ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՌ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ՏԵՂԵԿԱԳԻՐ
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР
Բիոլոգիական գիտ. XVIII, № 12, 1965 Биологические науки

И. Г. БАТИКЯН

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРОМБОЦИТОВ

С появлением электронного микроскопа открыта новая эра в исследовании клетки, открылась возможность изучения не только субмикроскопической, но и молекулярной организации живого вещества. Электронная микроскопия клеток и тканей дает возможность наблюдать структуры, лежащие за пределами видимости светового микроскопа, так называемые ультраструктуры, имеющие размеры менее микрона (от 1 μ до 7—10 Å).

Первые электронномикроскопические сведения о некоторых сторонах процесса свертывания крови были получены около 25 лет назад. Вольперсу и Руска [27] в 1939 г. удалось под электронным микроскопом увидеть процесс коагуляции крови и связь образующегося сгустка фибрина с тромбоцитом. Через 10 лет Хоун и Портер [25] исследовали в электронном микроскопе процесс образования фибрина.

Ценным вкладом в гематологию по электронномикроскопическому изучению тромбоцитов явились работы Бесси [17—21], Браунштейнера [10—15] и др. Большое значение имело использование фиксации буферным раствором OsO_4 [10—13, 19] и изготовление ультратонких срезов. Дело в том, что все фиксаторы за исключением OsO_4 вносят в строение клетки грубые нарушения, делающие невозможным суждение о ее тончайшем строении.

В настоящей работе мы поставили цель изучить клеточную структуру—осмиофильный скелет, а также попытались связать субмикроскопическую структуру тромбоцитов с их функциональными свойствами в эксперименте. Кроме того, для детального изучения тромбоцитов мы не ограничивались изучением общих морфологических особенностей, одновременно было выведено процентное соотношение различных форм тромбоцитов и составлена тромбоцитарная формула под электронным микроскопом.

Методика исследования

Эксперименты поставлены на кроликах, весом 2—3 кг.

При характеристике тромбоцитов руководствовались классификацией Юргенса и Граупнера в модификации Кенигсон с дополнениями, внесенными Б. О. Безносиковым и Е. Ф. Измайловой [1].

При распределении пластинок на группы учитывалась структура грануломера и гиаломера, характер псевдоподиальных отростков, наличие вакуолизации и другие особенности.

Тромбоциты в электронном микроскопе изучали методом реплик. Малый размер, прозрачность и нежность структуры, способность тромбоцитов приклеиваться к чужеродным поверхностям—все очень упрощает методику приготовления препарата и дает возможность просвечивать целые тромбоциты без окраски в электронном пучке.

Метод реплик позволяет определить функциональную способность тромбоцитов к образованию псевдоподий, распластыванию, агглютинации и связыванию с нитями фибрина [3]. Нами была использована методика Б. О. Безносикова [2], которая более доступна любой клинической лаборатории и исключает травмирование тромбоцитов.

Результаты исследования

Тромбоциты под электронным микроскопом нами подразделены на следующие группы: юные, зрелые, старые, дегенеративные, формы раздражения (табл.).

Таблица

Тромбоцитограмма под электронным микроскопом у кроликов в норме

Вид тромбоцита		% содержания
Юные		1,0±0,03
Зрелые	Форма покоя	19,7±2,4
	Форма активная	66,8±3,5
Старые		5,6±1,5
Дегенеративные	Пикнотические	4,0±0,43
	„Тени"	1,0±0,1
Форма раздражения		3,4±0,57

Юные (рис. 1). Представляют собой большие тени с нежной, прозрачной структурой. Контуры хорошо очерчены. Грануломер (в центре) и гиаломер ясно различимы.

Зрелые. Они подразделяются на формы покоя и активные формы.

Форма покоя (рис. 2). Округлой или овальной формы, без отростков пластинки. Контуры гладкие.

