

УДК 591.443 612.438

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-2\(36\)-1067-1077](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-2(36)-1067-1077)

Добрянська (Опаленик) Еріка Степанівна кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри анатомії людини та гістології, медичний факультет, Ужгородський національний університет, площа Народна, 1, м. Ужгород, 88000, тел.: (050) 627-53-24, <https://orcid.org/0000-0001-6014-1110>

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА БІЛИХ ЩУРІВ У ПРЕНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ

Анотація. Загруднинна залоза виникає у вигляді парного вип'ячування епітелію глоткових кишень і не є органом мезенхімного походження. Тому, внутрішньоорганні кровоносні судини не можуть формуватись на основі власної мезенхіми, оскільки її в епітеліальній закладці немає, а потрапляють ззовні. Епітеліальний зачаток загруднинної залози утворює вип'ячування (або вирости) в оточуючу мезенхіму, з якої формується пухка неоформлена сполучна тканина капсули та трабекул, а вже в ній закладаються кровоносні судини. Зачаток тимусу росте і судини, що формуються з мезенхіми, що оточує орган, переміщуються в паренхіму органу. Цей процес приводить до двох наслідків:

1. поділ епітеліального зачатку на часточки;
2. поява в паренхімі зачатку кровоносних судин.

Перші внутрішньоорганні кровоносні судини загруднинної залози є міжчасточковими судинами, оскільки після формування капсули і поділу пухкої сполучної тканини на внутрішньоорганну та позаорганну, тому після цього і поділ кровоносних судин іде на внутрішньо- і позаорганні. Гілочки, що відходять від міжчасточкових кровоносних судин, вростають у паренхіму часточки і формують внутрішньочасточкове гемомікроциркуляторне русло. Поява перших внутрішньочасточкових судин співпадає по часові з появою у закладці тимусу основних клітинних форм – лімфоцитів (Т-клітин-попередників) і багатокомпонентного стромального компартменту (зокрема, ретикулоепітеліоцитів).

Після появи протокапілярів починається їх диференціювання в судини мікроциркуляторного русла: артеріоли, капіляри та венули.

На кінець 15-ої доби чітко видно різницю у васкуляризації кіркової та мозкової речовини часточок, яка виражається у формуванні більш густої сітки мікросудин у кірковій речовині. Стінка мікросудин часточок 15-ти денних зародків представлена шаром ендотеліальних клітин і базальним шаром, що включає базальну мембрану і перицити, що вказує на їх морфологічну

подібність із капілярами. Структурних відмінностей у будові кровоносних капілярів кіркової та мозкової речовини часточки нами не відмічено.

У тимусі зародків на 15-ту добу ембріонального розвитку в деяких міжчасточкових артеріальних судинах, що розвиваються, з'являється м'язова оболонка. У цих новосформованих артеріолах м'язова оболонка складається з одного шару гладких міоцитів, розташованих на незначній відстані один від одного. Часточки тимусу збільшуються в розмірах, вони ніби «огортають» міжчасточкові артеріальні і венозні судини, які зміщуються на межу кіркової і мозкової речовини. Цей процес є характерним для загруднинної залози ембріонів і плодів протягом усього пренатального онтогенезу.

На кінець 15-ої доби ембріонального розвитку в загруднинній залозі білих щурів завершується формуванням внутрішньочасточкових венул, які мають сформовані всі три шари судинної стінки, їх просвіт обмежений 6-12 ендотеліальними клітинами. Відмінностей у будові венул кіркової і мозкової речовини нами не відмічено.

Ключові слова: тимус, часточка, артеріола, капіляр, венула, ендотеліоцит.

