

УДК 611.018/.51+616-092.9

С. М. Білаш, Н. В. Борута, В. І. Шенітько, Г. А. Єрошенко
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

МОРФОЛОГІЯ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ І ЕРИТРОЇДНОГО ПАРОСТКА ШУРІВ У НОРМІ

У статті представлена структурно-функціональна організація червоного кісткового мозку стегнової кістки статевозрілих білих шурів в нормі. Встановлено, що його строма представлена кістковими балками і ретикулярною тканиною. В ретикулярній тканині виявлено велику кількість кровоносних судин в основному синусоїдних капілярів. У петлях ретикулярної тканини знаходяться гемопоетичні клітини на різних стадіях розвитку які згруповані в острівці. Проведена деталізація будови червоного кісткового мозку в нормі розширює уявлення про механізм кровотворення, що в подальшому дозволить встановити основні ланки патогенезу захворювань системи крові.

Ключові слова: кровотворення, червоний кістковий мозок, еритробластичний острівець, морфометрія.

Робота є фрагментом НДР "Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів", № держреєстрації 0113U006185.

Патологічні зміни системи крові, які проявляються каскадом захисно-приспосувальних гематологічних реакцій свідчать про загрозу гомеостазу організму в цілому, про дію різних екзогенних та ендогенних чинників. У патологічних процесах гемопоезу виникає неспецифічний комплекс гематоморфологічних змін, перерозподіл формених елементів і більш прихованих процесів, які відбуваються в органах кровотворення і фізіологічної системі сполучної тканини [9].

Враховуючи, що кровотворна тканина є динамічною системою, яка постійно оновлюється, питання кінетики гемопоезу і його регуляції є ключовими для розуміння патогенезу захворювань крові в цілому. Визначено, що розвиток всіх кровотворних клітин відбувається в результаті проліферації і диференціації єдиної поліпотентної стовбурової клітини. Встановлені клітини попередники, як в цілому для еритро-грануломоноцитопоезу, так і його складових: нейтро-, еозино-, базофілопоезу і моноцитопоезу [2, 3]. Разом з тим, питання регуляції кровотворення вимагають подальшого уточнення особливо морфологічного підтвердження змін, які відбуваються в органах кровотворення під дією різних екзогенних чинників [5, 8].

Червоний кістковий мозок належить до найбільш чутливих органів, а зміни у системі крові, можуть бути одним із об'єктивних показників. Система кровотворення, об'єднуючи між собою всі внутрішні органи та системи, є одним із найважливіших показників стану організму. Клітини червоного кісткового мозку вважаються критичними популяціями при дії будь-яких чинників на організм [1, 2, 3, 4]. За сучасними уявленнями, на роль регуляторів кровотворення претендують колонієстимулюючі фактори, фактори стромального мікрооточення, гормони тимусу, кейлони і антикейлони, пептиди і багато іншого [9]. Проте їх роль і місце в підтримці кровотворення залишається відкритим. Так лікарські препарати створені на основі цих факторів не дозволяють повною мірою швидко і ефективно домогтись відновлення порушених структур кровотворення [12, 13].

Метою роботи було вивчення морфології еритробластичного паростка червоного кісткового мозку стегнової кістки шурів у нормі.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом для дослідження були фрагменти стегнової кістки 5 статевозрілих безпорідних білих шурів. Забір матеріалу для морфологічного дослідження проводили згідно загальноприйнятих методик [10, 14]. Фрагменти стегнової кістки, розміром 0,5-1 см. Фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну з послідуною декальцинацією у розчині етилендіамінтетрауксусної кислоти (ЕДТА) з дотриманням рН 7,4. Вплив дінатрієвої солі ЕДТА викликає розм'якшення фрагментів кісткової тканини [6], потім отримані декальциновані фрагменти стегнової кістки заклали в Епон-812 за загальноприйнятою методикою [7]. Просочені Епоном-812 шматочки біоматеріалу розташовували у формочки та заливали смолою з метою отримання епоксидних шліфів. Напівтонкі зрізи одержували на ультрамікромомі Сумського ВО «Selmi» УМТП-7, в подальшому зрізи забарвлювали 1% розчином

метиленового синього, поліхромним барвником [10, 11] за Вейгертом і за ван Гізон, а потім заключали в полістирол під покривні скельця і після полімеризації вивчали в світловому мікроскопі [15]. Морфометрію і мікрофотографування проводили за допомогою мікроскопу Biogex-3 BM-500T з цифровою мікрофотонасадкою DCM 900 з адаптованими для даних досліджень програмами.

