

DOI 10.31718/2077-1096.21.2.142

УДК:616.83:615.27-071

Мартиненко Р.В.

ВПЛИВ ЦЕНТРАЛЬНОЇ ДЕПРИВАЦІЇ ТЕСТОСТЕРОНУ НА СТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ МОНОЦИТАРНОГО КЛОНУ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ В РАННІ ТЕРМІНИ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Вплив андрогенного дефіциту на кровотворення досі не вивчений. Відомо, що андрогени впливають подвійно на систему гемопоезу. 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 крові під впливом клітин оточення. Вплив тривалої центральної депривації синтезу тестостерону на морфологічні зміни в органах кровотворення все ще погано описаний в науковій літературі. Мета дослідження: оцінити мікроскопічну будову клітин кровотворення та клітин оточення щурів, під час центральної депривації синтезу тестостерону шляхом ін'єкції дифереліну на 30-й день експерименту. Матеріали і методи дослідження. Експеримент проводили на 20 статевозрілих самцях безпородних білих щурів. Щурів розділили на 2 групи по 10 тварин в кожній групі: контрольну та експериментальну групу. Тваринам з експериментальної групи вводили підшкірно диферелін (Триптореліновий ембонат) у дозі 0,3 мг активної речовини на кг. Щури з контрольної групи отримували ін'єкцію фізіологічного розчину. Експеримент тривав 30 днів. Результати дослідження. При морфологічному дослідженні червоного кісткового мозку експериментальної групи тварин на 30 день експерименту нами було встановлено, що структура органу була представлена двома компонентами: стромальним та паренхіматозним. Строма представлена ретикулярними клітинами, що утворювали сітку за допомогою ретикулярних волокон, більша частина якої була пронизана капілярами синусоїдного типу. В середині капілярів спостерігалось щільне розташування еритроцитів у вигляді "стовпчику монет". Перикапілярний простір був заповнений гемопоетичними клітинами на різних стадіях диференціації. Монобластичний клон був представлений клітинами моноцитами, промоноцитами, монобластами, та клітинами попередниками, що при світловій мікроскопії мають однакову морфологічну будову та структуру.

Ключові слова: Ключові слова: тестостерон, гемопоез, червоний кістковий мозок, моноцитарний ряд.

Дослідження є фрагментом дослідницького проекту кафедри гістології, цитології та ембріології «Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріофетоплацентарного комплексу (ЕФПК), Дифереліну, етанолу та 1% ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», державна реєстраційна № 0119U102925.

Сексуальна активність чоловіків зменшується з віком. Причина цього, як відомо, є зниження вироблення тестостерону тканинами яєчка. Також, деякі хвороби вимагають вживання ліків, що блокують синтез тестостерону [1,7]. Наприклад, рак передміхурової залози вимагає будь-якого хімічного препарату кастрації, як лікування, оскільки ця пухлина є дуже чутлива до андрогенів [6]. Рак простати є другим за частотою діагнозом раку серед чоловіків і є п'ятою причиною смерті у всьому світі. Однак у деяких випадках хімічна кастрація може бути використана як вибір лікування. Це особливо актуально, якщо рак простати був діагностований у досить молодому віці або пацієнт все ще бажає залишатися фертильним [5].

Традиційні уявлення про те, що фізіологічна роль тестостерону у людини обмежується впливом на репродуктивну систему та регуляцією сексуальності і лібідо, слід визнати застарілими, тому що це не відповідає результатам новітніх клініко-експериментальних досліджень, які довели наявності у тестостерону цілого спектру фізіологічних ефектів, необхідних для нормального функціонування організму [4].

Вплив андрогенного дефіциту на кровотво-

рення досі не вивчений. Відомо, що андрогени впливають подвійно на систему гемопоезу. 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 крові під впливом клітин оточення. Вплив тривалої центральної депривації синтезу тестостерону на морфологічні зміни в органах кровотворення все ще недосконально відображено в науковій літературі.

Мета дослідження

оцінити мікроскопічну будову клітин кровотворення та клітин оточення щурів, під час центральної депривації тестостерону при ін'єкції дифереліну в ранні терміни експерименту.

