

Д. Голишкин, асп., А. Вирченко, асп., Т. Фалалеева, д-р биол. наук, Т. Галенова, канд. биол. наук, А.Савчук, д-р биол. наук
КНУ имени Тараса Шевченко, Киев

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ СТРЕССА И ВВЕДЕНИЯ МЕЛАНИНА

Было изучено содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс в условиях стресса и введения меланина. Установлено, что меланин уменьшал уровень провоспалительных цитокинов интерлейкина (ИЛ) – 1 β , ИЛ-12 β p40, интерферона- γ и фактора некроза опухолей- α в сыворотке крови крыс в условиях стресса. Одним из эффектов меланина на иммунную систему было также усиление выделения противовоспалительных ИЛ-4 и ИЛ-10. Полученные результаты свидетельствуют об уменьшении воспаления под влиянием исследуемого соединения в условиях стресса. Противовоспалительные свойства меланина являются одним из механизмов стрессадаптогенного и антиязвенного действия данного соединения.

Ключевые слова: меланин, стрессовые язвы, цитокины, противовоспалительный эффект.

D. Golyshkin, PhD stud., O. Virchenko, PhD stud., T. Falalyeyeva, DSc., T. Halenova, PhD., O. Savchuk, DSc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv

THE CYTOKINES CONTENT IN THE RATS SERUM UNDER STRESS AND ADMINISTRATION OF MELANIN

It was investigated proinflammatory and anti-inflammatory cytokines content in the rats serum under stress and administration of melanin. It was established that melanin reduced proinflammatory cytokines interleukin (IL) – 1 β , IL-12 β p40, interferon- γ and tumor necrosis factor- α in the rats serum under stress. Another effect of melanin on the immune system was the increase of anti-inflammatory IL-4 and IL-10 release. The findings suggest attenuation of inflammation under the influence of a test compound in stress conditions. The anti-inflammatory properties of melanin are one of the mechanism of stress-adaptive and anti-ulcer action of the compound.

Keywords: melanin, stress ulcers, cytokines, anti-inflammatory effect.

УДК 591.481.3

В. Пшиченко, преподаватель
Николаевский национальный университет им. В.А. Сухомлинского, Николаев

ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЭПИФИЗА КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА

Целью данного исследования анализ влияния хронического стресса на гистофизиологическое состояние эпифиза крыс. Материалом для исследования служили эпифизы 24 самцов крыс линии Вистар. Выявлено, что в ответ на экспериментальные условия происходят гистофизиологические изменения паренхимы органа, которые выражаются в компактном расположении пинеалоцитов, увеличении количества темных пинеалоцитов, занимающих преимущественно апикальную часть эпифиза, чрезмерном заполнении ядер светлых пинеалоцитов конденсированным хроматином и слабо выраженными процессами гидратации. Результаты гистологического исследования свидетельствуют о низкой функциональной активности эпифиза.

Ключевые слова: эпифиз, стресс, пинеалоциты.

Вступ. В последние десятилетия наблюдается углубление уровней исследования функций эпифиза и его гормона – мелатонина при различных физиологических и патологических состояниях организма [3, 10, 12, 14]. Многочисленными экспериментальными исследованиями установлено, что именно эпифизу принадлежит важная роль в обеспечении процессов адаптации организма к действию стрессовых факторов, ведь эпифиз оказывает влияние почти на все системы органов организма, с помощью гормона мелатонина, который он синтезирует и который является уникальным природным адаптогеном [1, 2, 3, 5, 15].

Однако, несмотря на тот факт, что проблема исследования механизмов развития патологических изменений в результате действия стрессовых факторов приобретает все большую актуальность [13], количество научных работ посвященных изучению морфологических особенностей эпифиза при хроническом стрессе незначительно [12]. Существующие же немногочисленные литературные данные, имеют фрагментарный и противоречивый характер. Поэтому изучение гистофизиологических особенностей эпифиза при хроническом стрессе на сегодняшний день является актуальным и требует проведения дальнейших детальных исследований.

