

Електронномікроскопічне дослідження лейкоцитів периферичної крові собак

К. П. Зак, В. А. Майський, Н. І. Надгорна

*Лабораторія фізіології і лабораторія гематології та цитохімії Київського
науково-дослідного інституту ендокринології та обміну речовин
Міністерства охорони здоров'я УРСР*

Серед величезної кількості праць, присвячених вивченню ультраструктури клітин різних органів і тканин, електронномікроскопічні дослідження формених елементів крові займають досить скромне місце. Ці дослідження стосуються переважно клітин крові здорової і хворої людини [1, 2, 3, 4, 5, 7]. З цього питання ми тепер уже маємо кілька хороших атласів [4, 5, 7].

Разом з тим, вивчення будови лейкоцитів експериментальних тварин під електронним мікроскопом відбито в літературі в ще меншому обсязі [6, 8, 9, 11]. Особливо це стосується клітин білої крові собак.

В цьому повідомленні наведені результати досліджень ультраструктури лейкоцитів крові собак — тварин, які широко використовуються у найрізноманітніших галузях експериментальної біології та медицини.

Методика досліджень

Робота проведена на семи безпородних собаках-самцях вагою 18—20 кг. Кров для досліджень брали з вени передньої лапи шприцом, обробленим гепарином з розрахунку 2 од. на 1 мл крові. Одержану кров потім поміщали в охолоджену льодом пробірку і негайно центрифугували. Після центрифугування плазму відсмоктували, а лейкоцитарну плівку фіксували в однопроцентному розчині чотириокису осмію на веронал-ацетатному буфері, збездволювали в спиртах висхідної міцності і заливали в суміш метил- і бутіл-метакрилатів у співвідношенні 1:4 з добавкою однопроцентного перекису бензоїлу. Полімеризація провадилась при 60°С протягом 18—20 год. Ультратонкі зрізи приготувляли на мікротомах LKB-4800 та Нікловіце, контрастували 2%-ним водним розчином ураніл-ацетату. Електронномікроскопічне дослідження проводили на електронному мікроскопі JEM-7 при прискорюючому напруженні 80 кВ.

Результати досліджень та їх обговорення

На рис. 1 наведена електронна мікрофотографія типової ультраструктури дозрілого сегментоядерного нейтрофіла собаки. Виразно видно три сегменти ядра, а з'єднувальні перемички між ними не увійшли в площину зрізу. Ці сегменти мають властивий нейтрофілам людини і тварин вигляд: скупчення хроматину по краях ядра, яке безпосередньо примикає до чітко виражених мембран. Рідше електроннооптична речовина може захоплювати і центр однієї з часток ядра.

В цитоплазмі клітини спостерігаються невеликі мітохондрії, які найчастіше мають паличковидну форму. Структура однієї з таких мітохондрій при великому збільшенні зображена на рис. 5—2. Пухирці ен-

доплазматичної сітки зустрічаються в помірній кількості на кожному препараті; зрідка поблизу ядра можна бачити апарат Гольджі. Специфічні нейтрофільні гранули дуже дрібні (0,1—0,3 мк); до того їх знач-