Експеримент був проведений з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілях» (Страсбург, 1985), нормам біомедичної етики та відповідним Законам України, згідно з «Правилами використання лабораторних експериментальних тварин» (2006, додаток 4) і Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин, та витягу з протоколу засідання комісії з питань біомедичної етики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» № 122 від 12.05.2015 року.

Результати дослідження та їх обговорення. Будова червоного кісткового мозку стегнової кістки щурів, в основному, на світлооптичному та електронно мікроскопічному рівнях підпорядковувалась закономірностям будови паренхіматозних органів. Його строма була представлена кістковими балками і ретикулярною тканиною в якій розмішувалась велика кількість кровонесних судин, в основному синусоїдні капіляри без базальної мембрани але з порами в ендотелії. Паренхіма червоного кісткового мозку була представлена острівцями в яких виявлялись диферони гемопоетичних клітини на різних стадіях диференціювання. Еритроїдний паросток червоного кісткового мозку був представлений еритробластичними острівцями середня площа яких складала $940,21 \pm 68,12$ мкм. До складу острівця входили кровонесні судини і нервові волокна, клітини еритропоетичного ряду, які розташовувались навколо макрофагів.

На епоксидних шліфах тотальних препаратів червоного кісткового мозку стегнової кістки встановлено особливості його кровопостачання. Так, джерелом кровопостачання червоного кісткового мозку виявлялись артерії, які приймали участь у кровопостачанні стегнової кістки щурів. Вони проходили у кістково-мозкову порожнину і розгалужувались у двох напрямках: дистальному і проксимальному по відношенню до стегнової кістки, і закручувались навколо центральної вени. Артерії зменшуючи свій діаметр переходили в артеріоли середній діаметр яких складав $18,24 \pm 0,29$ мкм, для яких було характерним відсутність прекапілярних сфінктерів і за своїм подальшим ходом, в наслідок дихотомічного поділу, утворювали капіляри середній діаметр яких складав $28,13 \pm 0,49$ мкм, а потім у венули середній діаметр яких складав $50,48 \pm 0,58$ мкм. Більша частина капілярів переходила у синусоїдні капіляри. Інша частина проходила через Гаверсові канали і зливаючись утворювала венули та вени, які мали класичну будову.

Синусоїдні капіляри в своїй більшій частині виявлялись поблизу з ендостом. Їх середній діаметр складав $19,44 \pm 0,31$ мкм. На напівтонких зрізах вони мали веретеноподібну або овальну форми, а їх інтима була вистелена ендотелієм. В ендотеліальному прошарку визначались фенестри, а базальна мембрана або не визначалась зовсім або мала переривчастий хід. З ендотеліальним прошарком синусоїдних капілярів тісно контактували макрофаги. Поряд з описаними елементами гемомікроциркуляторного русла червоного кісткового мозку виявлялись артеріоло-венулярні анастомози через які, напевно, кров проходила минаючи синусоїдні капіляри безпосередньо в артеріоли і венули (рис. 1). На наш погляд це пов'язано з чинниками, які регулюють гемопоез і гомеостаз кровотворної системи.

На ультрамікроскопічному рівні синусоїдні капіляри виглядали по різному. В одних синусоїдах ендотеліоцити мали сплющену форму з довгими потоншеними відростками і овальним ядром в якому чітко визначався конденсований хроматин. В їх цитоплазмі визначалась невелика кількість мітохондрій в стані функціонального спокою, практично однакові за розмірами пухирці і електронно-щільні гранули і везикули овальної або витягнутої форми. У складі стінки цього виду синусоїдів визначалась тонка переривчаста базальна мембрана. В іншого виду синусоїдів ядра ендотеліоцитів мали звивисті контури овальної форми і помірну конденсацією хроматину по периферії з чітко візуалізованим еухроматином. В їх цитоплазмі виявлявся добре розвинутий комплекс Гольджі і гранулярна ендоплазматична сітка, мітохондрії, базальна мембрана в них не візуалізувалась. Паралельно з цим звертало на себе увагу, що в синусоїдних капілярах першого типу виявлялись зрілі елементи гранулоцитарного ряду еритроцити і тромбоцити, а в синусоїдних капілярах другого типу визначались незрілі елементи еритроїдного ряду і фагоцитуючі макрофагі.