Dobryanska (Opalenyk) Erika Stepanivna Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Human Anatomy and Histology, Faculty of Medicine, Uzhgorod National University, Narodna Square, 1, Uzhgorod, 88000, tel.: (050) 627-53-24, <https://orcid.org/0000-0001-6014-1110>

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE HEMOMICROCIRCULATORY BED OF WHITE RATS IN PRENATAL ONTOGENESIS

Abstract. The retrosternal gland arises as a paired protrusion of the epithelium of the pharyngeal pockets and is not an organ of mesenchymal origin. Therefore, intra-organ blood vessels cannot form on the basis of their own mesenchyme, since it is not present in the epithelial lining, but enters from the outside. The epithelial beginning of thymus forms a protrusion (or

outgrowth) into the surrounding mesenchyme, from which the loose connective tissue of the capsule and trabeculae is formed, and blood vessels are already embedded in it. The beginning of the thymus grows and the vessels formed from the mesenchyme surrounding the organ move into the parenchyma of the organ. This process leads to two consequences:

1. division of the epithelial bud into lobules;
2. the appearance of blood vessel in the parenchyma of the thymus beginning.

The first intra-organ blood vessels of the thymus are interlobular vessels, because after the formation of the capsule and the division of loose connective tissue into intra-organ and extra-organ, therefore, after that, the division of blood vessels

goes into intra- and extra-organ. The branches departing from the inter-lobular blood vessels grow into the parenchyma lobules and form an intralobular hemomicrocirculatory bed. The appearance of the first intralobular vessels coincides in time with the appearance of the main cell forms in the thymus lining - lymphocytes (T-cell precursors) and a multicomponent stromal compartment (in particular, reticuloepitheliocytes).

After the appearance of protocapillaries, their differentiation into microcirculatory vessels begins: arterioles, capillaries, and venules.

At the end of the 15th day, the difference in the vascularization of the cortical and medullary lobules is clearly visible, which is expressed in the formation of a denser network of microvessels in the cortical substance. The wall of microvessels of lobules of 15-day-old embryos is represented by a layer of endothelial cells and a basal layer, which includes a basement membrane and pericytes, which indicates their morphological similarity to capillaries. We did not notice any structural differences in the structure of the blood capillaries of the cortical and medullary substance of the lobule.

In the thymus of embryos on the 15th day of embryonic development, a muscular membrane appears in some developing interlobular arterial vessels. In these newly formed arterioles, the muscle sheath consists of a single layer of smooth myocytes located at a small distance from each other. Lobes of the thymus increase in size, they seem to "envelop" interlobular arterial and venous vessels, which move to the border of the cortex and medulla. This process is characteristic for thymus of embryos and fetuses throughout prenatal ontogeny.

At the end of the 15th day of embryonic development in the thymus of white rats, the formation of intralobular venules is completed, which have all three layers of the vascular wall formed, their lumen is limited by 6-12 endothelial cells. We did not notice any differences in the structure of venules of the cortical and medullary substance.

Keywords: thymus, lobule, arteriole, capillary, venule, endotheliocyte.

Постановка проблеми. Правильний розвиток тимуса має вирішальне значення для формування імунної системи і набуття людиною повної імунної компетентності. Для дозрівання необхідний повний набір компонентів, які беруть участь у розвитку тимуса, взаємодіючи один з одним у потрібний час. Щоб створити мікрооточення, необхідне для диференціації Т-клітин, епітеліальний зачаток тимуса формується за рахунок розширення фарингеальної ентодерми, яке взаємодіє з ектодермою, за рахунок цього строма кіркової речовини формується з ентодерми, а мозкової – із ектодерми. Експериментальними дослідженнями встановлено велике значення мезенхімальних похідних нервового гребеня, з яких формуються нейроендокринні клітини, що продукують ряд гормонів, що регулюють процеси антигеннезалежної проліферації та диференціації Т-лімфоцитів та їх