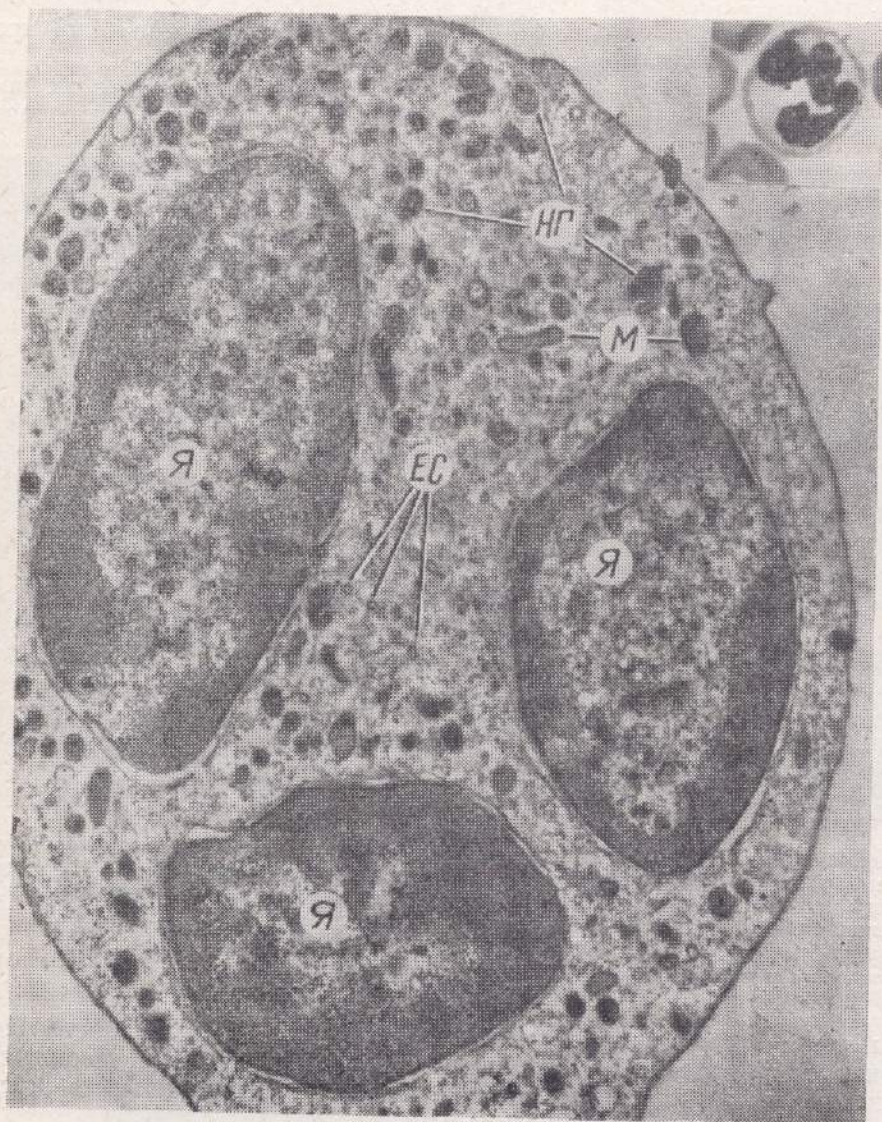


Рис. 1. Сегментоядерний нейтрофіл. Три сегменти ядра (Я) видно як окремі утворення перемички, що з'єднують їх, і не увійшли в площину зрізу. Характерний рисунок нуклеоплазми, оточеної двоконтурною мембраною. В цитоплазмі помітні різного розміру специфічні нейтрофільні зерна (НГ), мітохондрії (М) і дрібні пухирці ендоплазматичної мережі (ЕС).

Електронна мікрофотографія. $\times 21\,600$. У правому верхньому куті мікрофотографія нейтрофіла в світловому мікроскопі. $\times 1260$.

но менше, ніж у людини і лабораторних тварин, що узгоджується з даними світлової мікроскопії.

Добре відомо, що при пофарбуванні крові за Романовським або навіть за Май-Грюнвальд — Романовським нейтрофільні гранули в лейкоцитах собак виявляються дуже слабо [10]. Іноді при розгляді де-

яких клітин у світловому мікроскопі в мазках зовсім не вдається побачити зернистість у цитоплазмі навіть при чудовому паноптичному забарвленні із суворим додержанням відповідного рН забарвлюючого розчину.

Для ілюстрації тонкої структури еозинофільні клітини білої крові собаки наведені на рис. 2, 5—3.

