

УДК 611. – 018: 612. 112. 93: 611 .637

© И.А. Лугин, 2012.

## ЗНАЧЕНИЕ МЕЗЕНХИМЫ В ОРГАНАХ С ГЕТЕРОГЕННОЙ ЗАКЛАДКОЙ ТКАНЕВЫХ КОМПОНЕНТОВ

И.А. Лугин

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. кафедрой – проф. Е.Ю. Шаповалова), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского», г. Симферополь.

### THE ROLE OF MESENCHYME IN ORGANS WITH THE HETEROGENEOUS RUDIMENTS OF TISSUE COMPONENTS

I.A. Lugin

#### SUMMARY

The studies used the rat's fetus and young rats for examination the regional differentiation of mesenchyme which was dissected from prostatic and seminal vesicles area and embedded into diffusion chamber with continuous cultivation in vivo. Methodological aspects of the problem based on comparison between the philogenetic analytical method and experimental cultivation of mesenchymic grafts in diffusion chamber. Fixed, that, for identification of heterogeneity mesenchyme, and its role in regional modeling of organic structures more exactly have been shown by the method of cultivation of mesenchymic grafts in diffusion chamber. The researches have shown a modeling role of the mesenchyme in morphogenesis of organs with heterogeneous rudiments of tissue components

### ЗНАЧЕННЯ МЕЗЕНХИМИ В ОРГАНАХ З ГЕТЕРОГЕННОЮ ЗАКЛАДКОЮ ТКАНИННИХ КОМПОНЕНТІВ

I.A. Лугин

#### РЕЗЮМЕ

На матеріалі плодів і молодих статевонезрілих щурів з використанням комплексу сучасних методів, головним з яких, став метод культивування тканин в дифузійних камерах з мільйонними фільтрами було вивчено регіональне диференціювання мезенхіми виділеної з області закладки передміхурової залози і сем'яних пухирців з подальшою трансплантацією ізольованих графтів в перитонеальну порожнину молодим щурам. Проведено порівняння результатів дослідження провизорності мезенхіми порівняльно-філогенетичним методом аналізу морфогенезів передміхурової залози і сем'яних пухирців і методом культивування ембріональних тканин в дифузійних камерах. Встановлено, що метод культивування мезенхіми в дифузійних камерах виявляє гетерогенність графтів мезенхіми, узятих з різних ділянок довкола уретри, що дозволяє судити про неоднорідність провизорної тканини при регіональному моделюванні органів протягом морфогенезів.

**Ключевые слова:** диффузионные камеры, культивирование in vivo, мезенхима, морфогенез, провизорность.

Изучение морфогенеза органов с гетерогенным происхождением тканевых компонентов на примере предстательной железы, мочевого пузыря, семенных пузырьков и других производных мезонефрального протока и мочеполовой складки имеет не только теоретическое, но и практическое значение, поскольку сложные гистогенетические трансформации большинства этих органов опосредованы мезенхимой.

Структурную основу стромы предстательной железы составляют производные мезенхимы: соединительная ткань, сосуды микроциркуляторного русла и пучки гладких миоцитов. Однако эпителий семенных пузырьков и семявыносящих путей имеет мезодермальное происхождение, в то время как простатические железы развиваются как из мезодермальных, так и энтодермальных зачатков, а фиброзно-мышечная строма простаты отличается своим строением от стромы семенных пузырьков.

Для изучения провизорности мезенхимы и особенностей дифференцировки её производных в органах с гетерогенной закладкой тканевых компонентов

использовались разные методы, в том числе, применявшийся в наших исследованиях [2] сравнительно-филогенетический метод, который можно дополнить методом культивирования тканевых графтов мезенхимы в диффузионных камерах in vivo.

Цель исследования: определить методы изучения провизорности мезенхимы в органах с гетерогенной закладкой тканевых компонентов, с целью идентификации тканевой специфичности различных мезенхимальных скоплений в органных гистогенезах.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала для исследования использовали предстательные железы 20-ти плодов крыс в возрасте от 17 до 18 суток пренатального развития.