поділ на субпопуляції : кілери, хелпери та супресори. Втручання в цей процес гальмує розвиток тимуса подібно до того, що спостерігається при вроджених захворюваннях, таких як синдром ДіДжорджа та фетальний алкогольний синдром. Ці спостереження дають підказки для розуміння походження дефектів імунітету, залежного від тимуса, і вказують шлях до досліджень, які розширяють наше розуміння контролю, задіяного в генетичних факторах і факторах навколишнього середовища, що впливають на цей процес [1]. Тимус — первинний лімфоїдний орган, який є у всіх хребетних (за винятком безщелепних риб, наприклад міноги); його поява в еволюції паралельна появі рекомбінації VDJ як нового засобу соматичної диверсифікації рецепторів антигену [1]. Тимус має унікальну здатність підтримувати розвиток самотолерантних Т-клітин, що експресують різноманітні антигенні рецептори. Дослідження тимопоезу займаються кількома різними напрямками. Перший аспект стосується розробки зачатка тимуса як місця для вхідних попередників Т-клітин- і подальшого розвитку багатокomпонентного стромального компартменту. Другий аспект стосується природи Т-клітин-попередників на ембріональних і дорослих стадіях, а також шляхів міграції Т-клітин-попередників з червоного кісткового мозку в тимус. Третій аспект стосується взаємодії Т-клітин-попередників і стромального мікрооточення для досягнення багатьох різних типів зрілих тимоцитів, які готові покинути тимус. Четвертий аспект тимопоезу стосується механізмів, що контролюють вихід зрілих тимоцитів [2]. Існують, очевидно, різні механізми, що регулюють колонізацію тимуса до і після васкуляризації (яка відбувається на E15-16 у миші). Перед васкуляризацією тимусу попередники Т-клітин мігрують через мезенхімальну тканину, перш ніж вони досягнуть епітеліального зачатка тимуса. Хемокін Ccl25 експресується в зачатку тимуса [2] і є лігандом для хемокінового рецептора Ccr9, який експресується на Т-клітинних попередниках. Відсутність Ccr9 зменшує, але не скасовує [3] антигенензалежну проліферацію і диференціацію тимоцитів та клітин мікрооточення.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Останнім часом багато вчених займаються вивченням ембріонального розвитку тимусу. Загалом, епітелій тимуса в тимусі дорослої людини можна розділити на кортикальний і медулярний епітелій. Недавні експерименти показали, що окремі епітеліальні клітини здатні диференціюватися в повний спектр епітеліальних клітин, характерних для функціонального мікрооточення тимуса. Клональний аналіз з використанням окремих епітеліальних клітин тимуса E12 показав, що вони можуть диференціюватися на кортикальні та медулярні типи клітин [2].

Ранній зачаток тимуса складається з епітеліального зачатку та мезенхімальної оболонки. Мікрооточення тимуса з віком стає більш складним, а потім додатково включає типи клітин, з яких формуються судини та інші гемопоетичні похідні, такі як дендритні клітини та макрофаги. Ці процеси відбуваються за відсутності лімфоцитів [2].

Також великої уваги приділено виникненню і розвитку пухлин тимуса, так як фундаментальним аспектом, який зазвичай не помічають при оцінці пухлин тимуса, є нормальна гістологія та імуногістохімічні особливості нормального тимуса. Враховуючи той факт, що більшість епітеліальних пухлин зустрічається у дорослого населення, ми рідко стикаємося з оцінкою нормальної імуногістохімії тимуса. Однак ми вважаємо, що такі знання є надзвичайно важливими для оцінки патологічних станів, включаючи епітеліальні пухлини або пухлини інших ліній[3-6].

Але в літературі мало даних про розвиток гемокроциркуляторного русла, яке забезпечує нормальне функціонування за груднинної залози, тому в цій статті ми зосередили наші зусилля на огляді розвитку судин тимуса на пізніх етапах ембріогенезу, що можливо, в перспективі допоможе при оцінці патологічних станів

Мета статті: дослідити розвиток судин гемокроциркуляторного русла на пізніх етапах ембріогенезу (15 доба) білих щурів.

Виклад основного матеріалу. Дослідження проведено на 10 плодах безпородних білих щурів на 15 день ембріонального розвитку. За груднинну залозу забирали у тварин під ефірним наркозом. Матеріал для гістологічних досліджень фіксували в розчині ФСО (формальдегід – 100мл, спирт етиловий 96° – 60мл, льодяна оцтова кислота – 30мл) і заливали в парафінові блоки. Гістологічні зрізи товщиною 5 – 7 мкм фарбували гематоксилін-еозином. Для електронномікроскопічного дослідження матеріал фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду на 0,1М фосфатному буфері з рН 7,2 – 7,4 з наступною дофіксацією в 2% розчині чотириокису осмію. Після зневоднення в спиртах та ацетоні, матеріал заливали в аралдіт. Зрізи виговляли на ультрамикротомі LKB 8800WI і вивчали на мікроскопі EOM – 100AK з прискорюючою напругою 75кВ.

Догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили у відповідності з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986р.), а також «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001р.) та вимог Додатку до «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом Міністерства охорони здоров'я №755 від 12 серпня 1977 р.» Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням піддослідних тварин».

Нами встановлено, що в закладці тимуса відбувається заміна дифузного протокапілярного русла вторинним органоспецифічним. Протокапіляри – це первинні тонкостінні кровоносні судини, що розвиваються з мезенхіми, розташовані у сполучній тканині, що оточує орган. Спочатку протокапіляри розгалужуються навколо кіркового шару часточки (рис.1)

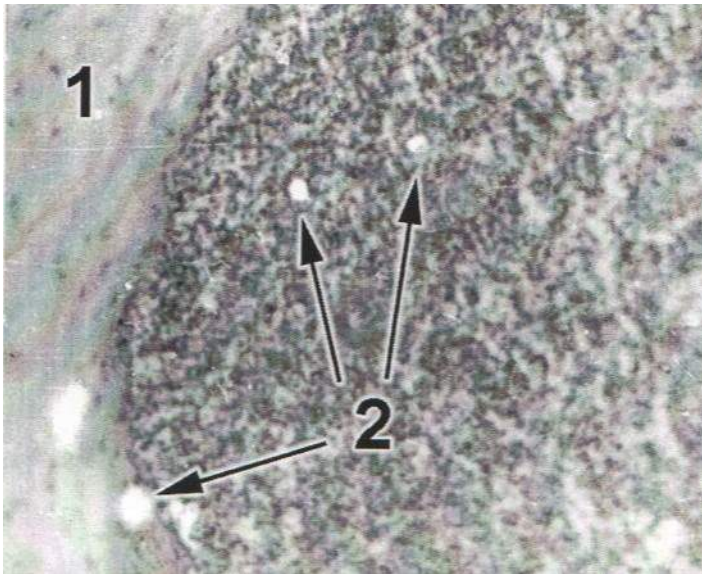


Рис.1. Епіт еліальна закладка т имуса білого щура на 15 добу ембріонального розвитку. Орган оточує пухка сполучна тканина (1). Кровоносні протокапіляри позначені стрілочками. Відсутній чіткий розподіл на кіркову та мозкову речовину. Забарвлення гематоксилін-еозином Зб.: ок.х8, об.х20.

Потім кровоносні судини міжчасточкової сполучної тканини разом з оточуючими їх мезенхімними та сполучнотканинними клітинами переміщуються на незначну глибину всередину епітеліальної закладки, утворюючи воєрідні «бухти» (рис.2).

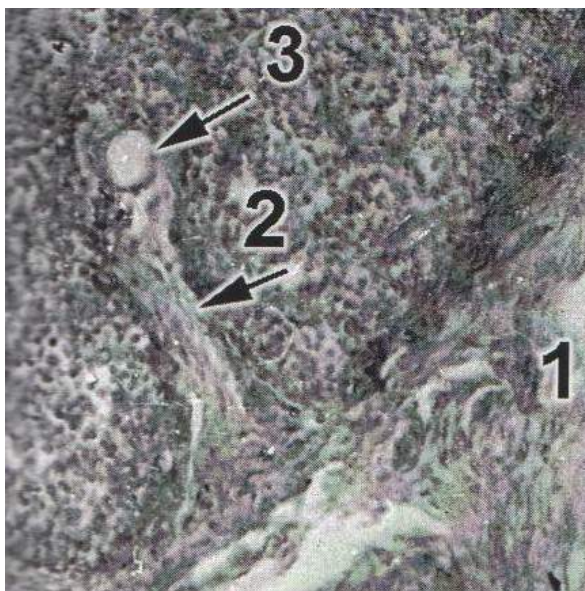


Рис.2. Тимус зародку білого щура на 15 добу ембріонального розвитку. Орган оточує пухка сполучна тканина (1). Сполучнотканинна «бухта», що проникає в зачаток загруднинної залози (2); кровоносні протокапіляри(3). Забарвлення гематоксилін-еозином Зб.: ок.х8, об.х20.