В ядрі, звичайно двосегментному, у більшості досліджених нами еозинофілів, як і у нейтрофілів, видно дві зони електроннооптичної

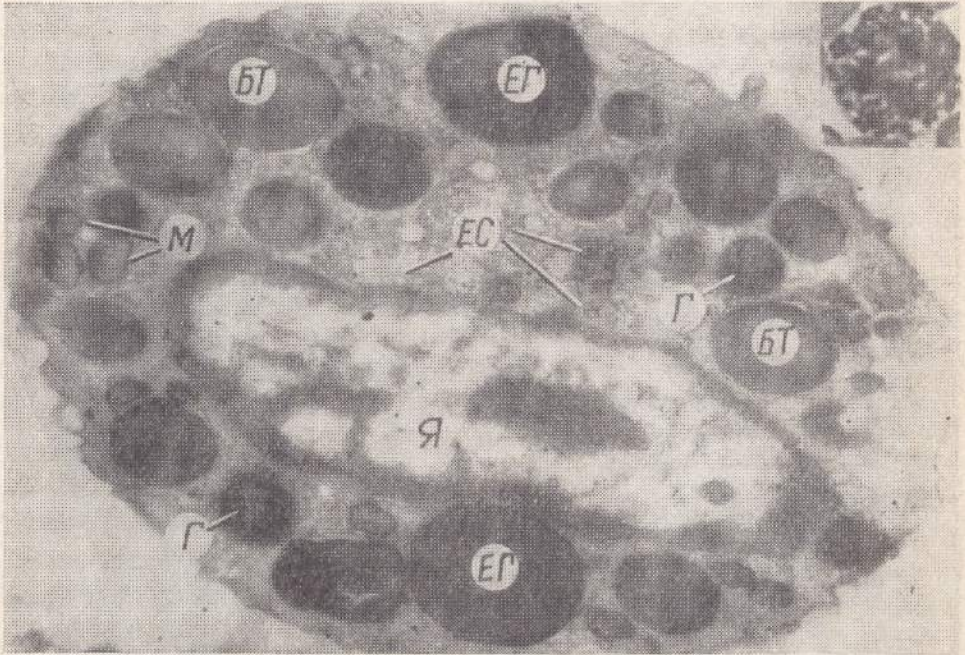


Рис. 2. Еозинофіл. В площині зрізу видно одну частку ядра (Я), оточену подвійною мембраною з характерним розподілом хроматину. В цитоплазмі є три види гранул: «справжні» еозинофільні гранули (ЕГ), в деяких з них видно електроннощільні вclusions, базофільні тільца (БТ) і зерна без мембран (Г). Чітко контурують пухирці ендоплазматичної мережі (ЕС).

Електронна мікрофотографія. $\times 17\,100$. В правому верхньому кутку мікрофотографія еозинофіла в світловому мікроскопі. $\times 1260$.

щільності: більш щільна у вигляді пояса різної ширини безпосередньо прилягає до подвійної ядерної мембрани, більш світла розташовується в центральній частині. Нерідко в самому центрі ядра також є скупчення хроматину у вигляді нерівного тяжа або овалу.

Специфічні гранули мають круглу або овальну форму розміром (0,4—1,5 мк). Вони оточені двоконтурною мембраною (рис. 5), їх розмір варіює. На відміну від крові людини, морської свинки і кішки [8] в зернах еозинофілів не вдається виявити серединні ущільнення геометричної форми (так звані кристалоїди або пластинки Ватанабе). Більшість гранул гомогенно повністю заповнена щільною електронномікроскопічною речовиною. Однак деякі гранули містять щільніші не зовсім рівні вclusions звичайно круглої або овальної форми, як це видно на рис. 2.

Поряд з типовими еозинофільними зернами зрідка можна бачити електроннощільні зерна з розпливчастими краями. Ці позбавлені мембран гранули, мабуть, зазнають розпаду або лізису.

