

УДК 612.4+612.33+612.018.2.

Я. М. АНАСЕВИЧ

м. Миколаїв

ВПЛИВ НАДЛИШКУ ТА НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ НА МІТОЗ В КЛІТИНАХ ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ

Проведено аналіз впливу нестачі та надлишку мелатоніну на проліферативну активність та проходження мітозу в клітинах тонкої кишки щурів. Встановлено, що нестача мелатоніну сприяє збільшенню проліферативної активності та патологіям мітозу в епітеліоцитах тонкої кишки щурів внаслідок порушення мітотичного апарату. Надлишок мелатоніну на протязі 30 діб, навпаки, знижує проліферативну активність.

Ключові слова: тонка кишка, мелатонін, мітоз, гіпермелатонінемія, гіпомелатонінемія.

Постановка проблеми. Мелатонін – це сомногенний нейромедіатор, гормон, антиоксидант, який блокує проліферацію та синтез і секрецію гонадотропінів [1, 6]. Відомо, що мелатонін є універсальним ендogenousним адаптогеном, має антиоксидантні, імуномодельючі властивості, а зниження його продукції при порушенні світлового режиму супроводжується ознаками прискореного старіння та збільшенням ризику розвитку новоутворень [2, 5, 9]. Синтезується мелатонін в епіфізі тільки тоді, коли на очі не потрапляє світло; мелатонін APUD-системи діє апокринно та паракринно [2, 5].

Хоча основним джерелом мелатоніну, що циркулює в крові, є епіфіз, виявлений і паракринний синтез мелатоніну практично у всіх органах і тканинах: тимусі, шлунково-кишковому тракту, гонадах, сполучній тканині. У дослідженнях на пінеалектомованих тваринах продемонстровано наявність мелатоніну в органах шлунково-кишкового тракту [8]. Ці факти свідчать про синтез мелатоніну органами шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Але, навіть на підставі цих досліджень можливо вважати, що мелатонін грає важливу роль у фізіології ШКТ і порушення його секреції може бути причиною різних патологій органів ШКТ.

Є велика група населення, яка працює в нічні зміни, існує в умовах цілодобового освітлення (великі міста, полярний день, сон при світлі), яке блокує синтез і секрецію мелатоніну епіфізом. Крім того, є можливість неконтрольованого вживання мелатоніну в якості снодійного.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Зараз велике значення приділяється

прооксидантно-антиоксидантному балансу органів та організму в цілому, систем захисту та пошкодження, універсальній адаптації [2, 3, 5]. А праця, що стосується впливу мелатоніну на морфологічну структуру тканини тонкої кишки практично немає. В літературних джерелах відсутні дані, щодо дії надлишку та нестачі мелатоніну на проліферативну активність епітеліоцитів тонкої кишки щурів.

Постановка завдання. Метою нашого дослідження було виявлення морфологічних та мітотичних особливостей епітеліоцитів тонкої кишки щурів при надлишку та нестачі мелатоніну.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження виконані на статевозрілих білих щурах-самцях лінії Wistar масою 220–260 г. Тварини були розділені на три групи та утримувалися в стандартних умовах віварію при постійній температурі і вологості повітря, вільному доступі до води та їжі. Перша група – інтактна, тварини утримувалися при світловому режимі: 12 годин темрява – 12 годин світло, строком 30 діб. У другій групі була змодельована гіпомелатонінемія (нестача мелатоніну), тварини утримувались в режимі постійного освітлення (1000–1500 люкс) 30 діб. [3]. У третьій групі була змодельована гіпермелатонінемія (надлишок мелатоніну) введенням мелатоніну в харчовий раціон дозою 1 мг/кг маси тіла на добу та цілодобовою темрявою 30 діб.

Сезон дослідження – пізня весна, коли секреція мелатоніну середня між максимумом взимку і мінімумом влітку [7]. Тварин виводили з експерименту здійснюючи миттєву декапітацію під кетаміновим наркозом (40,0 мг/кг маси тіла).

Матеріал для досліджування отримували шляхом вилучення частини тонкої кишки після розтину. В подальшому шматочки фіксували в розгорнутому вигляді на дошці і занурювали їх в 10% розчин нейтрального формаліну, проводили через батарею спиртів та заливали в парафінові блоки. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном і еозином. Гістологічні препарати вивчались у світловому мікроскопі «OLYMPUS BX-50» при різних збільшеннях об'єктива: x10, x20, x40, та окуляр: 15x. Дослідження мітотичного режиму та стан патологічних мітозів вивчали згідно класифікації І. О. Казанцевої [4]. Мітотичні клітини рахували не менш ніж у 100 полів зору мікроскопу для кожного гістологічного препарату, мітотичний індекс виражали у проміле (‰), тобто кількість мітозів на 1000 всіх клітин. Спектр патологічних мітозів досліджували в залежності від фаз нормально плинучого мітозу, з подальшим визначенням провідної фази патологічного мітозу, яку виражали в відсотковому співвідношенні (%).

