

DOI 10.31718/2077-1096.22.2.92

УДК 611.018:612.08

Шерстюк О.О., Гринь В.Г., Тарасенко Я.А., Тихонова О.О., Литовка В.В.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ МОРФОЛОГІЧНОЇ КАРТИНИ, ЯКА СПОСТЕРІГАЄТЬСЯ НА ГІСТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТАХ З ТОЧКИ ЗОРУ СТЕРЕОЛОГІЇ

Полтавській державний медичний університет

Матеріалом для досліджень послужив архівний матеріал 8 препаратів піднебінних та губних слинних залоз дорослої людини, який був фіксований у 4% розчині глютарового альдегіду на фосфатному буфері (рН 7,4). Після попередньої фіксації об'єкт розсікали на окремі частини та фіксували у свіжоприготовленому аналогічному фіксаторі з додаванням 1% розчину хлористого кальцію при 4°C протягом 12 годин. Після закінчення фіксації тканину промивали від надлишків фіксатора та обробляли згідно рекомендацій щодо електронної мікроскопії. Тканини, укладені в епоксидну смолу, слугували для отримання напівтонких серій гістологічних зрізів, на основі яких була виконана графічна і пластична реконструкція епітеліальних компонентів, (зокрема трубчастих) залоз. Напівтонкі зрізи фарбували розчином 0,1% толуїдинового синього на фосфатному буфері з різними рН (від 5,5 до 8,5). Результати. Спіралеподібна, штопороподібна, звивиста, арочна та інші форми біологічних трубчастих структур на мікроскопічному рівні не є винятком і, як показують у тому числі й наші дослідження, є закономірним явищем поряд з їхньою прямолінійною формою. Можна припустити, що взаємозалежність форми трубчастих транспортних мікроканалів та ламінарний рух рідини закономірно відображають елементи криволінійної симетрії і, зокрема, її спіралеподібну властивість. Висновок. Отже, можна думати, що звивиста форма транспортних каналів тканин людини та тварин є корисним стереоморфологічним пристосуванням, а їх вивчення та тривимірне моделювання становить науковий інтерес, зокрема для пізнання механізму ламінарного руху рідини по біологічних трубках.

Ключові слова: стереоморфологія, анатомія, тривимірні (3-Д) зображення, просторова організація біологічних мікрооб'єктів.

Робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини «Морфофункціональне вивчення внутрішніх органів людини та лабораторних тварин в різних аспектах експериментальної медицини», № державної реєстрації 012U108258.

Стереоморфологія мікроструктур різних тканин людини і тварин, локалізованих у товщі гістологічних зрізів, де товщина мало співставна з їх довжиною і шириною і практично може вважатися 2-Д зображенням, викликає для дослідника початківця певні труднощі при їх трактуванні. Їх тривимірні (3-Д) зображення можна отримати, лише засвоївши низку морфологічних методик. Вивчення біологічного мікрооб'єкта з позицій тривимірності дає досліднику найбільш правильне уявлення, тому що визначається пристосованим для цього властивим нам органом зору.

Матеріал та методика дослідження

Отримання необхідного біологічного матеріалу для досліджень у кількісному та якісному відношенні нині у вигляді юридичних та гуманітарних причин становить непросте завдання. Це змушує максимально раціонально використовувати отриманий та архівний матеріал за допомогою найбільш адекватних та відпрацьованих багато разів на кафедрі анатомії Полтавського державного медичного університету морфологічних методів, до яких належать зокрема: традиційні гістологічні методи та метод отримання серійних напівтонких епоксидних зрізів, способи виготовлення об'ємних (тривимірних – 3Д) препаратів методом багаточислової пластичної реконструкції на основі попереднього виготовлення та аналізу двовимірних (2-Д) фотореконструкцій [1, 5].