Форма активная (рис. 3). При распластывании принимают разнообразные, порой причудливые формы. Состоят из гиаломера (по периферии) и погруженного в него грануломера. Грануломер обычно располагается в центре тромбоцита. Граница между ними четко различима. Края гиаломера неровные, зазубренные. Исследования некоторых зарубежных [26] и отечественных авторов [5, 7] показали, что гиалоплазма представляет собой сложное сплетение субмикроскопических фибрилл, перекрещивающихся друг с другом и содержащих небольшое число гранул, которые по плотности близки к субстанции центральной части образования.

Исследование функциональной роли тромбоцитов показало огромную роль гиаломера в процессе свертывания крови. В свете данных некоторых ученых [10—13] при распаде тромбоцитов из гиаломера высвобождаются зерна-микросомы с диаметром 600—2000 Å, в которых содержится фермент тромбокиназа, благодаря чему происходит процесс коагуляции.

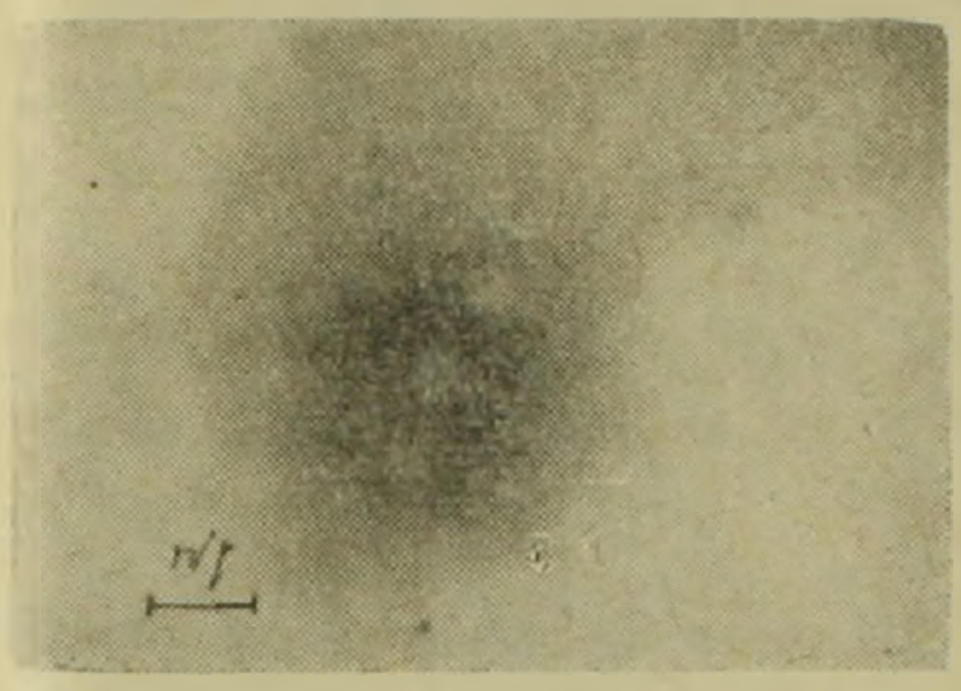

Рис. 1. Юный тромбоцит (увеличение × 7500).