Плоды извлекали из матки беременной самки и производили вивисекцию тела плода, отделяя комплекс зачатков тазовых органов (мочевой пузырь и область простаты). Полученный материал переносили в стерильные чашки Петри с физиологическим раствором, где при помощи бритвы отделяли участки

конденсированной мезенхимы расположенные с дорзальной, дорзолатеральной и вентральной стороны уретры. Участки мезенхимы переносили в специально обработанные диффузионные камеры (14:10:2 мм) с миллиметровыми фильтрами (Millipore), при диаметре пор 0,22 мкм.

Кусочки тканей – графты были не более 0,2 см<sup>3</sup> и до закрытия камеры были смочены стерильным физиологическим раствором. Диффузионные камеры конструировались согласно классической методике [5].

Готовые для трансплантации фильтры помещали в стерильные чашки Петри с физиологическим раствором и равным соотношением пенициллина и стрептомицина по 1 см<sup>3</sup>. Молодым самцам в возрасте двух месяцев перитонеально трансплантировали по 2 диффузионные камеры с графтами мезенхимы взятой из области закладки тазовых органов.

Диффузионные камеры с графтами мезенхимы находились в организме молодых самцов от 10 до 18 суток. После чего самцов забивали и извлекали диффузионные камеры. После снятия фильтров их фиксировали в 96° спирте в течение 30 мин для световой микроскопии, и отделяли участки графтов для последующей фиксации в глутар-альдегиде для электронной микроскопии. В исследовании для световой микроскопии использовали гематоксилин и эозин, полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим по общепринятой методике [1].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Значение мезенхимы в морфогенезе органов с гетерогенным происхождением тканевых компонентов требует оценки с позиций теории А.Н.Северцова [3]. Поскольку эволюционная линия человека проходила параллельно с линией грызунов, структура и

особенно морфогенез предстательной железы, семенных пузырьков подвержены определенным отличиям по модусам, что привело к дивергенции этих эволюционных групп. Механизмом реализации филэмбриогенезов, по мнению Г. С. Соловьева [3] является принцип провизорности. При этом под провизорностью понимают детерминированную способность эмбрионального зачатка или его производных формировать на пути к дефинитивному состоянию временные структуры ткани, обеспечивающие выполнение жизненно важных функций в развивающемся организме и моделирующие механизмы развития и построения структурно-функциональных единиц или целого органа на уровне дефинитивного морфологического субстрата [2].

Сравнительный анализ формирования предстательной железы в пренатальном онтогенезе у белой крысы и человека, показал аналогичность стадий формирования комплекса тазовых органов крыс по E. Witschi [7], (15–18 сутки) стадиям развития тазовых органов у человека по Троценко (11–12 неделя развития) [4].

Дольчатость строения простаты крыс и зональность простаты человека объясняются с позиций теории А.Н. Северцова процессом анаболии через слияние мезенхимальных зон в период закладки простатической части уретры [2].

Механизм закладки мезенхимы вокруг формирующейся уретры в выше указанных стадиях морфогенеза простаты имеет сходный характер, что проявляется в последовательном формировании четырех уплотнений мезенхимальной природы: периуретрального, вентрального, а затем дорзального и дорзо-латерального, которые появляются на 17–18 сутки развития у крыс и 12–14 неделях развития у человека (Рис. 1). Вростание эпителия уретры в ок-

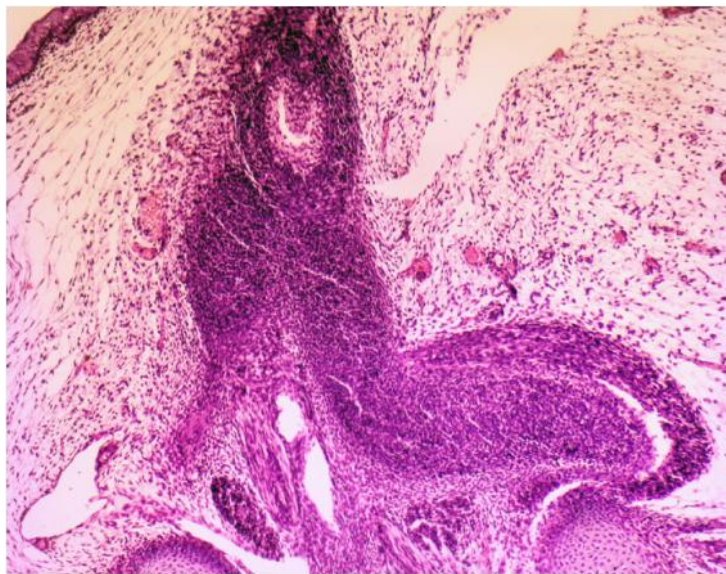


Рис. 1. Конденсация мезенхимы вокруг формирующейся уретры плода крысы на 12 неделе пренатального развития. Окраска гематоксилином и эозином.