Матеріали і методи дослідження

Експеримент проводили на 20 статевозрілих самцях безпородних білих щурів. Щурів розділили на 2 групи по 10 тварин в кожній групі: контрольну та експериментальну групу. Тваринам з експериментальної групи вводили підшкірно

«Диферелін» (Триптореліну ацетат) у дозі 0,3 мг активної речовини на кг [3,8,9]. Шури з контрольної групи отримували ін'єкцію фізіологічного розчину. Експеримент тривав 30 днів. Тварин утримували в стандартних умовах віварію Української медичної стоматологічної академії. Експериментальних тварин приносили в жертву при суворій відповідності з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей»; (Страсбург, 1986 р.), А також з «Загальною етикою принципів експериментів на тваринах», прийнятий Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Після передозування кетаміном тварин обезголовили, підготувавши препарати кісткового мозку з стегнових кісток фіксували у 2,5% розчині глутаральдегіду (рН = 7,2-7,4). Постфіксація матеріалу проводилася в 1% розчині осмію (IV) оксиду з подальшою дегідратацією в оксиді пропілену і зразок заливали в суміш епоксидних смол. Ультратонкі зрізи були просочені 1% водним розчином ураніацетату та цитрату свинцю, за методом Рейнольдса і досліджували за допомогою електронного мікроскопу [2].

За допомогою стандартних методів матеріал вкладали у парафінові блоки, перерізи яких товщиною 4 мкм були виготовлені та забарвлені гематоксилін еозином [2]. Гістологічні препарати досліджували за допомогою Biogex 3 світловий мікроскоп з цифровим мікрофільтром із програмним забезпеченням, пристосованим для цих досліджень (серійний номер 5604).

Статистична обробка результатів дослідження проводилася за допомогою програмного забезпечення Microsoft Office Excel та розширення Real Statistics 2019 до нього.

Результати дослідження

Клітини моноцитарного ряду - ранні кістково-мозкові попередники моноцитів і макрофагів, пул циркулюючих в периферичному руслі моноцитів і тканинні макрофаги - були об'єднані в систему мононуклеарних фагоцитів. Ранні попередники фагоцитів розвиваються з поліпотентних стовбурових кровотворних клітин, комітованих в загальні попередники грануломоноцитопоезу. Комітовані загальні попередники грануломоноцитопоезу дають початок колонієутворюючих одиниць макрофагів, що диференціюються та проліферують в моноласти і промоноцити. В кістковому мозку клітини моноцитарного ряду представлені переважно проліферуючим пулом, лише невелика кількість моноцитів диференціюється в резидентні або осілі макрофаги кісткового мозку. В кістковому мозку кількість моноцитів становить 1-2% від усіх мієлокаріоцитів [10].

При дослідженні напівтонких зрізів та електроннограм клітин моноцитарного клону контрольної групи тварин нами були встановлені такі ознаки: моноласти - одна з ранніх морфологіч-

но помітних клітин моноцитарного ряду. Клітина мала округлу форму діаметром $16,22 \pm 0,31$ мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення становило 3,76 : 1. Ядро червоно-бузкового кольору округлої, овальної або бобоподібної форми (Рис.1). мало ніжно сітчасту структуру хроматину, містило 2-4 нуклеоли блакитного кольору. Цитоплазма моноластів тонка, блакитного кольору, не містить включень.

Промоноцит - клітина округлої форми, діаметром $13,44 \pm 0,28$ мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення 2,98:1 Ядро промоноциту було овальної форми зі злегка хвилястим контуром, більш грубу, ніж у моноласта структуру хроматину та містили залишки ядерець. Цитоплазма була сіро-блакитного кольору, містила ніжну пилувидну азурофільну зернистість.

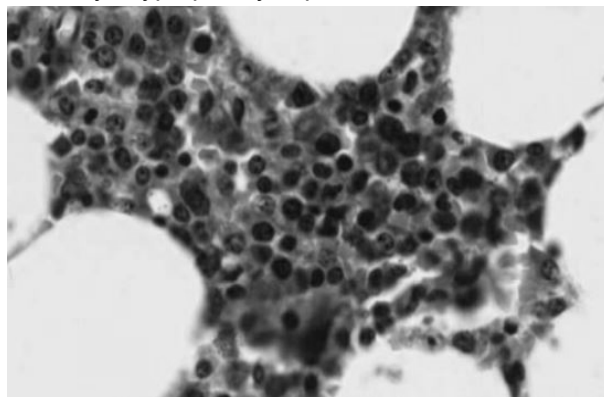


Рис.1. Червоний кістковий мозок контрольної групи тварин. Моноцитарний клон. Заб.: гематоксилін-еозин. Збільшення 200

Моноцит - зріла клітина моноцитарного ряду, округлої форми, діаметром $16,77 \pm 0,18$ мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення 1 : 1. Ядро моноциту мало неправильну форму бобоподібну з нерівними краями і пухку, у вигляді крупнопетлих ниток структур хроматину. Оксіхроматин, присутній в структурі ядра, робить ядро моноцита більш світлим в порівнянні з ядрами нейтрофілів і лімфоцитів (Рис.1). Цитоплазма моноцита була блакитно-сіра, димчаста, непрозора, містила дрібну азурофільну зернистість.