При імпрегнації парафінових зрізів солями срібла визначались мієлінові нервові волокна, які тісно пов'язані з синусоїдними капілярами, а терміналі виявлялись в ретикулярній тканині острівця між клітинами еритробластичного диферону.

Клітинний склад еритробластичних острівців був представлений макрофагами, проеритробластами, базофільними, поліхроматофільними і оксифільними еритробластами, нормоцитами, ретикулоцитами і зрілими еритроцитами. Загальна кількість клітинних елементів еритроїдного острівця червоного кісткового мозку стегнової кістки в середньому складає $32,2 \pm 0,41$. Середня кількість і розподіл клітинних елементів еритробластичного диферону представлений на рис. 2.

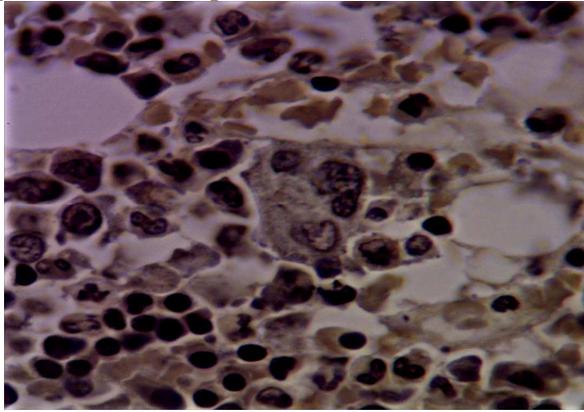


Рис. 1. Синусоїдні капіляри та клітинні елементи еритроїдного острівця червоного кісткового мозку стегнової кістки шурів. Напівтонкий зріз. Забарвлення за Вейгертом з дофарбуванням за ван Гізон. Зб.: ок.10, об.100.

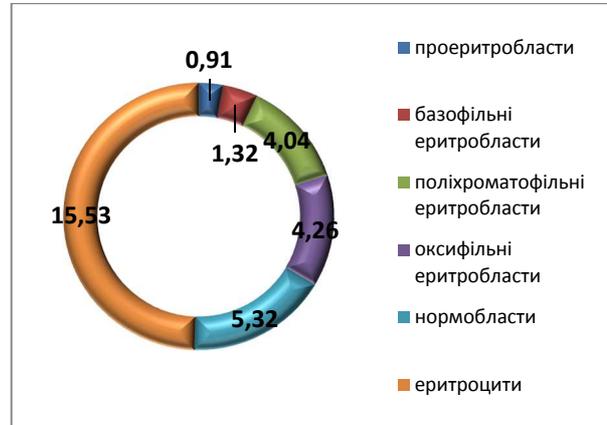


Рис. 2. Розподіл клітинних елементів в еритроїдному острівці червоного кісткового мозку стегнової кістки шурів.

Макрофаги еритробластичних острівців мали середній розмір $32,28 \pm 1,11$ мкм і визначались, як правило, біля судин гемомікроциркуляторного русла в центрі еритроїдного острівця. При постановці PAS – реакції на їх цитолемі визначаються глікопротеїдні і гліколіпідні комплекси, які забарвлювались у рожевий колір і в подальшому потребують деталізації їх вуглеводної специфіки. Форма макрофагів була мінливою. Їх межі при світловій мікроскопії на імерсії і електронній мікроскопії не завжди чітко візуалізувались через велику кількість псевдоподій і пальцеподібних відростків, які відходили від клітини у різних напрямках. Окрім того глибоко у цитоплазму заходили вгинання плазмолем, що створювало на препаратах ефект порожніх пухирців. Візуалізацію макрофагів еритроїдного острівця полегшувало наявність в їх цитолемі великих за розмірами фагосом. Гранулярна ендоплазматична сітка була розвинута слабо, а цистерни комплексу Гольджі мали середні розміри. Кількість вільних рибосом була мінливою, а кількість лізосом великою і розташовувались вони або поблизу ядра, або під фагосомами і мали з останньою зв'язок. Ядра макрофагів мали нерівний контур і ексцентричне положення (рис. 3).

