

УДК: 616.36-002:615.322

**Гістологічні особливості печінки при довготривалій нестачі мелатоніну
О.І.Антонова**

*Кременчуцька філія Відкритого міжнародного університету розвитку людини «Україна»
(Кременчук, Україна)*

В роботі вивчено вплив світла і позбавлення сну як моделі часткової нестачі мелатоніну епіфізу на деякі сторони морфофункціогенезу печінки. Виявлено, що утримання білих пацюків при цілодобовому освітленні і позбавлення сну в останній день дослідження сприяли збільшенню мітотичного індексу клітин печінки і відсотка патологій мітозу за рахунок порушень мітотичного апарату, що може бути наслідком стресової реакції і нестачі мелатоніну.

Ключові слова: мелатонін, печінка, патології мітозу, мітотичний індекс клітин.

Вступ

В останні роки увагу багатьох дослідників привертає мелатонін, який виробляється епіфізом, максимально в темряві та уві сні, а також окремими клітинами кишечника. Мелатонін є нейромедіатором, гормоном, імуномедіатором, антиоксидантом, стимулятором сну та імуногенезу, гальмівником проліферації і синтезу та секреції гонадотропинів. Мелатонін має рецептори, як на мембрані клітини, так і в ядрі, використовується як імуностимулятор, гальмівник ініціації канцерогенезу (Bartsch et al., 2002), геропротектор (Барабой, 2000; Бондаренко, 1991, 1997; Малиновская, 1998; Пішак, 2003; Смирнов, 2001; Чазов, Исаченко, 1974; Reiter, 1981, 2000; Reiter, Robinson, 1995), що підіймає адаптивні можливості на новий рівень за рахунок стимуляції нейро-ендокринно-імунної системи. Однак робіт, присвячених дослідженню впливу недостатності мелатоніну в організмі на функціонування печінки, вкрай недостатньо, що обумовлює доцільність проведення досліджень у цьому напрямку.

Печінка виконує найважливіші метаболічні функції, перетворює речовини, які до неї надходять, в сполуки, необхідні або для видалення їх з організму, або для утворення інших речовин і тканин. Печінка бере участь в підтримці гомеостазу шляхом регуляції білкового, вуглеводного, ліпідного обміну, детоксикації та жовчоутворення під впливом гормональної регуляції (Хазанов, 1988).

Метою цієї роботи було встановлення стану печінки при довготривалій хронічній нестачі мелатоніну.

Матеріали та методи дослідження

У 55-денному досліді використані щури-самці лінії Wistar, середньою масою 220–260 г. Експеримент проводився на 10 тваринах 6-місячного віку. Інтактну групу склали 5 тварин. Дослідну групу утворили 5 тварин. Для моделювання гіпомелатонінемії дослідну групу тварин витримували при світлі цілодобово, а останній день залишили без сну. Евтаназію проводили зранку під гексеналовим наркозом (згідно норм біоетики) шляхом відбирання крові з серця. Проводили гістологічні дослідження печінки, зрізи якої фарбували гематоксиліном, еозином та пікрофуксином по Ван Гізону за загальноприйнятою методикою (Беркало та ін., 1997).

Результати та їх обговорення

Як показують результати гістологічного дослідження тканини печінки в дослідній групі тварин, які постійно знаходились протягом 55 днів під дією освітлення цілодобово, а останній день залишились без сну, ми виявили наступні морфологічні особливості будови даного органу.

Найбільш строкаті зміни в гістологічній картині будови печінки були представлені у дослідній групі експериментальних тварин, які не отримували мелатонін. Морфологічні особливості тканини органу розглядались трохи інакше. Печінка мала правильне балочкове розташування синусоїдів, добре виражену центральну вену, по периферії частинок розташовувались кровоносні судини (артерія і вени), а також лімфатична судина й жовчна протока. Однак в перипортально розташованій артеріальній судині м'язова оболонка значно стовщена, базальна мембрана була базофільна, ендотеліальні клітини вибухали у просвіт судини, проте мали зв'язок із базальною мембраною.

Гепатоцити нерівномірно сприймали фарбник, деякі з них знаходились у стані вираженого некробіозу, особливо в перипортальних зонах (рис. 1).