Макрофаги власно кісткової тканини мали неправильну форму, діаметр клітин коливається від $45,19 \pm 1,02$ мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення було зміщене на користь цитоплазми. Ядро має округлу або овальну форму, сітчасту структуру хроматину. Цитоплазма макрофагів рясна, світло-сірого кольору, без чітких контурів, містить різноманітні включення, гранули різного кольору і розмірів, вакуолі, зруйновані клітини, ядра клітин. Така різноманітність включень обумовлена функціональною активністю макрофагів і в першу чергу здатністю до фагоцитозу (Рис.2).

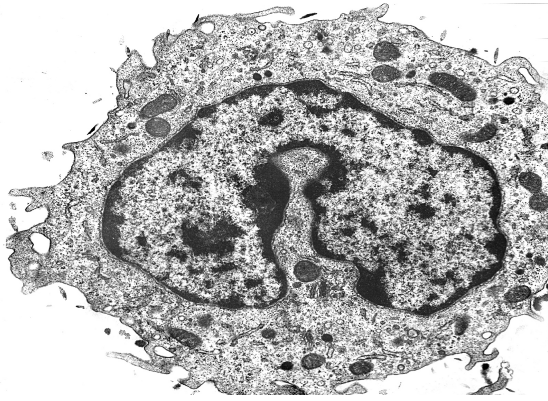


Рис.2. Електронограма макрофагу червоного кісткового мозку контрольної групи тварин. Заб. Збільшення 10000

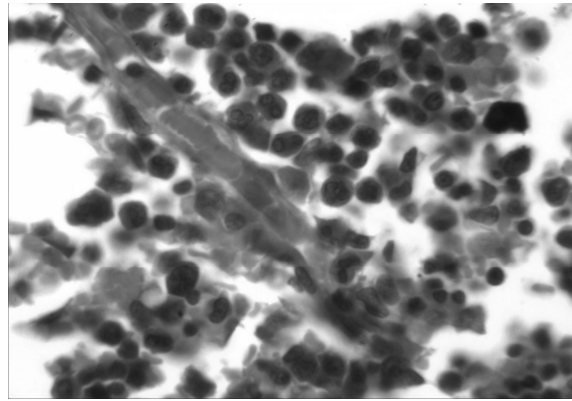


Рис.3. Червоний кістковий мозок на 30-у добу спостереження. Заб.: гематоксилін-еозин. Збільшення 500.

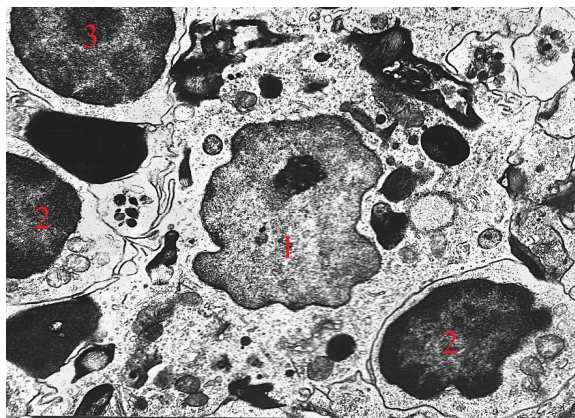


Рис.4. Електронограма моноцитарного клона клітин червоного кісткового мозку на 30-у добу спостереження. Заб. Збільшення 6000.
1 – макрофаг. 2 – промоноцит. 3 – моноцит.

При морфологічному дослідженні червоного кісткового мозку експериментальної групи тварин на 30 день експерименту нами було встановлено, що структура органу була представлена двома компонентами: стромальним та паренхіматозним. Строма була представлена ретикулярними клітинами, що утворювали сітку за допомогою ретикулярних волокон, більша частина якої була пронизана капілярами синусоїдного типу. В середині деяких капілярів спостерігалось щільне розташування еритроцитів у вигляді "стовпчику монет" (Рис.3).

