

УДК 636.21 (611–18.46+611–018.4)

О. М. Мирний

аспірант

А. В. Оліяр

к. вет. н.

Дніпропетровський державний аграрний університет

Рецензент – член редколегії «Вісник ЖНАЕУ», д.вет.н. Л. П. Горальський

ОСОБЛИВОСТІ ГІСТО- ТА ЦИТОГЕНЕЗУ ОРГАНІВ УНІВЕРСАЛЬНОГО КРОВОТВОРЕННЯ ТА ІМУННОГО ЗАХИСТУ В ПЛОДІВ СВІНІ СВІЙСЬКОЇ

Визначені особливості гісто- та цитогенезу органів універсального кровотворення та імунного захисту в плодів свині свійської. Встановлено, що провідна роль у становленні функції універсального гемопоезу в перший і другій третинах пренатального періоду онтогенезу належить печінці та основним осередкам окостеніння осьового скелета і скелета кінцівок, а в останній – морфологічні ознаки кровотворення з'являються також у додаткових осередках окостеніння трубчастих кісток скелета кінцівок на тлі згасання кровотворної функції печінки.

Аналіз останніх досліджень та постановка проблеми

Структурно-функціональна організація органів універсального кровотворення та імунного захисту в ссавців характеризується наявністю у них різних за спеціалізацією клітин, які вказують на ступінь їх функціональної активності [2, 3, 5, 8]. Зміни кількісного і якісного складу кровотворних та імунокомпетентних клітин у печінці й осередках окостеніння кісткових органів скелета ссавців протягом пренатального періоду онтогенезу є чітким відображенням закономірностей переходу гепатомієлойдного кровотворення на мієлойдне, з подальшим становленням двох основних функцій кісткового мозку – остеогенної та кровотворної в умовах фізіологічно обмеженого біомеханічного навантаження на кісткову систему [4, 6, 7]. Структурно-функціональна неоднорідність кісткового мозку на різних стадіях його розвитку, особливо у період становлення і посилення кістковомозкової фази універсального гемопоезу поряд із згасанням печінкової, потребує ще більш детального дослідження, доповнення та, можливо, перегляд деяких аспектів, особливо, на ранніх етапах пренатального онтогенезу.

Результати досліджень гісто- та цитогенезу печінки й кісткового мозку в плодів свині свійської доповнюють існуючі дані та сприятимуть більш глибокому розумінню етіології і патогенезу захворювань тварин у ранньому постнатальному періоді онтогенезу, що пов’язані з порушеннями процесів кісткоутворення.

Постановка завдання

Визначити морфо-функціональні закономірності гісто- та цитогенезу печінки і кісткового мозку в плодів свині свійської.

Об'єкти та методика досліджень

Роботу проводили на базі лабораторії гістології, патоморфології та імуноцитохімії Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпропетровського державного аграрного університету. Досліджували печінку, кістки осьового скелета (нижньощелепна кістка, 5-й грудний хребець, 5-а та реберна кістка, груднина, 1-й і 5-й хвостові хребці) та скелета кінцівок (плечова, стегнова, великомілкова кістки та кістки заплесни) плодів свині свійської 1,5-, 2-, 2,5, 3-, 3,5- та 4-х місячного віку (n=6). Особливості гісто- та цитоархітектоніки печінки і кісткового мозку (КМ) досліджували за допомогою мікроскопу Olimpus CH 20 та CX 41 на парафінових та заморожених гістозрізах органів (цілих або їх окремих ділянок) товщиною 5–7 мкм, забарвлених гематоксиліном і еозином, азур II еозином та суданом III. Визначали відносну площину (ВП) клітинних компонентів печінки (гемopoетичні клітини і гепатоцити) та кісткового мозку (остеогенні, кровотворні, стромальні і жирові клітини) в основних й додаткових осередках окостеніння (ООК), використовуючи методику «крапкового підрахунку» Г.Г. Автандилова [1].

Відносну площину клітинних компонентів підраховували за формулою:

$$S_{\text{відн.}} = P_k / P_3 \times 100 \%,$$

де $S_{\text{відн.}}$ – відносна площа відповідних клітинних компонентів досліджуваного органу, %;

P_k – кількість крапок, що потрапили на відповідні клітинні компоненти досліджуваного органу;

P_3 – загальна кількість крапок, що потрапили на всі клітини кісткового мозку у відповідній зоні ООК.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали методами варіаційної статистики, а також за допомогою стандартних комп’ютерних програм „Microsoft Excel”. Вірогідність різниці показників оцінювали по t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень

Встановлено, що міелоїдна тканина паренхіми печінки у плодів свині свійської 1,5-місячного віку представлена, переважно, гепатоцитами та гемopoетичними клітинами. На початку плідного періоду онтогенезу ВП гепатоцитів у печінці досить низька і становить $18,19 \pm 1,23 \%$, до 4-місячного віку вона зростає практично на 41 %. ВП гемopoетичних клітин у 1,5-місячних плодів складає $77,45 \pm 3,91 \%$, а до моменту народження зменшується на 40%.