Цель: изучение гистофизиологического состояния паренхимы эпифиза крыс в условиях хронического стресса.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проводилось на 44 половозрелых самцах крыс линии Вистар, массой 240-280 г. Животные были разделены на две группы по 24 особи в каждой. Эксперимент продолжался 30 дней. Первая группа (контроль) содержалась в стандартных условиях вивария и при естест-

венном освещении. Вторая группа животных также содержалась в стандартных условиях вивария, при естественном освещении. Начиная с 20 дня эксперимента, крысам моделировали хронический стресс, помещая в резервуар с водой, вместимостью 10 л. на 5 часов для принудительного плавания [7, 16]. Температура воды поддерживалась в пределах 24-26° С. Животных выводили из эксперимента путем декапитации с использованием кетаминового наркоза из расчета 40 мг/кг массы тела. Эвтаназия животных осуществлялась в строгом соответствии с принципами: Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными, "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях" (Страсбург, 1986), а также "Общих этических принципов экспериментов на животных принятых первым национальным конгрессом по биоэтике" (Киев, 2001).

После извлечения эпифиза вместе с прилегающими к нему кровеносными сосудами полученный комплекс погружали в фиксирующий раствор 10% нейтрального формалина. С помощью стандартных способов материала заключали в парафиновые блоки, из которых изготавливали срезы толщиной 4 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические препараты изучали при различных увеличениях микроскопа "Primo Star Zeiss" с последующим фотографированием микропрепаратов цифровым зеркальным фотоаппаратом "Canon G10 Wide".

Результаты и их обсуждение. При гистологическом исследовании препаратов контрольной группы крыс отмечено, что шишковидная железа окружена тонкой капсулой, от которой внутрь органа отходят со-

единительнотканые перегородки, разделяющие паренхиму на дольки. В составе перегородок выявлены кровеносные сосуды разного калибра. Эти структурные элементы представляют собой строу шишковидной железы. Выявлено, что дольки железы имеют преимущественно округлую форму. Каждую дольку формируют высокоспециализированные элементы паренхимы шишковидной железы – пинеалоциты. В соответствии со своими морфофункциональными особенностями отмечено два типа пинеалоцитов. К первому типу мы отнесли светлые пинеалоциты. А к клеткам второго типа – темные пинеалоциты.

Выявлено, что светлые пинеалоциты представлены клетками овальной формы. Основной объем в клетке занимает ядро. Ядра имеют преимущественно округлую форму. Центральное положение в кариоплазме занимает ядрышко. Цитоплазма представлена узким ободком, занимающим пространство между цито- и кариолеммой. Цитоплазма выглядит прозрачной, бесструктурной. Выявлено, что темные пинеалоциты, по количеству значительно уступают светлым клеточным элементам. Кроме этого они локализованы преимущественно в глубоких слоях паренхимы органа. Так же установлено, что в отличие от светлых пинеалоцитов, темные – отличаются значительно меньшими размерами, овальной формой темных ядер. Выявлено, что у них даже при больших увеличениях микроскопа невозможно обнаружить любые структурные элементы. Ядрышки в таких клетках совершенно не проявляются вследствие наличия базофильного вещества (хроматина). Цитоплазма темных пинеалоцитов узкая и совершенно прозрачная (рис 1.).

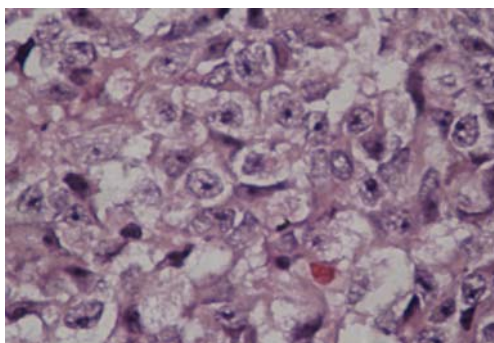


Рис. 1. Микрофотография среза шишковидной железы контрольной группы крыс
Окраска гематоксилин – эозин. Ув. $\times 400$.