Матеріалом для досліджень послужив архів-

ний матеріал 8 препаратів піднебінних та губних слинних залоз дорослої людини, який був фіксований у 4% розчині глютарового альдегіду на фосфатному буфері (рН 7,4). Після попередньої фіксації об'єкт розсікали на окремі частини та фіксували у свіжоприготовленому аналогічному фіксаторі з додаванням 1% розчину хлористого кальцію при 4°C протягом 12 годин. Після закінчення фіксації тканину промивали від надлишків фіксатора та обробляли згідно рекомендацій щодо електронної мікроскопії. Тканини, укладені в епоксидну смолу, слугували для отримання напівтонких серій гістологічних зрізів на основі яких була виконана графічна і пластична реконструкція епітеліальних компонентів, (зокрема трубчастих) залоз. Напівтонкі зрізи фарбували розчином 0,1% толуїдинового синього на фосфатному буфері з різними рН (від 5,5 до 8,5).

Результати дослідження та їх обговорення

Уявлення морфологів про просторову організацію біологічних мікрооб'єктів базуються на двох принципово різних підходах [1,2]. Перший заснований на створення тривимірної реконструкції мікрооб'єкта за допомогою серій гістологічних зрізів. Для цієї мети на нашій кафедрі ми першими використовували напівтонкі епоксидні серії зрізів. Цей метод трудомісткий, вимагає дотримання деяких правил та певних мануальних навичок. Він не дозволяє швидко і одночасно досліджувати велику кількість об'єктів, але дає наочне тривимірне уявлення про досліджувані

мікрооб'єкти.

Другий метод реконструкції був розвинутий та обґрунтований за допомогою статистичних методів, що дозволяють проведення дослідження на одному зрізі за допомогою стандартних тест систем. Цей стереологічний принцип реконструкцій має математичну складову, більш абстрактніший, але дозволяє одночасно вивчати велику кількість об'єктів. Якщо зважити на первинне завдання тривимірного реконструювання – дослідження просторової тривимірної організації мікрооб'єкта, найбільш прийнятним у нашому випадку, є класичний метод. Саме він був нами обраний для дослідження систем екскреторних проток досліджуваних залоз.

Отже, морфологу-початківцю необхідно розуміти, що будь-який гістологічний зріз, отриманий за допомогою мікротома на основі парафінових або епоксидних блоків, все ж таки являє собою трьохвимірну структуру, товщина якої дуже мала в порівнянні з її довжиною і шириною. У парафінових зрізів товщина може бути різною, найчастіше вона становить 5-7 мкм. Напівтонкі епоксидні зрізи мають товщину 2-3 мкм. При спробах інтерпретувати візуалізовану гістологічну картину на таких гістологічних препаратах виникає декілька труднощів.

По-перше, кожен препарат - це лише 1 зріз тканини. Вивчення лише поодиноких зрізів може призвести до помилок і неправильного морфологічного трактування зображення. Тому, для стереоморфолога більш доцільне вивчення послідовної серії гістологічних зрізів по глибині досліджуваної тканини. При цьому втрати у процесі виготовлення послідовних серійних зрізів мають бути мінімальними. На основі таких зрізів повноцінну стереоморфологічну (3-Д) картину можна уявити лише за допомогою реконструкцій вибраних мікроструктур тканини при математичному розрахунку їх кратного збільшення. Для цього використовують відповідні комп'ютерні програми або класичні методи графічної поліхромної селективної, а потім пластичної реконструкції. Також за допомогою комп'ютерного моделювання на основі серій послідовних гістологічних зрізів можливим є отримання полімерних реконструкцій за допомогою 3-Д принтера. Такі реконструкції можна «розрізати» у різних площинах для вивчення їх внутрішньої структури. Просторові реконструкції біотрубок (вивідних проток) можуть бути виконані дискретно: тільки за зовнішнім або внутрішнім контуром. В деяких випадках нами застосовувався комбінований метод реконструкції, як пластичним (на основі воску), так і полімерним матеріалом (на основі акрилових пластмас) [2,5].

