

© Боруґа Н.В.

УДК: 616.419:615.368]-07-092.9

Боруґа Н.В.

ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія", кафедра гістології, цитології та ембріології (вул. Шевченка 23, м. Полтава, Україна, 36024)

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ТА ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ У ЩУРІВ ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ ПІДШКІРНОМУ ВВЕДЕННІ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Резюме. В роботі вивчені зміни реактивних ланок гемомікроциркуляторного русла червоного кісткового мозку щурів та клітинних елементів еритробластного острівця при одnorазовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти. Встановлено, що одnorазове введення плацентарної тканини впливає на червоний кістковий мозок динамічними змінами, а саме посиленням еритропоезом, в результаті чого збільшується кількість клітин еритробластного острівця на різних стадіях дозрівання, з переважанням базофільних та оксифільних еритробластів. Вплив плаценти на елементи гемомікроциркуляторного русла характеризується достовірними розширенням або звуженням їх середніх діаметрів, особливо на ранніх термінах експерименту.

Ключові слова: червоний кістковий мозок, еритробластний острівець, гемомікроциркуляторне русло, кріоконсервована плацента.

Вступ

Плацента, будучи провізорним органом, виконує ряд функцій, такі як білковий синтез, газообмін, гормонотворення і гормонорегуляція, антитоксичну, виділення метаболітів, депонування різних біологічно активних речовин та інші [3, 5].

За даними літературних джерел, відомо, що при клітинній та тканинній трансплантації плацентарної тканини відбувається корегування міжсистемних взаємодій, які спрямовані на мінімізацію негативних наслідків патологічного процесу [8]. Експериментальні дані дозволяють констатувати, що при використанні плаценти виникає стимуляція ендокринних органів, печінки, поліпшується трофіка серцево-судинної системи, підвищується репаративна здатність організму. Застосування кріоконсервованих фрагментів плаценти впливає на органи-мішені, стимулюючи їх функцію, підвищує неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища і стресових ситуацій [3].

У клінічній практиці препарат з плаценти, який вперше був отриманий в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України [4, 5], використовуються у вигляді її фрагментів, гомогенатів, водно-сольових і спиртових екстрактів після низькотемпературного зберігання і ліофілізації, і має різноспрямований вплив на перебіг патологічних процесів. Застосовувався він в схемах комплексного лікування і реабілітації хворих із

гінекологічними хворобами, системними запальними захворюваннями сполучної тканини, хронічними виразками, імунодефіцитами. Важливо відмітити, що препарати плаценти здатні реалізовувати свою дію на клітинному і субклітинному рівні та розглядається як могутній стабілізатор гомеостазу організму [4, 8, 10]. Тому актуальність досліджень, в яких вивчається вплив підшкірного введення кріоконсервованої плаценти на структурні елементи та гемомікроциркуляцію червоного кісткового мозку, не викликає сумніву, особливо це стосується процесів кровотворення [1].

Метою роботи було вивчення структурних елементів та реактивних змін ланок гемомікроциркуляторного русла червоного кісткового мозку щурів при одnorазовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти.

Матеріали та методи

Робота була виконана на 50 безпорідних білих щурах. Тварини були розділені на дві групи: інтактні (5 тварин) і експериментальні (45 тварин). Експериментальним тваринам одnorазово, підшкірно вводили фрагмент кріоконсервованої плаценти розміром 0,5x0,5x0,5 см у ділянку стегна.

Виводили тварин з експерименту на 1-у, 2-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у, 21-у та 30-у доби шляхом передозування тіопенталового наркозу. Дослідження червоного

кісткового мозку здійснювалось відповідно до встановлених термінів експерименту.

Після забору матеріалу фрагменти стегнової кістки, розміром 1 см фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну з послідуною декальцинацією у розчині етилендіамінтетраоцтової кислоти з дотриманням рН 7,4. Отримані декальциновані фрагменти стегнової кістки заключали в Епон-812 за загальноприйнятою методикою [2, 6, 7]. Напівтонкі зрізи одержували на ультрамікростомі Сумського ВО "Selmi" УМТП-7, і забарвлювали 1% розчином метиленового синього, поліхромним барвником і заключали у полістирол під покривні скельця, а після полімеризації вивчали на світлооптичному, а після виготовлення ультра тонких зрізів на ультрамікроскопічному рівнях.

