

ГІСТОФІЗІОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПІНЕАЛОЦИТІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ДІЇ НІТРАТІВ

Миколаївський національний університет ім. В.О. Сухомлинського (м. Миколаїв)

Дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідницької роботи Навчально-наукового інституту фізичної культури та спорту Миколаївського національного університету ім. В. О. Сухомлинського «Гістофізіологічний стан ендокринної системи в умовах впливу несприятливих факторів навколишнього середовища», зареєстрованої в Українському інституті науково-технічної і економічної інформації (№01082002830 від 03.06.08).

Вступ. Загальновідомо, що епіфіз – нейроендокринна залоза, продукуюча індоламіни – серотонін і мелатонін, а також так звані поліпептиди. Які займають одне із головних місць у підтримці та регуляції головних життєвих функцій організму [1,3,6].

Літературні джерела наводять незначні дані про гістофізіологічні зміни пінеальних клітин шишкоподібної залози за умов тривалої дії несприятливих чинників навколишнього середовища. Особливо нітратів питної води, що перевищують гранично допустимі концентрації в декілька разів [2] і є властивими для багатьох південних районів України. Тому, вивчення гістоструктури і функціональних перебудов, що відбуваються у світлих та темних пінеалоцитах за умов дії нітратів є важливою проблемою сучасної теоретичної і практичної біології та медицини. У зв'язку з цим, вивчення морфофункціональних змін епіфіза за умов хронічної нітратної інтаксікації є не тільки актуальним, але й потребує подальшого вивчення.

Метою дослідження було вивчення гістофізіологічних змін темних пінеальних клітин шишкоподібної залози у щурів різного віку у нормі та в умовах тривалої дії нітратів.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом для вивчення стану епіфіза були нелінійні білі щури – самці різного віку (14-, і 90-добові). Тварини утримувались у виварії в рівноцінних умовах, при повноцінному раціоні та однаково світловому режимі. Щурята знаходились з матір'ю до початку статевого дозрівання, тобто до 45 доби життя. У дослідну групу входило 8-10 тварин відповідного віку.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [5].

При моделюванні хронічної нітратної інтаксікації тваринам щодня у питний раціон, починаючи з 7-доби розвитку, додавали 120 мг/л нітрату натрію. Досліди проведенні в осінньо-зимовий період.

Після декапітації і забору периферійної крові і гіпофіза, матеріал підлягався подальшій гістологічній

обробці. Для приготування оглядових гістологічних препаратів зрізи залоз фарбували гематоксином і еозином, паральдегід-фуксином (ПАФ) з дофарбуванням азокарміном за Гейденгайном і Хельмі, а також за методом ШІК-альціановий синій. На отриманих гістологічних препаратах вираховували кількісний відсоток темних пінеальних клітин. За допомогою окуляр-мікрометра вимірювали діаметри темних ендокриноцитів (по 50 клітин кожного типу), їх ядер та ядерця. Об'єми клітин, ядер та ядерця вираховували за формулою:

де d - середній діаметр і виражали в $\mu\text{м}^3$.

$$V = \sqrt{\frac{\pi d^3}{6}}$$

Вміст мелатоніна в крові щурів визначали за загальноприйнятою методикою [4]. Отримані дані обробляли за допомогою методів варіаційної статистики з використанням обчислювальних програм [7].

Про функціональні зміни активності клітин шишкоподібної залози тварин судили за такими ознаками: збільшенням або зменшенням відсотка темних пінеалоцитів, їх середніх об'ємів, ядер та ядерця; змінами ядерно-цитоплазматичного співвідношення в клітинах; зменшенням кількості секреторних гранул у темних клітинах; динамікою вмісту мелатоніна у периферійній крові тварин; оптичній густині забарвлення ядер пінеалоцитів; за ступенем гіперемії судин та змінами відсотку питомого об'єму кровоносного русла шишкоподібної залози.

Результати досліджень та їх обговорення.