На електронній мікрофотографії (рис. 2) чітко видно також базofilні тільця, які мають однорідну, менш щільну, ніж специфічні зерна, структуру і оточені фестончастою мембраною, яка подекуди відстає від поверхні зерна.

Мітохондрії, звичайно круглі або овальні (іноді трохи більшого розміру, ніж у нейтрофілів), розташовані в різних ділянках цитоплазми. Деякою мірою більше, ніж у нейтрофілів, виражена ендоплазматична мережа, пухирці якої розкидані по всій клітині.

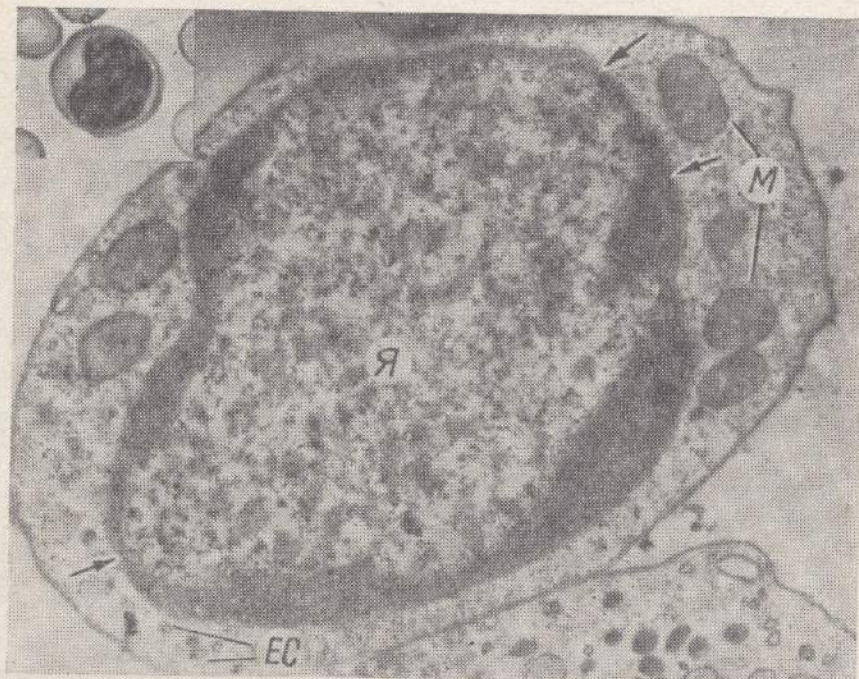


Рис. 3. Лімфоцит. Ядро (Я) типової форми заповнює більшу частину клітини. Відзначається відносна однорідність рисунка. Ядро оточене чітко розрізняваною подвійною мембраною (показано стрілками). В цитоплазмі характерні великі мітохондрії (М) з добре спостережуваними кристами в них. В нижньому полюсі помітна невелика кількість маленьких пухирців ендоплазматичної мережі (ЕС).

Електронна мікрофотографія. $\times 23\,600$. В лівому верхньому кутку мікрофотографія лімфоцита в світловому мікроскопі. $\times 1260$.

Певною схожістю відзначаються окремі малі і середні лімфоцити людини і собаки. Електронномікроскопічна мікрофотографія одного з таких лімфоцитів наведена на рис. 3. Це звичайно кругла або овальна клітина з великим бухтоподібним круглим або овальним ядром, яке займає більшу частину клітини. Ядро оточене вираженою подвійною мембраною. Рисунок щільностей нуклеоплазми більш однорідний, ніж у нейтрофілів та еозинофілів, хоч щільний компонент все ж дуже часто знаходиться ближче до ядерної мембрани, ніж, за даними Лоу і Фрімена [7], що менш характерно для лімфоцитів людини. Нерідко в центрі ядра клітин з великою цитоплазмою спостерігається ядерце.