Результаты нашего исследования совпадают с результатами исследований, посвященных изучению морфологии шишковидной железы человека и лабораторных животных других авторов [11, 17, 18].

При микроскопическом исследовании препаратов эпифиза группы животных, которым моделировали хронический стресс, установлено, что в апикальной части исследуемого органа практически постоянно обнаруживаются скопления темных пинеалоцитов, отличающихся интенсивной базофильной окраской. Обнаружено, что наиболее выраженные скопления темных пинеалоцитов сосредоточены преимущественно в самой узкой части апикального отдела шишковидной железы. В меньшем количестве эти анатомические структуры расположены на периферии ее апикального отдела. Можно отметить тесную связь во взаимоотношениях между светлыми и темными клеточными элементами паренхимы органа. Установле-

но, что светлые пинеалоциты окружены тесно прилегающими темными клетками (рис. 2).

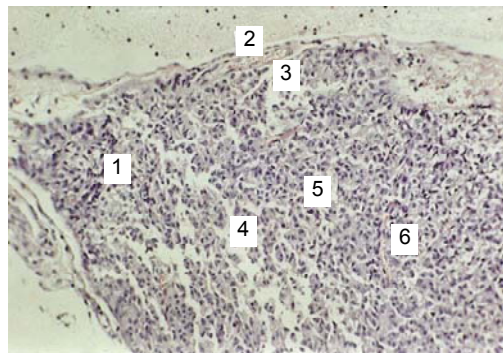


Рис. 2. Микрофотография клеточного состава паренхимы эпифиза крыс в области апикального отдела

1. Группа темных пинеалоцитов. 2. Капсула эпифиза. 3. Подкапсулярный кровеносный сосуд. 4. Следы прохождения кровеносных сосудов. 5. Светлые пинеалоциты. 6. Внутриорганный капилляр.

Окраска гематоксилин – эозин. Ув. $\times 100$.

Выявлено, что на гистологических срезах регионов шишковидной железы, удаленных от ее верхушки, общая гистологическая картина выглядит менее базофильной, что свидетельствует о преобладании в этих участках светлых пинеалоцитов. Темные пинеалоциты единичны и расположены преимущественно неупорядоченно (рис. 3). Важно отметить тот факт, что клеточные элементы паренхимы эпифиза, как на периферии, так и в центре органа расположены компактно (рис. 3.). Даная гистологическая особенность свидетельствует о низком уровне синтетических процессов.

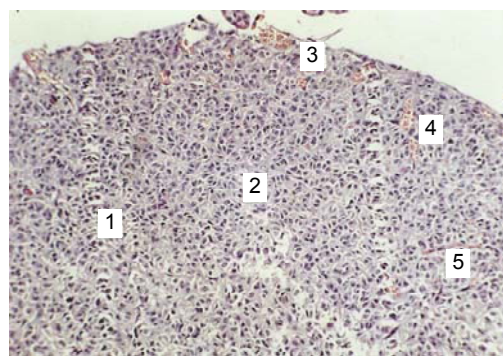


Рис. 3. Микрофотография клеточного состава центрального региона эпифиза крыс

1. Темные пинеалоциты. 2. Светлые пинеалоциты. 3. Подкапсулярные кровеносные сосуды. 4. Внутриорганные кровеносные сосуды. 5. Внутриорганные капилляры. Окраска гематоксилин – эозин. Ув. $\times 100$.