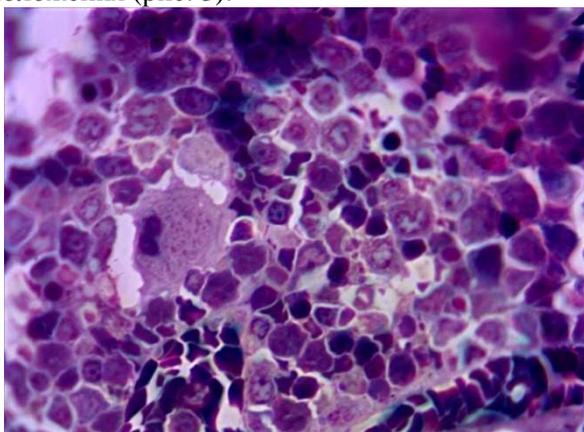


Рис. 3. Структура еритроїдного острівця червоного кісткового мозку стегнової кістки шурів. Напівтонкий зріз. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок.10, об.100.

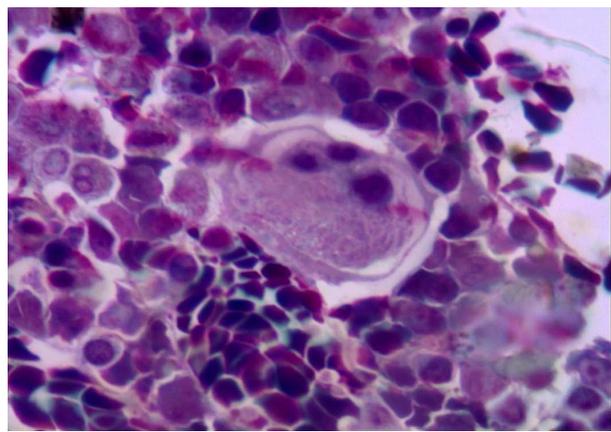


Рис. 4. Клітини еритроїдного паростка червоного кісткового мозку стегнової кістки шурів на різних стадіях диференціювання. Напівтонкий зріз. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок.10, об.100.

На напівтонких зрізах проеритробласти візуалізувались, як великі клітини з крупним ядром і базофільною тонкою цитоплазмою. Їх середній розмір становив $14,28 \pm 0,08$ мкм. На ультрамікроскопічному рівні в цитоплазмі еритробластів визначалась велика кількість вільних рибосом і полірибосом, які утворювали скупчення у вигляді розеток. Органели були помірно

розвинуті, визначались цистерни комплексу Гольджі, у ядрі візуалізувались 1-3 ядерця. Як правило проеритробласти визначались поряд з ретикулярними клітинами, цитоплазма яких при фарбуванні за Вейгертом з дофарбуванням за ван Гізон забарвлювалась у коричневий колір (рис. 4). Іноді проеритробласти візуалізувались по двох безпосередньо один біля одного, що свідчить про їх високу мітотичну активність. Базофільні еритроцити визначались як клітини менші за розмірами від проеритробластів. Їх середній діаметр становив $9,99 \pm 0,11$ мкм. Цитоплазма при забарвленні поліхромним барвником мала темно-синій колір. Ядро було великим, круглої форми. Поряд з конденсованим хроматином визначався деконденсований, а ядерця були відсутні. В їх цитолемі чітко визначалась велика кількість полірибосом, візуалізувались елементи комплексу Гольджі і мітохондрії. У порівнянні з базофільними еритроцитами, поліхроматофільні мали менші розміри, їх середній діаметр становив $8,56 \pm 0,09$ мкм. Ядро теж було дрібнішим, а розташування хроматину нагадувало циферблат годинника і розташовувалося або у центрі або ближче до периферії. Цитоплазма поліхроматофільних еритроцитів була широкою і змінювала забарвлення на рожево-голубу, що пов'язано, на наш погляд, з процесами накопичення гемоглобіну. Паралельно з цим зменшувалась кількість і розмір мітохондрій.

На напівтонких зрізах оксифільні еритроцити візуалізувались як клітини округлої форми з середніми розмірами $7,14 \pm 0,08$ мкм. В їх цитоплазмі було повністю відсутнє явище базофілії, а за кольоровою гамою цитоплазма оксифільного еритроцита була схожою з кольоровою гамою еритроцитів. Ядро розташовувалося ексцентрично, хроматин розташовувався чітко у вигляді циферблата годинника. У деяких оксифільних еритроцитів спостерігався пікноз ядра з наступним його виштовхуванням з цитоплазми. Еліміновані ядра були оточені широкою смужкою цитоплазми. Ця картина нагадувала відокремлення двох дочірніх клітин у стадії телофази мітозу. Кількість рибосом зменшувалась, а у цитоплазмі візуалізувались особливі комплекси різні за розмірами, в яких містились гранули. Одні гранули були оточені мембраною, а інші не мали останньої.

