

ПОЛИСАХАРИДЫ КЛЕТОК СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ СТЕНКИ
ДВЕНАДАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ЭМБРИОНОВ ЧЕЛОВЕКА

И.В. ДОБРЫНИНА, Л.П. ТЕЛЬЦОВ, И.Г. МУЗЫКА

*ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»,
ул. Большевикская, 68, г. Саранск, Республика Мордовия, Россия, 430005*

Аннотация. Исследования проведены на 36 эмбрионах и плодах человека. В развитии соединительной ткани стенки тонкой кишки выделены 4 этапа: 1) мезенхимный этап (28-35 сутки эмбриона); 2) этап закладки рыхлой эмбриональной соединительной ткани (35 сут.-3,5 месяцев плода); 3) этап формирования дефинитивной рыхлой соединительной ткани (3,5-6,5 мес. плода); 4) этап – начальный дефинитивного развития (6,5 мес. плода до рождения). Каждый этап характеризуется специфическим набором клеточных дифферонов, химическим составом полисахаридов клеток соединительной ткани и межклеточного вещества.

На мезенхимном этапе развития клетки и межклеточное вещество ШИК-позитивные вещества содержат гликоген и протеогликаны, которые дают метакромазию, окрашиваются альциановым синим по Шубичу, Хэйлу, но ШИК-отрицательны.

На этапе закладки рыхлой соединительной ткани в мезенхимных клетках происходит снижение гликогена и накопление гликозаминогликанов. В фибробластах, эндотелии капилляров, в первичных клетках крови, в макрофагах выявляются гликоген, гиалуроновая кислота и предшественники сульфатированных групп гликозаминогликанов.

На этапе формирования рыхлой соединительной ткани происходит накопление РАЗ – амилазоустойчивых соединений (протеогликанов) в клетках и в межклеточном веществе. Идентификация их показала, что выявляются предшественники сульфатированных гликозаминогликанов и хондроитинсульфаты типа С. Интенсивность реакции на гликоген – снижается.

На этапе – начального дефинитивного развития в цитоплазме фибробластов умеренно окрашиваются Хэйл-положительные вещества, слабая окраска по Шубичу и толуидиновым синим. В плазмобластах и в В-лимфоцитах выявляются гликоген и гликозаминогликанов типа гиалуроновой кислоты. В цитоплазме лаброцитов выявляются вещества типа гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфаты типа С и незавершенного синтеза геперина.

Ключевые слова: эмбрион, плод, полисахариды, клеточные диффероны, этап развития.

POLYSACCHARIDES OF THE CONNECTIVE TISSUE CELLS OF THE DUODENUM WALL IN
HUMAN EMBRYO

I.V. DOBRYNINA, L.P. TELTSOV, I.T. MUZYKA

*Mordovia State N.P. Ogarev University, Bolshevistskaya Str., 68, Saransk, Republic of Mordovia, Russia,
430005*

Abstract. These studies are conducted on 36 human embryos and foetus. Four stages are marked out in the development of connective tissue of the duodenum: 1) mesenchymal stage (28-35 the day of the embryo); 2) the stage of loose embryonic connective tissue (35 days - 3.5 months of foetus); 3) the stage of formation of the definitive loose connective tissue (3,5-6,5 months of the fetus); 4) the stage of initial definitive development (6,5 months before birth of the fetus). Each stage is characterized by a specific set of cellular differens, chemical composition of polysaccarides of cells of connective tissue and intercellular substance. On mesenchymal stage of development, the cells and intercellular substance CHIC-positive substances – contain glycogen and proteoglycans that give metachromasia, stained with alcian blue on Shubitch, Hale, but CHIC are negative. At the stage of loose connective tissue in mesenchymal cells, the reduction of glycogen and accumulation of glycosaminoglycans are identified. Glycogen, hyaluronic acid and precursors sulfated groups glycosaminoglycans are detected in fibroblasts, endothelium of capillaries, in primary blood cells, in macrophages. At the stage of formation of loose connective tissue, there is the accumulation of TIME – amelanotic compounds (proteoglycans) in the cells and in the intercellular substance. Identification of them showed that the precursors of sulfated glycosaminoglycans and chondroitin sulfates (HSC) type C are identified. The intensity of the response to glycogen decreases. In the initial definitive development in the cytoplasm of fibroblasts – there is moderate staining on Hale-positive substances, poor color on Shubich and toluidine blue. In plasmablastics and in B-lymphocytes, the glycogen and