Перикапілярний простір був заповнений гемопоетичними клітинами на різних стадіях диференціювання. Монобластичний клон був представлений клітинами моноцитами, промоноцитами, монобластами та клітинами попередниками, що при світловій мікроскопії мали однакову морфологічну структуру ядра та цитоплазми. При візуалізації напівтонких зрізів та електронограм, нами було встановлено, що монобласти мали округлу форму діаметром $16,2 \pm 0,21$ мкм (Рис.3). Ядерно-цитоплазматичне співвідношення становило 3,97:1. Ядро червонобузкового кольору, округлої, овальної або бобоподібної форми, мали ніжнісітчасту структуру

хроматину та містили по 3 нуклеоли блакитного кольору. Цитоплазма монобластів вузька, блакитного кольору, не містила включень (Рис.3).

Промоноцити, у свою чергу, - це клітини округлої форми, діаметром $12,3 \pm 0,32$ мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення становило 2,87:1. Ядро промоноциту мало овальну, бобовидну форму зі злегка хвилястим контуром, більш грубу, ніж у монобластів структуру хроматину, містить залишки ядерець. Цитоплазма сіро-блакитного кольору може містити ніжну пилоподібну азурофільну зернистість. Сам моноцит округлої форми, діаметром $14,8 \pm 0,43$ мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення приблизно складало 1:1 (Рис.3).

Ядро моноциту мало неправильну форму (бобовидну, часточкову, паличкоподібну), нерівний, фестончастий контур і пухку, у вигляді петлистих ниток, структуру хроматину. Оксихроматин був присутній в структурі ядра. Цитоплазма моноцита була блакитно-сіра, димчаста, непрозора, може містити дрібну азурофільну зернистість. Макрофаги мали неправильну форму, діаметр клітин коливається від $32,6 \pm 8,9$ мкм (Рис.2). Ядерно-цитоплазматичне співвідношен-

ня зміщене на користь цитоплазми. Ядро має округлу або овальну форму, сітчасту структуру хроматину. Цитоплазма макрофагів рясна, світло-сірого кольору, без чітких контурів, містить різноманітні включення, гранули різного кольору і розмірів, вакуолі, зруйновані клітини, ядра клітин (Рис.3).

Таким чином, в результаті морфологічного та морфометричного дослідження, усі показники були статистично достовірно не змінені в порівнянні експериментальної та контрольної групи тварин. Такі дані дають можливість зробити висновок, що центральна депривація тестостерону, за допомогою триптореліну протягом 30 днів, не призводить до кількісних і якісних змін клітин моноцитопоезу, а впливає тільки на зміни в структурі мікроциркуляторного русла кісткового мозку щурів.

Література

1. Atallah A, Mhaouty-Kodja S, Grange-Messent V. Chronic depletion of gonadal testosterone leads to blood-brain barrier dysfunction and inflammation in male mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017; 37(9): 3161-3175.

2. Bahriy MM, Dibrova VA, Popadynets OH, Hryshchuk MI. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen* [Methods of morphological research]. Vinnytsya: Nova knyha; 2016. 328s. (Ukrainian).

3. Liu FH, Yang DZ, Wang YF, et al. Making of the animal model with sterilized testes. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2007; 13(2): 125-9. (Chinese).

4. Merseburger AS, Hupe MC. An Update on Triptorelin: Current Thinking on Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *Adv Ther.* 2016; 33(7): 1072-93.

5. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol.* 2019; 10(2): 63-89.

6. Rice MA, Malhotra SV, Stoyanova T. Second-Generation Antiandrogens: From Discovery to Standard of Care in Castration Resistant Prostate Cancer. *Front Oncol.* 2019; 9: 801.

7. Scovell JM, Khera M. Testosterone Replacement Therapy Versus Clomiphene Citrate in the Young Hypogonadal Male. *Eur Urol Focus.* 2018; 4(3): 321-323.

8. Stetsuk Ye.V, Kostenko VO, Shepitko VI, Goltsev AN. Vplyv 30-dennoy centralnoy deprivacii testosterona na morfolohichni ta funkcionalni osoblivosti intersticialnikh endokrinocitiv ta sustenocytov [Influence of the 30-days central deprivation of testosterone synthesis on the morphological and functional features of rat testicular interstitial endocrinocytes and sustentocytes]. *World of Medicine and Biology.* 2019; 4(70): 228-233. (Ukrainian).

