In flow system CD3-positive cells have formed periductal groups of 2-3 cells. In the gland stroma of Guinea pig these cells, in terms of 10 fields of view were not observed. In the salivary gland of the rabbits CD3-positive cells were detected only between epitheliocytes of striated ducts and singly in the parenchyma of the gland. In the submandibular salivary gland of dogs this type of immunocompetent cells was visualized periacinarly in the end divisions and perivascularly in stroma. In rats CD3-positive cells were clearly visualized only intraepithelially within striated ducts.

CD20-positive cells that belong to B-lymphocytes subpopulation were located predominantly periacinarly in the end departments and perivascularly in gland stroma. In Guinea pig they were located periacinarly in the end departments and periductally in incerted and striated ducts. In rabbits they were located only within the acini. In dogs they were located periacinarly as the component of the end divisions and periductally as the component of inserted ducts. In rats they were visualized periductally as the component of striated and granular ducts.

Macrophages (CD68-positive cells) were visualized on the histological human specimens between granulocytes of the end departments, periductally as the component of striated ducts and in the same structures in the form of intraepithelial macrophages.

In Guinea pigs and rabbits they were not visualized. In dogs they were located periacinarly in serous and mixed acini. In rat they were visualized not only periacinarly as the component of the end departments, but also periductally as the component of striated ducts and perivascularly next to the stromal microvessels, which indicated the different mechanisms of the primary immune response.

Plasmacytes (CD138-positive cells) as effectors of humoral immunity on the human specimens of salivary glands histocytotopographycally and in small amount were visualized periacinarly as the component of the end departments, intraepithelially as the component of the incerted ducts, periductally and intraepithelially as the component of striated ducts. Among the stromal elements these cells were not detected. In Guinea pig, on the contrary, the macrophages have formed the accumulations in periacinar end departments and periductally were visualized as the components of striated ducts. Histological specimens of rabbits and dogs CD138-positive cells were visualized periacinarly as the component of the end departments and in dogs □ perivascularly next to stromal vessels. In rats these immunocompetent cells were visualized intraepithelially as the component of the striated ducts.

Conclusions

1. Considering histocytotopography of immunocompetent cells of submandibular salivary glands of humans and laboratory animals the different duration and mechanism of the immune response can be observed.
2. Histocytotopographic location of mature T-lymphocytes in the structural components of the human submandibular salivary glands are similar to those in dogs and Guinea pigs.
3. Localization of B-lymphocytes in the structural elements of the human submandibular salivary gland is similar to those in dogs, Guinea pigs and rabbits.
4. Macrophages, as antigen modifiers, similarly to human in the submandibular salivary glands are located in dogs and rats periacinarly in end departments.

Keywords: submandibular salivary gland, immunocompetent cells, immunohistologic markers.

Рецензент — проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 19.03.2017 року

УДК 616.419-07:616.381-021.4-085.368]-036.13-092.9

Білаш С. М., Борута Н. В.

МОРФОЛОГІЯ ЕРИТРОБЛАСТНОГО ПАРОСТКУ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ НА ПІЗНІХ ТЕРМІНАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАПАЛЕННЯ ТА КОРЕКЦІЇ ЙОГО ВВЕДЕННЯМ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

boruta.nata@mail.ru

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», № державної реєстрації 0113U006185. Автор є співвиконавцем роботи.

Вступ. Тенденція до широкого розповсюдження захворювань червоного кісткового мозку є стимулом до вдосконалення діагностики та розробки нових комплексних методів лікування захворювань, які характеризуються структурно-функціональними порушеннями викликаного запальним процесом з розвитком дефектів структурних елементів органів кровотворення у вигляді патологічних змін [3,7].

Дослідження останнього десятиріччя довели, що кріоконсервована плацента має стимулюючий вплив на організм, що проявляється активацією стромальних та паренхіматозних елементів усіх органів [10]. При трансплантації, плацента виступає у ролі природних стимуляторів неспецифічної резистентності організму, а також репаративних властивостей тканин, що забезпечує гомеостаз організму [6,9]. Кріоконсервована плацента має протизапальні та імуностимулюючі властивості, введення її щурам на тлі гострого експериментального запалення, викликаного -карагіненом, позитивно впливає на запальний процес [2,4].