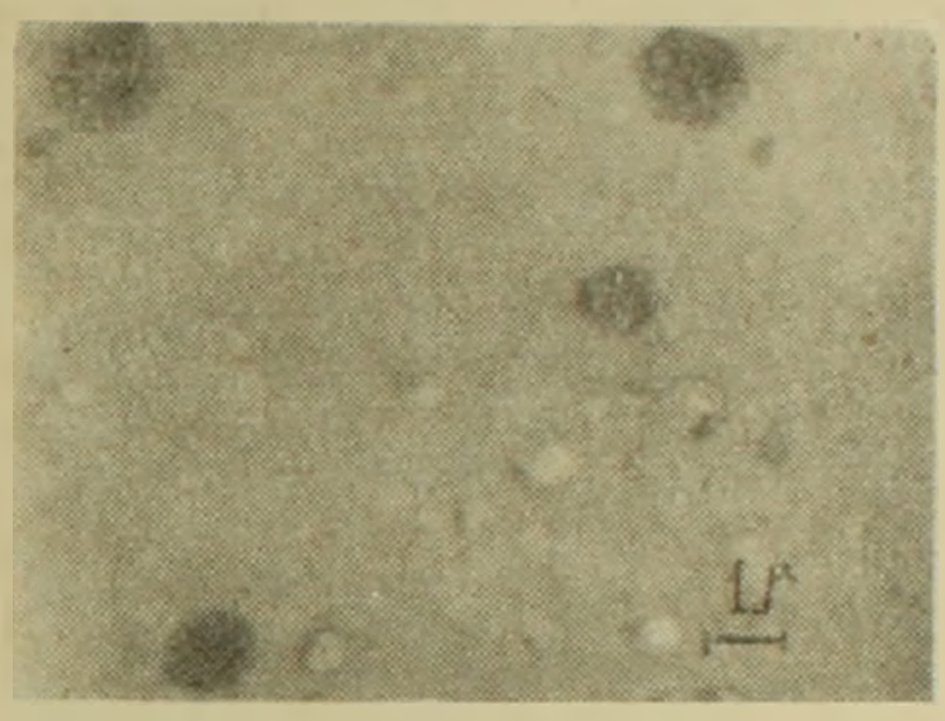

Рис. 2. Зрелые тромбоциты — форма покоя (увеличение × 6500).

Другие авторы [9] считают, что разрушение гиаломера приводит к высвобождению грануломера, и таким образом, в плазму выходит липоидный фактор тромбоцитов, образующий тромбопластин. Они считают, что гиаломер участвует в ретракции кровяного сгустка.

Кроме гиаломера в тромбоците различают и грануломер. Последний состоит из множества гранул, которые, часто примыкая друг к другу, образуют подобие ядра—«псевдоядро». Шульц [29] подразделил гранулы на α, β, γ, δ. Гранулы отличаются друг от друга как по величине, так и по морфологическим и функциональным свойствам (рис. 4). Одни

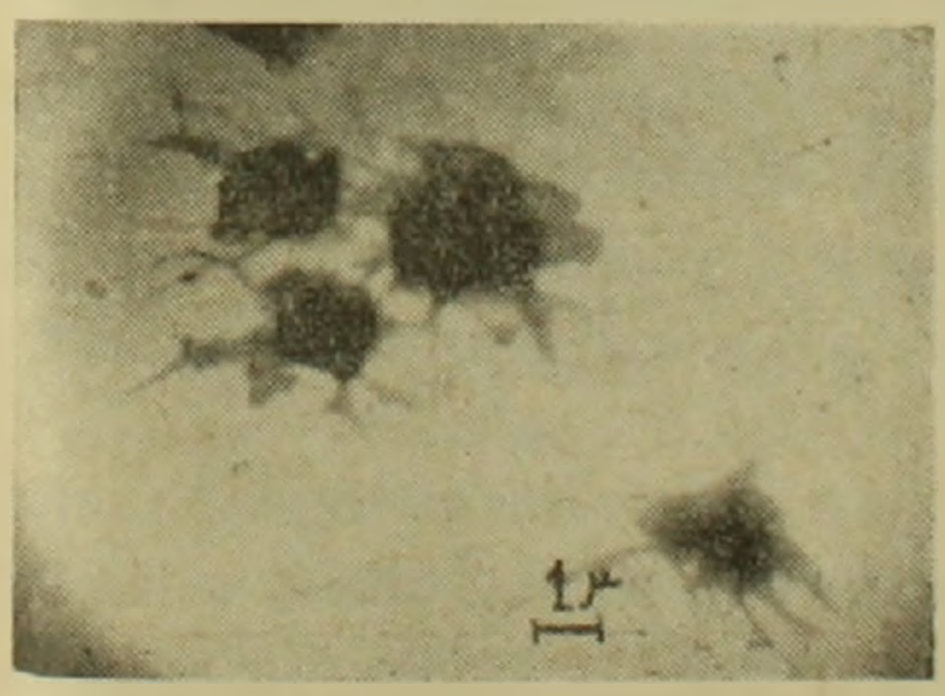

Рис. 3. Зрелые тромбоциты — форма активная. Тромбоциты в состоянии агглютинации (увеличение × 5000).