Библиографическая ссылка:

Добрынина И.В., Тельцов Л.П., Музыка И.Г. Полисахариды клеток соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки эмбрионов человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 2-125. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/5046.pdf> (дата обращения: 25.12.2014).

glycosaminoglycans types of hyaluronic acid are identified. In the cytoplasm of mast cells, the substances such as hyaluronic acid, HSH type and unfinished synthesis heparina are identified.

Key words: embryo, foetus, polysaccharides, cellular differens, stages of development.

Соединительная ткань (СТ) наряду с механической, опорной функцией участвует в важнейших процессах внутреннего обмена в поддержании гомеостаза, в биологической защите тканей и органа, в депонировании и в транспортировке различных веществ [2]. Однако сведений о локализации и о динамике полисахаридов в клеточных дифферонах (мезенхимных клетках, фибробластах, фиброцитах, макрофагах, плазматических, тучных и др. клеток) и в межклеточном веществе СТ стенки двенадцатиперстной кишки эмбрионов и плодов человека нет. Этому вопросу посвящена данная статья.

Материалы и методы исследования. Гликоген и гликопротеины выявляли ШИК-реакцией (ШИФФ-, или РАЗ-реакцией) по Шабадашу. Для подтверждения выявленных ШИК-позитивных веществ проводили реакции: с α -амилазой, с тестикулярной и бактериальной гиалуронидазой, ацетилирование (метилирование – жесткое и мягкое) и деацетилирование (деметилование жесткое и мягкое метилирование) по Лилли. Углеводные компоненты протеогликанов – *гликозаминогликаны* (ГАГ) выявляли: 0,1% водным раствором *толуидинового синего* (ТС) при разных значениях pH (2,2; 3,0; 4,2; 5,0; 7,0); коллоидным железом по Хэйлу; основным коричневым по Шубичу; альциановым синим по Сиддену. Сульфатирование проводили реакцией по Елисееву [1].

Результаты и их обсуждение. Исследования проведены на 36 эмбрионах человека, которые показали, что в развитии СТ стенки двенадцатиперстной кишки можно выделить четыре этапа: 1) мезенхимный этап (до 28-35 суток эмбриона); 2) этап закладки рыхлой эмбриональной соединительной ткани (от 35 суток до 3,5 месяцев плода); 3) этап формирования дефинитивной рыхлой СТ (от 3,5 до 6,5 мес. возраста плода); 4) этап начальный дефинитивный развития СТ (от 6,5 мес. до рождения). Каждый этап развития СТ отличается набором клеточных дифферонов, химическим составом полисахаридов, локальным строением межклеточного вещества.

На мезенхимном этапе развития СТ стенки двенадцатиперстной кишки эмбриона человека мезенхимные клетки содержат ШИК- или РАЗ-позитивные крупные гранулы. В значительно меньшем количестве выявляются они в *межклеточном веществе* (МВ). После обработки срезов α -амилазой реакция ШИК-позитивных гранул исчезает. В цитоплазме мезенхимных клеток (Мкл.) реакцией по Хэйлу обнаруживаются мелкие гранулы, а в МВ области мембран выявляется в виде однородной гомогенной зернистости. «Слабое» и «сильное» метилирование подавляют реакцию по Хэйлу, а деметилирование после «слабого» метилирования восстанавливает её. γ -метахромазия (очень слабая) возникает при pH 5,0.

Известно, что ШИК-реакция выявляет гликоген. Реакция с α -амилазой слюны ингибирует в срезах гликоген. Гликолипиды растворяются в спиртах во время заливки материала в парафин [1].