В цитоплазмі завжди є декілька (звичайно, чотири-п'ять і більше) круглих, овальних і рідше паличкоподібних типових мітохондрій з добре розрізняваними кристами в них (рис. 3 і 5-1). Ендоплазматична мережа скудна. Іноді в площині зрізу вдається спостерігати апарат

Гольджі. В цитоплазмі деяких лімфоцитів є скупчення дрібних неспецифічних електроннощільних зерен.

Як видно, у собак рідко трапляються типові моноцити, тому деякі автори називають ці клітини у собак мононуклеарами. Під час розгляду в світловому мікроскопі мазків крові, забарвлених за Май-Грюнвальд — Романовським, спостерігається певна кількість так званих «пе-

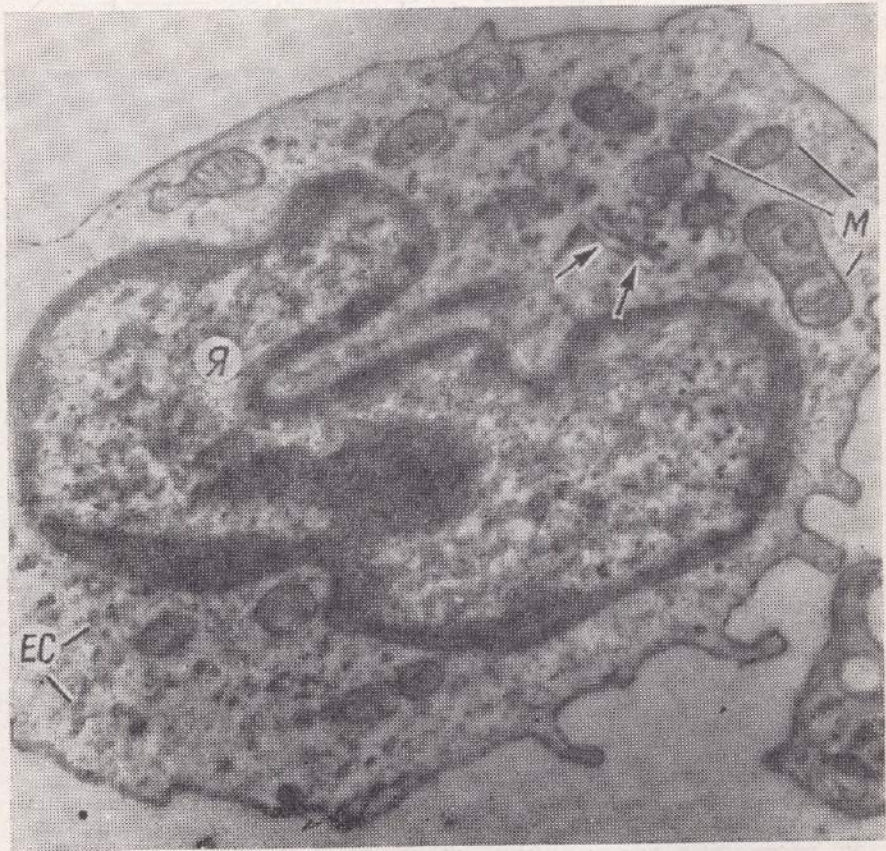


Рис. 4. Мононуклеар. Типовий контур ядра (Я) з наявністю двох щільностей, причому щільніший компонент у вигляді пояса примикає до ядерної мембрани. Деяка конденсація хроматину в центрі нуклеоплазми. Значна кількість мітохондрій різного розміру і форми з чітко вираженими кристами. Багато пухирців ендоплазматичної мережі (ЕС). Стрілками показано апарат Гольджі.

Електронна мікрофотографія. $\times 20\,400$.

рехідних» клітин, які важко віднести або до великих лімфоцитів, або до моноцитів, оскільки вони мають ряд ознак, характерних як для одних, так і для інших формених елементів.