Вивчення літературних джерел показало, що дані відносно реакції структурних елементів червоного кісткового мозку на введення кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення, не повні та уривчасті, і зовсім відсутні їх морфометричні характеристики.

Метою роботи було вивчення морфологічних змін структурних елементів еритробластного острівця та судинного русла червоного кісткового мозку щурів при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини на пізніх термінах спостереження.

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

Робота виконана на 50 безпорідних білих щурах, розділених на 2 групи: I група – 5 інтактних тварин, II групу складали 45 тварин, яким на тлі змодельованого гострого асептичного запалення було одноразово введено кріоконсервовану плаценту розміром 0,5х0,5х0,5 см в ділянку стегна.

Тварин виводили з експерименту через 10-у, 14-у, 21-у, 30-у доби експерименту шляхом передозування тіопеналового наркозу. Дослідження червоного кісткового мозку здійснювалось відповідно до встановлених термінів.

Після взяття матеріалу шматочки стегнової кістки, розміром 1 см фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну з послідуючою декальцінацією у розчині етилендіамінтетрауксусної кислоти з дотриманням ph 7,4, після чого отримані декальціновані фрагменти стегнової кістки заключали в Епон-812 за загальноприйнятою методикою [1,5]. Напівтонкі зрізи одержували на ультрамікротомі Сумського ВО «Selmi» УМТП-7, в подальшому зрізи забарвлювали 1% розчином метиленового синього, поліхромним барвником [8] та заключали в полістирол під покривні скельця і після полімеризації вивчали в світловому мікроскопі. Морфометрія і мікрофотографування проводили за допомогою мікроскопу Biorex-3 BM-500T з цифровою мікрофотонасадкою DCM 900 з адаптованими для даних досліджень програмами.

Результати дослідження та їх обговорення. На серійних напівтонких зрізах червоного кісткового мозку візуалізувались структурні елементи еритробластного острівця: кровоносні судини, клітини еритробластного паростка на різних стадіях диференціювання, які розташовувались навколо макрофагів. Встановлено, що для деяких кровотворних компонентів червоного кісткового мозку виявлялась характерна структурно-функціональна незавершеність, а дозріваючі клітини еритробластного паростка переміщувались на периферію острівця, наближаючись до синусоїдного капіляру. Серед судини гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) візуалізувались: артеріоли, капіляри та венули, стінка яких мала типову тришарову будову.

При проведенні морфологічного та морфометричного аналізу середнього діаметру елементів ГМЦР у експериментальних групах з'ясовано, що протягом усього експерименту їх середні показники діаметру просвітів змінювались неоднаково. Було встановлено, що в артеріолах на пізніх термінах експерименту морфологічно виявлялись спастичні явища, що є проявом запального процесу. Власне стінка артеріол була побудована з оболонок: внутрішня, яка представлена ендотеліальними клітинами на базальній мембрані, по периферії якої візуалізувалась внутрішня еластична мембрана; середня оболонка складалась з шарів гладком'язових клітин; зовнішня була представлена пухкою волокнистою сполучною тканиною. В просвітах артеріол, на 10-у добу експерименту, спостерігався сладж-синдром, який призводив до утруднення перфузії формених елементів крові через стінку артеріол, що є морфологічним підтвердженням запального процесу.

Проаналізувавши метричні показники діаметрів артеріол встановлено, що з 10-ї по 14-у доби спостерігалась тенденція до відновлення морфофункціонального стану артеріол, а на 21-у та 30-у доби ці показники відновлювались до значень у інтактної групи тварин при $p<0,05$ **(рис. 1).** Клітинні елементи судинної стінки мали набухший вигляд, а внутрішня еластична мембрана мала вигляд складчастої смужки і забарвлювалась базофільно.