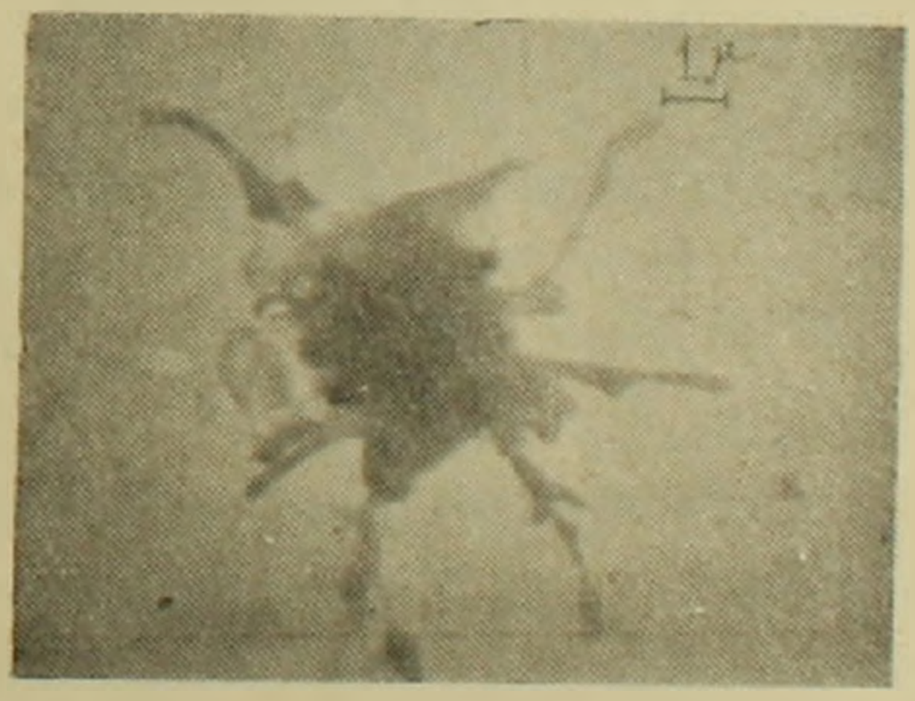

Рис. 4. Зрелый тромбоцит. Грануломер состоит из осмиофильных гранул (увеличение × 5000).

гранулы представляют собой предстадии митохондрий [16]; другие содержат в себе митохондрии [16, 22—24, 29]; есть среди них гранулы, являющиеся структурами аппарата Гольджи, и, наконец, группа гранул участвует в процессах внутриклеточного переваривания—фагоцитозе и пиноцитозе [6].

Сеть волоконец гиаломера, выдаваясь по периферии, образует отростки тромбоцитов. Форма их очень разнообразна: тонкие длинные, в виде нитей, короткие, древовидные. Число отростков у наших животных варьирует от 2—12. В местах отхождения отростки более толстые, некоторые из них при разветвлении переплетаются друг с другом. Встречаются отростки, которые по своей длине отличаются резко от других (рис. 5). Чаще они не помещаются в одном поле зрения. Псевдоподиевые отростки тромбоцитов соединяются друг с другом, возможно, благодаря их клейкости и прикрепляются к шероховатым и выступающим поверхностям вокруг тромбоцитов [7].

Рис. 5. Тромбоцит с длинным отростком, не помещающемся в одном поле зрения (увеличение × 4000).

Рис. 6. Старые тромбоциты (увеличение × 5000).

Старые пластинки (рис. 6). Они также состоят из гранулометра. Но гиаломер занимает очень узкую полоску вокруг гранулометра. А гранулометр весь состоит из глыбок или комков, заполняющих почти весь тромбоцит. Края гиаломера неровные, местами имеются разрывы.