Одночасно починається поділ тимусу сполучнотканинними відростками, які відщепилися від оточуючої сполучної тканини, на часточки. Формується сполучнотканинна капсула та відбувається поділ на кіркову та мозкову речовину (рис.3).

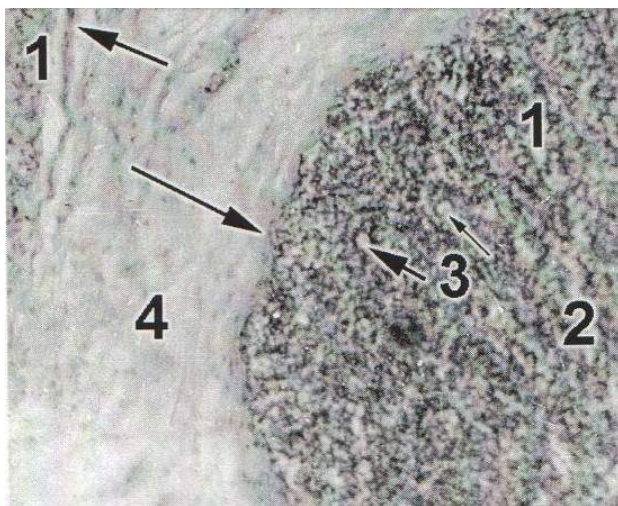


Рис.3. Тимус зародку білого щура на 15-у добу ембріонального розвитку. Кіркова речовина, що формується (1), мозкова речовина, що формується (2), протокапіляри (3), сполучна тканина, що оточує орган (4). Стрілочками відмічена сполучнотканинна капсула, що оточує орган. Забарвлення гемат оксилін-еозином Зб.: ок.х8, об.х20.

Процес розмежування тимусу на кіркову та мозкову речовину розтягнутий у часі і проходить не у всіх часточках одночасно (Рис.4).

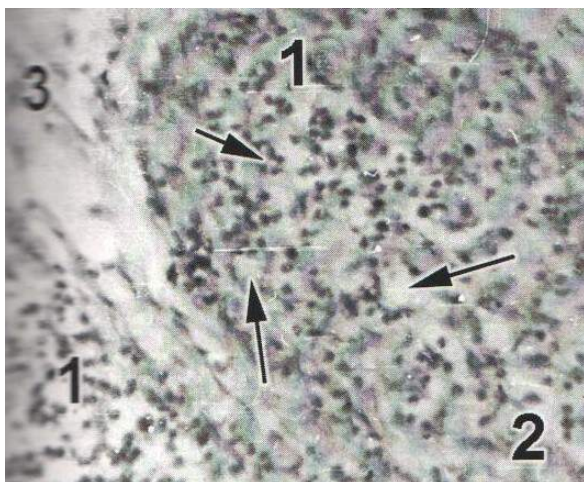


Рис.4. Лімфо-епітеліальна закладка тимусу білого щура на 15-у добу ембріонального розвитку. Кіркова речовина, що формується (1), мозкова речовина, що формується (2), сполучна тканина, що розмежовує сусідні часточки (3). Стрілочками вказані протокапіляри. Забарвлення гемат оксилін-еозином Зб.: ок.х8, об.х20.

Кровоносне русло зародку 15-ої доби ембріонального розвитку представлено дифузною сіткою тонкостінних судин, які оплітають часточки загруднинної залози (рис.4). На кінець 15-ої доби чітко видно різницю у васкуляризації кіркової та мозкової речовини часточок, яка виражається у формуванні більш густої сітки мікросудин у кірковій речовині. Стінка мікросудин часточок 15-ти денних зародків представлена шаром ендотеліальних клітин і базальним шаром, що включає базальну мембрану і перицити, що вказує на їх морфологічну подібність із капілярами (рис.5).