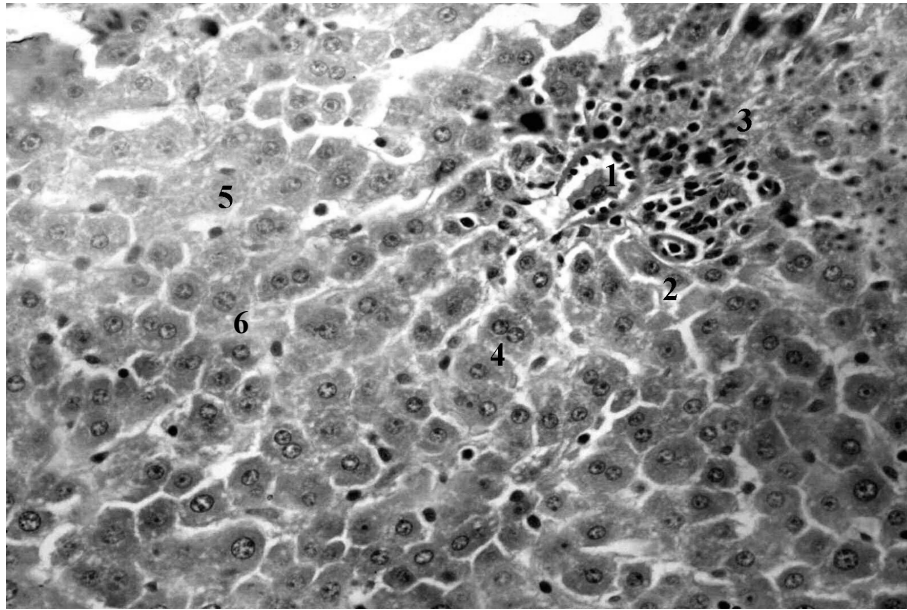


Рис. 1. Будова тканини у дослідній групі тварин: 1) артеріола; 2) жовчна протока; 3) лімфо-гістіоцитарні інфільтрати; 4) двохядерні гепатоцити; 5) синусоїди; 6) гепатоцити в стані некробіозу

Фарб. гем-еозин.

Збільшення × 200.

Просвіт артеріальних судин був вільним. Перипортальні вени характеризувались різким переповненням їх кров'ю. У просвіті судин по всіх полях зору мікроскопу зустрічались вільно розташовані еритроцити, іноді з елементами сепарації й агрегації еритроцитів й плазми крові (рис. 2).

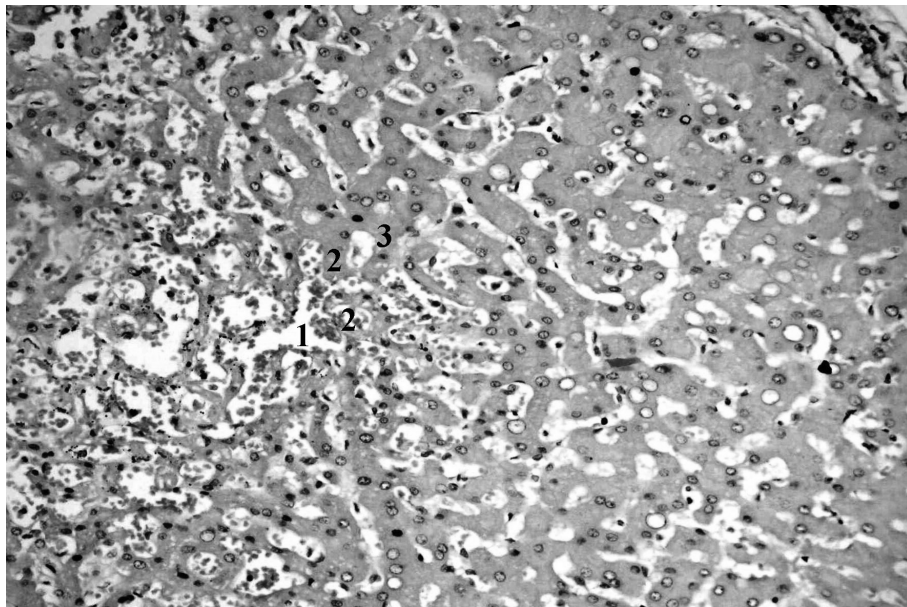


Рис. 2. Переповнення кров'ю синусоїдів в пацієнтів, які отримували освітлення: 1) розширені синусоїди; 2) еритроцити; 3) лімфо-гістіоцитарні інфільтрати

Фарб. гем-еозин.