При аналізі змін у капілярах встановлено, що їх стінка була побудована з ендотеліальних клітин, які розташовувались на базальній мембрані, яка в свою чергу, мала переривчастий хід. Стінка капілярів відокремлювала зрілі формені елементи гемопоетичного компоненту від незрілих. Поряд із стінкою візуалізувались мегакаріоцити, котрі своїми відростками проникали в пори синусоїдних капілярів, таким чином регулюючи міграцію кровотворних клітин через стінку капілярів.

Самі мегакаріоцити розташовувались екстраваскулярно, мали найбільші розміри, фрагментоване ядро і грубосітчасту цитоплазму. Сама цитоплазма забарвлювалась у рожево-фіолетовий або фіолетовий колір, а її грубосітчаста структура обумовлювалась наявністю азурофільної зернистості **(рис. 2).**

Морфометричний аналіз діаметрів капілярів показував, що з 10-ї по 14-ту доби цей параметр більший від значень інтактної групи тварин ($p<0,05$). Переважна більшість капілярів були розширені і переповнені еритроцитами, а їх стінка була витонченою. Відновлення морфофункціонального стану обмінних гемомікросудин спостерігалося на пізніх термінах спостереження, а саме на 21-у та 30-у доби експерименту.

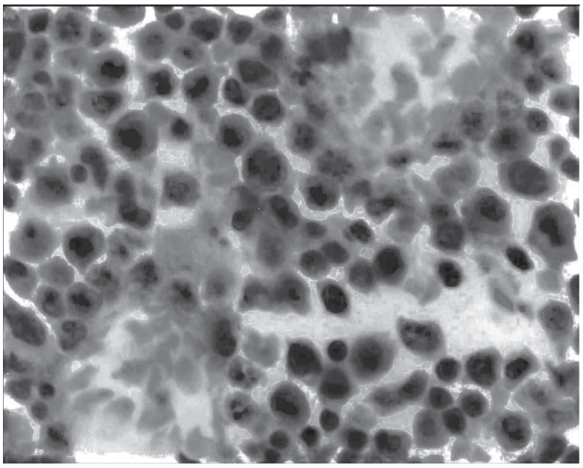

Рис. 1. Артеріола та еритробластний острівець на 14 добу експерименту. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

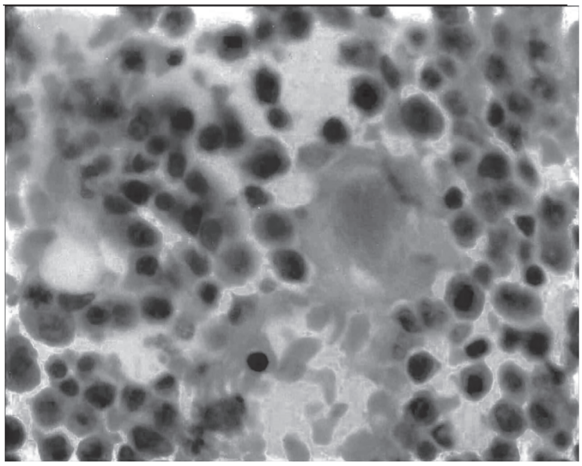

Рис. 2. Мегакаріоцит на 21 добу експерименту. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

При дослідженні структури та морфометричних показників венул встановлено, що на 10-у добу відбувалось розширення їх просвіту. В них знаходились формені елементи крові. Ендотеліальні клітини мали видовжену форму, іноді округлу, ядра їх набухали і наближались до внутрішнього просвіту судини. Базальна мембрана мала перериvчастий хід і була потовщеною.

Починаючи з 14-ї доби визначалось зменшення діаметрів венул відносно попереднього терміну, але воно не суттєве у порівнянні з групою інтактних тварин ($p<0,05$). Відновлення морфофункціонального стану венозних ланок визначалось з 21-ї по 30-у доби експерименту.

Результати морфологічного та морфометричного дослідження засвідчують, що динаміка запального процесу при введенні плаценти суттєво відрізняється від перебігу запального процесу без корекції. Дія плацентарної тканини стимулює репаративні процеси, гормони та біологічно активні речовини викликають дилятацію та повнокрів'я судин ГМЦР червоного кісткового мозку, тим самим зменшуючи ушкоджувальні чинники викликані введенням λ-карагінену і тим самим підтверджуючи свій протизапальний ефект **(рис. 3)**.