Таким образом, выявленные ШИК-положительные вещества в Мкл. на парафиновых срезах после воздействия α -амилазой относятся к протеогликанам, которые дают метахромазию. Они окрашиваются альциановым синим, по Шубичу, Хэйлу, но ШИК-отрицательны. Метахромазия в Мкл. при pH ниже 4,0 обусловлена наличием сульфатных групп. «Сильное» метилирование блокирует ГАГ, а «слабое» – лишь их карбоксильные группы, которые восстанавливаются при деметилировании.

В МВ протеогликанов приобретают нежное сетчатое волокнисто – подобное строение. В области базальных мембран эпителия, мезотелия и эндотелия кровеносных капилляров они окрашиваются наиболее интенсивно. В цитоплазме Мкл., фибробластов, эндотелия сосудов ГАГ обнаруживаются в виде тонких, нежных однородных тяжей. Дифференциальный анализ ГАГ, проявляющих метахромазию к растворам *толуидинового синего* (ТС) и положительно окрашиваются коллоидальным железом по Хэйлу показал, что основу их в цитоплазме клеток и в основном МВ составляют карбоксильные группы ГАГ типа *гиалуроновой кислоты* (ГК) и предшественники сульфатированной группы ГАГ. Об этом свидетельствуют: умеренная метахромазия при pH 4,2-5,0, легко исчезающая при проводке через спирты; полное отсутствие метахромазии при pH 2,2-3,0; подавление окраски по Хэйлу после слабого метилирования и восстановления её после деметилирования; блокирование окраски после обработки бактериальной гиалуронидазой (Гбак). По данным Ю.Н. Шаповалова и др. [5]. ГАГ выявляется в МВ мезенхимной ткани стенки двенадцатиперстной кишки у эмбрионов человека начиная с 49-51-сут. возраста.

На этапе закладки *рыхлой эмбриональной соединительной ткани* (РСЭМТ) (от 35 сут. до 3,5 мес.) стенки двенадцатиперстной кишки плода человека происходит снижение интенсивности реакции на гликоген и накопление ГАГ. Аналогичная картина динамики полисахаридов наблюдается и в МВ. Несколько больше гликогена, чем в Мкл. выявляется в фибробластах, эндотелии капилляров, первичных клетках крови, в эритроцитах и в дифференцирующихся оседлых макрофагах (гистиоцитах). В лимфоцитах гликоген выявляется в виде крупных гранул. В серозной и в мышечной оболочках и в подслизистой основе слизистой оболочки сеточки из ГАГ плотнее, а волокна окрашиваются интенсивнее. В области базальных мембран эпителия и мезотелия ГАГ выявляются в виде нежных волокон и тяжей. Локализация аргирофильных и коллагеновых волокон в МВ совпадает с расположением ГАГ. Наибольшим содержанием

Библиографическая ссылка:

Добрынина И.В., Тельцов Л.П., Музыка И.Г. Полисахариды клеток соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки эмбрионов человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 2-125. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/5046.pdf> (дата обращения: 25.12.2014).

ГАГ обладают фибробласты, Мкл. и эндотелий капилляров. При идентификации ГАГ, содержащихся в клетках и в МВ установлено:

1. Метахромазия появляется при рН 3,0; 4,2; 5,0. Тестикулярная гиалуронидаза (Г(тес.)) ослабляет метахромазию, но не снимает её полностью.

2. Метахромазия и реакция по Хэйлу восстанавливаются после мягкого метилирования и деметилирования, но в значительно ослабленном виде.

3. Окраска по Шубичу дает очень бледную окраску. Аналогичная гистохимическая картина наблюдается и в МВ стенки кишечника. На основании результатов исследования полисахаридов считаем, что наряду с ГК выявляются предшественники сульфатированных групп ГАГ.