Нормобласти еритроїдного острівця червоного кісткового мозку щурів визначались як клітини округлої форми з середніми розмірами $5,44 \pm 0,07$ мкм. Їх цитоплазма забарвлювалась у сіро-голубий колір з темно-фіолетовим ядром. Хоча при електронно мікроскопічному дослідженні ядро було безструктурним з чітко вираженим пікнозом. В цитолемі нормобластів ендоплазматична сітка не візуалізувалась, а кількість і розміри мітохондрій, елементів комплексу Гольджі різко зменшувались у порівнянні з вищеописаними елементами еритроїдного диферону. Середні розміри еритроцитів становили $5,25 \pm 0,06$ мкм і морфологічно вони не відрізнялись від еритроцитів крові людини.

Висновки

1. Строма червоного кісткового мозку стегнової кістки щурів представлена кістковими балками і ретикулярною тканиною з великою кількістю кровоносних судин, а паренхіма – острівцями в яких виявлялись диферони гемопоетичних клітин на різних стадіях диференціювання.
2. Еритроїдний паросток червоного кісткового мозку щурів представлений макрофагами, проеритробластами, базофільними, поліхроматофільними і оксифільними еритроцитами, нормоцитами, ретикулоцитами і зрілими еритроцитами, а загальна кількість клітинних елементів еритроїдного острівця в середньому складає $32,2 \pm 0,41$.
3. Еритроїдні острівці візуалізуються, як правило, за центрально розміщеним макрофагом і клітинних елементів еритроїдного диферону розташованих біля синусоїдних капілярів.

Перспективи подальших досліджень. В подальших дослідженнях планується вивчити структурну організацію червоного кісткового мозку щурів при гострому експериментальному запаленні очеревини, при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти та дії кріоконсервованої плаценти на тлі гострого запалення очеревини.

Список літератури

1. Afanasev Yu. I. Gistologiya / Yu. I. Afanasev, N. A. Yurina, E. F. Kotovskiy [i dr.] // - [5-e izd., pererab i dop.]. - M.: Meditsina, - 2002. - 744 s.
2. Vorobev A.I., Drize N.I., Chertkov I.L. Shema krovotvorenija. //Probl. genetol. i perelivaniya krovi. L., - 2005. – No.1. S.7-14.
3. Volkova S. A. Osnovni klinicheskoy gematologii: uchebnoe posobie / S. A. Volkova, N. N. Borovkov // - N. Novgorod: Izdatelstvo Nizhegorodskoy gos. meditsinskoy akademii, - 2013. - 400 s.
4. Gavrilov O. K. Kletki kostnogo mozga i perifericheskoy krovi / O. K. Gavrilov, G. I. Kozinets, N. B. Chernyak // - M.: Meditsina, - 1985, 288 s.
5. Golovatskiy A. S. Anatomiya lyudiny / A. S. Golovatskiy, V. G. Cherkasov, M. R. Sapin [ta In.] // - Tom tretiy. - Vinnitsya: Nova kniga, - 2009. - 376 s.

6. Goralskiy L. P. Osnovi gistologichnoyi tehniki i morfofunktsionalni metodi doslidzhen u normi ta pri patologiyi / L. P. Goralskiy, V. T Homich, O. I. Kononskiy // – Zhitomir: Polissya, - 2011. – 288 s.
7. Karupu V. Ya. Elektronnyaya mikroskopiya / V. Ya. Karupu // – Kiev: Vischa shkola, - 1984. – 207 s.
8. Kozinets G. I. Kletki krovi i kostnogo mozga: Atlas / G. I. Kozinets, Z. G. Shishkanova, T. G. Saryicheva [i dr.] // - M.: Meditsinskoe informatsionnoe agenstvo, - 2004. -203 s.
9. Mihaltsov A. N. Biologicheskii aktivnyie pentidy kostnogo mozga i ih rol v regulyatsii granulomonotsitonozeza. //Avtoref. diss..kand. med. nauk 2007. - 19 s.
10. Sarkisov S. Mikroskopicheskaya tehnika: rukovodstvo / S. Sarkisov, Yu. L. Perov // – M.: Meditsina, - 1996. -544 s.
11. Sposib zabarvlennya zabarvlennya napivtonkih zriziv. Dekl. patent na korisnu model No.75669 i No.201206261, zayavl. 24.05.2012 opubl. 10.12.2012, byul. No. 23. Shepitko V.I., Eroshenko G.A., Yakushko O.V., Vilhova O.V.
12. Udut E. V. Rol gemopoeticheskikh rostovyih faktorov v regeneratsii krovetvoreniya pri mielosupressii, vyzvannoy vvedeniem etopozida / E. V. Udut, V. V. Zhdanov, L. A. Guryantseva [i dr.] // Byul. eksperim. biologii i meditsiny. - 2001. T. 131. No. 5. S. 512-516.
13. Fedorov N. A. Normalnoe krovetvorenie i ego regulyatsiya / N. A. Fedorov // - M.: «Meditsina», - 1976, 543 s.
14. Humphrey Ch.D. A simple methylene blue-azure II – basic Fuchsin stain for epoxy-embedded tissue sections / Ch. D. Humphrey, F. E. Pittman // Stain Technol. – 1974. – Vol. 49, № 1. – P. 9–14.
15. Lynn J. Rapid toluidine blue staining of Epon-embedded and mounted “adjactnt” sections / J. Lynn // Am. J. Clin. Path. – 1965. – № 44. – P. 57 – 58.