При вивченні клітинного складу еритробластного острівця, при введенні плаценти на тлі гострого асептичного запалення, було виявлено збільшення кількості поліхроматофільних та оксифільних нормобластів, починаючи з ранніх термінів спостереження. З 10-ї доби виявлялось зменшення кількості нормобластів порівняно із 7-ю добою, відповідно на 14-у добу спостерігали послаблення еритропоезу, але із більшою кількістю еритробластів порівняно із такою в інтактній групі тварин при $p<0,05$. Відновлення клітинних елементів еритробластного паростка спостерігалось на 21-у та 30-у доби експерименту. В проміжок між 21-ю та 30-ю добами кількісні показники клітинних елементів червоного кісткового

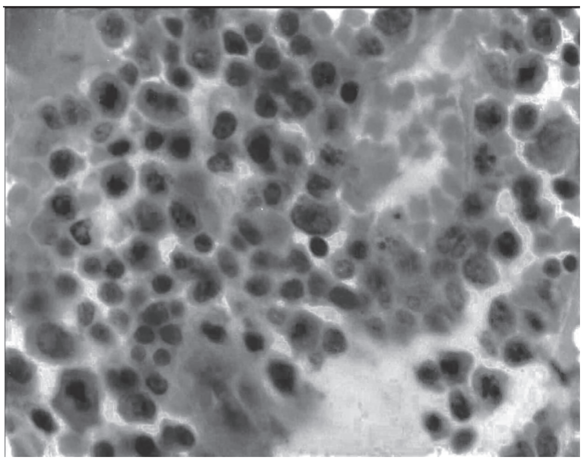

Рис. 3. Еритробластний острівець на 21 добу експерименту. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

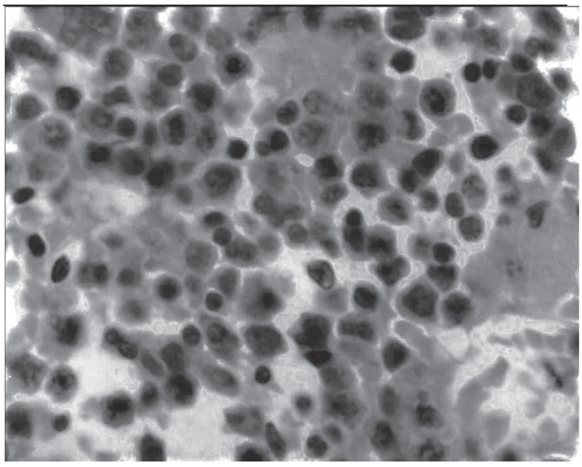

Рис. 4. Еритробластний острівець на 30 добу експерименту. Забарвлення поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 100 (масляна імерсія).

мозку відповідали таким як у групі інтактних тварин **(рис. 4)**.

Висновки

1. Введення плаценти на тлі гострого асептичного запалення викликає позитивні зміни у структурних компонентах еритробластного острівця червоного кісткового мозку, судинах ГМЦР. При морфологічному та морфометричному дослідженні встановлено, що елементи гемомікроциркуляторного русла червоного кісткового мозку реагували однотипно в бік збільшення середніх діаметрів просвітів в порівнянні з інтактною групою тварин ($p<0,05$).

2. За рахунок біологічно-активних речовин, які містить плацентарна тканина, відновлення морфофункціонального стану червоного кісткового мозку відбувається на пізні терміни експерименту, а відновлення показників до таких у інтактній групі тварин спостерігається з 21-ї по 30-у добу експерименту.

3. Поряд із кількісними змінами, в клітинах елементах червоного кісткового мозку виявлялись ознаки якісних змін, які свідчать про відновлення їх функціональних властивостей.

Перспективи подальших досліджень. В подальшій роботі планується встановити вуглеводну специфічність структурних компонентів червоного кісткового мозку до панелі лектинів з подальшим порівняльним аналізом складу їх вуглеводних залишків.