9. Stetsuk YeV, Akimov OYe, Shepitko KV, Goltsev AN. Morfofunkcionalni osoblivosti intersticialnikh endokrinocitiv ta sustenocytov yayechok schuriv pislya 90 dnyv deprivacii centralnogo sinteza testosterona [Morphofunctional features of rat testes interstitial endocrinocytes and sustentocytes after 90 days of central testosterone synthesis deprivation]. *World of Medicine and Biology.* 2020; 1(71): 226-231. (Ukrainian).

10. Travlos GS. Normal Structure, Function, and Histology of the Bone Marrow. *Toxicologic pathology.* 2006; 34(5): 548-566.

Реферат

ВЛИЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ДЕПРИВАЦИИ ТЕСТОСТЕРОНА НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА В МОНОЦИТАРНОМ КЛОНЕ В РАННИЕ СРОКИ ЭКСПЕРИМЕНТА

Мартыненко Р.В.

Ключевые слова: тестостерон, гемопоэз, красный костный мозг, моноцитарный ряд.

Влияние андрогенного дефицита на кроветворение до сих пор не изучено. Известно, что андрогены влияют дважды на систему гемопоэза. Кроветворная ткань является динамической системой, которая постоянно обновляется, вопрос кинетики гемопоэза и его регуляции являются ключевыми для понимания патогенеза заболеваний крови в целом. Определено, что развитие всех кроветворных клеток происходит в результате пролиферации и дифференциации единой полипотентной стволовой клетки крови под влиянием клеток окружения. Влияние длительной центральной депривации синтеза тестостерона на морфологические изменения в органах кроветворения все еще плохо описаны в научной литературе. Цель исследования: оценить микроскопическое строение клеток кроветворения и клеток окружения крыс, при центральной депривации синтеза тестостерона путем инъекции диферелина на 30-й день эксперимента. Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили на 20 половозрелых самцах беспородных белых крыс. Крыс разделили на 2 группы по 10 животных в каждой группе: контрольную и экспериментальную группу. Животным из экспериментальной группы вводили подкожно диферелин (Трипторелиновый эмбонат) в дозе 0,3 мг активного вещества на кг. Крысы из контрольной группы получали инъекцию физиологического раствора. Эксперимент длился 30 дней. Результаты исследования. При морфологическом исследовании красного костного мозга экспериментальной группы животных на 30 день эксперимента нами было установлено, что структура органа была представлена двумя компонентами: стромальным и паренхиматозным. Строма представлена ретикулярными клетками, что образовывали сетку с помощью ретикулярных волокон, большая часть которой была пронизана капиллярами синусоидного типа. В середине капилляров наблюдалось плотное расположение эритроцитов в виде "столбика монет". Перикапиллярное пространство было заполнено гемопоэтическими клетками на разных стадия дифференциации. Монобластический клон был представлен клетками моноцитами, промоноцитами, монобластами, и клетками предшественниками, что при световой микроскопии имеют одинаковое морфологическое строение и структуру.

Summary

THE IMPACT OF CENTRAL DEPRIVATION OF TESTOSTERONE ON THE STRUCTURE OF RED BONE MARROW IN MONOCYTOPOESIS IN THE EARLY TERMS OF THE EXPERIMENT

Martynenko R.V.

Key words: testosterone, haematopoiesis, red bone marrow, monocytopenesis.

The effect of androgen deficiency on haematopoiesis has not been sufficiently studied yet. It is known that androgens have a double effect on the hematopoietic system. Hematopoietic tissue is a continuously regenerating dynamic system; therefore, the issues of hematopoietic kinetics and its regulation are key ones to understand the pathogenesis of blood diseases in general. It has been determined that the development of all hematopoietic cells results from the proliferation and differentiation of a single pluripotent blood stem

cell under the influence of surrounding cells. The effect of prolonged central deprivation of testosterone synthesis on morphological changes in hematopoietic organs is still not enough described in the scientific literature. The aim of this study is to evaluate the microscopic structure of hematopoietic cells in rats during the central deprivation of testosterone synthesis by diferelin injection on the 30 day of the experiment. Materials and methods. The experiment was performed on 20 adult male white rats divided into 2 groups of 10 animals in each group: control and test group. The animals in the experimental group were injected with diferelin (Triptorelin embonate) subcutaneously in a dose of 0.3 mg of active substance per kg / body wt. The rats in the control group received a saline injection. The experiment lasted 30 days. Results. The morphological study of the red bone marrow in the test group of animals on the 30 day of the experiment has demonstrated the structure of the organ is represented by two components: stromal and parenchymal. The stroma consists of reticular cells forming a network of reticular fibers, most of which are threaded with sinusoidal capillaries. In the middle of the capillaries there is a dense arrangement of erythrocytes in the form of a "column of coins". The pericapillary space is filled with hematopoietic cells at different stages of differentiation. The monoblastic clone is represented by monocyte cells, promonocytes, monoblasts, and progenitor cells that are of the same morphological structure and structure under light microscopy.