При вивченні епіфіза інтактних 14-добових щурів у паренхімі виявлялись клітини двох типів: пінеальні (світлі і темні) та нейрогліальні. Темні пінеалоцити у паренхімі епіфіза утворювали тяжі та значні скупчення по всій поверхні зрізів. За кількістю вони значно перевищували інші ендокриноцити. І мали витягнуту форму та відносно рівні контури клітинної мембрани. Овальне різко контуроване ядро займало центральне положення. Одне компактне ядерце локалізувалось поблизу ядерної оболонки. Дифузний хроматин рівномірно заповнював каріоплазму. У цитоплазмі темних пінеалоцитів визначались секреторні гранули, які розміщувались поблизу клітинної мембрани. Виявлялись щільні контакти темних пінеалоцитів з кровоносними судинами.

Відсоток темних пінеалоцитів серед усіх пінеальних клітин становив $87,9 \pm 3,4\%$. Середній об'єм темних клітин, їх ядер і ядерця в $\mu\text{м}^3$ складає $870,3 \pm 19,4$; $592,6 \pm 13,2$; $56,1 \pm 2,3$. ЯЦС темних пінеалоцитів 1:1,5. Вміст мелатоніна в периферійній крові 14-добових інтактних щурів становило $133,4$ пмоль/л.

Отже, у 14-добових інтактних щурів епіфіз був представлений як сформований орган, в якому визначались два типи клітин: пінеальні (світлі і темні), та нейрогліальні. В яких відбувались (згідно даних структури і вмісту мелатоніну в крові) активні процеси синтезу та секреції гормонів у кров'яне русло.

У 90-добових інтактних щурів у паренхімі шишкоподібної залози відмічається зменшення кількості темних клітин, що очевидно пов'язано з їх диференціюванням у світлі пінеалоцити. Темні клітини мають невеликі розміри. Трикутне витягнуте ядро та округле ядерце локалізуються центрально. Дифузний хроматин рівномірно розсіяний по всій каріоплазмі. Клітинна оболонка має рівні контури та слабо виражені контакти з судами. Накопичення секреторних гранул відмічається в основному поблизу ядерної оболонки та уздовж клітинної мембрани.

Відсоток темних пінеалоцитів серед усіх пінеальних клітин дорівнює $41,7 \pm 1,9\%$. Середній об'єм темних клітин, їх ядер і ядерця в мкм і складає $1462,9 \pm 15,4$; $925,9 \pm 12,4$; $38,4 \pm 3,5$. ЯЦС в темних пінеальних клітинах - 1:1,6. Вміст мелатоніну в периферійній крові 90-добових інтактних щурів становить $101,4$ пмоль/л.

Таким чином, в паренхімі епіфіза 90-добових інтактних щурів відмічається зменшення кількості темних клітин на $53,1\%$, порівняно з 14-добовими інтактними тваринами. Що очевидно вказує на продовження їх трансформації у світлі клітини. При цьому, об'єми цих клітин та їх ядер зростають відповідно на $68,1\%$ та $56,3\%$, а вміст мелатоніну у периферійній крові зменшується на $24,1\%$.

Дослідження епіфіза у 14-добових щурів після тривалої дії нітратів показало. Що, паренхіма органа була утворена з ендокриноцитів двох типів: пінеальних (світлих і темних) та нейрогліальних (рис. 1).

Темні пінеальні клітини розміщувались рівномірно по всьому епіфізу, утворюючи великі скупчення. Вони мали витягнуту форму та відносно рівні контури клітинної мембрани. Кутасте різко контуроване ядро локалізувалось здебільшого у центрі клітини, або дещо ексцентрично. Округлі ядерця (1-2)

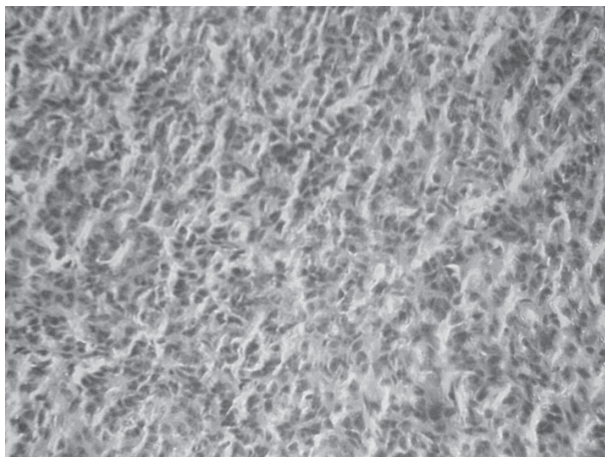


Рис. 1. Епіфіз 14-добового щура після хронічної дії нітратів. Компактне розміщення світлих та темних клітин. Незначні просвіти в цитоплазмі темних пінеалоцитів. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.56, ок. 15.

