторного отдела легких и амниона как целостных биологических систем; получены морфометрические параметры эпителия респираторного отдела легких и амниона в норме и в условиях экспериментального воздействия на развивающийся зародыш. Выявлены корреляционные взаимосвязи между эпителием респираторного отдела легких и амниона в норме и при маловодии. Проведено математическое моделирование развития респираторного отдела легких.

\д Научно-практическая значимость\о работы заключается в том, что методические приемы, апробированные при выполнении данного комплексного исследования могут иметь значение при проведении исследований морфогенеза других органов и систем различными специалистами, при изучении патологии дыхательной системы. Сведения об эмбриональном развитии респираторного отдела легких и амниона могут найти свое место в курсах гистологии и эмбриологии в медицинских ВУЗах и на биологических факультетах. Эти показатели могут быть использованы в качестве нормативных при анализе экспериментального материала. Ряд количественных показателей дифференцировки клеточных популяций может быть использован для определения

+ - 5 -

возраста плодов и скрининга эмбрионального материала с целью выявления нарушений развития.

\д На защиту выносятся следующие положения:\о

1. В процессе развития эпителия респираторного отдела легких и амниона обнаружены изменения организации клеточных популяций, отражающие чередование процессов роста и дифференцировки - ритм морфогенеза.

2. Зависимость между дифференциацией эпителия респираторного отдела легких и амниона и динамикой их морфометрических характери-

стик позволяет рассматривать последние в качестве количественного эквивалента морфологических признаков дифференцировки эпителия на различных этапах онтогенеза.

3. При экспериментальном маловодии в респираторном отделе легких и амнионе происходят изменения, выявляемые на суборганном и клеточном уровнях их структурной организации. Изменения в респираторном отделе легких определяются как задержка развития на более ранних стадиях.

4. В развитии эпителия респираторного отдела легких и эпителия амниона устанавливаются достоверные корреляционные связи между количественными характеристиками указанных видов эпителия, характер которых изменяется как в процессе развития, так и в условиях эксперимента.

∩д Апробация работы.∩о Результаты проведенных исследований доложены на II съезде анатомов, гистологов и эмбриологов Белоруссии (Минск, ноябрь 1991), на заседании кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии МГМИ (июнь 1994), на заседании Минского НО АГЭ (сентябрь 1994).

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 6 работ, в которых изложены основные положения выполненного исследования.

Объем и структура диссертации. Текст диссертации изложен на 170 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, выводов и списка литературы, включающего 281 источник (171 на русском и 110 на иностранных языках). В работе содержится 30 таблиц и 77 рисунков.

∩д Материал и методы исследования.∩о В работе использовались эмбриологический, экспериментальный, гистологический, гистохимический и морфометрический методы. Работа выполнялась на белых крысах. Исследованы легкие и амниотические оболочки плодов беспородных белых крыс в сроки беременности от 18 до 22 суток, новорожденных крысят, крысят первой недели жизни (1-х, 3-х суток).

+ - 6 -

Всего в работе использовано 170 зародышей и новорожденных крысят, из них 15 серий из коллекции кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии МГМИ.

Суть эксперимента заключалась в создании острого маловодия по методу, описанному K.G.Blachford, W.M.Thurlbeck (1987). Самки беспородных белых крыс подсаживались на ночь к самцам (с 17ч. вечера до 9ч. утра следующего дня). За первый день беременности принимался день, утром которого обнаруживались сперматозоиды во влагалищном мазке. Кроме того, при определении возраста плодов учитывалась их теменно-копчиковая длина и качественные признаки, приведенные в эмбриологических руководствах и сводках (Я.М. Кабак, 1968; Объекты биологии развития, под ред. Б.Л. Астаурова, 1975).

Оперативное вмешательство осуществлялось на 16 сутки беременности под нембуталовым наркозом в дозе 40 мг/кг (Ю.И. Складнов и др., 1987), до начала формирования альвеолярных отделов легкого плода (19 сут.). Амнион пунктировали у каждого плода левого рога матки на ее антимезометральной стороне. Извлекали 0.4-0.5 мл амниотической жидкости, что составило приблизительно 70% объема всех околоплодных вод (О.С. Шубина, 1991).

