

В.П. Пішак, М.І. Кривчанська, І.С. Давиденко, М.І. Грицюк, Д.В. Проняєв

Гістоморфологічний стан епіфіза та нирок за умов стандартного режиму освітлення при поєднаній дії анаприліну й мелатоніну

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Ключові слова: шишкоподібна залоза, пінеалоцити, дистрофія, альтерація епітелію, нирки.

Досліджено вплив β -блокатора анаприліну на патоморфологічний стан шишкоподібної залози та нирок при стандартному режимі освітлення, а також можливість корегувальної дії екзогенного мелатоніну. Доведено, що зазначені умови експерименту призводять до значних змін морфометричних показників.

Гистоморфологическое состояние эпифиза и почек в условиях стандартного режима освещения при сочетании действия анаприлина и мелатонина

В.П. Пишак, М.И. Кривчанская, И.С. Давыденко, М.И. Грицюк, Д.В. Проняев

Изучено влияние β -блокатора анаприлина на патоморфологическое состояние шишковидной железы и почек при стандартном режиме освещения, а также возможность корректирующего действия экзогенного мелатонина. Доказано, что указанные условия эксперимента приводят к значительным изменениям морфометрических показателей.

Ключевые слова: шишковидная железа, пинеалоциты, дистрофия, альтерация эпителия, почки.

Патология. – 2011. – Т.8, №3. – С. 58–61

Histomorphologic condition of epiphysis and kidneys in conditions of standart lighting at combined action of anaprylinum and melatonin

V.P. Pishak, M.I. Kryvchanska, I.S. Davydenko, M.I. Grytsyuk, D.V. Pronyaev

The article deals with investigation connected with the influence of β -blocker anaprylinum on pathomorphological condition of pineal gland and kidneys at standart lighting, as well as possibilities to use exogenous melatonin for correction. It has been proved, that given conditions of experiment lead to essential changes of morphometric parameters.

Key words: pineal gland, pinealocytes, dystrophy, epithelium alteration, kidneys.

Pathologia. 2011; 8(3): 58–61

Шишкоподібна залоза властива майже всім хребетним тваринам [3,5]. У людини цей орган розміщений у серединній площині глибоко під півкулями головного мозку, в каудальній частині III шлуночка над стовщенням мозолистого тіла, між задніми відділами зорових пагорбів [5]. Фізіологічна роль епіфіза мозку залишалась нез'ясованою до відкриття дерматологом А. Лернером у 1958 році мелатоніну, що на 80% синтезується шишкоподібною залозою. Мелатонін, як і інші індоли епіфіза, утворюється з триптофану, що послідовно піддається гідроксилюванню і декарбоксілюванню. Ритм продукції даного індолу має чіткий циркадіанний характер: у темний період доби його концентрація у крові в 5–10 разів вища, ніж вдень [3,5]. Вплив шишкоподібної залози та її індолів на регуляцію біологічних ритмів людини не викликає сумніву. Наявність у ній α - та β -адренорецепторів доведена численними науковими дослідженнями [1,2,4,7].

Клас бета-адреноблокаторів знайшов широке застосування у терапевтичній практиці, зважаючи на велику кількість бета-адренорецепторів у внутрішніх органах людини. Такі рецептори наявні і в нирках. При вивченні дії на організм низки антигіпертензивних препаратів враховано хронофармакодинаміку та хронофармакокінетику лікарських засобів. Більшість з тих, що блокують β -рецептори, впливають на АТ і (або) ЧСС як у здорових, так і в пацієнтів з гіпертонією, залежно від фази циркадіанного (білядобового) циклу [6,8–10].

Мета роботи

З'ясувати патоморфологічні зміни тканин епіфіза та нирок дослідних тварин за умов впливу анаприліну та мелатоніну на фоні стандартного освітлення.

Матеріали і методи дослідження

Експерименти проведено на 42 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 150 ± 30 г. Протягом 1 місяця до початку та під час експерименту тварин утримували у віварії за умов сталої температури ($18-21^\circ\text{C}$) і вологості повітря ($50-55\%$) в окремих клітках з вільним доступом до води та їжі, при стандартному режимі освітлення (12.00 С : 12.00 Т), з дотриманням положень Директиви ЄС №609 (1986) та Наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин».