Дегенеративные пластинки. Мы подразделили их на 2 группы: пикнотические и «тени».

Пикнотические («угольки»). У таких тромбоцитов гиаломер лизирован, сохранился только гранулометр, напоминающий «уголек» (рис. 7). Он бесструктурен, гомогенен, как бы покрыт тушью. Края обычно бывают неровные. Среди них встречаются тромбоциты, достигающие очень больших размеров.

«Тени» тромбоцитов. Они представляют собой следы тромбоцитов. Контуры у них смазаны, структура совершенно неразличима, а без осмиевой фиксации они почти не видны.

Форма раздражения. Это большие пластинки, часто удлиненные, веретенообразные. Они имеют гранулометр, гиаломер, отростки. На рис. 8 видна типичная клетка раздражения, напоминающая по форме аналогичную клетку в световом микроскопе.

Во всех вышеперечисленных группах встречаются иногда вакуоли—2%. Они представляют собой как бы капли слабо осмирующегося вещества круглой или овальной формы, различной величины. Они встречаются во всех видах клеток. Хаудон [24] их относит к аппарату Гольджи. Встречаются также очень крупные вакуоли (рис. 9), содержащие

иногда осмиофильные включения, которые определяются, в основном, в гигантских тромбоцитах. Они, возможно, являются пиноцитозными вакуолями, которые связывают с фагоцитарной активностью тромбоцитов [6].

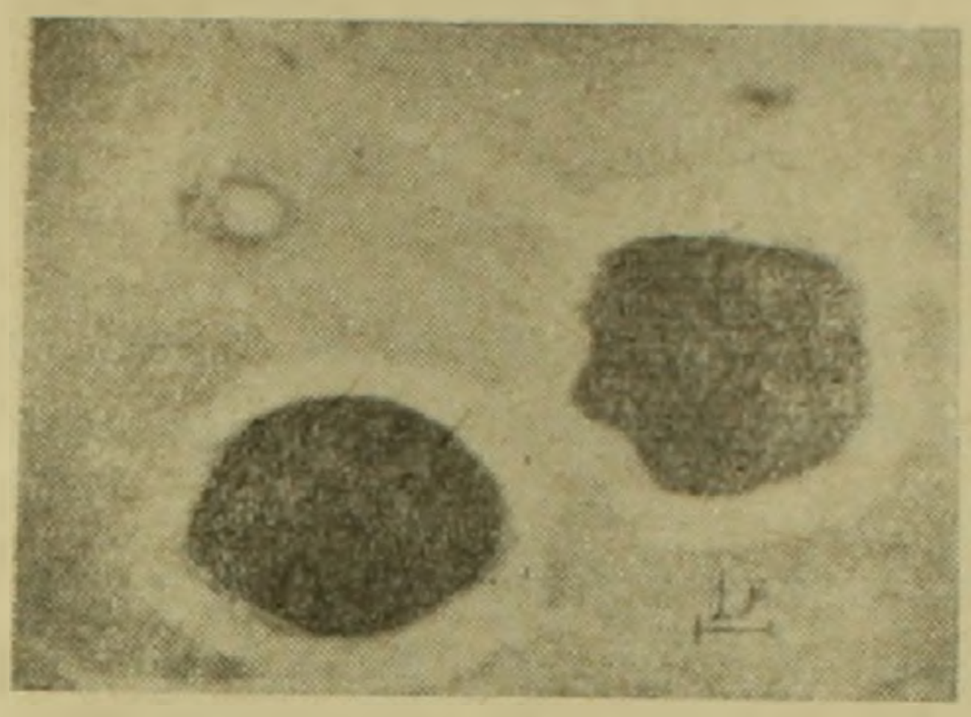

Рис. 7. 2 дегенеративных тромбоцита с лизированными гиаломером и отростками (увеличение × 5500).

Рис. 8. Форма раздражения (увеличение × 5000).