Результати досліджень та їх обговорення. При дослідженні гістологічних препаратів контрольної групи щурів виявилось, що у всіх полях зору мікроскопа зустрічаються епітеліоцити, які знаходяться в різних фазах нормально протікаючого мітозу (табл. 1).

Таким чином, морфологічне дослідження препаратів контрольної групи виявило помірну мітотичну активність епітеліоцитів тонкої кишки щурів, яка була представлена усіма фазами мітотичного поділу клітин. Мітотичний режим епітелію слизового відділу тонкої кишки характеризувався доволі високим індексом та становив 6,65 проміле (‰). Серед розподілу фаз мітозу в невеликій кількості спостерігалось переважання метафаз мітотичного поділу.

Дещо по-іншому представлений клітинний розподіл в піддослідній групі щурів у яких була змодельована гіпомелатоніемія. У всіх полях зору мікроскопа зустрічалися клітини, які знаходилися в різних фазах мітозу та характеризувалися великою проліферативною активністю. Виходячи з даних розподілу проліферативної активності епітеліоцитів, мітотичний індекс в групі щурів у яких була змодельована гіпомелатоніемія складає 22,31‰.

У тварин, які отримували підвищений вміст мелатоніну на протязі 30 діб, з'ясовано, що проліферативна активність епітеліоцитів тонкої кишки щурів даної групи дещо знижена, в порівнянні з контрольною групою (3,25‰, проти 6,65‰). Аналізуючи розподіл фаз нормально плинучого мітозу, звертає на себе увагу переважання профазі мітотичного поділу в клітинах експериментальної групи при гіпермелатоніемії (44,8%) над іншими фазами.

При дослідженні наявності відхилень від мітозу, який нормально протікає в контрольній групі, були виявлені поодинокі форми патологій мітозу. В невеликій кількості тут спостерігались патологія профазі мітозу – містки та затримка при розходженні хромосом. Крім того, поодинокі патології метафазі – К-мітоз зі злипанням хромосом (рис. 1). Останнє твердження може свідчити про фізіологічні процеси інволюції епітеліоцитів в тонкій кишці щурів.

При дослідженні гістологічних зразків групи щурів, у яких було змодельовано нестачу мелатоніну характерною особливістю було те, що переважна більшість клітин знаходилась в стані мітотичного поділу, серед яких велика кількість була представлена патологічними мітозами (табл. 2).

Таблиця 1

Розподіл фаз мітозу в тонкій кишці щурів при надлишку та нестачі мелатоніну

Група спостереження	Мітотичний індекс (‰)	Профаза мітозу* (%)	Метафаза мітозу* (%)	Анафаза мітозу* (%)	Телофаза мітозу* (%)
Інтактна група	6,65	26,60	40,80	9,80	22,80
Гіпомелатоніемія	22,31	22,50	51,60	10,60	15,40
Гіпермелатоніемія	3,25	44,80	40,60	2,90	11,70

*Примітка: по відношенню до 100% клітин у стані поділу.

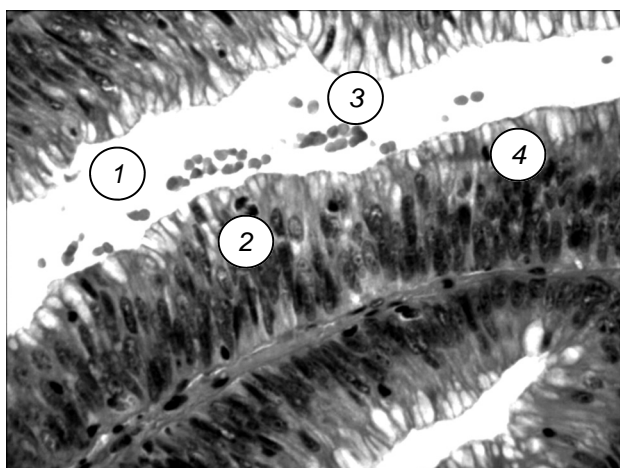


Рис. 1. Стан епітеліоцитів тонкої кишки щурів в контрольній групі:

1 – повнокровні венули; 2 – патологія мітозу – містки; 3 – еритроцити; 4 – К-мітоз зі злипанням хромосом. Забарвлення: гематоксилін – еозин.
Збільшення: об. 20х, ок. 15х.