Анаприлін вводили внутрішньоочередно щоденно у дозі $2,5$ мг/кг маси тіла на дистильованій воді о 19.00 протягом 7 днів експерименту.

За стандартних умов освітлення внутрішньоочередно вводили мелатонін (Sigma, США) у дозі $0,5$ мг/кг маси тіла щура на ізотонічному розчині натрію хлориду вранці о 8.00.

Забір органів (нирок та епіфіза мозку) виконували негайно після евтаназії під ефірним наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції з захисту

хребетних тварин, що використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986). Підготовку матеріалу до мікроскопічних досліджень здійснювали залежно від вимог кожної конкретної методики.

Морфологічний стан пінеалоцитів і ниркових клітин вивчали за допомогою електронномікроскопічного дослідження. Для цього відразу після забиття тварин шишкоподібну залозу та нирку обробляли згідно стандартної методики: після трепанації черепа тварини залозу вилучали та фіксували її у 2,5% розчині глютаральдегіду, який готують на фосфатному буфері Міллонга з лужною реакцією середовища (рН=7,2–7,4). Фіксований матеріал переносили у буферний розчин та промивали протягом 20–30 хв. Потім протягом 1 години проводили постфіксацію матеріалу з використанням 1% розчину чотириокису осмію на буфері Міллонга. Після цього здійснювали дегідратацію дослідного матеріалу в спиртах і ацетоні з заливанням у суміш епоксидних смол згідно відповідної методики. Такі ж маніпуляції проводили з нирками.

За допомогою мікромовів УМПТ-7 і ЛКБ-III виготовляли ультратонкі зрізи, які потім зафарбовували 1% водним розчином уранілу ацетату. Ультраструктуру пінеалоцитів і клітин нирок досліджували за допомогою електронного мікроскопа ЕМВ-100 ЛМ.

Попередні експерименти зі встановлення емпіричної межі диференціювання пінеалоцитів на темний чи світлий тип клітин здійснювали за допомогою комп'ютерної програми ВидеоТест – Розмер 5.0 на цифрових копіях зображень тканини пінеальної залози шляхом мікроденситометричного методу.

Результати та їх обговорення

Морфологічними методами вивчено вплив анаприліну на гістоморфологію шишкоподібної залози та нирок за умов стандартного режиму освітлення окремо без додаткового використання мелатоніну або з мелатоніном.

При дії анаприліну в шишкоподібній залозі суттєво змінились морфометричні показники. Так, збільшився відсоток темних пінеалоцитів до $49 \pm 1,4\%$ на 02.00 та до $49 \pm 1,1\%$ на 14.00 ($P < 0,05$), відповідно зменшився відсоток світлих пінеалоцитів до $51 \pm 1,4\%$ на 02.00 та $51 \pm 1,3\%$ на 14.00. Зазначені показники відповідають зниженню функції пінеалоцитів. Про це свідчили й інші морфометричні величини. Зокрема, відзначено збільшення оптичної густини забарвлення хроматину ядер пінеалоцитів ($P < 0,05$) до $0,384 \pm 0,0121$ у.о. опт. густини на 02.00 та $0,380 \pm 0,0120$ на 14.00, що вказує на переважання гетерохроматину (неактивного хроматину) над еухроматином (активним хроматином), а також є певна тенденція до зниження об'єму ядер пінеалоцитів – $288,7 \pm 12,34$ мкм³ на 02.00 та $288,2 \pm 12,67$ мкм³ на 14.00.

Дистрофічні явища у пінеалоцитах застосованими методами дослідження не виявлені. Гістологічна картина шишкоподібної залози наведена на *рис. 1* і *2*.