Морфометричні дослідження і мікрофотографування проводили за допомогою мікроскопу Biogex-3 VM-500T з цифровою мікрофотонасадкою DCM 900 з адаптованими для даних досліджень програмами.

При проведенні експерименту дотримувались міжнародних принципів Європейської конвенції "Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілях" (Страсбург, 1985), норм біомедицинської етики, згідно з "Правилами використання лабораторних експериментальних тварин" (2006, додаток 4) і Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" МОЗ "Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів", № держреєстрації 0113U006185.

Результати. Обговорення

У результаті вивчення серійних напівтонких зрізів візуалізувались структурні елементи та судини гемокіроциркуляторного русла (ГМЦР) червоного кісткового мозку: артеріоли, капіляри, вени, стінка яких мала типову тришарову будову.

У групі інтактних тварин виявлялись морфофункціональні одиниці еритропоезу - еритробластні острівці, середня площа яких становила $940,21 \pm 68,12$ мкм. До складу острівця входили кровеносні судини, клітини еритробластного ряду, які розташовувались навколо макрофагів. Клітинний склад еритробластних острівців був представлений макрофагами, проеритробластами, базофільними, поліхроматофільними і оксифільними еритробластами, нормоцитами, ретикулоцитами і зрілими еритроцитами. Загальна кількість клітинних елементів еритробластного острівця червоного кісткового мозку в середньому складала $32,2 \pm 0,41$ у полі зору. Також відмічалось домінування клітин еритробластного ряду над іншими об'єктами гемопоезу.

У інтактних тварин показники середнього діаметру артеріол складала $18,24 \pm 0,29$ мкм, венул $50,48 \pm 0,58$

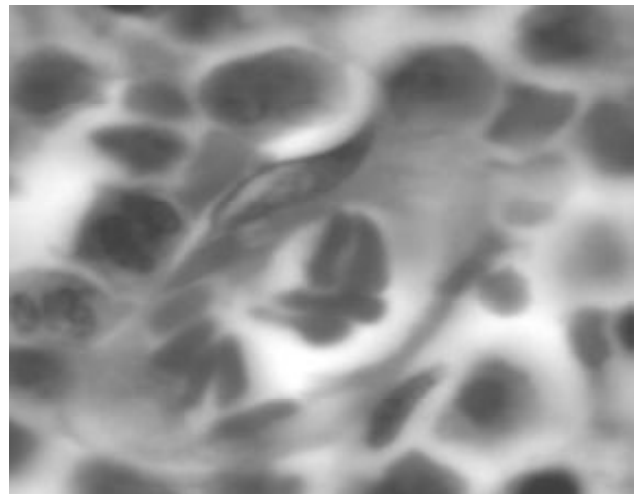


Рис. 1. Дискоцити в просвіті судини. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

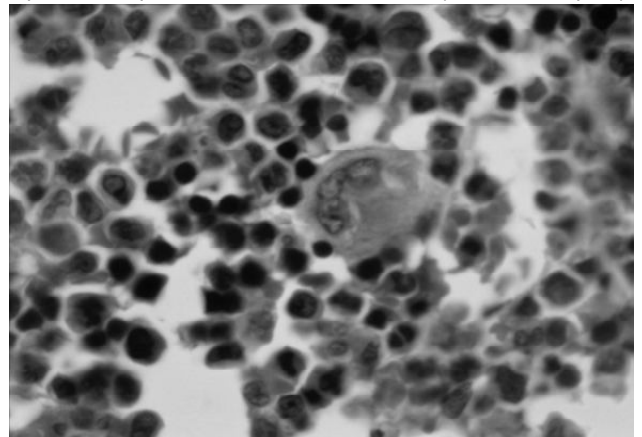


Рис. 2. Еритробластний острівець. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

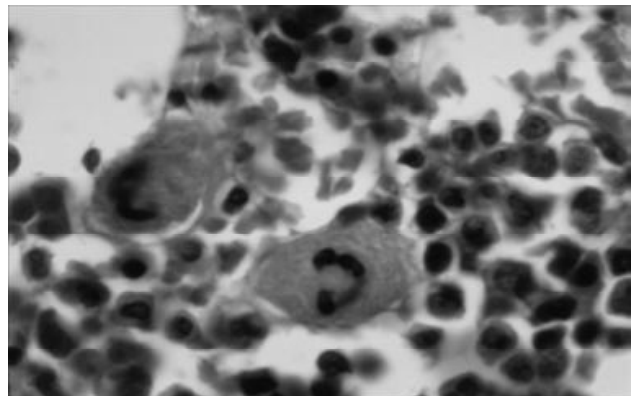


Рис. 3. Еритробластний острівець на ранніх стадіях експерименту. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

мкм, синусоїдних капілярів $28,13 \pm 0,49$ мкм. В їх просвітах визначались переважно еритроцити у вигляді двоввігнутих дисків (рис. 1, 2).