В качестве контроля использовались плоды правого интактного рога матки, а также плоды тех крыс, которые были подвергнуты лапаротомии без аспирации амниотической жидкости из плодных пузырей. Для изучения легких крысят первых дней жизни амниотическая жидкость извлекалась из плодных пузырей обоих рогов матки, и все

новорожденные являлись опытными. Для изучения легких интактных плодов беспородной белой крысы была использована коллекция серий срезов плодов крысы кафедры гистологии и эмбриологии МГМИ. Для подготовки этой коллекции плоды фиксировались и обрабатывались целиком. При изучении легких контрольных и интактных плодов достоверных различий не обнаружено.

На 18-22 сутки беременности осуществляли забор материала в период с 9 до 11 часов утра, чтобы исключить возможные колебания морфометрических параметров в связи с суточной ритмикой. Интактные и опытные плоды извлекались. Иногда они фиксировались и обрабатывались в околоплодных оболочках, чаще - отдельно легкие и амнион.

Легкие фиксировали в 10% нейтральном формалине и жидкости Буэна. Материал заливали в парафин после проводки через хлороформ. Из отдельных блоков легких готовились серии срезов толщиной 5-7 мкм. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином, орсеином, методом "азан" по Гейденгайну, проводилась ШИК-реакция.

+ - 7 -

Для получения препаратов амниона использовалось несколько способов. Чашки Петри заливались парафином. На застывший парафин наливалась жидкость Буэна. В ней расплавлялись околоплодные оболочки и прикалывались к парафину с помощью тонких игл. После фиксации вырезались участки оболочек, которые затем обрабатывались обычным способом и заливались в парафин. Кроме того, околоплодные оболочки накручивались на заранее приготовленные парафиновые палочки и в таком состоянии фиксировались в жидкости Буэна и заливались в парафин. Амнион изучался также у плодов, обработанных целиком, в оболочках и с плацентой. Во всех этих случаях готовились серии срезов толщиной 5-7 мкм. Изучались также плоскостные препараты амниона. Морфометрическое исследование амниона проводилось только на плоскостных препаратах.

При изучении морфогенеза легких и амниона как в норме, так и в эксперименте использованы методы морфометрии. На 64 зародышах измерены: высота эпителия и толщина стенок бронхиол, толщина межальвеолярных перегородок, относительный объем структурных компонентов легкого, удельная площадь поверхности альвеол, проведена цито- и кариометрия эпителия бронхиол, альвеол, амниона.

Относительный объем структурных компонентов легкого определялся методом точечного счета А.А.Глаголева (1931), а удельная площадь альвеол - по методу, описанному Г.Г.Автандиловым (1981). Высота эпителия и толщина стенок бронхиол, толщина межальвеолярных перегородок измерялись с помощью линейки окуляр-микрометра при увеличении 7x40. Для характеристики структуры клеточных популяций развивающегося эпителия проведено цито- и кариометрическое исследование по методу Хватова Б.П. (1932) с помощью рисовального аппарата РА-7 при увеличении в 2570 раз. В каждом случае производилась зарисовка по 100 клеток и ядер, что считается достаточным для получения достоверных результатов (Хесин Я.Е., 1967; Губин Г.Д., Герловин Е.Ш., 1980; Ташкэ К., 1980 и др.). Таким образом, зарисовано и измерено по 16800 клеток и ядер различных видов эпителия в 168 выборках.

Математическая обработка цифрового материала, сгруппированного по возрастным группам (сутки) проведена на ПЭВМ ЕС 1863 с использованием оригинальных программ, разработанных на кафедре гистологии и эмбриологии Минского медицинского института И.А.Мельниковым (1991, 1993). Рассчитаны площади (S) поперечных сечений клеток и ядер, их элонгация (EL), ядерно-цитоплазматическое отно-

шение (ЯЦО), статистические, гистограммные параметры, величины

+ - 8 -

прироста (W); достоверность различий оценивалась непараметрическими критериями Ван-дер-Вардена и Манна-Уитни. Для интегральной характеристики клеточных популяций проведены расчеты информационных параметров: энтропии, избыточности (В.А.Бандарин, 1968,1972; А.С.Леонтьев, 1971-1990). Получены гистограммы распределения эпителиоцитов по различным параметрам. Достоверность различий распределений оценивалась по критерию Колмогорова-Смирнова (И.Ликеш, Й.Ляга, 1985). Для выявления связей между изучаемыми параметрами рассчитаны коэффициенты парной корреляции, по которым вычисляли показатели интеграции (ПИ), характеризующие интегрированность элементов в системе (П.В.Терентьев, 1959; Л.В.Гербицкий, 1978,1980; Б.А. Слукa, 1991,1993). Материалы количественного анализа представлены в сводных таблицах, графиках и диаграммах.