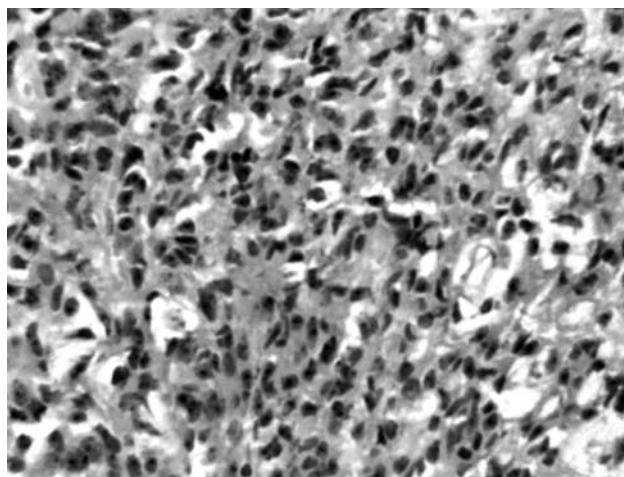


Рис. 1. Гістоморфологія шишкоподібної залози лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 02.00 при дії анаприліну. Забарвлення гематоксином і еозином. Об.20 \times . Ок.10 \times .

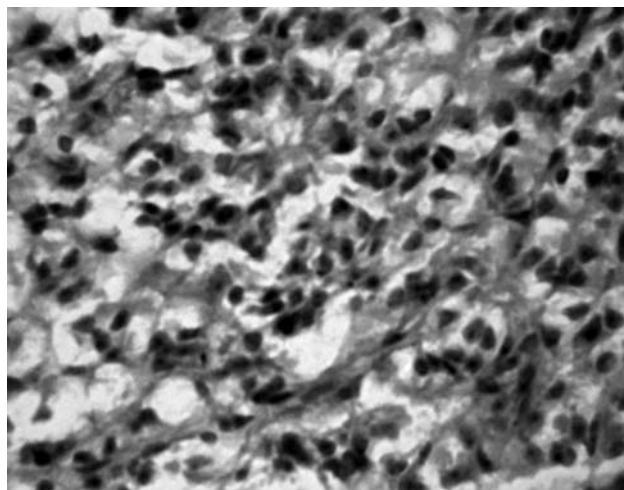


Рис. 2. Гістоморфологія шишкоподібної залози лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 14.00 при дії анаприліну. Забарвлення гематоксином і еозином. Об.20 \times . Ок.10 \times .

Цікаво, що додаткове застосування мелатоніну несуттєво змінює показники стану пінеалоцитів, що, напевно, можна пояснити дещо зниженою стимуляцією цих клітин у зв'язку зі зростанням у крові концентрації продукту їх діяльності екзогенного походження. Зокрема, темних пінеалоцитів зареєстровано $52 \pm 1,3\%$ на 02.00 та $51 \pm 1,4\%$ на 14.00, а світлих – $48 \pm 1,7\%$ на 02.00 та $49 \pm 1,5\%$ на 14.00. Оптична густина забарвлення хроматину ядер пінеалоцитів та їх об'єм є приблизно такими, як і без застосування мелатоніну, хоча слід відзначити певну тенденцію. Зокрема, об'єм пінеалоцитів становив $284,9 \pm 12,41$ мкм³ на 02.00 та $285,1 \pm 12,12$ мкм³ на 14.00, а оптична густина забарвлення хроматину ядер пінеалоцитів – $0,384 \pm 0,0115$ у.о. опт. густини та $0,383 \pm 0,0119$ у.о. опт. густини відповідно. Гістологічну картину змін наведено на *рис. 3* і *4*.

Введення анаприліну без додавання мелатоніну показало суттєвий вплив цього бета-адреноблокатора на морфологію деяких структур нирки. Йдеться, зокрема, про значне зростання відсотка епітеліоцитів проксимальних