Література

1. Багрій М.М. Методики морфологічних досліджень: Монографія / М.М. Багрій, В.А. Діброва, О.Г. Попадинець, М.І. Грищук; за ред. М.М. Багрія, В.А. Діброви. – Вінниця: Нова книга, 2016. – 328 с.
2. 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.
3. 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.
4. Гаврилов О.К. Клетки костного мозга и периферической крови / О.К. Гаврилов, Г.И. Козинець, Н.Б. Черняк. — М.: Медицина, 2005. — 288 с.
5. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л.П. Горальський, В.Т Хомич, О.І. Кононський. — Житомир: Полісся, 2011. – 288 с.
6. Грищенко В.И. Новые криобиологические технологии получения клеточных и тканевых фетоплацентарных трансплантатов и их использование в медицине / В.И. Грищенко, Т.Н. Юрченко, О.С. Прокопюк // Трансплантологія. — 2004. — Т. 7, № 3. — С. 123-129.
7. Грищенко В.И. Плацента: криоконсервирование, структура, свойства и перспективы клинического применения / под ред. В.И. Грищенко, Т.Н. Юрченко. – Х.: СПД ФЛ Бровин А.В., 2011. – 292 с.
8. Декл. патент на корисну модель № 75669 № и 201206261. Спосіб 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.
9. Юрченко Т.Н. Клеточная и тканевая трансплантация. Биопрепараты / Т.Н. Юрченко, О.С. Прокопюк, В.В. Ломако. — Харьков: ИПК и К НАНУ, МНЦ криобиологии и криомедицины НАН, АМН и МЗ Украины, 2003. — 67 с.
10. Serikov V. Humanterm placentaas a source of hematopoie ticcells / V. Serikov, C. Hounshell, S. Larkin [et al.] // Experimental biology and medicine. – 2009. – Vol. 234 (7). – P. 813-823.

УДК 616.419-07:616.381-021.4-085.368]-036.13-092.9

МОРФОЛОГІЯ ЕРИТРОБЛАСТНОГО ПАРОСТКУ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ НА ПІЗНІХ ТЕРМІНАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАПАЛЕННЯ ТА КОРЕКЦІЇ ЙОГО ВВЕДЕННЯМ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Білаш С. М., Борута Н. В.

Резюме. В результаті експериментального дослідження були встановлені морфологічні та морфометричні зміни, як клітинних елементів еритробластного острівця, так і ланок гемомікроциркуляторного русла червоного кісткового мозку щурів при одноразовому підшкірному введенні кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення. Встановлено, що одноразове введення плацентарної тканини, на тлі гострого асептичного запалення, впливає на червоний кістковий мозок і проявляється динамічними змінами, а саме посиленим еритропоезом, в результаті чого хвилеподібно збільшується кількість клітин еритробластного острівця на різних стадіях дозрівання, з переважанням поліхроматофільних та оксифільних еритробластів. Вплив плаценти на елементи ГМЦР характеризується достовірним розширенням або звуженням їх середніх діаметрів, особливо на пізніх термінах спостереження. Відновлення усіх показників: клітинного складу еритробластного острівця та ланок ГМЦР спостерігали протягом 21-ї – 30-ї доби.

Ключові слова: червоний кістковий мозок, еритробластний острівець, плацента, гостре асептичне запалення.

УДК 616.419-07:616.381-021.4-085.368]-036.13-092.9

МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОБЛАСТНОГО РОСТКА КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА НА ПОЗДНИХ СРОКАХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ И КОРРЕКЦИИ ЕГО ВВЕДЕНИЕМ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ

Билаш С. М., Борута Н. В.