Друге ускладнення, що виникає при інтерпретації гістологічних препаратів, полягає у вмінні розпізнавати та інтерпретувати на окремих зрі-

зах різні структури, загальна форма яких на макроскопічному рівні попередньо відома. Зокрема, у низці досліджень ми маємо справу з вивідними протоками екзокринних залоз людини і тварин, які є епітеліальними мікротрубками неоднакового діаметру і різною товщиною їх епітеліальної стінки. Як і будь-яка труба циліндричної форми, мікротрубки мають люмінальний контур (просвіт), що відповідає внутрішньому діаметру, зовнішній діаметр та товщину стінки. Трубчаста структура також властива судинним ланкам гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР), венозна частина яких (посткапілярна веноула, веноула) має тісну синтопічну єдність з епітеліальною стінкою екскреторних проток трубчастої форми. По цих біологічних трубках, які є каналами транспортних систем, реалізується рух рідких біологічних середовищ.

Важкість розпізнавання таких трубчастих структур на окремих гістологічних препаратах обумовлена тим, що зріз може пройти через них у поздовжньому, косому або поперечному напрямках (рис.1).

Протягом вивідних проток часто візуалізуються не тільки їх вигини, але й обертання навколо своєї поздовжньої осі аж до явища спіралізації (рис.3). Говорячи про спіралізацію трубчастих структур, можна замислитися, чому вона існує в транспортних системах організмів і яке функціональне призначення цього явища, тобто визначити зв'язок структури та функції. Добре відомо, що спіралеподібна, штопороподібна, звивиста, аroachна та інші форми біологічних трубчастих структур на мікроскопічному рівні не є винятком і, як показують у тому числі й наші дослідження, є закономірним явищем поряд з їхньою прямолінійною формою. Можна припустити, що взаємозалежність форми трубчастих транспортних мікроканалів та ламінарний рух рідини закономірно відображають елементи криволінійної симетрії і, зокрема, її спіралеподібну властивість.

Нами також, дуже часто по ходу вивідних проток екзокринних залоз, визначаються різкі розширення люмінального контуру (внутрішнього діаметра), що чергуються зі значними його звуженнями (рис.4). Ця послідовність зміни діаметрів проток була названа явищем «сифонізації» трубчастих біологічних структур. Слід зазначити, що це явище, зокрема, притаманно слинним залозам дорослої людини, але відсутнє у слинних залозах новонароджених, де ще не сформовані місця ретенції та депонування секрету. [3, 4, 6].

В ампулоподібних розширеннях залозистих проток секрет накопичується та депонується, потік рідини уповільнюється, тим самим створюються умови взаємодії між протоками та ємнісними сегментами ГМЦР. Така взаємодія здійснюється через їх епітеліальні стінки, а опосеред-

кованим середовищем є інтерстиціальна рідина. У звужених місцях проток внаслідок їх малого внутрішнього діаметра і, можливо, «ефекту капілярності», рідина перетікає далі по протоках. Дане явище послідовно може багаторазово по-

вторюватися, тобто зміна геометрії біологічних трубок може бути одним із механізмів руху ламінарного потоку рідини.

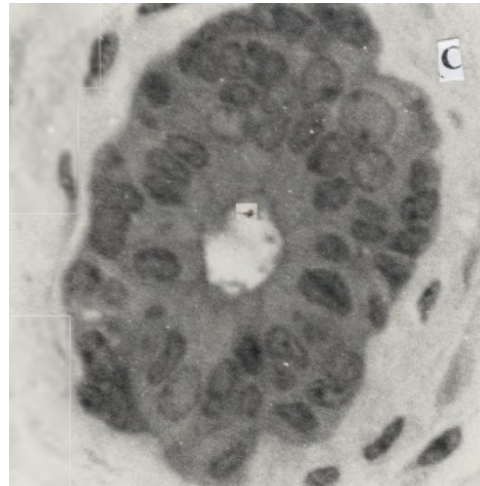
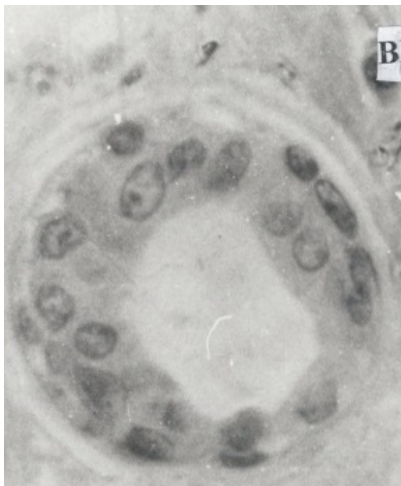
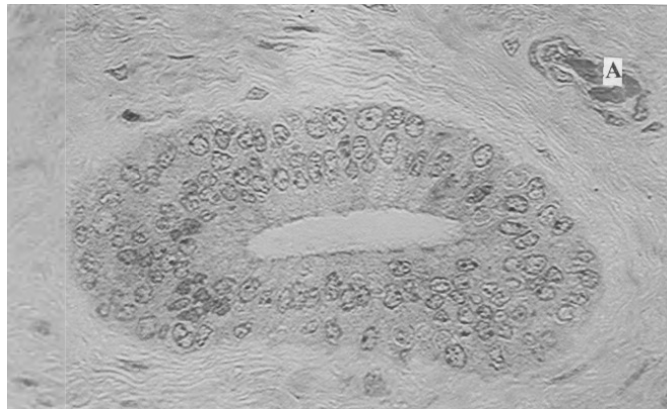