#### \д РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.\o

Развивающееся легкое млекопитающих в течение эмбриогенеза проходит ряд стадий: эмбриональная (образование закладки легкого из вентрального дивертикула передней кишки и окружающей мезенхимы), псевдоглангулярная (формирование воздухопроводящих путей), каналикулярная (дифференцировка воздухопроводящих путей и формирование бронхиол) и сакулярная (образование альвеол).

Изучение морфологии легкого белой крысы подтвердило данные ряда исследователей (P.M.Farrell,1977;J.E.Malloney,1978;B.T.Smith, 1979; L.S.Inselman,R.V. Mellins, 1981 и др.) о том, что формирование респираторного отдела легких начинается на 18 сутки беременности, а сакулярная стадия - на 20 сутки развития. На 18-19 сутки гестации респираторный отдел легкого представлен бронхиолами, выстланными высоким кубическим эпителием. С 20 суток в легком появляются первые альвеолы; вначале полости их высланы клетками с округлыми ядрами, к моменту рождения - преимущественно плоским эпителием с тонкими палочковидными ядрами. С началом дыхания заметно уплощается эпителий, выстилающий бронхиолы и альвеолы, истончаются межальвеолярные перегородки. Экспериментальное маловодие не изменяет сроки наступления отдельных стадий. В целом, качественные отличия между нормальными и экспериментальными легкими выявляются на 20 сутки пренатального развития (в экспериментальном легком меньше альвеол, встречаются поля зрения, где их вообще нет) и в первые часы постнатального (в легком опытных животных не все участки одинаково хорошо расправляются, мно-

+ - 9 -

го мелких альвеол). Поскольку эти отличия обнаруживаются очагово, локально, то для более объективной оценки необходимы морфометрические исследования.

В норме для респираторного отдела легких период с 18 до 22 суток внутриутробного развития является, в основном, периодом увеличения количества его структур и их размеров. С началом функционирования легкого интенсивность роста его структур снижается. В условиях маловодия характер морфогенеза респираторного отдела изменяется. Это изменение можно определить как задержку развития на более ранних стадиях, что подтверждается следующими фактами:

- достоверно более низкие значения относительного объема респираторного отдела легких в условиях опыта (Табл.1);
- более высокие темпы роста относительного объема респираторного

отдела легких при маловодии до рождения, как проявление компенсаторной реакции и тенденции системы выйти на уровень, соответствующий данному возрастному периоду;  
 - снижение темпов с началом функционирования органа по сравнению с нормой после рождения.

\д Таблица 1. ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ ОБЪЕМ СТРУКТУР ЛЕГКОГО (%). \о \1.1 \12

В НОРМЕ		ПРИ МАЛОВОДИИ	
РЕСПИРАТОРНЫЙ	ОТДЕЛ БРОНХИ	РЕСПИРАТОРНЫЙ	ОТДЕЛ БРОНХИ
альвеолы	целом	альвеолы	целом
18	10v2   29v3	29v3 -   58v3	1.4v0.6   9v1   20v2 20v2 -   69v3   1.1v0.7
19	12v2   36v3	36v3 -   49v3	1.8v0.6   6v1   27v3 27v3 -   64v3   1.8v0.9
20	12v2   13v2	43v2 29v3   42v3	2.0v0.6   10v2   15v2 32v3 17v2   53v3   1.9v0.9
21	8v2   12v2	50v3 37v3   39v3	1.9v0.6   8v2   15v2 39v3 23v3   51v3   1.2v0.7
22	5v1   6v1	54v3 48v3   39v3	1.0v0.4   7v1   6v1 43v3 35v3   48v3   1.2v0.6
н/р	1.3v0.9   3v1	61v3 58v3   36v3	1.0v0.4   2.3v0.9   3v1 49v3 45v3   47v3   1.0v0.5
1	1.0v0.5   3v1	61v3 57v3   37v3	1.1v0.5   3.6v0.9   3v1 51v3 48v3   43v3   1.0v0.4
3	1.5v0.5   4v1	69v3 67v3   28v3	1.6v0.5   1.9v0.6   4v1 54v3 53v3   43v3   1.0v0.4