На гистологических срезах паренхима эпифиза имеет дольчатое строение. Выявлены большие дольки, ограниченные соединительноткаными перегородками и микродольки, ограниченные отростками пинеальных и глиальных клеток. Установлено, что пинеалоциты, как светлые, так и темные, которые входят в состав дольки, приобретают треугольную форму. При этом выявлено, что основание данного треугольника всегда обращено на периферию дольки, то есть к отросткам нейроглиальных клеток, а верхушки сходятся в центральной части микродольки (рис. 4).

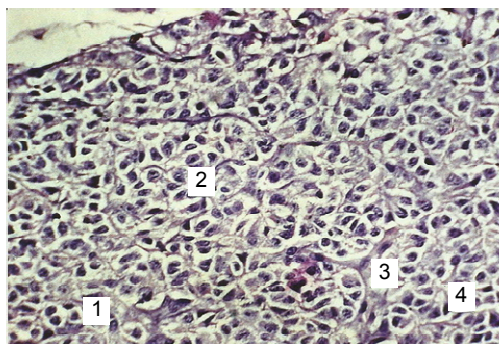


Рис. 4. Микрофотография структурной организации центральной части эпифиза крыс

1. Микрогдолька с темными пинеалоцитами. 2. Микрогдолька содержащая светлые пинеалоциты. 3. Соединительнотканная перегородка. 4. Глиальные клетки. Окраска гематоксилин – эозин. Ув. $\times 200$.

Цитоплазма большинства паренхиматозных клеток выглядит прозрачной. Иногда, в отдельных клетках, в цитоплазме находится бесструктурное слабобазофильное вещество. Выявлено, что на гистологических препаратах паренхимы шишковидной железы некоторых экспериментальных животных отмечаются явления слабо выраженной гидратации цитоплазмы отдельных пинеалоцитов или их групп. Установлено, что подобные очаги гидратации пинеальных клеток локализуются преимущественно в центральной части, но иногда встречаются и на периферии шишковидной железы (рис. 5, 6.). У таких клеток целостность и степень базофилии ядер практически сохраняется, хотя в отдельных случаях интенсивность окраски ядер снижается.

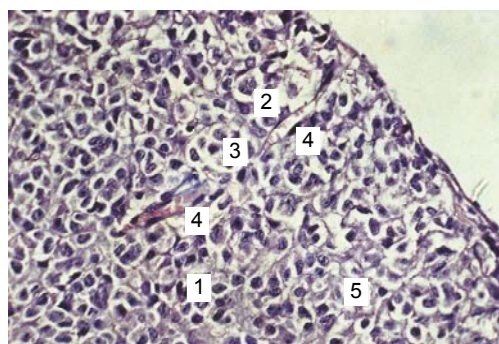


Рис. 5. Микрофотография структурной организации периферической зоны эпифиза

1. Темные пинеалоциты. 2. Гидратация отдельных светлых пинеалоцитов. 3. Гидратация микрогдолек. 4. Интраорганные кровеносные сосуды. 5. Лизис ядер и ядрышек светлых пинеалоцитов.

Окраска гематоксилин – эозин. Ув. $\times 400$.

Гидратация клеточных элементов вызывает значительное увеличение объема цитоплазмы и в связи с этим растяжение цитолеммы. Обнаружено, что в отдельных случаях гидратация цитоплазмы вызывает разрыв цитолеммы, в результате чего цитоплазматическая жидкость выливается в микрогдольки. Если такой процесс возникает в большинстве пинеалоцитов, то микрогдольки полностью заполняются цитоплазматической жидкостью (рис. 6.).

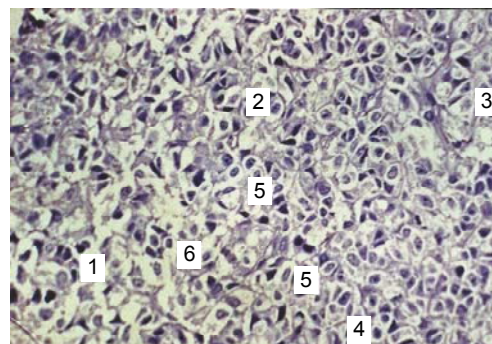


Рис 6. Микрофотография гидратации пинеалоцитов центральной части эпифиза крыс

1. Темные пинеалоциты. 2. Микрогдолька, содержащая светлые и темные пинеалоциты. 3. Микрогдолька содержащая светлые пинеалоциты. 4. Глиальные клетки. 5. Гидратация пинеалоцитов. 6. Гидратация дольки. Окраска гематоксилин – эозин. Ув. $\times 200$.