Рис. 1. Головна вивідна протока малих слинних залоз людини. Напівтонкі епоксидні зрізи, забарвлення толуїдиновим синім. Об'єктив 20, окуляр 10. А - зріз пройшов у тангенціальному напрямку, В - зріз пройшов у поперечному напрямку, С - зріз пройшов в області різко звуженого на виході гирла протоки.

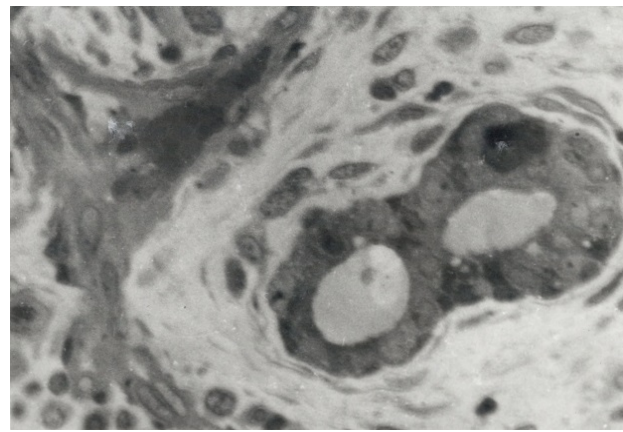
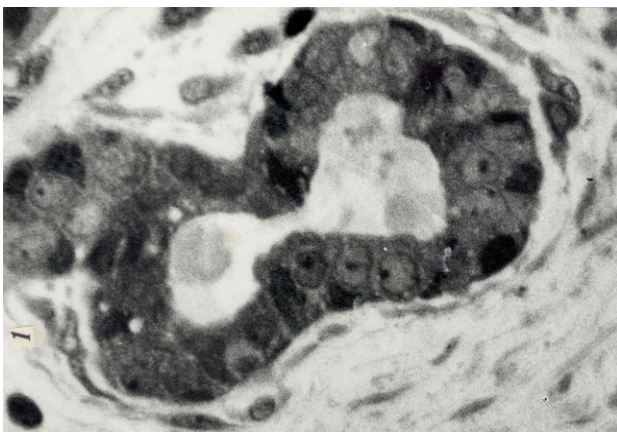


Рис. 2. Міжчасточкові вивідні протоки малих слинних залоз людини. Напівтонкі епоксидні зрізи, забарвлення толуїдиновим синім. Об'єктив 20, окуляр 10. Зріз пройшов в області їх вигину на різних рівнях.