У скелеті 1,5-місячних плодів кровотворення відбувається лише в основних ООК, додаткові ООК у досліджуваних кістках не виявляються. КМ в ООК

скелета в плодів до моменту народження представлений двома основними структурно-функціональними формами – остеобластичним (остеогенним) та червоним (кровотворним). Характерно, що в більшості основних ООК скелета 1,5-місячних плодів свині свійської КМ представлений обома його формами, а в основному ООК хвостових хребців та гілці нижньошелепної кістки – лише остеогенним.

Основними клітинами остеобластичного КМ 1,5-місячних плодів свині свійської є остеогенні, ВП яких коливається в різних ООК від 80 % до 85 % (табл. 1, 2). ВП стромальних клітин у зонах росту ООК 1,5-місячних плодів не перевищує 18–26 %. Позаклітинні структури остеобластичного КМ представлені колагеновими та ретикулярними волокнами.

У кровотворному КМ 1,5-місячних плодів свині свійської переважають гемопоетичні клітини – від 15 до 55 %, відносна площа яких зростає в центральних ділянках ООК. Характерно, що в червоному КМ серед кровотворних клітин виявляються остеогенні, ВП яких значно менша, ніж в остеобластичному КМ і не перевищує 25 %. Кількість стромальних клітин у різних ООК скелета коливається в межах від 10 до 20 %.

Жирові клітини (адипоцити) в КМ 1,5-місячних плодів свині свійської не виявляються навіть у найбільш розвинених ООК.

Таблиця 1. Динаміка відносної площи клітинних компонентів кісткового мозку в 3-му сегменті груднини плодів свині свійської, %

Зона	Клітини	Вік, місяці					
		1,5	2	2,5	3	3,5	4
Первинної губчастої кісткової речовини	остеогенні	85,54± 2,20	80,26± 1,15	80,95± 2,34	78,19± 0,94	69,20± 4,66	59,73± 5,75
	кровотворні	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	жирові	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	stromальні	14,46± 2,20	19,74± 1,15	19,05± 2,34	21,81± 0,94	30,80± 4,66	8,63± 0,47**
Проксимальної та дистальної ділянок вторинної губчастої кісткової речовини	остеогенні	35,16± 2,10	32,68± 1,45	36,11± 1,39	29,54± 1,48**	28,61± 1,27	25,44± 1,82***
	кровотворні	0,00	0,00	0,00	35,14± 1,19	38,77± 1,38	44,85± 1,47**
	жирові	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	stromальні	64,84± 2,10	67,32± 1,45	63,89± 1,39**	35,32± 0,95	32,62± 1,24	29,71± 1,69
Середньої ділянки вторинної губчастої кісткової	остеогенні	55,42± 2,92	36,16± 4,34*	27,03± 3,50	15,18± 2,08*	25,42± 1,01**	14,47± 3,25*
	кровотворні	25,86± 4,96	38,31± 3,69	61,34± 3,69**	75,09± 4,25*	65,47± 1,70	71,72± 3,90
	жирові	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

речовини	стромальні	18,72± 2,28	25,53± 1,07*	11,64± 2,12**	9,73± 2,17	9,11± 1,27	13,82± 3,88
----------	------------	----------------	-----------------	------------------	---------------	---------------	----------------

Примітка: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

Для 1,5-місячних плодів характерна чітко виражена зональна структура КМ, яка зберігається в більшості основних ООК кісткових органів до моменту народження. У другій половині плідного періоду онтогенезу відбувається виражена трансформація остеобластичного КМ в кровотворний внаслідок інтенсивного розвитку кровотворних компонентів КМ в зонах росту ООК та розповсюдженням їх по всій площині основних та додаткових ООК. При цьому, в зонах росту ООК КМ має острівцеву, а у діафізарних – дифузно-острівцеву структуру.

Характерним є те, що розвиток червоного КМ в основних ООК скелета плодів свині свійської супроводжується збільшенням в зоні вторинної губчастої кісткової речовини ВП кровотворних клітин у результаті зниження ВП остеогенних клітин у зонах росту.

Протягом всього плідного періоду в КМ основних ООК кісток осьового скелету та скелету кінцівок жирові клітини так і не з'являються.

Додаткові (епі- та апофізарні) ООК у кістках осьового скелету свині свійської протягом плідного періоду онтогенезу не виявляються, а в скелеті кінцівок їх поява спостерігається, починаючи з 3,5-місячного віку. Характерно, що на ранніх стадіях в додаткових ООК відбувається інтенсивний розвиток остеогенного КМ, в подальшому, з формуванням вторинної губчастої кісткової речовини в центральній зоні ООК, її вічка поступово заповнюються кровотворними клітинами.