Установлено, что в большинстве светлых пинеалоцитов, ядрышки фактически не контурируются. Этот факт объясняется чрезмерным заполнением кариоплазмы базофильным веществом (конденсированным хроматином). В большинстве клеток хроматин не имеет однозначной структурной организации. Данная морфологическая особенность указывает на подавление функциональной активности отдельных светлых пинеалоцитов [4, 9]. Вместе с этим темные пинеалоциты имеют ряд характерных морфологических признаков, которые отличают их от светлых пинеалоцитов. Во-первых, темные пинеалоциты отличаются значительно меньшими размерами, по сравнению со светлыми клетками. Во-вторых, темные пинеалоциты отличаются интенсивно базофильной окраской [6, 14].

Вывод:

Морфологические проявления перестройки клеточного состава паренхимы эпифиза свидетельствуют о низком уровне ее функциональной активности в условиях хронического стресса.

Список используемых источников

1. Арушанян Э.Б. Эпифизарный мелатонин как антистрессовый агент / Э.Б. Арушанян, Л.Г. Арушанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1997. – №6. – С. 71-77.
2. Арушанян Э.Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин универсальный естественный адаптоген / Э.Б. Арушанян, Э.Б. Бейер // Успехи физиологических наук. – 2012. – №3. – С. 82-100.
3. Бейер Э.В. Антистрессовые возможности эпифизарного гормона мелатонина в зависимости от экспериментальной модели и выраженности стресса / Э.В. Бейер, А.С. Булгакова, А.А. Скорняков, Э.Б. Арушанян // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2010. – №2. – С. 59-63.
4. Букалев А.В. Роль эпифиза в организме / А.В. Букалев, И.А. Виноградова // Ученые Записки Петрозаводского Государственного Университета. – 2012. – №2(123). – С. 31-36.
5. Бондаренко Л.О. Вплив ікс – випромінювання в низьких дозах на шляхи біосинтезу і метаболізму індолів у пинеальній залозі / Л.О. Бондаренко // Український радіологічний журнал. – 2001. – №9. – С. 298 – 302.
6. Витер В.И. Функциональная морфология эпифиза при смерти от общего переохлаждения организма / В.И. Витер, Ю.С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. – 2005. – №4 (19). – С. 16-18.
7. Дев'яткіна Т.О. Експерименти з використанням лабораторних тварин як передумова для створення нових стрес протекторів / Т.О. Дев'яткіна, Н.М. Дев'яткіна // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2009. – Т. 9, №2(26). – С.35-38.
8. Евсеев А.Н. Морфологические изменения в эпифизе при геморрагической микрорадке с почечным синдромом / А.Н. Евсеев // Избранные вопросы судебной медицины и экспертной практики. – 2005. – №7. – С. 156-158.
9. Клименко Т.М. Клинико-морфологические корреляты функции эпифиза мозга у недоношенных новорожденных / Т.М. Клименко, Т.М. Кварацхелия, Г.И. Губина – Вакулик // Здоровье ребенка. – 2008. – №3(12). – С. 108-112.
10. Малышева О.А. Клинико-патогенетическое значение гормона эпифиза – мелатонина в неврологии / О.А. Малышева // Неврологический журнал. – 1999. – №2. – С. 52-55.
11. Мартин Ю.В. Гістологічне дослідження заднього мозку та епіфіза у великої рогатої худоби різного віку / Ю.В. Мартин, А.З. Пилипець,

О.С. Грабовська, Р.Г. Сачко // Науково-технічний бюлетень. – 2012. – Т.13, №1-2. – С. 345-349.