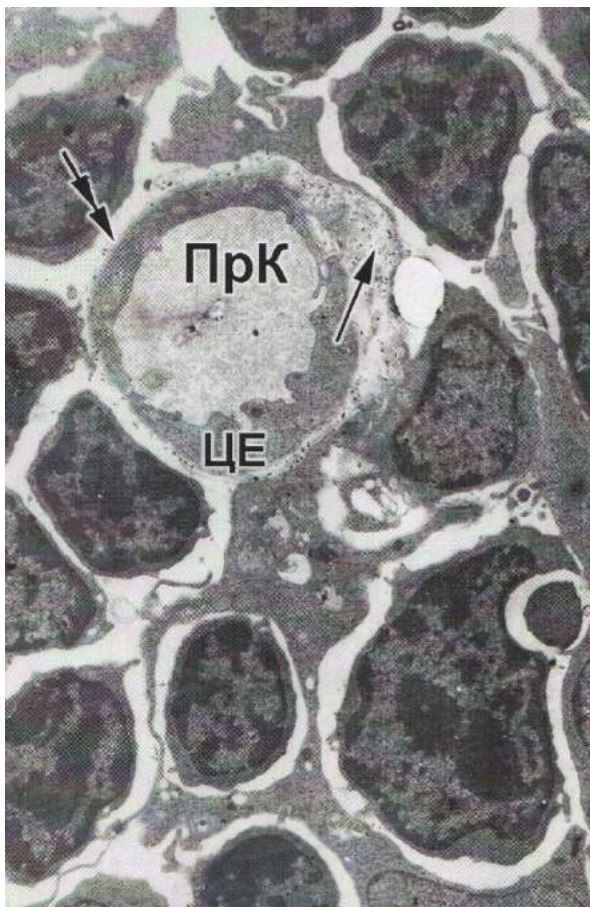


Рис.5. Кровоносний капіляр у кірковій речовині часточки загруднинної залози зародку білого щура на 15-у добу ембріонального розвитку. ПрК-просвіт капіляру (протокапіляру). Стрілочкою позначений периваскулярний простір, заповнений колагеновими волокнами. Подвійною стрілочкою відмічена добре виражена базальна мембрана ендотеліоциту. ЦЕ- цитоплазма ендотеліоциту. Зб.х 10 000.

За будовою судинної стінки серед внутрічасточкових судин можна виділити судини, які розвиваються по типу артеріол, капілярів та венул. Всі ці судини зв'язані одна з одною великою кількістю анастомозів. Відток крові від часточок здійснюється в міжчасточкові венозні судини, які за будовою стінки подібні з внутрічасточковими, але мають більший діаметр. Оскільки

позачасточкове кровоносне русло не було предметом нашого дослідження, то на ньому зупинятися не будемо.

У тимусі зародків на 15-ту добу ембріонального розвитку в деяких міжчасточкових артеріальних судинах, що розвиваються, з'являється м'язова оболонка. У цих новосформованих артеріолах м'язова оболонка складається з одного шару гладких міоцитів, розташованих на незначній відстані один від одного. Часточки тимусу збільшуються в розмірах, вони ніби «огортають» міжчасточкові артеріальні і венозні судини, які зміщуються на межу кіркової і мозкової речовини. Цей процес є характерним для загруднинної залози ембріонів і плодів протягом усього пренатального онтогенезу. Структурних відмінностей у будові кровоносних капілярів кіркової та мозкової речовини часточки нами не відмічено (рис.5 і рис.6).