Под электронным микроскопом прекрасно виден процесс агглютинации тромбоцитов. Сначала тромбоциты сближаются, затем переплетаются их отростки, и, наконец, псевдоподии сливаются. Агглютинируют тромбоциты, имеющие отростки. У наших животных бывают склеенными по 2—9 тромбоцитов (рис. 2).

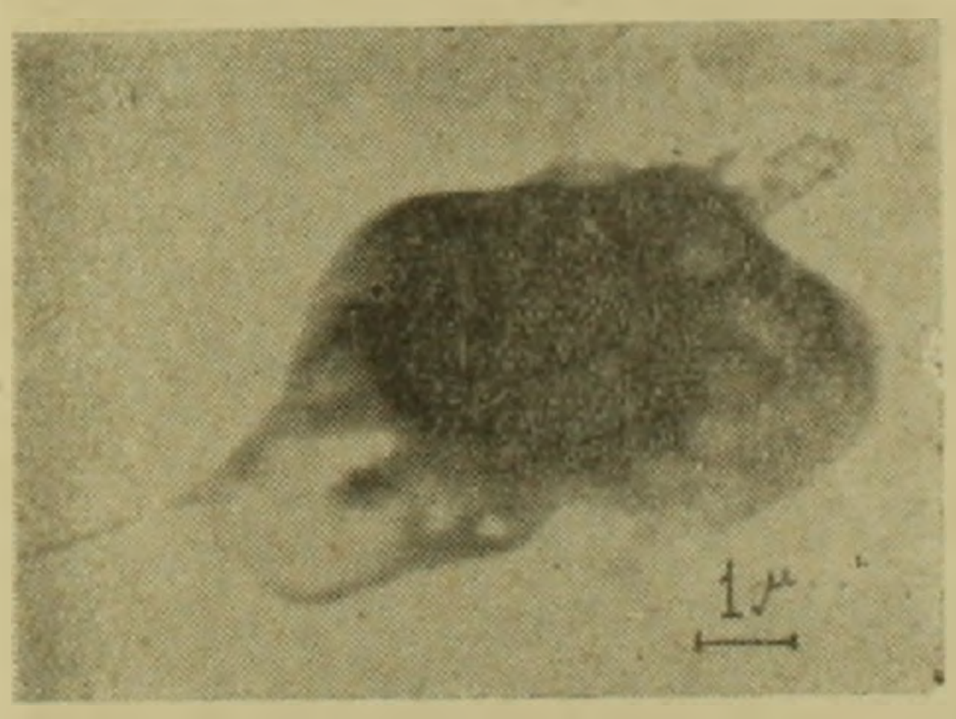

Рис. 9. Вакуолизированный тромбоцит. Слева видна огромная вакуоля (увеличение × 7500).