12. Мозговая Т.П. Гистологический анализ эпифиза и гипофиза мозга родителей и потомков при моделировании стресса / Т.П. Мозговая, Г.И. Губина – Вакулик, Т.В. Горбач // Врачебная практика. – 2007. – №4. – С. 95-98.

13. Пішак В.П. Морфофункціональний стан щитоподібної залози в умовах стресу на фоні введення мелатоніну в різні терміни доби / В.П. Пішак, А.А. Ходоровська, Л.Я. Федонюк, Н.П. Пентелейчук // Буквинський медичний вісник. – 2006. – Т.10, №4. – С. 137-140.

14. Пішак В.П. Гістологічні та ультраструктурні критерії ефективності корекції мелатоніном та епіталоном пінеалоцитів старих щурів після іммобілізаційного стресу / В.П. Пішак, Ю.В. Ломакіна, І.С. Давиденко // Проблеми старіння і довголіття. – 2008. – Т.17, №1. – С.3-8.

15. Afroz H. Microscopic study on the diameter of the pineal calcification of Bangladeshi Cadavers / H. Afroz, A.S. Nurunnabi, S. Ara, M. Rahman, T. Yesmin, A. Ara, K. Fatema, N. Nahar // Bangladesh Journal of Anatomy. – 2011. – Vol. 9, №2. – P. 71-74.

16. Bhatia N. Animal models in the study of stress: A review / N. Bhatia, P. Maiti, A. Choudhary, A. Tuli, D. Masih, M. Masih, Khan, T. Ara, A. Jaggi // Journal of Pharmacy and Healthcare Management. – 2011. – Vol. 02. – P. 42-50.

17. Ebada S. Morphological and immunohistochemical studies on the pineal gland of the donkey (*Equus asinus*) / S. Ebada // Journal of Veterinary Anatomy. – 2012. – Vol. 5, №1. – P. 47-74.

18. Gaikwad N.L. Pineal gland of goat: a histomorphological study / N. L. Gaikwad, U.P. Mainde, N.C. Nandeshwar, R.S. Dalvi, B.N. Meshram // Royal Veterinary Journal of India. – 2007. – Vol. 3, №1. – P. 37-38.

Поступила в редсовет 10.04.14

В. Пшиченко, викладач

Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського, Миколаїв

ГІСТОФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН ЕПІФІЗУ ЩУРІВ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

Метою дослідження було вивчення впливу хронічного стресу на гістофізіологічний стан епіфізу щурів. Матеріалом для дослідження стали епіфізи 24 самців щурів лінії Вістар. Встановлено, що у відповідь на експериментальні умови відбуваються гістофізіологічні зміни паренхіми органу, що виражаються в компактному розташуванні пінеалоцитів, збільшенні кількості темних пінеалоцитів, що займають апікальну частину епіфізу та заповненням ядер світлих пінеалоцитів конденсованим хроматином та слабо вираженими процесами гідратації. Результати гістологічного дослідження свідчать про низьку функціональну активність епіфізу.

Ключові слова: епіфіз, стрес, пінеалоцити.

V. Pshichenko, teacher

Nikolaev National University named after V.O. Sukhomlinskiy, Nikolaev

HISTOPHYSIOLOGICAL STATE OF THE PINEAL GLAND OF RATS UNDER CHRONIC STRESS

The aim of this study was to analyze the effect of chronic stress on the histological and physiological state of the pineal gland of rats. The material for the study were the epiphyses of 24 male Wistar rats. It was revealed that in response to the experimental conditions occur histological and physiological changes of the parenchyma the organ, which are expressed in a compact arrangement of pinealocytes, increasing the amount of dark pinealocytes primarily engaged in the apical part of the pineal gland, excessive filling of the nuclei of light pinealocytes condensed chromatin and mild hydration processes. Histological findings indicate low functional activity of the pineal gland.