1 – эпителий уретры; 2 – вентральная мезенхима; 3 – дорзальная мезенхима; 4 – дорзально-латеральная мезенхима. Увел.: об. 10, ок. 10.

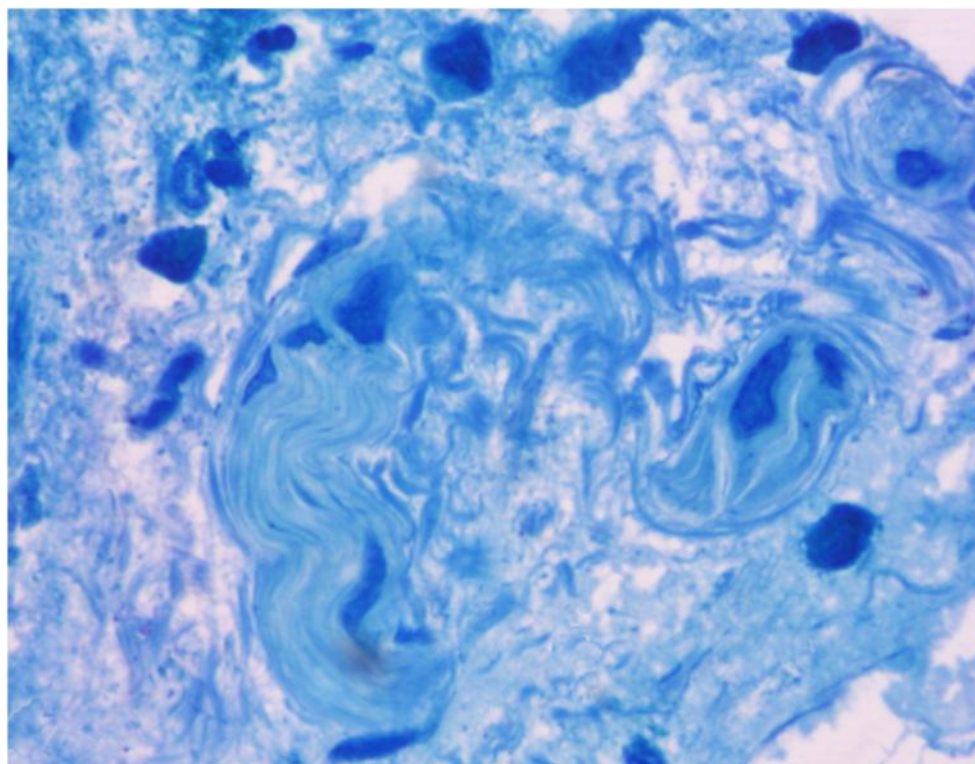
ружающую мезенхиму приводит к дифференцировке мезенхимных клеток в четырёх направлениях: формирования сосудов, соединительнотканной части стромы, гладких миоцитов и капсулы железы, что согласуется с исследованиями зарубежных учёных [6].

Начиная с 15 недели пренатального развития у плодов человека и с 18 суток развития у плодов крысы, проявляется асинхронность формирования органных компонентов в разных регионах железы. Для выяснения причин вызывающих указанные морфогенетические трансформации, нами было проведено экспериментальное исследование с использованием плексигласовых диффузионных камер с миллиметровыми фильтрами, в которых в условиях естественной трофики обеспечиваемой наличием фильтров, происходила пролиферация тканевых графтов.

Последующий гистологический анализ тканей графтов, показал зависимость тканевой структуры

от срока культивирования *in vivo* в организме молодых самцов. В большинстве случаев в составе графтов обнаруживалась рыхлая соединительная ткань.