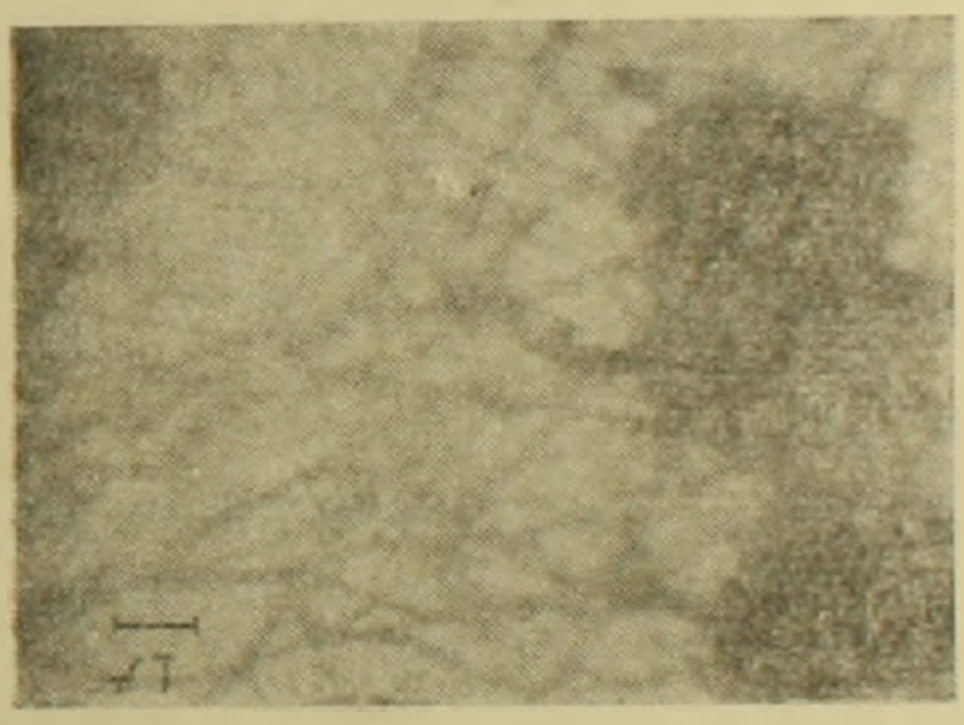

Рис. 10. Образование фибриновой сети вокруг кровяных пластинок (увеличение × 6300).

Общеизвестно участие тромбоцитов в вязком метаморфозе [4, 6—8]. И мы часто встречали тромбоциты, находящиеся в фибриновой сети. У таких тромбоцитов гиалоплазмы нет, остался один грануломер (рис. 10). Морфологическая картина механизма вязкого метаморфоза и участие в нем тромбоцитов такова: вначале выпадают нити фибрина плазмы, они тонки и коротки (в поперечнике имеют 120—200 Å, дл.—1000—4000 Å). Эти нити удлиняются и соединяются с отростками тромбоцитов. Далее происходит полимеризация (утолщение) фибрина и образование фибриновой сети, ее правильная ориентация вокруг тромбоцитов; при этом гиалоплазма исчезает, остается грануломер, который образует опорный центр для нитей фибрина и одновременно служит центром по-

следующего сокращения, т. е. ретракции. Тромбоциты при этом дезинтегрируют и исчезают среди плотного сгустка фибрина.

Измерение размеров тромбоцитов позволило разделить их на 3 группы: большинство исследованных тромбоцитов имеет в диаметре 1,5—5 μ. Это средние пластинки (рис. 3, 5). Свыше 5μ имеют макротромбоциты (рис. 6, 9). Менее 1,5μ —микротромбоциты (рис. 2).

Выводы

1. Электронномикроскопическое изучение тромбоцитов методом реплик дало возможность определить наличие ультраструктурных деталей, невидимых в световом микроскопе.

2. На основании морфологического изучения тромбоциты подразделены на следующие группы: юные, зрелые (форма активная и форма покоя); старые; дегенеративные (пикнотические и «тени»); форма раздражения

3. Измерение тромбоцитов под электронным микроскопом позволило выделить 3 группы: средние—66,3%, макротромбоциты—15,7, микротромбоциты—18%.

4. Электронномикроскопическое изучение некоторых функций тромбоцитов (агглютинационная способность, участие в образовании фибриновой сети) показывает огромную роль кровяных пластинок в процессе свертывания крови.

Сектор радиобиологии АМН СССР

Поступило 22.XI 1965 г.

Ի. Հ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ

ՏՐՈՄԲՈՑԻՏՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՄԻԿՐՈՍԿՈՊԱՅԻՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

Այս աշխատանքում մենք ուսումնասիրել ենք տրոմբոցիտների բջջային կառուցվածքը և նրանց ֆունկցիոնալ առանձնահատկությունները։ Միաժամանակ դուրս ենք բերել տրոմբոցիտների տարբեր ձևերի տոկոսային հարաբերությունը և կազմել տրոմբոցիտարային ֆորմուլան։ Փորձերը դրվել են ճագարների վրա։