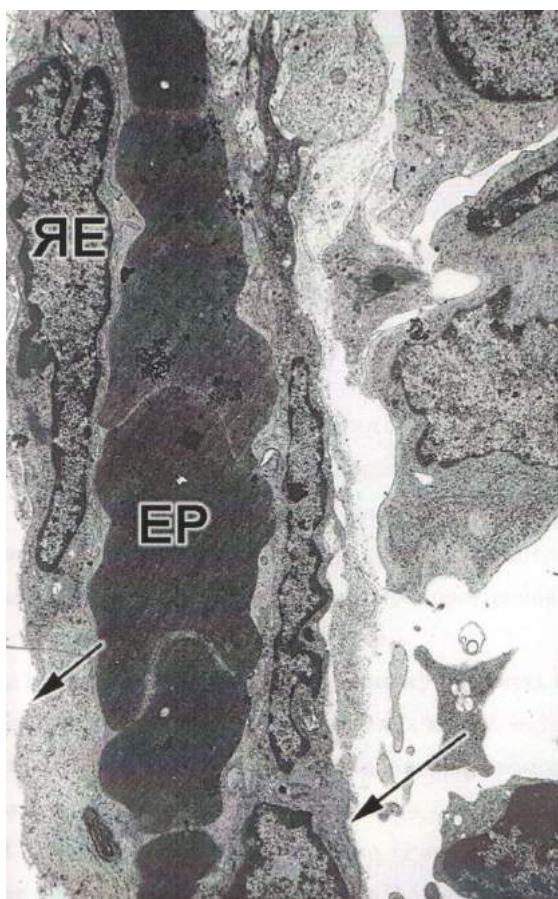


Рис.6. Кровоносний капіляр у мозковій речовині часточки загруднинної залози зародку білого щура на 15-у добу ембріонального розвитку. ER-еритроцити в просвіті капіляру. YE- ядро ендотеліоциту. Стрілочкою відмічена базальна мембрана ендотеліоциту. Зб.х7 000.

На кінець 15-ої доби ембріонального розвитку в загруднинній залозі білих щурів завершується формуванням внутрічасточкових венул, які мають сформовані всі три шари судинної стінки, їх просвіт обмежений 6-12

ендотеліальними клітинами. Відмінностей у будові венул кіркової і мозкової речовини нами не відмічено (рис.7).

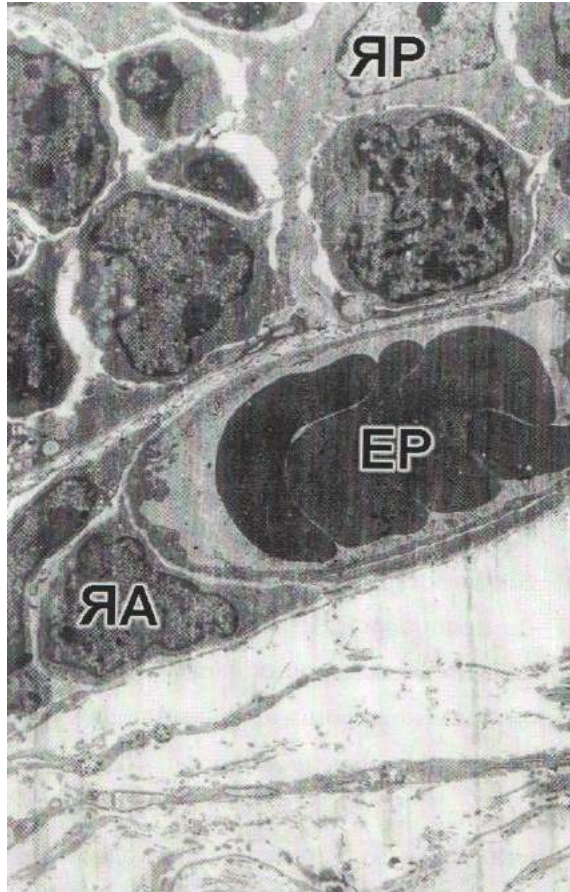


Рис.7. Венула кіркової речовини часточки загруднинної залози зародку білого щура на 15-у добу ембріонального розвитку. ЕР-еритроцити в просвіті капіляру. ЯЕ- ядро ендотеліоциту. ЯА- ядро адвентиційної клітини в стінці венули. 3б.х7 000.