DOI 10.31718/2077-1096.21.2.146

УДК 616.36 - 002:599.323.4

Мустафіна Г. М.

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕПАТОЦИТІВ БІЛИХ ЩУРІВ

Полтавський державний медичний університет

В даний час відомо, що печінка є поліфункціональним органом з надскладною структурною організацією, в якому, більше 80% клітинної популяції складають гепатоцити - органоспецифічні клітини, які беруть участь в поглинанні, синтезі, накопиченні різних речовин, що виділяються згодом в кров або в жовч. Метою дослідження було отримання на світлооптичному рівні сукупності морфологічних даних, що характеризують особливості будови гепатоцитів білих щурів. Дослідження виконано на 10 безпородних білих щурах обох статей, масою 204 ± 0,67 г. Всі дослідження були проведені відповідно до норм біоетики та етичних принципів роботи з експериментальними тваринами. З препаратів печінки виготовлялися традиційні парафінові блоки і напівтонкі зрізи, які вивчалися за допомогою світлового мікроскопа. Проведеними дослідженнями встановлено, що в тканині печінки інтактних білих щурів в кількісному відношенні переважають гепатоцити. Розмірні характеристики останніх досить варіабельні і коливаються в межах: поперечний розмір 15,38 - 19,41 мкм., поздовжній 21,98 - 26,46 мкм., а середній показник площі гепатоцитів відповідно 432,50 ± 40,93 мкм². Середній діаметр ядер склав 7,61 ± 0,25 мкм, площа ядер 45,46 ± 3,06 мкм². Враховуюче виявлене, середне-арифметично площа цитоплазми складає 387,03 ± 41,03 мкм², а ядерно-цитоплазматичне співвідношення гепатоцитів відповідно в середньому становить 0,119 ± 0,01. Переважна кількість гепатоцитів мали одне ядро, відносна кількість таких клітин склала 79,41%. Відповідно 20,59% гепатоцитів містили два ядра, трьохядерних клітин виявлено не було. Виявлено, що тканина печінки білих щурів контрольної групи представлена переважно гепатоцитами з помірною кількістю рівномірно розподілених гранул глікогену, що займають переважно проміжні відділи печінкових часточок. Дослідженням напівтонких зрізів встановлена поліморфність популяції гепатоцитів, серед яких на підставі тінкторіальних властивостей ядра та цитоплазми можливо виділити чотири типи гепатоцитів, при цьому кількісно переважають гепатоцити з помірною базофілією цитоплазми та темним ядром. Висловлюється припущення, що на класичних гістологічних препаратах морфологічна картина гепатоцитів обумовлена, в першу чергу, кількістю глікогену в цитоплазмі, а на напівтонких зрізах, вочевидь знаходять відображення й інші функціональні особливості окремих печінкових клітин, такі як ступінь продукції жовчі, секреції білків, жирів та інших речовин. Таким чином особливості структурної організації різних типів гепатоцитів необхідно враховувати при диференціальній діагностиці нормального функціонального стану клітин і розвитку в останніх дистрофічних процесів.

Ключові слова: печінка, гепатоцити, білі щури, глікоген, ядра.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження є фрагментом планової науково-дослідної роботи "Закономірності морфогенезу органів, тканин та судинно-нервових утворів у нормі, при патології та під впливом екзогенних чинників", № держреєстрації 0118U004457.

Структурна організація печінки, зміни що виникають в ній під дією різних патогенних ендотаж екзогенних факторів є об'єктом численних експериментальних і клінічних досліджень [1]. В даний час відомо, що печінка є складноорганізованим поліфункціональним органом, в якому, бі-

льше 80% клітинної популяції складають гепатоцити - органоспецифічні клітини, які беруть участь в поглинанні, синтезі, накопиченні різних речовин, що виділяються згодом в кров або в жовч [2,3].

Значна частина робіт останніх років присвя-