Реферати

МОРФОЛОГИЯ КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА И ЭРИТРОИДНОГО РОСТКА КРЫС В НОРМЕ

Билаш С. М., Борута Н. В., Шепитько В. И.,
Ерошенко Г. А.

В статье представлена структурно-функциональная организация красного костного мозга бедренной кости половозрелых белых крыс в норме. Установлено, что его строма представлена костными балками и ретикулярной тканью. В ретикулярной ткани обнаружено большое количество кровеносных сосудов в основном синусоидных капилляров. В петлях ретикулярной ткани находятся гемопоэтические клетки на разных стадиях развития, которые сгруппированные в островки. Проведенная детализация строения красного костного мозга в норме расширяет представление о механизме кроветворения, что в дальнейшем позволит установить основные звенья патогенеза заболеваний системы крови.

Ключевые слова: кроветворение, красный костный мозг, эритробластический островок, морфометрия.

Стаття надійшла 17.09.2015 р.

MORPHOLOGY OF NORMAL RATS' BONE MARROW AND ERYTHROID

Bilash S. M., Boruta N. V., Shepitko V. I.,
Yeroshenko G. A.

The article presents the structural and functional organization of the mature white rat normal red bone marrow of the femur. It is established that its stroma is represented by the bone beams and reticular tissue. In reticular tissue a large number of blood vessels of sinusoidal capillaries mainly is found. On hinges of reticular tissue are hematopoietic cells in various stages of development which are grouped into islands. The detailed discription of normal structure of red bone marrow has been made that extends understanding of the mechanism of blood formation, which in future will establish the basic pathogenesis of diseases of the blood.

Key words: hematopoiesis, red bone marrow, erythroblastichnyy island morphometry.

Рецензент Старченко І.І.

УДК 616.341-018:616.34-002] – 092.9

І. В. Гунас

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця

ДИНАМІКА ЗМІН ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ГОСТРОМУ ЕНТЕРИТІ

Дослідження проведено на 40 статевозрілих щурах-самцях лінії «Вістар». При гострому ентериті резистивна ланка ГМЦР тонкої кишки характеризувалась різким зменшенням показників середніх діаметрів з максимальним значенням на 2-3 доби та збільшенням з максимальним значенням на 15 добу. Відновленням їх до показників інтактної групи відбувалось на 45 добу. Для обмінної ланки встановлена динаміка змін середніх показників, яка характерна для артеріол. На відміну від резистивної і обмінної ланок гострий ентерит викликає збільшення діаметрів ємнісної ланки з максимальним значенням на 15-25 доби та відновленням до значень інтактної групи на 45 добу.

Ключові слова: щур, тонка кишка, гемомікроциркуляторне русло, гострий ентерит.

Дослідження гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) в органах та тканинах є одним з основних параметрами, що визначають успіх відновних процесів при будь-яких деструктивних змінах викликаних запальним процесом [1, 2].

Утворення ексудату розпочинається відразу після пошкодження тканини тонкої кишки і як наслідок підвищується проникність судинної стінки у вигляді ексудації плазми крові і еміграції клітин. Це є результатом пошкоджуючої дії медіаторів запалення на ендотелії судин мікроциркуляторного русла [3, 5]. Зміни яких зазнають ендотеліальні клітини проявляються у