Висновки. Загруднинна залоза розвивається з епітелію глоткових кишень і не є органом мезенхімного походження. Епітеліальний зачаток загруднинної залози утворює вип'ячування (або вирости) в оточуючу мезенхіму, з якої формується пухка неоформлена сполучна тканина капсули та трабекул, а вже в ній закладаються кровоносні судини. Зачаток тимусу росте і судини, які утворилися з мезенхіми, що оточує орган, переміщуються в паренхіму органу.

Перші внутрішньоорганні кровоносні судини загруднинної залози є міжчасточковими судинами. Гілочки, що відходять від міжчасточкових кровоносних судин, вросли в паренхіму часточки і формують внутрішньочасточкове гемомікроциркуляторне русло. Поява перших внутрішньочасточкових судин (протокапілярів) співпадає по часові з появою у закладці тимусу основних клітинних форм – лімфоцитів (Т-клітин-

попередників) і багатокomпонентного стромального компартменту (зокрема, ретикулоепітеліоцитів). На 15-ту добу ембріонального розвитку з протокапілярів починають формуватися артеріоли, капіляри, венули, в їх стінці з'являються гладкі міоцити та адвентиційні клітини.

Література:

1. Bockman, Dale E. "Development of the thymus." *Microscopy research and technique* 38.3 (1997): p.209-215. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19970801\)38:3<209::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19970801)38:3<209::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H).
2. Boehm T. Thymus development and function. *Current opinion in immunology*, 2008 - Elsevier Volume 20, Issue 2, April 2008.- p. 178-184. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0952791508000253>
3. Ydamis Estrella Perez 1, Cesar A Moran The thymus: General concepts on embryology, anatomy, histology and immunohistochemistry *Semin Diagn Pathol.* 2022. Mar;39(2).-p.86-91. doi: 10.1053/j.semdp.2021.06.003. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34147301/>
4. Weissferdt A, Moran CA. Immunohistochemistry in the diagnosis of thymic epithelial neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014 Aug;22(7).- p.479-87. doi: 10.1097/PAI.0b013e3182a53856. PMID: 24897066
5. Liu, M., Zhang, Y., Liu, L.-H. Histogram analysis based on unenhanced CT for identifying thymoma and lymphoma among prevascular mediastinal incidentalomas. *Cancer Imaging.*, 2024. Jan 4;24(1):5. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38178266>.
6. Perez, Y.E., Moran, C.A. The thymus: General concepts on embryology, anatomy, histology and immunohistochemistry. *Seminars in Diagnostic Pathology.* 2022. Mar..№39(2). - p.86-91. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34147301>.

References:

1. Bockman, Dale E. "Development of the thymus." *Microscopy research and technique* 38.3 (1997): p.209-215. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19970801\)38:3<209::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19970801)38:3<209::AID-JEMT2>3.0.CO;2-H).
2. Boehm T. Thymus development and function. *Current opinion in immunology*, 2008 - Elsevier Volume 20, Issue 2, April 2008.- p. 178-184. doi: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0952791508000253>
3. Ydamis Estrella Perez 1, Cesar A Moran The thymus: General concepts on embryology, anatomy, histology and immunohistochemistry *Semin Diagn Pathol.* 2022. Mar;39(2).-p.86-91. doi: 10.1053/j.semdp.2021.06.003. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34147301/>
4. Weissferdt A, Moran CA. Immunohistochemistry in the diagnosis of thymic epithelial neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014 Aug;22(7).- p.479-87. doi: 10.1097/PAI.0b013e3182a53856. PMID: 24897066
5. Liu, M., Zhang, Y., Liu, L.-H. Histogram analysis based on unenhanced CT for identifying thymoma and lymphoma among prevascular mediastinal incidentalomas. *Cancer Imaging.*, 2024. Jan 4;24(1):5. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38178266>.
6. Perez, Y.E., Moran, C.A. The thymus: General concepts on embryology, anatomy, histology and immunohistochemistry. *Seminars in Diagnostic Pathology.* 2022. Mar..№39(2). - p.86-91. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34147301>.