Резюме. В результате экспериментального исследования были установлены морфологические и морфометрические изменения, как клеточных элементов эритробластного островка, так и звеньев гемомикроциркуляторного русла красного костного мозга крыс при однократном подкожном введении криоконсервированной плаценты на фоне острого асептического воспаления. Доказано, что однократное введение плацентарной ткани, на фоне острого асептического воспаления, влияет на красный костный мозг и проявляется динамическими изменениями, а именно усиленным эритропоэзом, в результате чего волнообразно увеличивается количество клеток эритробластного островка на разных стадиях созревания, с преобладанием полихроматофильных и оксифильных эритробластов. Воздействие плаценты на элементы ГМЦР характеризуется достоверным расширением или сужением их средних диаметров, особенно на поздних сроках наблюдения. Возобновление всех показателей: клеточного состава эритробластного островка и звеньев ГМЦР наблюдали в течение 21-х – 30-х суток.

Ключевые слова: красный костный мозг, эритробластный островок, плацента, острое асептическое воспаление.

UDC 616.419-07:616.381-021.4-085.368]-036.13-092.9

MORPHOLOGY OF THE ERYTHROBLAST SPROUT OF THE RED BONE MARROWIN THE LATER STAGES OF THE EXPERIMENTAL PERETONITIS AND ITS CORRECTION VIATRANSPLANTATION OF THE CRYOPRESERVED PLACENTA

Bilash S. M., Boruta N. V.

Abstract. Placenta being provisional organ performs a number of functions such as protein synthesis, gas exchange, release and regulation of hormones, anti-toxic function, separation of metabolites, depositing of various bioactive substances and others. According to the literary sources, it is known that during cell and tissue transplantation of the placental tissue there is a correction of intersystem interactions that are aimed at minimization of the negative effects of the pathological process.

One of the problems of the Morphology is the study of patterns of structural elements and functioning of the ways of hemomicrocirculation at the level of the bloodstream as a link that provides the full range of metabolic processes of the body. In the modern medicine the structural elements in different organs and tissues are studied quite detailed, but along with that there are no researches that study structural elements and hemomicrocirculation in the red bone marrow at a single subcutaneous injection of cryopreserved placenta during the acute aseptic peritonitis.

The aim of the work was to study morphological changes of structural elements in erythroblast islet and vascular bed of the red bone marrow of rats at a single subcutaneous injection of the cryopreserved placenta during the acute aseptic peritonitis in the later stages of observation.

Work is performed on 50 white outbred rats divided into 2 groups: group I — 5 intact animals, group II consisted of 45 animals, which on a background of simulated acute aseptic peritonitis were administered a subcutaneous injection of the cryopreserved placenta with size 0,5x0,5x0,5 cm in hip area.

As a result of experimental studies changes in the cellular elements of erythroblast islet as well as in the links of hemomicrocirculatory bed of the red bone marrow of rats were set after a single subcutaneous injection of cryopreserved placenta during the acute aseptic peritonitis. It is established that a single injection of placental tissue during acute aseptic peritonitis influences the red bone marrow with dynamic changes, such as increased erythropoiesis, resulting in wavy increase of the number of cells in erythroblast islet at different stages of maturing, with a predominance of polychromatophilic and oxyphilic erythroblasts.

The impact of the placenta on the elements of hemomicrocirculatory bedis characterized with reliable expansion or narrowing of their average diameters, particularly at different stages of the experiment. Restoring of all parameters of the cellular composition of the erythroblast islet and of the reactive links of hemomicrocirculatory bed was observed in the later stages of the experiment.

In carrying out morphological and morphometric analysis of the average diameter of the hemomicrocirculation elements in the experimental groups it was found out that during the experiment the average diameter of the lumen varied differently. It was established that there were spastic phenomena identified morphologically in the arterioles in the later stages of the experiment, which is the demonstration the inflammation. The wall of the arterioles proper was built of membranes: the inner, represented with endothelial cells on the basement membrane, on the periphery of which the internal elastic membrane was visualized; middle membrane was composed of the layers of smooth muscle cells; and outer membrane was presented with soft fibrous tissue. In the lumen of the arterioles sludge syndrome was observed, which led to difficulty of perfusion of blood corpuscles through the wall of arterioles, which is a morphological confirmation of the inflammation.

Keywords: red bone marrow, erythroblast islet, placenta, acute aseptic peritonitis.

Рецензент — проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 19.03.2017 року