Мікрофотографія однієї з таких клітин демонструється на рис. 4. Вона має ядро, за формою типове для мононуклеара. Рисунок нуклеоплазми близький до розподілу щільностей в ядрі людини — чітка конденсація хроматину у вигляді нерівного пояса, який безпосередньо примикає до ядерної мембрани. Ущільнення в центрі ядра, мабуть, зумовлено наявністю нуклеоли.

Цитоплазма клітин значно багатша, ніж лімфоцити, які ми спостерігали, а профілі ендоплазматичної мережі розкидані по всій про-

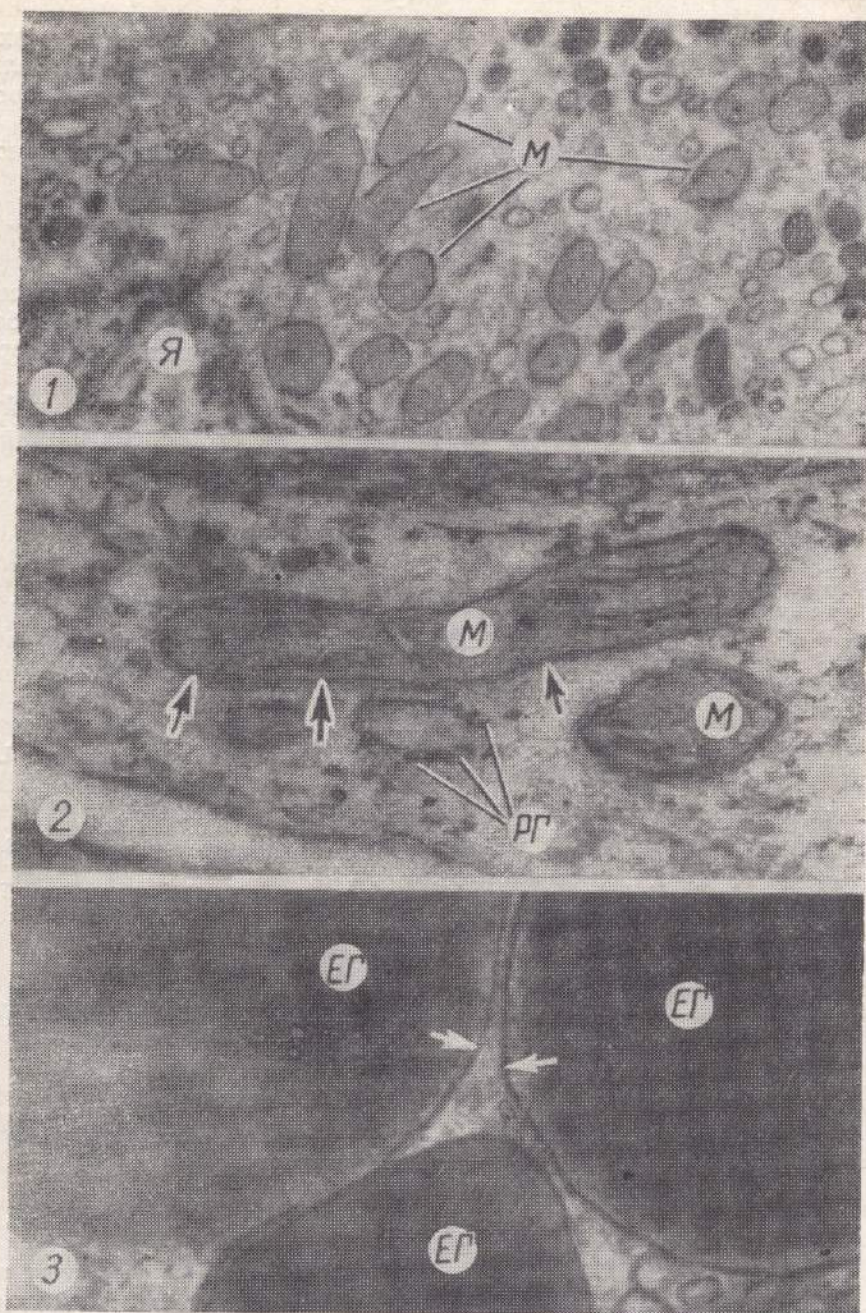


Рис. 5. Органоїди лейкоцитів собаки при великому збільшенні.