Էլեկտրոնամիկրոսկոպային մորֆոլոգիական ուսումնասիրությունների հիման վրա տրոմբոցիտները բաժանել ենք հետևյալ խմբերի՝ երիտասարդ, հասուն (ակտիվ և հանգիստ ձևեր), ծեր, թերզարգացած (պիկնոտիկ և «շվաքներ») և դրդված ձևերի։ Ըստ մեծության տրոմբոցիտները բաժանել ենք երեք խմբի՝ մեծ (15,75%), միջին (66,3%) և փոքր (18,0%)։ Տրոմբոցիտների մի քանի ֆունկցիաների (ագլյուտինացման, ֆիբրինային ցանցի կազմավորման ընդունակությունը) ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս նրանց հսկայական դերը արյան մակարդման պրոցեսում։

ЛИТЕРАТУРА

1. Безносиков Б. О., Измайлова Е. Ф. Лаб. дело, 11, 43—47, 1961.
2. Безносиков Б. О. Лаб. дело, 3, 16—20, 1962.
3. Кореневская М. И. Лаб. дело, 5, 259—263, 1965.
4. Роскин Г. И. Усп. совр. биол., т. 37, вып. 3, 325—340, 1954.
5. Тоцкая А. А., Терентьева Э. И., Абдуллаев Г. М. Радиобиология, т. 2, вып. 1, 87—91, 1962.
6. Тоцкая А. А. Соврем. пробл. гемат. и перел. крови, вып. 37, 292—294, М., 1964.
7. Яновский Д. Н., Надгорная Н. И., Виноградская М. А., Гандзий Г. П. Врач. дело, 11, 1185—1186, 1957.
8. Arnaud S. B., Greenwalt T. J., Pavlowski J. M., Yohnson S. A. Transfusion, 3, 1, 8—29, 1963.
9. Alexandrowicz F., Blicharski J. Odbitka z „Prezegladu Lekarskiego", Krakow, Rok VIII, seria II, 7, p. 1—8, 1952.
10. Braunsteiner H. Wien. Zts. inn. Med., Bd. 30, s. 448, 1949.
11. Braunsteiner H., Febvre H. Acta Haematologica, 3, 3, 1950.
12. Braunsteiner H., Fellinger K., Pakesch F. Dtsch. Arch. klin. Med, Bd. 200, s. 541, 1953.
13. Braunsteiner H., Fellinger K., Pakesch F. Klin. Wschr., Bd. 31, s. 21—24, 1953.
14. Braunsteiner H. Wien. Ztschr. inn. Med., Bd. 36, p. 421, 1955.
15. Braunsteiner H., Pakesch F. Blut, Bd. 5, s. 225, 1959.
16. Bernhard N., Leplus R. Schweiz. med. Wochenschr., 85, 897, 921, 1955.
17. Bessis M. C. r. Soc. Biol., Paris, 142. 647, 1948.
18. Bessis M., Burstein M. Revue d'Hematol., 3, 1, 1948.
19. Bessis M., Bricku M. Biochim. and Biophys. Acta 2, 339, 1948.
20. Bessis M., Tabuis J. Rev. hémat., 10, 4. 753, 1955.
21. Bessis M. Cytology of Blood and the Blood forming organs N. J. W. W. Norton. Co, 1956.
22. Feissly K., Gautier A., Marcovici J. Rev. hémat., 12, 3, 397, 1957.
23. Feissly K., Gautier A., Marcovici J. VII Congr. Intern. Soc. Blood. Transfusion, Basel, N. Y. Korger, 1958.
24. Haydon J. Arch. Pathol., 64, 4, 393—397, 1957.
25. Hawn C., Porter R. J. Exp. Med., v. 90, p. 225—231, 1949.
26. Hagenau F., Bernhard W. Exper. Cell. Research, 3, 4, 1952.
27. Wolpers C., Ruska H. Klin. Wchnschr., Bd. 18, s. 1077, 1939.
28. Wolpers C., Ruska H. Klin. Wchnschr., Bd. 23, s. 1111—1117, 1939.
29. Schulz H., Hipler E. Klin. Wochenschr., 37, 6, 273, 1959.