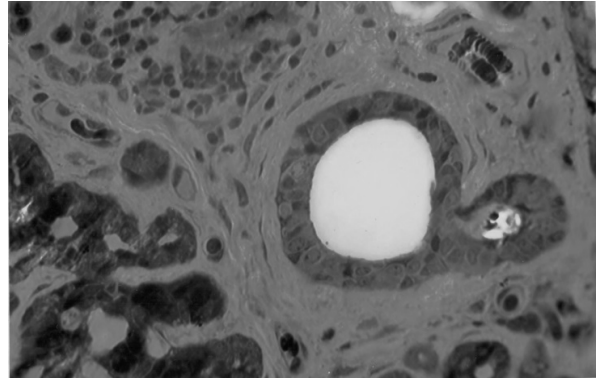
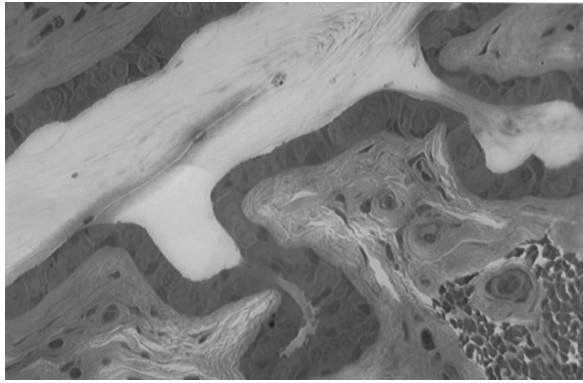


Рис.3. Спіралізація міжчасточкових вивідних проток малих слинних залоз людини. Напівтонкі епоксидні зрізи, забарвлення толуїдиновим синім. Об'єктив 20 окуляр 10.

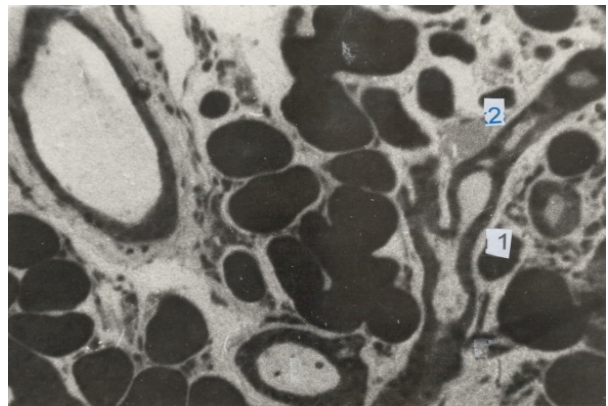
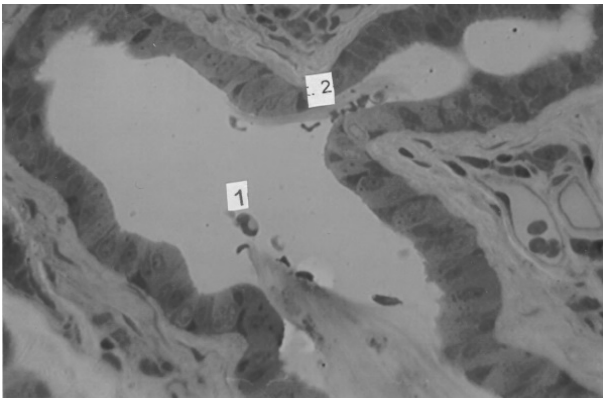


Рис. 4. «Сифонізація» міжчасточкових вивідних проток малих слинних залоз людини. Напівтонкі епоксидні зрізи, забарвлення толуїдиновим синім. Об'єктив 20, окуляр 10. 1 - місця депонування секрету в ампулоподібних розширеннях, 2 - місця ретенції секрету в різко звужених просвітах проток.

Слід зазначити, що у тварин і людини, які ведуть рухливий спосіб життя на відміну від рослин, сформувалася активна система трубчастих каналів, що піддається постійним змінам. Якщо закономірності турбулентного руху крові по судинах завдяки роботі серця у людини і тварин вивчені досить глибоко, то механізми ламінарного струму рідини, наприклад, по вивідних протоках слинних і слізних залоз, що представляють з точки зору фізики замкнені трубчасті системи, залишаються, значною мірою, дискусійними.

Висновок

Отже, можна думати, що звивиста форма транспортних каналів тканин людини та тварин є корисним стереоморфологічним пристосуванням, а їх вивчення та тривимірне моделювання становить науковий інтерес, зокрема для пізнання механізму ламінарного руху рідини по біологічних трубках.