1 — скупчення мітохондрій з чітко вираженими кристами в цитоплазмі лімфоцита поблизу ядра (Я). В правому верхньому кутку видно неспецифічні зерна, які в лімфоцитах спостерігаються рідко. $\times 23\,400$. 2 — мітохондрії (М) нейтрофілів різного розміру і форми, оточені двоконтурною мембраною (показано стрілками); добре видно їх внутрішню структуру. На мікрофото можна розрізнити рибосоми (РГ), фіксовані на мембрані пухирця ендоплазматичної мережі. $\times 90\,000$. 3 — будова мембран (показано стрілками), які оточують еозинофільні зерна (ЕГ). В правому нижньому куту видно контури ендоплазматичної мережі. $\times 90\,000$.

топлазмі. В ній є багато мітохондрій різної форми, частина з них за розміром менша, ніж у лімфоцитах. Добре видно зону Гольджі. Велика кількість профілів ендоплазматичної мережі надає цитоплазмі строка- того вигляду.

Усе це дає нам право віднести такого роду клітини до мононуклеарів.

Висновок

На підставі електронномікроскопічного дослідження було встановлено, що ультраструктура різних клітин білої крові собаки має багато схожого з аналогічними формами лейкоцитів інших лабораторних тварин, а також людини.

Разом з тим виявилось, що субмікроскопічна структура нейтрофільних і, особливо, еозинофільних гранул має свої специфічні риси. Значні відмінні спостерігаються у будові мононуклеарів.

Література

1. Надгорная Н. И.— Цитология, 1961, 3, 198.
2. Терентьева Э. И.— Проблемы гематолог. и переливания крови, 1960, 5, 3.
3. Терентьева Э. И., Леонтович В. А., Шишканова З. Г., Абезгауз Н. Н.— Пробл. гематолог. и переливания крови, 1966, 11, 28.
4. Bessis M.— Ultra-Structure de la Cellule, Sandoz, 1960.
5. Bessis M., Thiery J. P.— Review of Cytology, Academic Press, New York, 1961, 12.
6. Ichikawa Y.— Acta Haematol. Japan, 1958, 21, 885.
7. Low F. N., Freeman J. A.— Electron Mikroskopische Atlas of Normal and Leucemic Human Blood. Mc Graw-Hill Co, New York — Toronto — London, 1958.
8. Osako R.— Acta Haematol. Japan, 1959, 22, 134.
9. Sheldon H., Letterquist H.— Bull. J. Hopk. Hosp., 1955, 96, 135.
10. Schermer S.— Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, Leipzig, 1958.
11. Watanabe Y.— J. Electronmicroscopy, 1954, 2, 34.

Надійшла до редакції
25.X 1966 р.

Электронномикроскопическое исследование лейкоцитов периферической крови собак

К. П. Зак, В. А. Майский, Н. И. Надгорная

Лаборатория физиологии и лаборатория гематологии и цитохимии Киевского научно-исследовательского института эндокринологии и обмена веществ Министерства здравоохранения УССР

Резюме

С помощью электронного микроскопа JEM-7 изучалась ультраструктура клеток белой крови здоровых собак. В результате проведенных исследований установлено, что ультраструктура нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов крови собаки (рис. 1, 2, 3) имеет много сходного с аналогичными форменными элементами человека и ряда лабораторных животных. Вместе с тем, оказалось, что субмикроскопическая структура нейтрофильных и, особенно, эозинофильных гранул имеет свои специфические черты (рис. 1, 2 и 5). Отмечается специфическое строение мононуклеаров (рис. 4).