При порівнянні середніх діаметрів судин ГМЦР та клітинного складу еритробластного острівця при введенні кріоконсервованої плаценти, з відповідними по-

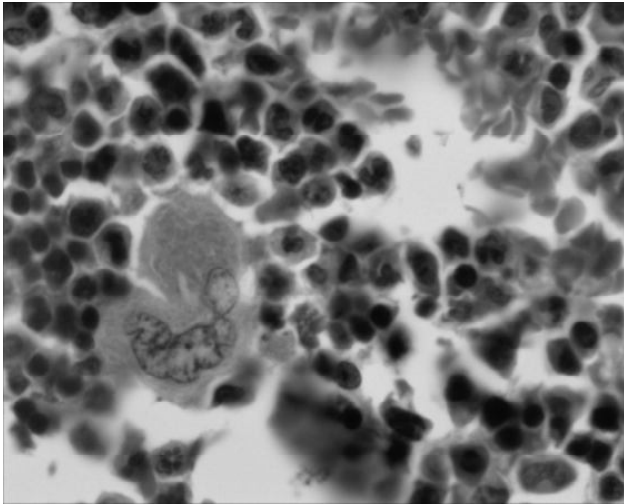


Рис. 4. Еритробластний острівця на 21 добу експерименту. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

казниками інтактної групи тварин, встановлені певні динамічні зміни. Так, загальна кількість клітин еритробластного острівця була збільшена в усі терміни експерименту з піками на 2-у і 7-у доби, а фазна активація відбувалася у перші дві доби. Дія трансплантату викликала активне утворення базофільних, поліхроматофільних та оскифільних еритробластів (рис. 3). На 10-14 доби експерименту спостерігалось зниження інтенсивності еритропоезу, а в кількісному складі відмічалось збільшення кількості еритроцитів різного ступеня зрілості з переважанням оксифільних еритробластів. На 21 та 30 доби відбувалось стрімке відновлення еритропоезу у порівнянні з інтактної групи тварин (рис. 4).

Резистивна ланка ГМЦР червоного кісткового мозку при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти протягом експерименту змінювалася не однаково. Аналіз морфометричних показ-

ників середніх діаметрів свідчить, що на 2-у добу артеріоли достовірно спазмувались ($p < 0,05$), на 7-14-у доби достовірно ($p < 0,05$) розширювались, а на 21-30-у доби ці показники відновлювались до таких у групі інтактних тварин.

Морфометричний аналіз середнього діаметру капілярів вказував, що на 2, 7, 14-у доби цей показник був більший від значень контролю. Вони достовірно фазно розширювались на 2-у, 7-у і 14-у доби при $p < 0,05$, з чого можливо зробити висновок про поступове збільшення кровонаповнення капілярної ланки. На 21-30 доби цей параметр відповідав показникам інтактної групи тварин.

Венули при одноразовому введенні плаценти збільшувались в діаметрі, але ці зміни були статистично недостовірними.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. В результаті одноразового підшкірного введення кріоконсервованої плаценти виявлялись фазні зміни елементів еритробластного паростка червоного кісткового мозку з піками на 2 і 7 доби експерименту.

2. На 10 добу у порівнянні з 7 добою, фазні зміни слабшали, але залишались достовірно вище від таких показників інтактної групи тварин.

3. Судинні елементи ГМЦР, заповнені еритроцитами, при введенні плаценти реагують по різному (розширенням або звуженням) в залежності від терміну експерименту.

У подальших дослідженнях планується вивчити структурні елементи та реакцію судин гемомікроциркуляторного русла червоного кісткового мозку при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очередини у щурів.