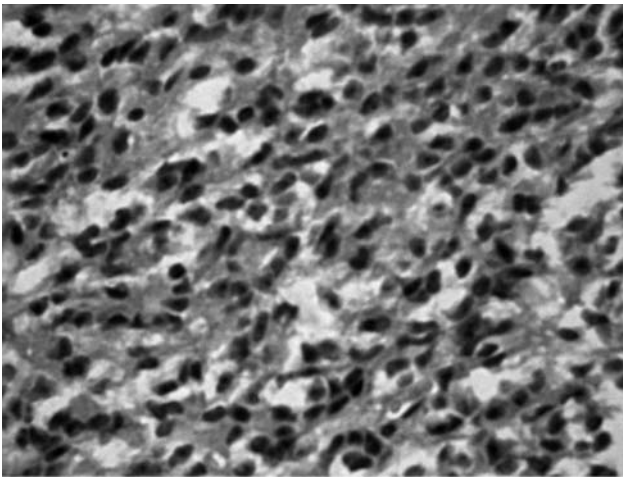


Рис. 3. Гістоморфологія шишкоподібної залози лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 02.00 при дії анаприліну з додаванням мелатоніну. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20^х. Ок.10^х.

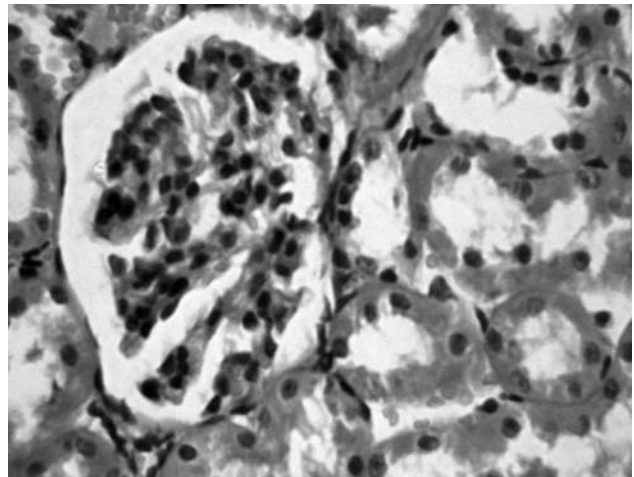


Рис. 5. Гістоморфологія кіркової речовини нирки лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 02.00 при дії анаприліну. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20^х. Ок.10^х.

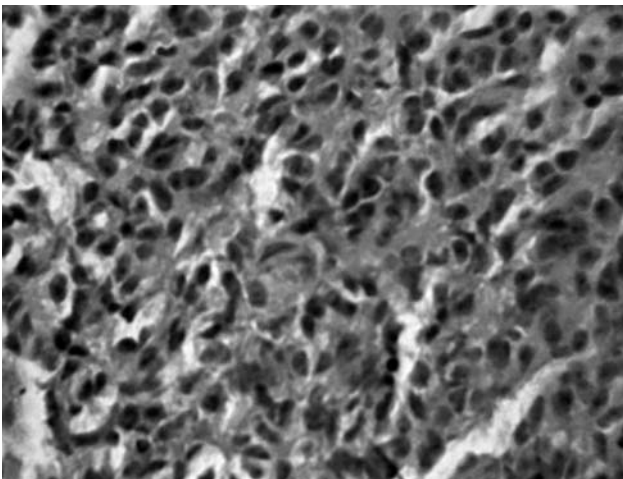


Рис. 4. Гістоморфологія шишкоподібної залози лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 14.00 при поєднаній дії анаприліну та мелатоніну. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20^х. Ок.10^х.

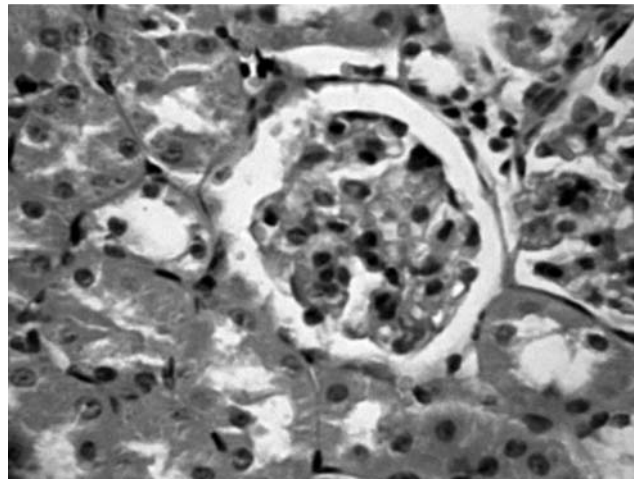


Рис. 6. Гістоморфологія кіркової речовини нирки лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 14.00 при дії анаприліну. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20^х. Ок.10^х.