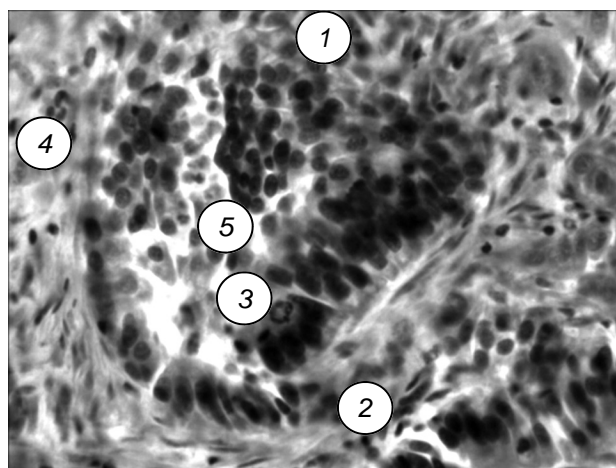


Рис. 2. Основні форми патології мітозів в епітеліоцитах тонкої кишки щурів при нестачі мелатоніну:

1 – патологія мітозу у вигляді містків; 2 – відставання хромосом при розходженні; 3 – кільцева метафаза; 4 – тригрупова метафаза; 5 – К-мітоз зі злипанням хромосом. Забарвлення: гематоксилін – еозин.
Збільшення. об. 40х, ок. 15х.

В таблиці представлені основні форми патології, які переважали в даному спостереженні у відсотковому співвідношенні.

Підтвердженням даного положення розподілу патологічних мітозів при нестачі мелатоніну є характерна гістологічна та морфологічна картина. Так, основною патологією (16,7%) переважно був К-мітоз зі злипанням хромосом, який характеризується блокадою поділу клітин в метафазі, в результаті ушкодження мітотичного апарату. Він представлений гіперспіралізованими та потовщеними

хромосомами, які утворюють щільний конгломерат – комок. На другому місці зустрічалась так звана патологія при розходженні хромосом (9,6%). Вона характеризувалась нерівномірним розподілом хромосом в мітотичних центрах та затримкою при їх потраплянні в дочірні клітини. Крім цього, в незначній кількості спостерігалися так звані містки. Вони були наслідком фрагментації хромосом з утворенням містка, який затримує та блокує утворення цитотомії (рис. 2).

Таблиця 2

Розподіл патологічних мітозів в тонкій кишці щурів при надлишку та нестачі мелатоніну

№ з/п	Розподіл патологічних мітозів	Контрольна група, кількість, %	Гіпомелатоніємія, кількість, %	Гіпермелатоніємія, кількість, %
1	Відставання хромосом при розходженні*	2,08	9,60	3,70
2	Містки*	0,94	1,10	1,10
3	Розсіювання хромосом*	0,12	0,90	0,30
4	Тригрупова метафаза*	0,01	0,90	-
5	Моноцентричний мітоз*	0,10	4,00	0,40
6	Асиметричний мітоз*	0,07	0,90	0,20
7	Багатополюсний мітоз*	0,08	3,20	0,20
8	К-мітоз*	2,42	16,70	4,70
9	Загальна кількість патологічних мітозів**	5,82	36,70	10,60

Примітки:

* – це відсоток по відношенню до загальної кількості патологічних мітозів;

** – це відсоток по відношенню до 100% клітин у стані поділу.

Як показують результати математичних та морфологічних досліджень, у групі щурів де було змодельовано надлишок мелатоніну, в основному переважають функціональні форми патології, які не пов'язані з грубим ушкодженням мітотичного апарату клітин і хромосом та кінетохорів ділення (рис. 3).