На десятые сутки культивирования в составе графтов в диффузионных камерах поверхность фильтра была покрыта непрерывным слоем фибробласто-подобных клеток, средний объём популяции, которых в четырёх полях зрения для каждой камеры насчитывал в среднем – 50 клеток, при этом до 10 клеток находились в состоянии митоза. На двенадцатые сутки общая картина сохранялась не изменой, однако наблюдались участки уплотнения графта. На 18 сутки при ультраструктурном анализе графтов, обнаруживались активные фибробласты, тканевые базофилы и пучки коллагеновых фибрилл и единичные гладкие миоциты, что указывает на начало дифференцировки волокнистого компонента и собственного вещества соединительной ткани (Рис. 2).



**Рис. 2. Тканевая организация клеток в участке соединительнотканного графта на 18 сутки культивирования в диффузионной камере *in vivo* у крыс**

**1. – фибробластоподобные клетки, 2. – гладкий миоцит, 3.– собственное вещество, 4 – тканевой базофил, 5 – пучки коллагеновых фибрилл. Окраска метиленовым синим. Увел.: об. 40, ок.10.**

Гладкие миоциты и миофибробласты, в составе исследованных графтов, обнаруживались только в диффузионных камерах, материал которых был взят из вентрального и дорзо-латерального скопления мезенхимы, при попадании отдельных эпителиальных компонентов, при этом, ткань, культивируемая из дорзального скопления мезенхимы – области формирования семенных пузырьков, не содержала выше указанные клетки.

Формирование и последующий рост первичных гемокапилляров происходил на границе контакта мезенхимы и фильтра, а в случае попадания эпителиальных клеток, на границе контакта мезенхима – эпителий, что сопровождается улучшением трофики графта и ускоренной дифференцировкой клеток.

Отличие в интенсивности гистогенеза в зависимости от типа локализации первоначальной трансплантационной группы клеток из разных мезенхим-

ных скоплений не проявлялись.

#### ВЫВОДЫ

1. Таким образом, сравнивая морфогенез органов с гетерогенной закладкой тканевых компонентов из области малого таза крыс с результатами метода культивирования мезенхимы в диффузионных камерах можно утверждать, что при отсутствии межтканевого контакта мезенхимы с эпителиальными зачатками в пределах диффузионной камеры нарушается дискретность мезенхимы и стромы характерная для внутриорганных механизмов гистогенеза.

2. В условиях изоляции в диффузионных камерах графты мезенхимы дифференцируются только в рыхлую соединительную ткань и сосуды микроциркуляторного русла, и не формирует другие тканевые компоненты стромы. При этом наблюдается зависимость тканевой структуры от срока культивирования *in vivo* в организме молодых самцов.

**Перспективы дальнейших разработок.** Представленное исследование подтверждает актуальность изучения мезенхимы для уточнения источников её происхождения и морфогенетических особенностей развития органов с гетерогенной закладкой тканевых компонентов и предусматривает использование в дальнейших исследованиях иммуногистохимических методов исследования.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия; [пер. с англ. В.В.Португалова] / Р. Лили. – М.: Мир, 1969. – 645с.
2. Лугин И.А Региональная гетерогенность мезенхимы в процессах морфогенеза предстательной железы у плодов человека и крысы / И.А. Лугин, Б.В. Троценко // Морфология – 2009 – Т. III, № 3, – С. 101 – 105.
3. Соловьев Г. С. Роль принципа провизорности в реализации филэмбриогенезов / Г.С. Соловьев, В.Л. Янин, В.Д. Новиков // Морфология. – 2005. – Т. 128, №4. – С. 14 – 18.
4. Троценко Б.В. Функциональная морфология предстательной железы человека в онтогенезе: дис. доктора мед. наук: 14.00.23 / Троценко Борис Викторович. – Симферополь, 1986. – 470 с.
5. Algire, G. H. Growth of Cells in Vivo in Diffusion Chambers. I. Survival of Homografts in Immunized Mice. / G. H. Algire, J. M. Weaver, R. T. Prehn, // J. Natl. Cancer Inst. – 1954. – Vol. 15 – P. 493 - 501.
6. Kreiselmeier A. Validation of a diffusion chamber as in vitro system for the analysis of compound diffusibility through cartilage tissue / A Kreiselmeier, W. Ulmer, J. Stove et al. // Biomedecine & Pharmacotherapy – 2005. – Vol. 59, Issue 7 – P. 395 - 401.
7. Witschi, E. Rat Development // J. Reprod. Fert. – 1966. Vol. 12 – P. 509 – 524.