каналців з ознаками альтерації (переважно зерниста та гідропічна дистрофія, десквамація епітеліальних клітин) до $67 \pm 0,8\%$ на 02.00 та $64 \pm 0,7\%$ на 14.00, а також про зростання відсотка клубочків з ознаками повнокров'я – до $28 \pm 2,4\%$ на 02.00 та $24 \pm 2,1\%$ на 14.00. Зазначене проілюстровано за допомогою рис. 5 і 6.

Мозкова речовина та сосочок нирки були без видимих морфологічних змін. Це стосувалося як паренхіматозного, так і стромального компонентів вказаних відділів нирки лабораторних щурів.

Додавання мелатоніну не нормалізує стан уражених структур нирки, хоча суттєво покращує їх морфологію. Зокрема, відсоток епітеліоцитів з ознаками альтерації зафіксований з середніми значеннями $58 \pm 0,7\%$ на 02.00 та $56 \pm 0,9\%$ на 14.00, а відсоток клубочків з ознаками повнокров'я – $22 \pm 2,8\%$ на 02.00 та $21 \pm 1,2\%$ на 14.00. Альтерація епітелію проявляла себе в основному дистрофією, а некроз і десквамація клітин реєстрували зрідка. Зазначене проілюстровано на рис. 7 і 8.

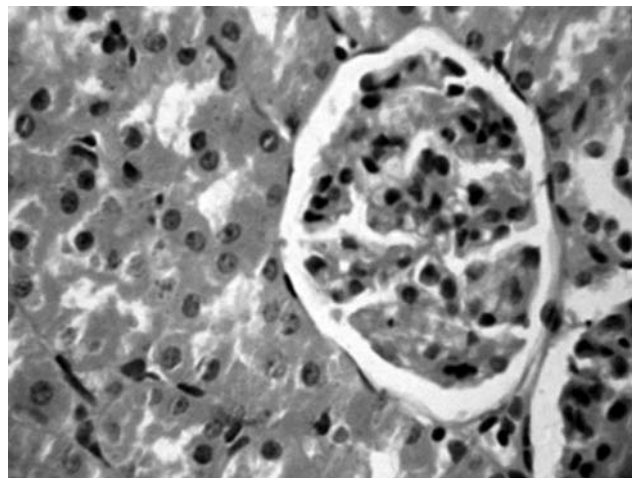


Рис. 7. Гістоморфологія кіркової речовини нирки лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 02.00 при дії анаприліну та мелатоніну. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20^х. Ок.10^х.

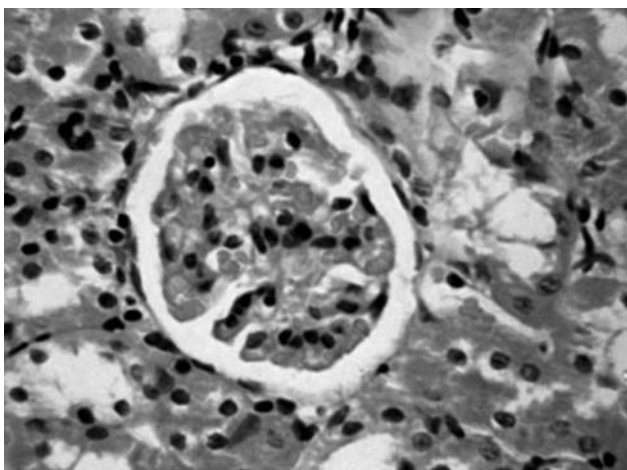


Рис. 8. Гістоморфологія кіркової речовини нирки лабораторного щура за умов стандартного режиму освітлення на 14.00 при дії анаприліну та мелатоніну. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об.20^x. Ок.10^x.

Мозкова речовина та сосочок нирки були без видимих морфологічних змін. Це стосувалось як паренхіматозного, так і стромального компонентів зазначених відділів нирки лабораторних щурів.