На этапе формирования (от 3,5 до 6,5 мес.) *рыхлой соединительной ткани* (РСТ) происходит накопление РАЗ-амилазо-устойчивых соединений (протеогликанов) в МВ. В области базальных мембран и в стенки кровеносных сосудов собственной пластинки слизистой оболочки протеогликаны в МВ выявляются в виде зернистости, а в подслизистой основе – в виде нежных нитей. Во всех остальных участках РСТ – в виде гомогенной окраски розовато – фиолетового цвета. Гамма – метахромазия, после окраски 0,1% раствором *толуидинового синего* (ТС) в МВ возникает при рН от 2,2 до 5,0. Наибольшая интенсивность окраски возникает при рН 4,2-5,0. Реакция по Шубичу и ТС окрашивают МВ гомогенно и умеренно. Реакция по Хэйлу и метахромазия снимаются тестикулярной гиалуронидазой неполностью. После жесткого метилирования окраска, после реакции по Хэйлу, Шубичу и метахромазии, исчезают. Следовательно, наряду с накоплением ГК в МВ выявляются предшественники сульфатированных ГАГ и *хондроитин сульфаты* (ХСК) типа С.

Во всех клетках РСТ стенки двенадцатиперстной кишки плода человека на этапе формирования происходит увеличение РАЗ-позитивных амилазоустойчивых структур. Фибробласты, лежащие в серозной, мышечной оболочках, в подслизистой пластинке слизистой оболочки содержат этих структур несколько больше, чем фибробласты собственной пластинки. Одновременно происходит повышение интенсивности реакции по Хэйлу, Шубичу, ТС и γ -метахромазии при рН от 2,2 до 5,0. Это косвенно указывает на снижение в них синтеза ГАГ. Синтез этих веществ сохраняется лишь в фибробластах, эндотелии кровеносных сосудов, в Мкл. находящихся в собственной пластинке слизистой оболочки.

На этапе начального дефинитивного развития (от 6,5 мес. до рождения) в цитоплазме фибробластов умеренно окрашиваются Хэйл-положительные вещества, выявляется слабая окраска по Шубичу и ТС, а также метахромазия. После 9 мес. и до рождения эти реакции не проявляются.

В цитоплазме дифференцирующихся клеток в плазмобласты (В-лимфоциты) выявляется гликоген. Последний не обнаруживается в зрелых плазмочитах. Метахромазия с ТС возникает в цитоплазме плазмочитах при рН 5,0, исчезает она после «слабого» метилирования и деметилирования. Реакция по Хэйлу дает слабую окраску цитоплазмы плазмочитов около гранул. Следовательно, в цитоплазме плазмочитов выявляется ГК. ГК выявляется в фибробластах, макрофагах, лимфоцитах, тучных и в плазмочитических клетках.

В цитоплазме лаброцитов выявляются метахроматические гранулы. Реакции по Хэйлу, Шубичу указывают об неоднородности гранул лаброцитов. Раз- позитивная реакция гранул очень слабая, которая не изменяется после контроля с амилазой. Г(тес.) снимает реакцию по Хэйлу неполностью. Это дает основание предположить, что гранулы лаброцитов содержат вещества близкие по своим свойствам к ГК и ХСК типа С и, возможно, продукты незавершенного синтеза гепарина. У плодов 7,5-9 мес. гранулы лаброцитов дают реакции на ГАГ и имеют РАЗ-позитивную устойчивую реакцию. Контрольная инкубация срезов с Г(тес.) и Г(б), двухчасовое метилирование не снижают гамма – метахромазию гранул лаброцитов. РАЗ-положительная реакция гранул исчезает после деацетилирования. Анализ позволяет заключить, что в гранулах лаброцитов в этом возрасте наряду с предшественниками гепариносulfата выявляются и высоко сульфатированный гепарин. Следовательно можно выделить «зрелые» и «юные» формы лаброцитов. При подсчете «юных» и «зрелых» лаброцитов в собственной пластинке слизистой оболочки они составляют как 3:1, в подслизистой основе – 4:1, в мышечной оболочке – как 2:1, в серозной – 1:1. В целом во сей стенке – 2,6:1.