локалізувались поблизу каріолеми. Зустрічались ділянки з дифузним розсіяним хроматином в ядрі. В цитоплазмі деяких темних клітин відмічались ознаки набряку і окремі площі просвітлення. Виявлялись незначні накопичення округлих секреторних гранул навколо ядра та уздовж плазмолем. Відмічались щільні контакти темних пінеальних клітин як між собою, так і з кровоносними судинами.

Відсоток темних пінеалоцитів серед усіх пінеальних клітин становить $83,6 \pm 6,4\%$. Середній об'єм темних клітин, їх ядер і ядерця в мкм і складає $1050,3 \pm 18,7$; $657,7 \pm 13,2$; $23,2 \pm 2,3$. ЯЦС темних пінеалоцитів 1:1,6. Вміст мелатоніну в периферійній крові 14-добових піддослідних щурів становить $100,7$ пмоль/л.

Таким чином, у 14-добових тварин після дії нітратів у шишкоподібній залозі відмічалось зменшення відсотка темних клітин на $4,1\%$, порівняно з контролем. Об'єми цих клітин та їх ядер збільшувались відповідно на $20,6\%$, та $11,1\%$. Вміст мелатоніну в периферійній крові зменшувався на $25,4\%$. В темних клітинах відмічались гістофізіологічні ознаки зниження функції.

У 90-добових піддослідних щурів в епіфізі відмічалось зменшення кількості світлих клітин. Та збільшення гіпермованості кровоносних судин. Причому більш виражено, ніж у 14-добових піддослідних тварин (рис. 2).

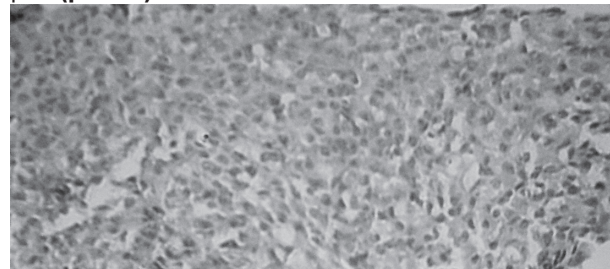


Рис. 2. Епіфіз 90-добового піддослідного щура. В структурі темних пінеалоцитів виражені ознаки клітинного набряку. Фарбування: гематоксилином і еозином. Об.56, ок. 15.

Темні клітини мали менші розміри, порівняно з світлими. Клітинна оболонка мала відносно звивисті контури та сильно виражені контакти з судами.

Овальне ядро та ядерця (2-3) локалізувались центрально. В каріоплазмі виявлялись елементи нерівномірно конденсованого хроматину. Секреторні гранули поодинокі зустрічались у цитоплазмі.

Відсоток темних пінеалоцитів серед усіх пінеальних клітин дорівнював $65,5 \pm 2,9\%$. Середній об'єм темних клітин, їх ядер і ядерця в мкм і складав $1508,9 \pm 13,4$; $904,9 \pm 12,4$; $26,1 \pm 3,5$. ЯЦС в темних пінеальних клітинах - 1:1,7. Вміст мелатоніну в периферійній крові 90-добових піддослідних щурів становив $57,4$ пмоль/л.

Таким чином, в паренхімі епіфіза 90-добових піддослідних щурів відмічалось збільшення кількості темних пінеалоцитів на $24,5\%$ їх об'ємів на $3,1\%$ порівняно з контролем. Показник ЯЦС збільшувався на $6,2\%$. Вміст мелатоніну в периферійній крові зменшувався на $46,6\%$. Що свідчить про поступове диференціювання темних клітин з світлих.

Висновки.

Аналіз отриманих результатів показав, що:

1. У 14-добових тварин після тривалої дії нітратів питної води в структурі шишкоподібної залози відмічались ознаки розвитку стрес-реакції. Що відображалась у зниженні вмісту мелатоніна в крові та функціональної активності.