Изучение динамики информационных характеристик структур легкого по их относительному объему (Табл.2) показало, что достижение критического состояния системы в эксперименте отстает на сутки, что свидетельствует о запаздывании процессов дифференцировки. Регрессионный анализ зависимости изменений относительного объема респираторного отдела легких от времени позволил получить модель развития этой части органа, которая свидетельствует о том, что после рождения в норме после непродолжительного периода дифферен-

- 10 -  
 цировки начинается следующий период роста, в то время как в эксперименте для завершения дифференцировки и перехода к соответствующей фазе роста необходимо более длительное время. Эти факты подтверждают:  
 - запаздывание начала дифференцировки органа при маловодии во внутриутробном периоде;  
 - удлинение периода дифференцировки легкого после рождения в условиях эксперимента как отражение ее недостаточности в пренатальный период.

\д \12 Таблица 2. ИНФОРМАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СТРУКТУР ЛЕГКОГО Таблица 3. УДЕЛЬНАЯ ПЛОЩАДЬ АЛЬВЕОЛ \о \1.1

В НОРМЕ		ПРИ МАЛОВОДИИ	
Н, бит	R, %	Н, бит	R, %
Уд.пло	Диспер	Уд.пло	Диспер
18	1.4614   37.06	1.1275   51.44	к   щадь   сия   щадь   сия
19	1.5631   32.68	1.2116   47.82	к   щадь   сия   щадь   сия
20	1.9634   15.44	1.5308   34.07	20   23v7   222.28   20v8   275.09
21	1.8428   20.63	1.7252   25.70	21   36v7   221.68   29v8   294.43
22	1.6349   29.59	1.5633   32.67	22   49v8   268.31   43v9   344.63
н/р	1.2857   44.63	1.3449   42.08	н/р   45v8   289.83   41v7   244.37

1	1.2738	45.14	1.4403	37.97	1	40v8	280.53	45v8	310.47
3	1.1656	49.80	1.2329	46.90	3	42v8	260.14	47v9	343.61
L-----+-----+-----+----- L-----+-----+-----+----- \1.5 \10									

Анализ динамики удельной площади альвеол в норме и в условиях маловодия показал (Табл.3), что до рождения происходит увеличение количества альвеол, причем в эксперименте ни значения средних, ни темпы увеличения удельной площади альвеол достоверно не отличаются от нормальных значений. С началом функционирования органа в легком интактных плодов увеличение размеров альвеол преобладает над увеличением их количества в течение первых суток жизни. В последующие двое суток этот показатель достоверно не меняется, что, видимо, свидетельствует об установлении определенного равновесия между процессами расширения и новообразования альвеол с незначительным преобладанием последнего. В экспериментальном легком увеличение размеров альвеол преобладает над их новообразованием только сразу после рождения; значит, в экспериментальном легком после рождения преобладают альвеолы более мелких размеров, и процесс дыхания не влияет на их удельную площадь; это может служить критерием незавершенности дифференцировки легкого у экспериментальных животных к моменту рождения. Сравнение диспер-

- 11 -

сий удельной площади альвеол в норме и при маловодии (Табл.3) показало, что на 3 сутки жизни дисперсия отклонений удельной площади альвеол от средней величины достоверно выше в условиях эксперимента. Это является признаком того, что размеры альвеол в опыте весьма неоднородны: мелкие альвеолы чередуются с зонами, где есть участки расширенных альвеол; очевидно, соединительная ткань, как каркас, не дает альвеолам расправляться в одних участках, тогда как в других, где межальвеолярные перегородки тоньше, альвеолы компенсаторно расширяются.