Збільшення × 100.

Гепатоцити, гістологічно, були набряклі, збільшені у розмірах, з ексцентрично розташованими ядрами.

Зонально, частіше всього в області перипортальних трактів, зустрічались гепатоцити з середніми й великими жировими вакуолями в їх цитоплазмі.

При великому збільшенні мікроскопу ядра паренхіматозних клітин печінки були гіперхромні. Гетерохроматин мав маргінальне розташування, в основному по периферії ядерної оболонки, у вигляді великих глибок.

Іноді в області перипортальних трактів визначались невеликі ділянки з вираженим некробіозом гепатоцитів. Останні були зменшені у розмірах, ядра їх пікнотично зморщені, місцями з вираженими розривами й розпадом на глибки, а іноді й повністю відсутні. В паренхімі печінки на їх місці відмічалось накопичення еозинофільних мас й залишків клітинних конгломератів. По ходу портальних трактів, навколо тріод відмічалась невеликі ділянки лімфо-гістіоцитарної інфільтрації (рис. 3).

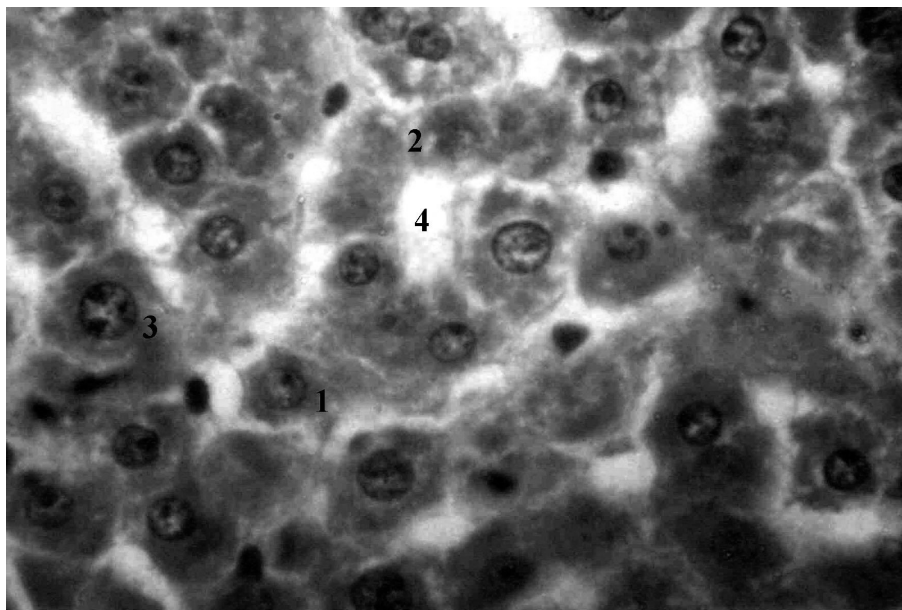


Рис. 3. Гепатоцити у дослідній групі тварин: 1) каріопікноз; 2) каріолізис; 3) маргінальне розташування гетерохроматину; 4) синусоїди
Фарб. гем-еозин. *Збільшення × 1000.*

Морфологічним підтвердженням даної гістологічної картини печінки в експериментальній групі тварин було визначення мітотичного індексу проліферизуючих гепатоцитів, спектру наявності патологічних мітозів, з визначенням їх переважаючої форми, а також візуалізації гепатоцитів, які знаходяться на різних стадіях нормально плинучого мітозу (профаза, метафаза, анафаза і телофаза), з їх відсотковим розподілом по фазам (результати представлені в табл. 1).

Таблиця 1.