Висновки

Під впливом анаприліну в шишкоподібній залозі суттєво змінились морфометричні показники: збільшився відсоток темних пінеалоцитів, зменшився відсоток світлих пінеалоцитів. Відзначено також збільшення оптичної густини забарвлення хроматину ядер пінеалоцитів, що вказує на переважання неактивного хроматину над активним, є тенденція до зниження об'єму ядер пінеалоцитів. Застосування мелатоніну незначно змінює показники стану клітин шишкоподібної залози.

Мозкова речовина та сосочок нирки були без видимих морфологічних змін як паренхіматозного, так і стромального компонентів зазначених відділів нирки лабораторних щурів. Додавання мелатоніну не нормалізує

стан уражених структур нирки, хоча суттєво покращує їх морфологію. Зазначені зміни вказують на значний нефротоксичний вплив анаприліну, а також засвідчують можливість корегувального застосування екзогенного мелатоніну у терапевтичній практиці.

Література

1. Давыдова И.В. Бета-адреноблокаторы: механизмы действия, классификация, показания и противопоказания к применению / И.В. Давыдова // Кардиология. – 2009. – Т. 60, №4. – С. 70–78.
2. Ивлева А.Я. Различия фармакологических свойств бета-адреноблокаторов и их клиническое значение / А.Я. Ивлева // Consilium Medicum. – 2009. – Т. 5, № 11. – С. 58–70.
3. Комаров Ф.И. Хронобиология и хрономедицина / Ф.И. Комаров, С.И. Рапопорт. – М.: Триада-Х, 2000. – 488 с.
4. Бета-адреноблокаторы в коррекции артериальной гипертонии у женщин в постменопаузе / И.А. Латфуллин, Г.П. Ишмурзин, Р.Ф. Гайфулина [и др.] // Клиническая медицина. – 2010. – №2. – С. 68–71.
5. Пішак В.П. Механізми участі шишкоподібної залози в забезпеченні циркадіанної ритмічності фізіологічних функцій / В.П. Пішак, Р.С. Булик // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, №4. – С. 5–8.
6. Basile J.N. One size does not fit all: The role of vasodilating beta-blockers in controlling hypertension as a means of reducing cardiovascular and stroke risk / J.N. Basile // Am J Med. – 2010. – Vol. 123, №7. – P. 9–15.
7. Taylor A.A. The role of vasodilating beta-blockers in patients with hypertension and the cardiometabolic syndrome / A.A. Taylor, G.L. Bakris // Am J Med. – 2010. – Vol. 123, №7. – P. 21–26.
8. Effect of acute beta-blocker withholding on ventilatory efficiency in patients with advanced chronic heart failure / P. Laveneziana, P. Agostoni, A. J. Mignatti [et al.] // Card Fail. – 2010. – Vol. 16, №7. – P. 548–555.
9. Elefteriades J.A. Does medical therapy for thoracic aortic aneurysms really work? Are beta-blockers truly indicated? PRO / J.A. Elefteriades // Cardiol Clin. – 2010. – Vol. 28, №2. – P. 255–260.
10. Sosa M. Beta-blocker use is associated with fragility fractures in postmenopausal women with coronary heart disease / M. Sosa, P. Saavedra, J. Mosquera // Aging Clin Exp Res. – 2010. – №12. – P. 26–32.

Відомості про авторів:

Пішак В.П., д. мед. н., професор, член-кореспондент НАПН України, зав. каф. медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки БДМУ.

Кривчанська М.І., асистент каф. медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки БДМУ.

Давиденко І.С., д. мед. н., професор, зав. каф. патоморфології БДМУ.

Грицюк М.І., к. мед. н., доцент каф. соціальної медицини та ООЗ БДМУ.

Проняєв Д.В., к. мед. н., доцент каф. анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії БДМУ.

Адреса для листування:

Кривчанська Мар'яна Іванівна, м. Чернівці, вул. Федьковича, 15, каф. медичної біології, генетики та фармацевтичної ботаніки БДМУ.

Тел.: (0372) 3 30 21.

E-mail: krivchanskaya_cv@rambler.ru