Изучение клеточных популяций эпителия респираторного отдела легких (Табл.4) и их организации позволило выявить колебательный характер их изменений, что является проявлением общебиологической закономерности нарастания разнообразия в развивающейся биологической системе. В ходе нормального морфогенеза можно выявить периоды наиболее значительных количественных преобразований, во время которых происходят существенные изменения характеристик клеточных популяций: это 19 суток внутри- и 1 сутки внеутробного развития. На 19 сутки гестации в организме плода белой крысы происходит выброс глюкокортикоидов (В.И.Алтухова, Л.В.Кузнецова, 1966; А.А.Артишевский, 1977; М.С.Мицкевич, 1978), которые способствуют созреванию легкого (Р.М.Фарелл, 1977; Л.Екелунд, 1979; Л.Хитчкок, 1979). Кроме того, в это же время рассасывается гортанная пробка (Р.М.Петрова, 1963; Б.А.Слука, 1972; П.И.Лобко, Р.М.Петрова, Е.Н.Чайка, 1983), в легкие проникает амниотическая жидкость, и между эпителием респираторного отдела легких и амниотической жидкостью, а через ее посредство - и эпителием амниона - возникают взаимосвязи. Очевидно, эти факторы и приводят к существенным изменениям в эпителии респираторного отдела легких. С 19 сутками, в отличие от других сроков в позднем пренатальном периоде, зачастую связаны существенные колебания количественных параметров эпителия, характеризующих как усредненные значения размеров и формы эпителиоцитов, так и организацию клеточных популяций, активность корреляций. 1 сутки жизни являются критическим периодом для всего организма, но для легкого - в особенности, поскольку до этого орган, по сути, не функционировал. Существенные изменения в организации



системы происходят в связи с началом дефинитивной функции.

Так, на 19 сутки пре- и в 1 сутки постнатального развития отмечается достоверное снижение площади клеток и ядер бронхиолярного эпителия (Табл.4). Поскольку 19 сутки - это начало альвеолизации легкого, то новообразующийся эпителий части наиболее дис-

+ - 12 -

тально расположенных бронхиол не достигает размеров материнских клеток, а существенное уменьшение размеров клеток и ядер бронхиол в первые сутки жизни связано с активной альвеолизацией в связи с началом дефинитивной функции.

Таблица 4. ЗНАЧЕНИЯ ПЛОЩАДИ (кв.мкм) И ЭЛОНГАЦИИ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ОТДЕЛА ЛЕГКИХ В НОРМЕ (n) И ПРИ МАЛОВОДИИ (ex). \o \1.1 \12

		БРОНХИОЛЫ				АЛЬВЕОЛЫ			
Возраст, сут.	n	ex	элонгация		площадь		элонгация		n
			n	ex	n	ex	n	ex	
18	46v5	46v5	1.7	v0.1	1.5	v0.1	-	-	-
19	46v3	50v4	1.7	v0.1	1.7	v0.1	-	-	-
20	38v3	50v4	1.47	v0.09	1.7	v0.1	25v2	28v2	1.47
21	40v3	51v5	1.58	v0.09	1.7	v0.1	30v2	29v2	1.4
22	53v5	53v4	1.5	v0.1	1.6	v0.1	30v2	26v2	1.42
н/р	34v3	41v3	1.5	v0.1	1.5	v0.1	19v1	19v1	1.44
1	29v2	55v5	1.6	v0.1	1.5	v0.1	17v1	24v2	1.45
3	33v2	47v3	1.4	v0.1	1.4	v0.1	18v1	23v2	1.46

Элонгация клетки и ее ядра является важным параметром с той точки зрения, что форма эпителиальной клетки определяется ее положением в клеточном пласте. Изменение кривизны клеточного пласта, его деформация представляет собой достаточное важное морфогенетическое событие (В.М.Маресин, Е.В.Преснов, 1985; В.М.Маресин, 1990), которое можно зафиксировать именно по изменению элонгации клеток и их ядер.

Так, при развитии эпителия респираторного отдела легких, как и при развитии любого клеточного пласта, происходят изменения, влияющие на форму и расположение клеток: пролиферация клеток, встраивание их в толщу пласта; а в связи с этим - деформация целого пласта за счет взаимного латерального механического давления (Л.В.Белоусов, 1987).

Достоверное уменьшение элонгации клеток также происходит в течение 19 суток гестации. В этот период резорбируется гортанная пробка, в легкие проникает амниотическая жидкость, и растяжение клеточного пласта происходит под влиянием внутрисполостного давления - не только легочной, но и амниотической жидкости. С началом дыхания на эпителиальный пласт перестает действовать легочная жидкость и околоплодные воды, и начинает оказывать растягивающее влияние новый фактор - воздух. Это также приводит к соответствующим

+ - 13 -

перестройке пласта и достоверному изменению элонгации эпителиоцитов бронхиол и альвеол.