Група досліджень	Мітотичний індекс, %	Відношення фаз мітозу				Патологічні мітози, %	Різні форми патології								
		профаза	метафаза	анафаза	телофаза		відставання хромосом	містки	розсіювання хромосом	3-групова метафаза	багатополосний мітоз	моноцентричний мітоз	пуста метафаза	K-мітоз з розсіюванням хромосом	K-мітоз із злипанням хромосом
Гістологіч. преп. дослідної групи	2,15	60,2	23,5	1,6	6,7	5,1	1,9	0,3	1,3		0,9		0,5	1,7	2,1

При проведенні аналізу результатів, представлених у таблиці, звертає на себе увагу те, що мітотичний індекс печінки складає 2,15‰, переважна більшість клітин знаходиться в профазі мітотичного поділу. Питома вага патологічних мітозів складає 5,1% від усіх клітин, що діляться.

При детальному вивченні гістологічних препаратів звертає на себе увагу той факт, що багато гепатоцитів утворює поодинокі або численні фрагменти хромосом, які хаотично розсіяні по всій поверхні цитоплазми, а іноді зосереджені в області веретена поділу клітини. Вищеописана морфологічна картина характерна для патології мітозу, яка називається відставанням хромосом при розходженні. У нашому випадку вона спостерігалась у 1,7% від усіх інших форм патології мітозів.

Переважає більшість усіх форм відхилень від нормально плинучого мітозу – це так званий К-мітоз зі злипанням хромосом, який зустрічається в 2,1% випадків. Ця форма патології характеризується наявністю гіперспіралізованих й потовщених хромосом, які злипаються між собою з утворенням щільного еозинофільного грудка, що займає більшу частину цитоплазми гепатоцитів (рис. 4).

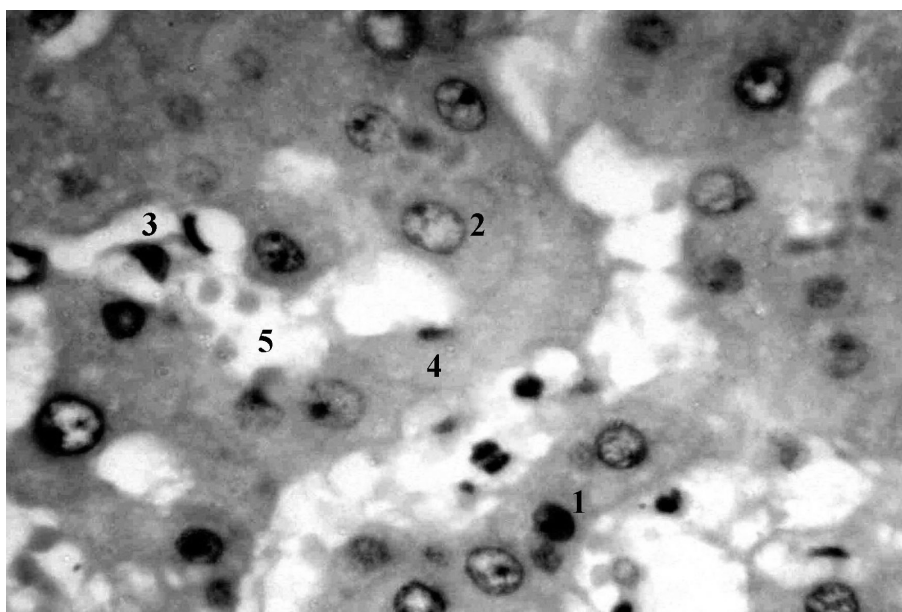


Рис. 4. Патологія мітозу у вигляді «злипання хромосом» метафази в гепатоцитах дослідної групи експериментальних тварин:

- 1) К-мітоз зі злипанням хромосом;
- 2) маргінальне розташування гетерохроматину в ядрах гепатоцитів;
- 3) клітина, що знаходиться в пізній анафазі мітотичного поділу;
- 4) клітина Купфера;
- 5) еритроцит

Фарб. пікрофуксином по Ван Гізон.

Збільшення × 1000.

Таким чином, довготривала гіпомелатоніємія призводить до збільшення мітотичного індексу та патологій мітозу гепатоцитів. Відсоток патологій збільшився за рахунок порушень мітотичного апарату.