Література

1. Sherstiuk O, Svintsytska N, Ustenko R, et al. Stereomorfologiya: istoriya i perspektivy ee razvitiya dlya teorii i praktiki medycyny [Stereomorphology: history and prospects of its development for the theory and practice of medicine]. Aktual'ni problemi suchasnoi medycini: Visnik Ukrain's'koi medichnoi stomatologichnoi akademii. 2020; 1(69):186–192. (Ukrainian).
2. Kacenko A, Sherstyuk O, Litovka V, Svintsytska N. Strukturna organizaciya zalozistih komponentiv ekstraorbital'noi ta infraorbital'noi sl'ozovih zaloz laboratornogo shchura [Structural organization of the glandular components of the extraorbital and infraorbital lacrimal glands of the laboratory rat]. Visnik problem biologii i medycini. 2020; 2 (156):259–262. (Ukrainian).
3. Katsenko A, Sherstiuk O, Svintsytska N, et al. General biological patterns of the structure of human major and minor lacrimal glands and under-researched aspects of their morphology. Aktual'ni problemi suchasnoi medycini: Visnik Ukrain's'koi medichnoi stomatologichnoi akademii. 2019; 2 (66):229–234. (Ukrainian).
4. Sherstyuk O, Litovka V, Kacenko A, et al. Strukturna organizaciya orbital'noi chastini chastki sl'ozovoї zalozi lyudini [Structural organization of the orbital part of the part of the mucosa of the human]. Morfologiya. 2020; 14(3):118–12. (Ukrainian).
5. Grin' V, Sherstyuk O, Svincic'ka N, Fedorchenko I. Viktoristannya sposobu modelyuvannya atlanta (S1) lyudini za dopomogoyu 3D skul'ptingu [Using the method of modeling an atlas (C1) human 3d sculpting]. Visnik problem biologii i medycini. 2021; 1(159):171–173. (Ukrainian).
6. Sherstyuk O, Svincic'ka N, Pilyugin A, et al. Prostorova organizaciya vividnih protok pal'pebral'noi chastki sl'ozovoї zalozi lyudini [Spatial organization of output ducts of the palpebral part of the human tear gland]. Biologiya ta ekologiya. 2021; 7(1):64–69. (Ukrainian).

Summary

INTERPRETATION OF MORPHOLOGICAL PICTURE OBSERVED IN HISTOLOGICAL PREPARATIONS FROM THE POINT THE VIEW OF STEREOLOGY

Sherstiuk O.O., Hryn V.H., Tarasenko Ya.A., Tykhonova O.A., Lytovka V.V.

Key words: stereomorphology, anatomy, three-dimensional (3-D) images, spatial organization of biological microobjects.

The study of a biological microobject from the standpoint of three-dimensionality gives more correct and realistic vision. The study material included 8 preparations of the palatine and labial salivary glands of adult human individuals fixed in 4% glutaraldehyde solution in phosphate buffer (pH 7.4). Following pre-fixation, the object was cut into individual slices and fixed in a freshly prepared similar fixator adding 1% calcium chloride solution at 4 °C for 12 hours. The tissue was washed after the fixation and then processed according to the requirements for electron microscopy. Tissues enclosed in epoxy resin were used to obtain semi-thin series of histological sections for further graphic and plastic reconstruction of epithelial components (including tubular) glands. Semi-thin sections were stained with 0.1% toluidine blue in phosphate buffer with different pH (from 5.5 to 8.5). Spiral, corkscrew, tortuous, arched and other forms of biological tubular structures at the microscopic level are no exception and, as our study shows, are natural phenomena along with their rectilinear shape. It can be assumed that the interdependence between the shape of the tubular transport microchannels and the laminar motion of the fluid naturally reflects the elements of curvilinear symmetry and, in particular, its spiral property. Conclusion. Thus, we could assume that the tortuous shape of transport channels of human and animal tissues is a useful stereomorphological device, and their study and three-dimensional modelling is of great scientific interest, in particular, for understanding the mechanism of laminar fluid movement through biological tubes.