В условиях маловодия характер развития клеточных популяций меняется. Прежде всего, не наблюдается существенных изменений в эпителии респираторного отдела на 19 сутки внутриутробного разви-

тия (Табл.4), что можно объяснить, видимо, недостаточным влиянием амниотической жидкости из-за ее уменьшенного объема. Так, не отмечается достоверных изменений площади сечения клеток и ядер эпителия бронхиол, хотя на 1 сутки жизни - сохраняются. В условиях маловодия в связи с уменьшенным внутриполостным давлением амниотической жидкости морфогенез пласта эпителия респираторного отдела легких изменяется: не наблюдается уплощения бронхиолярного эпителия на 19 сутки гестации, изменения формы клеток и ядер эпителия респираторного отдела в течение первых суток жизни изменяются значительно слабее, чем в норме.

Вместе с тем, обращает на себя внимание изменение организации системы на протяжении всего периода наблюдения: в условиях эксперимента клеточные популяции выявляют, как правило, большую неорганизованность в системе, тенденции изменений информационных характеристик в эксперименте более непостоянны, чем в норме, что свидетельствует о нарушении стабильности клеточных популяций и, как следствие, запаздывание дифференцировки.

При анализе количественных характеристик эпителия респираторного отдела можно предположить наличие определенной зависимости между дифференциацией и изменением ряда параметров. Так, в норме в период с 18-х по 22-е сутки пренатального развития отмечается тенденция к увеличению площади клеток, после рождения в первые 3 суток - к уменьшению (Табл.4). В условиях эксперимента отмечаются иные по сравнению с нормой и темпы роста, и направление изменений, и сроки этих изменений. Очевидно, что изменения размеров клеток и ядер респираторного эпителия связаны с иным характером их дифференцировки.

При изучении ЯЦО эпителия бронхиол в норме выявляется постепенное уменьшение этого показателя в течение пренатального периода и колебательный характер изменений после рождения, что является свидетельством повышения уровня специализации клетки до рождения и, видимо, нестабильности метаболических процессов после. В эксперименте динамика ЯЦО отличается большей стабильностью по сравнению с нормой, и в целом, более высокими значениями. Значения ЯЦО для альвеолоцитов также носят колебательный характер, но

+ - 14 -

в норме - с тенденцией к увеличению, в опыте - к уменьшению, причем до рождения значения ЯЦО в эксперименте выше, а после рождения - ниже контрольных.

При обработке количественных характеристик эпителия респираторного отдела легких методом корреляционных плеяд установлено, что периоды высокой корреляции цито- и кариометрических характеристик эпителия сменяются периодами обеднения корреляционных связей между изученными характеристиками.

Так, на 18 сутки эмбриогенеза для цито- и кариометрических характеристик бронхиол определяется 21 достоверная корреляция, их число резко снижается на 19 сутки (достоверных корреляций - 10) и вновь возрастает к 20 суткам (42), когда в системе уже появились альвеолы; и к этому моменту наблюдения - 20 сутки - количество взаимосвязей между цито- и кариометрическими характеристиками эпителия альвеол достаточно высоко. Вместе с появлением альвеол формируются и межструктурные корреляции - связи между количественными характеристиками эпителия бронхиол и альвеол. 21 сутки гестации отличаются максимальным количеством взаимосвязей как внутри каждой структуры, так и между ними (всего - 92). На 22 сутки эмбрионального развития коррелируемость цито- и кариометри-

ческих характеристик снижается (до 100 достоверных корреляций). За наблюдаемый период с 18 по 22 сутки пренатального периода обнаруживаются и другие закономерности в структуре корреляционных связей: внутрискелетные связи, в основном, положительны, а межструктурные - отрицательны. Особенностью межструктурных связей является также и то, что различные морфометрические параметры бронхиолярного эпителия наиболее постоянно взаимодействуют с характеристиками, отражающими форму альвеолоцитов и их ядер. После рождения, особенно в течение 1 суток жизни, элонгация альвеолоцитов становится, по существу, единственным параметром, который включен в систему межструктурных корреляций. К концу наблюдения отмечается усиление интегративных процессов в системе: по сравнению с 22 сутками гестации увеличивается количество и внутри- и межструктурных связей, но направленность их изменяется: среди внутрискелетных корреляций становится больше отрицательных, а морфометрические параметры бронхиол и альвеол связаны между собой, в основном, положительными корреляциями.