Таблиця 2. Динаміка відносної площині клітинних компонентів кісткового мозку в основному ООК стегнової кістки плодів свині свійської, %

Зона	Клітини	Вік, місяці					
		1,5	2	2,5	3	3,5	4
Первинної губчастої кісткової речовини	остеогенні	87,08± 1,68	86,99± 0,51**	77,73± 4,71*	81,98± 1,62	74,24± 1,83***	75,90± 2,17
	кровотворні	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	жирові	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	стромальні	12,92± 1,68	13,01± 0,51*	22,27± 4,71	18,02± 1,62**	25,76± 1,83	24,10± 2,17***
Проксимальної та дистальної ділянок вторинної	остеогенні	73,41± 3,92	67,87± 4,64	33,73± 1,96**	31,96± 2,37	29,16± 2,70	22,62± 0,32***
	кровотворні	0,00	0,00	52,64± 4,78	57,67± 4,10**	61,53± 2,49	69,93± 0,23

губчастої кісткової речовини	жирові	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	стромальні	26,59± 3,92	32,13± 4,64*	13,63± 2,86	10,36± 1,85**	9,31± 0,59	13,45± 0,27
Середньої ділянки вторинної губчастої кісткової речовини	остеогенні	27,29± 3,90	14,74± 2,55**	11,88± 2,42	9,31± 0,74	10,85± 1,58***	2,92± 0,65**
	кровотворні	62,95± 3,47	75,13± 4,06	78,75± 2,30	83,81± 1,79**	81,24± 0,47	85,22± 1,06***
	жирові	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	стромальні	9,75± 0,84	10,14± 2,14**	9,38± 1,78	6,88± 1,23*	7,91± 1,21	11,86± 0,92*

Примітка: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001

У цілому кількісна динаміка клітинних компонентів КМ в додаткових ООК скелета плодів свині свійської змінюється аналогічно до змін клітинного складу КМ в основних ООК протягом першої половини плідного періоду (до 2,5-місячного віку). Темпи зростання ВП стромальних компонентів КМ на тлі збільшення кровотворних та, відповідно, зменшення остеогенних клітин, в додаткових ООК відбуваються значно повільніше, ніж в основних, що вказує на незавершеність структурно-функціональної організації КМ з низьким кровотворним потенціалом в додаткових ООК порівняно з основними. Жирові клітини в КМ додаткових ООК, як і основних, не виявляються ані в кістках осьового скелету, ані в кістках кінцівок.

Висновки

Основна роль у становленні функції універсального гемопоезу в першій і другій третинах пренатального періоду онтогенезу належить печінці та основним ООК осьового скелета та скелета кінцівок, а в останній – морфологічні ознаки кровотворення з'являються також у додаткових ООК трубчастих кісток скелета кінцівок на тлі згасання кровотворної функції печінки. Структурно-функціональні ознаки трансформації кровотворного кісткового мозку в жировий у свині свійської протягом всього плідного періоду не виявляються навіть у найбільш розвинених основних ООК як осьового скелету, так і скелету кінцівок.

Література

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Владимирская Е. Б. Стромальное микроокружение кроветворного костного мозга: состав и функции // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2006. Т. 5. – № 4. – С. 29–32.
3. Владимирская, Е. Е. Костномозговое кроветворение: оценка миелограммы / Е. Е. Владимирская // Гематология и трансфузия. – 1998. – № 4. – С. 4–6.

4. Ган, О. И. Кроветворные клетки-предшественники в культуре печени мыши: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.00.29. / О.И. Ган. – М., 1984. – 199 с.
 5. Глузман Д. Ф. О возможных дополнениях к современной схеме нормального кроветворения // Украинский журнал гематологии и трансфузиологии: научн. прак. журнал. – 2009. – №3. – С. 45–48.
 6. Морозова В. Т. Стволовые клетки и их структурно-функциональное отношение с соединительной тканью // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – №8. – С. 32–36.
 7. Ройт А. Иммунология: пер. с англ. А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
 8. Чертков И. Л. Как обеспечивается поддержание кроветворной системы / И. Л. Чертков, Н. И. Дризе // Гематология и трансфузиология. – 1998. – Т. 43. – № 4. – С. 3–9.
 9. Lichtman M. A. The ultrastructure of the haemopoietic environment of the marrow: a review / Exp. Hemat. – 1981. – Vol.9. – P.391–410.
 10. Moore M., Metcalf D. Ontogeny of the haemopoietic system: yolk sac origin of in vitro colony – forming cells in the developing mouse embryo // Br. J. Haematol. – 1970. – Vol. 18. – P.279–296.
-
-