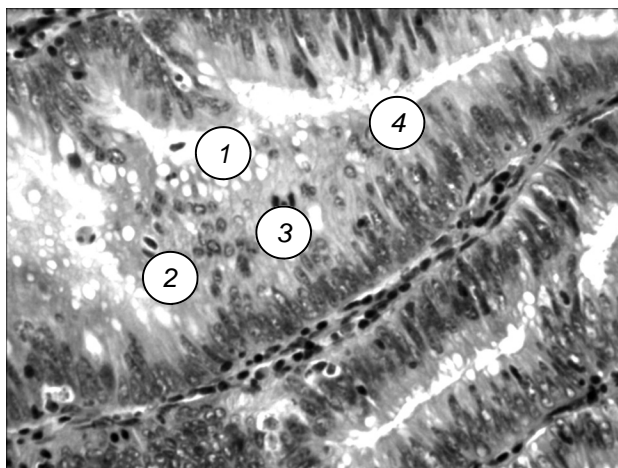


Рис 3. Патологічні мітози в тонкій кишці щурів при гіпермелатонінемії:

1 – клітини Панета; 2 – моноцентричний мітоз; 3 – асиметричний мітоз; 4 – «Кільцева» метафаза.
Забарвлення: гематоксилін – еозин.
Збільшення: об. 10х, ок. 15х.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Нестача мелатоніну сприяла збільшенню проліферативної активності та патологіям мітозу внаслідок порушення мітотичного апарату. У тварин, які отримували мелатонін на протязі 30 діб, проліферативна активність епітеліоцитів тонкої кишки щурів дещо

знижена, в порівнянні з контрольною групою. В клітинах переважає профазі мітотичного поділу. В основному переважають функціональні форми патології, які не пов'язані з грубим ушкодженням мітотичного апарату клітин і хромосом та кінетохорів ділення.

В подальшому планується дослідження дії гіпо- та гіпермелатонінемії на стан епітеліоцитів тонкої кишки щурів при запаленні.

Список використаних джерел

1. Анисимов В. Н. Мелатонин: роль в организме и применение в клинике. / В. Н. Анисимов — СПб : Система, 2007. — 40 с.
2. Барабой В. А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина / В. А. Барабой // Укр. біохім. журнал. 2000. Т 72, № 3. — С. 5—11.
3. Гуралюк В. М. Стрес-індуковані морфофункціональні зміни надниркових залоз за різної довжини фотоперіоду: Автореф. канд. мед. наук: спец. — Одеса, 2008. — 20 с.
4. Казанцева И. А. Патология митоза в опухолях человека / И. А. Казанцева — Новосибирск : Наука, 1981. — 144 с.
5. Пішак В. П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації / В. П. Пішак. — Чернівці, 2003. — 152 с.
6. Смирнов А. Н. Ядерные рецепторы мелатонина / А. Н. Смирнов // Биохимия. — 2001. — Т. 66, N1. — С. 28—36.
7. Турчина С. И. Сезонные ритмы продукции мелатонина и иммунореактивности у здоровых детей / С. И. Турчина, Н. В. Шляхова. — Всероссийская научно-практическая конференция 50 лет мелатонину: итоги и перспективы исследований. Тезисы докладов. — СПб, 2008. — С. 41.
8. Bubenik G. A. Localization of melatonin in the digestive tract of the rat: effect of maturation, diurnal variation, melatonin treatment and pinealectomy / Bubenik G. A. // Horm. Res. — 1980. — V.12. — P. 313—323.
9. Reiter R. J. Melatonin: Lowering the High Price of Freals / R. J. Reiter // News Physiol. Sci. — 2000. — Vol. 15. — P. 246—250.

YA. M. ANASEVYCH

Mykolaiv

EFFECT OF EXCESS AND LACK OF MELATONIN ON MITOSIS IN CELLS RAT SMALL INTESTINE

The analysis of the impact of excess and deficiency of melatonin on proliferative activity and passing mitosis in cells of the small intestine of rats. Established that lack of melatonin increases the proliferative activity and pathology mitosis in epitheliocytes rat small intestine due to violation of the mitotic apparatus. Excess melatonin for 30 days, however, reduces the proliferative activity.

Keywords: small intestine, melatonin hipermelatoninemia, hipomelatoninemia, mitosis.

Я. Н. АНАСЕВИЧ

Николаев

ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТКА И НЕДОСТАТКА МЕЛАТОНИНА НА МИТОЗ В КЛЕТКАХ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС

Проведен анализ влияния недостатка и избытка мелатонина на пролиферативную активность и прохождения митоза в клетках тонкой кишки крыс. Установлено, что недостаток мелатонина способствует увеличению пролиферативной активности и патологиям митоза в эпителиоцитах тонкой кишки крыс в результате нарушения митотического аппарата. Избыток мелатонина в течение 30 суток, наоборот, снижает пролиферативную активность.

Ключевые слова: тонкая кишка, мелатонин, гипермелатонинемия, гипомелатонинемия, митоз.

Стаття надійшла до редколегії 10.04.2015