Таким образом, в норме система корреляционных связей на 21 сутки имеет максимальное количество взаимосвязей между отдельными параметрами, после чего отмечается их уменьшение, что отра-

+ - 15 -

жает адаптацию системы и автономизацию ее элементов (Б.А.Слука, 1989). Переход к новой среде обитания первоначально вызывает в системе уменьшение связей, а затем их нарастание. Очевидно, в дальнейшем в связи с дифференцировкой клеточных элементов следует вновь ожидать уменьшение количества связей. В то же время, система корреляционных связей органа в условиях эксперимента существенно отличается. Прежде всего, стабильность системы в течение 18-19 суток (в течение 2 суток - 18 достоверных корреляций) позволяет предположить развитие адаптивных процессов в респираторном отделе в условиях маловодия. Вместе с тем, эта адаптация не может вывести систему на нормальный уровень, т.к. максимальная интеграция ее параметров отмечается на 22 сутки (42 достоверные взаимосвязи), т.е. на сутки позже по сравнению с нормой. Кроме того, отмечается перегруппировка корреляционных связей: основную роль в межструктурных взаимодействиях играют положительные корреляции между размерами клеток и ядер эпителия бронхиол и альвеол, а не между их формой, как в норме; такие связи появляются в условиях эксперимента только к 3 суткам жизни. Практически полное "разрушение" меж- и нарастание внутрискелетных связей в первые сутки жизни при маловодии можно определить как стрессорное состояние. Появляющиеся межструктурные связи нестойки, к концу наблюдения отмечается уменьшенное по сравнению с нормой число достоверных корреляций (в норме - 59, при маловодии - 30).

Если изучить взаимосвязи в органе за весь период наблюдения в целом с использованием количественных характеристик респираторного отдела и суборганного, и клеточного уровня, и их информационных показателей, то в условиях эксперимента система характеризуется снижением числа достоверных связей (в норме - 68, в эксперименте - 56) с дезинтеграцией более сложных корреляций (между информационными показателями и коэффициентами вариации) и интеграцией более простых, надежных (между средними значениями различных параметров) по сравнению с нормой, ослаблением взаимодействий между признаками на клеточном уровне.

Амнион белой крысы представлен однослойным плоским эпителием с тонкой прослойкой подлежащей соединительной ткани. На поперечных

срезах в эпителиоцитах обнаруживаются уплощенные палочковидные ядра, расположенные в центре клетки. На пленочных препаратах форма и величина клеток различны и непостоянны. В целом, эпителиоциты крупные, полигональные с прямолинейными границами. Ядра круглые или овальные с ровными контурами, содержат 2-4 ядрышка. Ка-

+ - 16 -

риоплазма имеет диффузное гранулярное строение. В связи с различной специализацией в амнионе выделяют две зоны: плацентарную, секретирующую амниотическую жидкость, и экстраплацентарную, ответственную за резорбцию околоплодных вод (О.С.Шубина, Н.В.Донских, Р.Е.Киселева, 1983).

Изучение эпителия амниона экстраплацентарной и плацентарной зон за период с 18 по 22 сутки беременности в норме показало, что существенных изменений структуры эпителиоцитов не происходит. Не обнаружено также заметных отличий эпителия амниона в норме и в условиях маловодия. Вместе с тем, при определении размеров клеток и ядер амниотического эпителия обнаруживается, что в норме в период с 18 суток и до рождения происходит возрастание площади эпителиоцитов экстраплацентарного и плацентарного амниона (Табл.5). По данным О.С.Шубиной (1991) с 20 суток беременности начинается уменьшение количества околоплодных вод в амниотической полости. Исходя из полученных данных количественного анализа, можно предположить, что такое снижение объема амниотической жидкости связано с преобладанием резорбционных процессов над секреторными, а не со снижением секреции.

В условиях маловодия отмечаются изменения размеров эпителиоцитов амниона. Если на 19 сутки площадь эпителиоцитов экстраплацентарного амниона достоверно не отличалась от нормальных значений, то к 21 суткам выявляется значительное уменьшение размеров клеток (Табл.5). Напротив, площадь эпителиоцитов плацентарного отдела амниона, достоверно выше значений нормы уже на 19 сутки, а к 21 суткам эти различия исчезают. Можно полагать, что к третьим суткам после вмешательства в эпителии амниона развиваются адаптивные изменения, которые заключаются в повышенной секреции амниотической жидкости, но к 21 суткам этот механизм истощается и нормальный уровень амниотической жидкости поддерживается за счет снижения резорбционных процессов.