Висновки

У результаті дослідження довготривалої нестачі мелатоніну відзначені найбільш характерні зміни в гістологічній картині печінки. Звертали на себе увагу переповнення центральної вени та невелика кількість еритроцитів в синусоїдах. Гепатоцити нерівномірно сприймали барвник, мали зернисту цитоплазму з ексцентрично розташованими ядрами. В області перипортальних трактів гепатоцити знаходились в стані вираженого некробіозу. Мітотичний індекс складав 2,15‰. Найбільша кількість клітин знаходилась в профазі мітотичного розподілу клітин. В дослідній групі на гістологічних препаратах відзначалась наявність 5,1% патологічних мітозів. Провідною формою патології мітозу була наявність колхіцинової метафази зі злипанням хромосом. Ця форма патології відноситься до грубих форм ушкодження клітин. Збільшення патологій мітозу гепатоцитів може бути наслідком стресової реакції та зниження секреції мелатоніну.

Перспективи подальших досліджень

Дані експериментальні дослідження не вичерпують повністю проблеми. В подальшому продовжаться дослідження з проблем використання мелатоніну при експериментальних патологіях печінки.

Список літератури

- Барабой В.А. Антиокислительная и биологическая активность мелатонина // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т.72, №3. – С. 5–11.
- Беркало Л.В., Бобович О.В., Гейко О.О. та ін. Посібник з експериментальних клінічних досліджень в біології та медицині. – Полтава, 1997. – 271с.
- Бондаренко Л.А. Некоторые биохимические аспекты функционирования пинеальной железы крысы в онтогенезе // Онтогенез. – 1991. – Т.22, №1. – С. 57–62.
- Бондаренко Л.А. Современные представления о физиологии эпифиза // Нейрофизиология. – 1997. – Т.29, №3. – С. 212–237.
- Малиновская Н.К. Роль мелатонина в организме человека // Клин. медицина. – 1998. – №10. – С. 15–22.
- Пішак В.П. Шишкоподібне тіло і біохімічні основи адаптації. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 152с.
- Смирнов А.Н. Ядерные рецепторы мелатонина // Биохимия. – 2001. – Т.66, №1. – С. 28–36.
- Хазанов А.И. Функциональная диагностика болезней печени. – М.: Медицина, 1988. – 304с.
- Чазов Е.И., Исаченко В.А. Эпифиз: место и роль в системе нейроэндокринной регуляции. – М., 1974. – 212с.
- Bartsch C., Bartsch H., Karasek M. Melatonin in clinical oncology // Neuroendocrinol. Lett. – 2002. – Vol.23, Suppl.1. – P. 30–38.
- Reiter R.J. The Mammalian pineal gland: structure and function // INC. – 1981. – P. 287–313.
- Reiter R.J. Melatonin: lowering the high price of free radicals // News Physiol. Sci. – 2000. – Vol.15. – P. 246–250.
- Reiter R.J., Robinson J. Melatonin. – N.-Y., 1995. – 456p.

**Гистологические особенности печени при длительной недостаточности мелатонина
Е.И.Антонова**

В работе изучено влияние света и лишения сна как модели частичной недостаточности мелатонина эпифиза на некоторые стороны морфофункциогенеза печени. Установлено, что содержание белых крыс при круглосуточном освещении и лишении сна в последний день опыта способствовали увеличению митотического индекса клеток печени и процента патологий митоза за счет нарушений митотического аппарата, что может быть следствием стрессовой реакции и недостаточности мелатонина.

Ключевые слова: *мелатонин, печень, патологии митоза, митотический индекс клеток.*

**Cytological peculiarities of liver under the long-term melatonin insufficiency
E.I.Antonova**

The influence of light and dream privation as a model of partial insufficiency of epiphysis melatonin on some directions of liver morphogenesis was investigated. It was discovered, that keeping of white rats at round-the-clock illumination and dream privation in the last day of the experiment promoted the increase of mitotic cells index and percentage of mitosis pathologies for the account of mitotic apparatus damage that can be the result of stress reaction and insufficiency of melatonin.

Key words: *melatonin, liver, mitosis pathologies, mitotic cells index.*

Представлено І.І.Сидоренко

Рекомендовано до друку Н.В.Багацькою