Список літератури

1. Гаврилов О. К. Клетки костного мозга и периферической крови / Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б. - М.: Медицина, 1985. - 288 с.
2. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. - Житомир: Полісся, 2011. - 288 с.
3. Грищенко В. И. Плацента: кріоконсервирование, структура, свойства и перспективы клинического применения; под ред. В.И. Грищенко, Т.Н. Юрченко. - Х.: СГД ФЛ Бровин А.В., 2011. - 292 с.
4. Білаш С. М. Характеристика метричних показників структурних елементів кардіальних залоз шлунку інтактних щурів, при гострому гастриті, введенні препарату "Платекс-плацентарний" та їх поєднаною дією / С.М. Білаш // Вісник проблем біології і медицини. - 2013. - Т. 2 (95), Вип. 3. - С. 153-155.
5. Білаш С. М. Вплив кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан екзокриноцитів воротарних залоз шлунка при запальних процесах / С.М. Білаш // Вісник проблем біології і медицини. - 2013. - Т. 2 (99), Вип. 1. - С. 224-227.
6. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники [5-е изд., исправ. и доп.] / Г.А. Меркулов; под ред. И.А. Чалисова. - Л.: Медицина, 1969. - 424 с.
7. Методики морфологічних досліджень: монографія / Багрій М.М., Діброва В.А., Попадинець О.Г., Гришук М.І.; за ред. М.М. Багрія, В.А. Діброви. - Вінниця: Нова книга, 2016. - 328 с.
8. Погожих Д. Н. Изменение свойств водно-солевых экстрактов плаценты человека в процессе низкотемпературного ранения / Д.Н. Погожих, Е.Д. Розанова, О.А. Нардид // Проблемы криобиологии. - 2008. - Т. 18, № 1. - С. 22-26.
9. Шепітько В. І. Декл. патент на корисну модель №75669 № и 201206261 Спосіб забарвлення забарвлення напівтонких зрізів / Шепітько В.І., Єрошенко Г.А., Якушко О.В., Вільхова О.В.; заявл. 24.05.2012; опубл. 10.12.2012, Бюл. № 23.
10. Human term placenta as a source of hematopoietic cells / V. Serikov, S. Hounshell, S. Larkin [et al.] // Experimental biology and medicine. - 2009. - Vol. 234 (7). - P. 813-823.

Борута Н. В.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В КРАСНОМ КОСТНОМ МОЗГЕ У КРЫС ПРИ ОДНОРАЗОВОМ ПОДКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ

Резюме. В работе изучены изменения реактивных звеньев гемомикроциркуляторного русла красного костного мозга крыс и клеточных элементов эритробластного островка при однократном подкожном введении криоконсервированной плаценты. Установлено, что однократное введение плацентарной ткани влияет на красный костный мозг динамическими изменениями, а именно усиленным эритропозом, в результате чего увеличивается количество клеток эритробластного островка на разных стадиях созревания, с преобладанием базофильных и оксифильных эритробластов. Влияние плаценты на элементы гемомикроциркуляторного русла характеризуется достоверными расширением или сужением их средних диаметров, особенно на ранних сроках эксперимента.

Ключевые слова: красный костный мозг, эритробластный островок, гемомикроциркуляторное русло, криоконсервированная плацента.

Boruta N.V.

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF STRUCTURAL ELEMENTS AND HEMOMICROCIRCULATORY BED IN THE RED BONE MARROW IN RATS AT A SINGLE SUBCUTANEOUS INJECTION OF THE CRYOPRESERVED PLACENTA

Summary. The paper deals with changes of the reactive links of the hemocirculatory bed in the red bone marrow of rats and cellular elements of the erythroblast islet which were studied at a single subcutaneous injection of the cryopreserved placenta. It has been established that single administration of placental tissue influences red bone marrow by dynamic changes, namely, by enhanced erythropoiesis, as a result of which the number of erythroblast-islet cells increases at different stages of maturation, with the predominance of basophilic and oxyphilic erythroblasts. The influence of the placenta on the elements of the hemomicrocirculatory bed is characterized with a reliable expansion or narrowing of their mean diameters, especially in the early stages of the experiment.

Key words: red bone marrow, erythroblast islet, hemomicrocirculatory channel, cryopreserved placenta.

Рецензент - д.біол.н., проф. Сарафинюк Л.А.

Стаття надійшла до редакції 15.12.2016 р.

Борута Наталія Володимирівна - викладач кафедри гістології, цитології та ембріології ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія"; +38(050)9582691; boruta.nata@mail.ru