2. У 90-добових піддослідних щурів функція темних пінеалоцитів продовжувала знижуватися. Тоді як кількість дистрофічно та дегенеративно змінених клітин набувало більшого характеру.

3. Нітратна інтоксикація організму тварин суттєво впливала на гістофізіологічний стан пінеальних клітин шишкоподібної залози. Що залежало від тривалості надходження в організм щурів нітратів та від віку тварин.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження планується спрямувати на вивчення структурно-функціональних змін в системі епіфіз-проміжна частка гіпофіза щурів за умов нітратної інтоксикації різної тривалості та пошуку ефективних засобів корекції дії цих речовин.

Список літератури

1. Анисимов В.Н. Мелатонин, роль в организме, применение в клинике / В.Н. Анисимов. – С. – Пб. : Система, 2007. – 40 с.
2. Бондаренко Л.О. Значення взаємодії факторів внутрішнього і зовнішнього середовища в регуляції функціональної активності пініальної залози : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора біол. наук : 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» / Л.О. Бондаренко. - К., 2003. – С. 12-26.
3. Виноградова И. А. Влияние светового режима и мелатонина на гомеостаз, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самцов крыс / И.А. Виноградова, А.В. Букалев, М.А. Забежинский [и др.] // Вопр. онкол. - 2008. - Т. 54, № 1. - С. 70-77.
4. Головаченко В.А. Инструкции по применению наборов реактивов для иммуноферментного определения гормонов / В.А. Головаченко, Д.Г. Полинцев. - М. : МГУ, 2000. - 55 с.
5. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. - 2000. - Т.8, № 1. - С. 142-145.
6. Иванов С.В. Возрастная морфология эпифиза человека: прижизненное исследование / С.В. Иванов // Успехи геронтол. - 2007. - Т.20, № 2. – С. 60-65.
7. Лях Ю.Е. Основы компьютерной биостатистики / Ю.Е. Лях. – Д., 2006. -211 с.

УДК 572.786: 546.175

ГІСТОФІЗІОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПІНЕАЛОЦИТІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ДІЇ НІТРАТІВ

Чумаченко О.Ю.

Резюме. Досліджено особливості змін структури та функції клітин шишкоподібної залози щурів різного віку за умов нітратної інтоксикації. Встановлено, що після тривалої дії нітратів питної води в структурі залози відмічались ознаки розвитку стрес-реакції. Що виявлялось у зниженні функції в темних клітинах та вмісту мелатоніна в крові.

У 90-добових піддослідних щурів в структурі шишкоподібної залози відмічалось пониження функції темних пінеалоцитів, також як і кількості дистрофічно та дегенеративно змінених клітин.

Ключові слова: шишкоподібна залоза, темні пінеалоцити, мелатонін, нітратна інтоксикація.

УДК 572.786: 546.175

ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПИНЕАЛОЦИТОВ ПРИ УСЛОВИИ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ НИТРАТОВ

Чумаченко А.Ю.

Резюме. Исследование особенности изменений структуры и функции клеток шишковидной железы крыс разного возраста при условии нитратной интоксикации. Установлено что после длительного действия нитратов питьевой воды в структуре железы отмечались признаки развития стресс-реакции. Что выявлялась в уменьшении как функции в темных клетках, так и содержания мелатонина в крови животных.

У 90-суточных подопытных крыс в структуре шишковидной железы отмечалось понижения функции темных пинеалоцитов, так же как и количества дистрофически и дегенеративно измененных клеток.

Ключевые слова: шишковидная железа, темные пинеалоциты, мелатонин, нитратная интоксикация.

UDC 572.786: 546.175

Gistofizeologicheskyy Changes Pinealotsytus Under Condition Of Long Action Of Nitrates

Chumachenko A.U.

Summary. Research of feature of changes of structure and function of cages шишковидной glands of rats of different age under a condition nitrates intoxications. It is established that after long action of nitrates of potable water in gland structure signs of development of stress-reaction were marked. That came to light in function increase in dark cages, maintenance growth melatonin in blood of animals.

At 90 daily experimental rats in structure glands pinialis it was marked increases of function dark pinealothytus, as well as quantity increases distrofical and degenerately changed cages.

Key words: glandules pinialis, dark pinealotsytus, melatonin, nitrates an intoxication.

Стаття надійшла 9.02.2012 р.