Приведенные ранее исследования по развитию пищеварительной системы человека в онтогенезе, показали, что система развивается в эмбриогенезе в четыре периода: первый деспецифический, второй – формирование временных и дефинитивных органов, третий – дефинитивный период (от 6 мес. плода до физиологической смерти) [3]. Сопоставляя данные по развитию органа и соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки установлено, что развитие СТ отстает от развития органа. Эти исследования подтверждают положение об одновременном развитии органа и составляющего его тканей и закон «Непрерывность (перманентность) и плавность (иманентность) развития организма в онтогенезе обусловлена асинхронностью и гетерохронностью составляющих его систем, органов, тканей и клеточных дифферонов [4].

Выводы:

1. Развитие соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки в эмбриогенезе зародыша человека происходит по этапам: 1) мезенхимный этап; 2) этап закладки рыхлой эмбриональной соедини-

Библиографическая ссылка:

Добрынина И.В., Тельцов Л.П., Музыка И.Г. Полисахариды клеток соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки эмбрионов человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 2-125. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/5046.pdf> (дата обращения: 25.12.2014).

тельной ткани; 3) этап формирования дефинитивной рыхлой соединительной ткани; 4) этап начальный дефинитивный.

2. Каждый этап развития соединительной ткани характеризуется специфическим набором клеточных дифферонов, химическим составом полисахаридов клеточных дифферонов и межклеточного вещества.

3. Развитие соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки зародыша человека во времени отстает от развития органа [3, 4].

Литература

1. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин С.А. Гистологическая техника. Омск – Орел, 2006. 290 с.

2. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М.: Медицина, 2009. 290 с.

3. Тельцов Л.П., Музыка И.Г., Мустаев Р.К. Периодизация развития пищеварительной системы человека в онтогенезе // Механизмы и закономерности индивидуального развития человека и животных: материалы Междунар. н. - прак. конф., посвященной 75-летию заслуженного деятеля науки РФ, доктора биологических наук, проф. Тельцова Леонида Петровича. Саранск: Изд-во Морд. госуниверситета, 2013. Часть 1. С. 168–171.

4. Тельцов Л.П., Семченко В.В., Зайцева Е.В. Закономерности индивидуального развития человека и животных // Морфология. 2014. № 3. С.192–193.

5. Шаповалов Ю.Н. Закономерности становления органной специфичности соединительной ткани у человека // Функциональная морфология эмбрионального развития человека и млекопитающих. М.: 1981. Вып. 2. С. 125–128.

References

1. Semchenko VV, Barashkova SA, Nozdrin SA. Gistologicheskaya tekhnika. Omsk – Orel; 2006. Russian.

2. Serov VV, Shekhter AB. Soedinitel'naya tkan' (funktsional'naya morfologiya i obshchaya patologiya). Moscow: Meditsina; 2009. Russian.

3. Tel'tsov LP, Muzyka IG, Mustaev RK. Periodizatsiya razvitiya pishchevaritel'noy sistemy cheloveka v ontogeneze. Mekhanizmy i zakonomernosti individual'nogo razvitiya cheloveka i zivotnykh: materialy Mezhdunar. n. - prak. konf., posvyashchennoy 75-letiyu zasluzhennogo deyatelya nauki RF, doktora biologicheskikh nauk, prof. Tel'tsova Leonida Petrovicha. Saransk: Izd-vo Mord. Gosuniversiteta; 2013. Chast' 1. Russian.

4. Tel'tsov LP, Semchenko VV, Zaytseva EV. Zakonomernosti individual'nogo razvitiya cheloveka i zivotnykh. Morfologiya. 2014;3:192-3. Russian.

5. Shapovalov YuN. Zakonomernosti stanovleniya organnoy spetsifichnosti soedinitel'noy tkani u cheloveka. Funktsional'naya morfologiya embrional'nogo razvitiya cheloveka i mlekopitayushchikh. Moscow; 1981. Vyp. 2. Russian.

Библиографическая ссылка:

Добрынина И.В., Тельцов Л.П., Музыка И.Г. Полисахариды клеток соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки эмбрионов человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. №1. Публикация 2-125. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/5046.pdf> (дата обращения: 25.12.2014).