Key words: pineal gland, stress, pinealocytes.

УДК 615.31: 616-006

М. Кузнєцова, асп., Т. Галенова, канд. біол. наук,

О. Савчук, д-р біол. наук

КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,

Х. Болібрех, асп., С. Половкович, канд. хім. наук,

Національний університет "Львівська політехніка", Львів

ПОШУК ІНГІБІТОРІВ ТИРОЗИНОВИХ ПРОТЕЇНКІНАЗ СЕРЕД ПОХІДНИХ ХІНОНІВ ТА ХІНОКСАЛІНІВ

У ході роботи було оцінено ефект новосинтезованих похідних хінонів та хіноксалінів на тирозинпротеїнкіназну активність білків цитозольної та мембранної фракції клітин м'язової тканини щурів. Встановлено, що усі досліджувані сполуки чинять значний інгібуючий вплив на мембранозв'язані тирозинпротеїнкінази, тоді як лише п'ять із усієї серії сполук можуть інгібувати цитозольні ферменти.

Ключові слова: хінони, хіноксаліни, тирозинпротеїнкіназна активність, канцерогенез.

Вступ. Нормальне функціонування організму передбачає координовану регуляцію росту, проліферації та диференціації кожної клітини. Регуляція цих процесів на молекулярному рівні відбувається за рахунок пост-трансляційних модифікацій білків, особливо шляхом фосфорилування [1]. Тирозинові протеїнкінази (ТПКази, КФ 2.7.1.112), – родина ферментів, до якої належать як рецепторні, так і цитозольні білки, що каталізують перенесення γ-фосфату з молекули АТФ на гідроксильну групу амінокислоти тирозину в складі білка-субстрату [2, 3]. Саме процес тирозинового фосфорилування є ключовим у забезпеченні міжклітинної комунікації, реалізації мітогенних сигналів та регуляції ряду важливих метаболічних змін у клітині [4]. Надмірна активація даного процесу може призводити до патологічної проліферації, індукції антиапоптичних ефектів. Ряд дослідників переконані, що активація ТПКаз є загальним механізмом розвитку та росту пухлин, стимуляції ангиогенезу та метастазування [5-7]. Патологічна активація рецептора епідермального фактора росту часто призводить до розвитку раку молочних залоз [8], колоректального раку [9], раку легень [10] та шкіри [11]; надмірна активність рецептора фактора росту ендотелію судин корелює з розвитком злоякісного ангиогенезу

в умовах раку молочної, передміхурової, підшлункової залоз, сечового міхура та ободової кишки [12]; у той час як неконтрольована активація рецептора інсуліноподібного фактора росту є причиною прогресування меланоми [13]. Як показують останні дослідження, неконтрольована активація цитозольної кінази Src – сигнальної ланки між інтегінами та MAP-кіназним каскадом, є одним із патогенетичних факторів розвитку деяких пухлин товстого кишківника та молочної залози [14], патологічна активність злитого білка Bcr/Abl може бути причиною розвитку мієлолейкозу [15].

Враховуючи вищесказане, ТПКаз розглядають як ключові мішені для дії інгібіторів в умовах терапії онкологічних захворювань, спричинених надмірною активністю даних ферментів. Інгібітори ТПКаз широко застосовуються у лікуванні різного роду пухлин [16, 17]. Проте певними труднощами у їх використанні є побічні ефекти, пов'язані з розвитком резистентності організму до препаратів та/або недостатньою їх селективністю по відношенню до своїх мішеней. Резистентність організму до інгібіторів ТПКазної активності впродовж лікування раку може бути наслідком компенсаторної активації або надекспресії рецепторних ТПКаз та цитозольних сигнальних протеїнів, що володіють ТПКазною активністю