В процессе развития между эпителием респираторного отдела и эпителием амниона устанавливаются корреляционные связи, отражающие взаимодействия и взаимовлияния этих видов эпителия. Маловодие существенно изменяет характер корреляций, отражая адаптивные свойства эпителиев изученных органов в условиях эксперимента. При рассмотрении системы в целом, т.е. корреляций между кариометрическими характеристиками эпителия бронхиол, альвеол, плацентарного и экстраплацентарного амниона, обращает на себя внимание уменьшение количества корреляционных связей в период с 18 по 20

+ - 17 -

сутки (60 на 18 сутки развития, и 13 - на 20 сутки), к началу 21 суток резкая активизация взаимосвязей (до 50 достоверных корреляций) с последующим уменьшением количества корреляций к моменту рождения (34). В условиях эксперимента отмечается обратная динамика: уменьшение количества корреляций с 19 по 21 сутки (с 40 до 27 достоверных взаимосвязей), причем количество связей на 19 сутки выше, а на 21 сутки ниже по сравнению с контролем.



лом дыхания, удлинении периода дифференцировки органа после рождения.

6. Экспериментально созданное маловодие изменяет характер развития и организации клеточных популяций респираторного отдела легких: в отличие от нормы отсутствуют заметные количественные преобразования в течение 19 суток гестации, максимальное число достоверных корреляционных связей между морфометрическими характеристиками данного вида эпителия отмечается на сутки позже, значения информационной энтропии выше, а ее динамика более нестабильна по сравнению с нормой.

7. Изменения в респираторном отделе легких в условиях экспериментального маловодия выражаются в задержке развития на более ранних стадиях, поскольку отмечаются достоверно более низкие значения относительного объема респираторного отдела, замедление темпов его роста с началом дыхания, а максимальное значение энтропии структурных компонентов легкого и максимальное количество достоверных корреляций между количественными характеристиками эпителия бронхиол и альвеол достигается на сутки позже по сравнению с нормой.

+ - 19 -

8. Экспериментальное маловодие вызывает вначале усиление секреторной, а затем - резорбционной активности эпителия амниона, что подтверждается увеличением размеров эпителиоцитов плацентарного амниона через трое суток от начала эксперимента и уменьшением размеров эпителиоцитов экстраплацентарного амниона к концу беременности и может рассматриваться как результат адаптации.

9. В условиях экспериментального маловодия изменяется характер корреляционных взаимосвязей между эпителием респираторного отдела легких и амниона: на 19 сутки беременности количество достоверных корреляций выше, что свидетельствует о функциональном напряжении, а на 21 сутки - ниже по сравнению с нормой, что отражает дезинтеграцию элементов системы.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Морфометрический анализ взаимосвязей надпочечных желез и легких при химической десимпатизации.- Москва-Минск, 1989.-с.12-Деп. в ВИНТИ 19.06.89. N7741-В89.(соавторы Б.А.Слука, М.И.Богданова, Б.В.Налибоцкий).
- 2.Морфометрическое изучение легких при экспериментальном маловодии. //III съезд анатомов, гистологов и эмбриологов Белоруссии: Тез.докл.- Минск, 1991. - с.113.
- 3.Метод корреляционных плеяд в оценке адаптивных свойств тканей в онтогенезе.// В сб.: Влияние антропогенных факторов на морфогенез и структурные преобразования органов:Тез.докл. - Астрахань, 1991. - с.90 (соавторы А.С.Леонтьук, Б.А.Слука, И.В. Бубнова, И.А.Мельников, Со Чхор Хун).
- 4.Количественные параметры в характеристике процессов эмбрионального гистогенеза.// Морфология раннего процесса: Тез.докл.- С.-Петербург,1992.- с.26. (соавторы А.С.Леонтьук, А.А. Артишевский, В.С. Гайдук, И.А. Мельников, Б.А. Слука, И.А.Стельмах).
- 5.Изменчивость системной организации органов в процессе дифференцировки.// В сб.: XI съезд морфологов.Тез.докл.- Смоленск, 1992.- с.224 (соавтор Б.А.Слука).
- 6.К изучению механизмов морфогенеза респираторных отделов легких. //В сб.: Материалы конгресса ассоциации морфологов.Тез.докл. -

Тюмень, 1994. - с.151 (соавтор Б.А.Слука).