

ДИНАМІКА ЦИТОХІМІЧНИХ ЗМІН КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

О.В. Кравець

Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми

За допомогою методів люмінесцентної мікроскопії проведено вивчення морфофункціональних та цитохімічних змін у клітинах підшлункової залози (ПЗ) щурів в умовах впливу на організм комбінації солей важких металів. Встановлено, що у клітинах ПЗ спостерігається порушення синтетичної активності клітин. Збільшення тривалості експерименту спричиняє пригнічення білкового синтезу з розвитком дистрофічних та деструктивних змін у цитоплазмі та ядрах клітин ПЗ.

ВСТУП

Розвиток промисловості призвів до погіршення стану навколишнього середовища. Серед численних антропогенних забруднювачів докільля важливе значення мають важкі метали та їх сполуки, які характеризуються значною стабільністю, високою токсичністю, вираженими кумулятивними властивостями та несприятливим впливом на здоров'я населення. Підвищення концентрації важких металів у воді та на поверхні ґрунту призводить до потрапляння їх у високих концентраціях до організму людини. Одним з пріоритетних напрямів у токсикології є вивчення особливостей та механізмів дії важких металів-факторів ризику багатьох хвороб [1,2].

Життєдіяльність клітин, їх будова, функція і патологія тісно пов'язані зі станом та метаболізмом нуклеїнових кислот. Найуніверсальнішим функціональним показником стану клітин є їх білок-синтетична система, тому що будь-які зміни у клітині завжди опосередковуються через зрушення у потоці інформації: ДНК – РНК – білок [3,4]. Серед способів морфофункціонального та цитохімічного аналізів клітин і тканин значне місце посідає метод люмінесцентної мікроскопії [5].

Підшлункова залоза характеризується високим вмістом білків, що швидко синтезуються та мають період оновлення близько 10 днів. У панкреатичному соку виявлені амінокислоти та сіалові кислоти, вміст яких визначається функціональним станом ПЗ. В екзокринній частині ПЗ (ацинозних клітинах) відбувається виключно швидкий біосинтез набору гідролітичних ферментів, пов'язаний з високим рівнем обмінних та енергетичних процесів у ПЗ. Зміни активності ферментів панкреатичного соку спостерігаються при різній патології ПЗ [6].

Метою роботи є вивчення морфофункціональних та цитохімічних змін у клітинах підшлункової залози щурів в умовах впливу на організм комбінації солей важких металів за допомогою методів люмінесцентної мікроскопії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експеримент був проведений на білих щурах, які протягом трьох місяців вживали воду, насичену солями цинку (50 мг/л), свинцю (3 мг/л) та хрому (10мг/л). Експеримент проводився з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1985). З експерименту тварин виводили шляхом декапітації під ефірним наркозом.

Вивчалися шматочки ПЗ методом мазків-відбитків. Мазки висушували в умовах кімнатної температури. Після висихання фіксували етанолом

протягом 10 хвилин. Ми вибирали фарбування клітин акридиновим оранжевим за способом, розробленим L. Bertalanffy та J. Biskis в модифікації А.П. Загрядської, А.Ф. Федоровцева, Є.І. Корольової [7]. За допомогою названого фарбування клітини підшлункової залози щурів забарвлювалися диференційовано залежно від вмісту у цитоплазмі та ядрі клітин ДНК- та РНК-структур. При цьому ДНК-структури мали зелене або зелено-жовте забарвлення, РНК-структури – різний ступінь червоного забарвлення залежно від вмісту РНК у клітинах.

Використовувалася мікроскопія препаратів у відображеному світлі люмінесцентного мікроскопа «Мікмед-2». Об'єктиви 40, 90; окуляри – 7, 10, імерсійне середовище – нефлуоресціююча олія.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У піддослідних тварин через один місяць експерименту морфологічні та цитохімічні особливості клітинних елементів підшлункової залози мало чим відрізняються від контролю. Спостерігається середній, а в поодиноких клітинах високий ступінь насиченості РНК-структурами цитоплазми виявлених клітинних елементів, які частіше за все представлені комплексами та голими ядрами. Крім того, трапляється багато клітин округлої форми середньої величини та великих з середніми розмірами ядер, які у клітинах розміщені ексцентрично. Деякі клітини розміщуються групами. Ядра клітин зеленого або жовто-зеленого кольору. Цитоплазма рожевого та червоного кольору, різного ступеня інтенсивності забарвлення від ++ до ++++. Ядро має чіткі контури, хроматинова сітка дещо конденсована. Ядерце (одне) розміщене у каріоплазмі центрально. Свічення РНК-структур в ядерці не спостерігається.

Однак у поодиноких полях зору спостерігаються ділянки, які характеризуються дистрофічними змінами різного ступеня, аж до лізису ядер. Розміри окремих ядер зменшуються, вони втрачають ядерця. Хроматинова сітка ядра конденсована з утворенням поодиноких грудок гетерохроматину. Деякі ядра клітин гіпертрофовані, збільшені у розмірах.

Слід відмітити, що зміни у клітинах мають компенсаторний характер. У деяких клітинах спостерігається досить високий рівень метаболічної активності, про що свідчить різний ступінь насиченості РНК-структурами цитоплазми. Хоча тенденція до конденсації хроматину свідчить про початкові етапи пригнічення біосинтетичної активності ядра.

У піддослідних тварин через два місяці експерименту спостерігається наростання дистрофічних змін у клітинах, що проявляється порушенням метаболізму білка, зменшенням вмісту РНК-структур у цитоплазмі клітин, підвищенням конденсації хроматинової сітки ядер та деструкцією ядер.

Ядра мають різний розмір (від малих до великих), овальну або сферичну форму. Хроматин ядер знаходиться у більш конденсованому вигляді, ніж у тварин першої серії. Відмічається наростаюча конденсація еухроматину у вигляді множинних грудок конденсованого гетерохроматину, що вільно розміщується у каріоплазмі, без зв'язку з ядерцем та внутрішньою каріомембраною. Хроматин конденсується біля внутрішньої ядерної оболонки. Відмічаються нечіткість каріомембрани деяких ядер, фрагментація хроматинової сітки. Ядра люмінують зеленим світлом без напilenості червоного кольору, поліморфні, в основному без ядерця. У частини ядер спостерігається звивистий характер каріолеми. Ядерця деяких клітин мають зменшені розміри без свічення РНК-структур в них, зміщені до каріолеми (можливо за рахунок гіпертрофії та набряку ядра). Кількість ядерця змінюється від одного до двох.

Цитоплазма клітин має середній ступінь свічення РНК-структур (рожеве фарбування).

Однак на деяких окремих ділянках виявлені прояви регенеративних та проліферативних процесів у ядрах та цитоплазмі. Ядра – гіпертрофовані, їх співвідношення до цитоплазми – 1:0,5 на відміну від контролю 1:1 та 1:2. Цитоплазма таких утворень має високий ступінь насиченості РНК-структурами +++, люмінує червоним кольором.

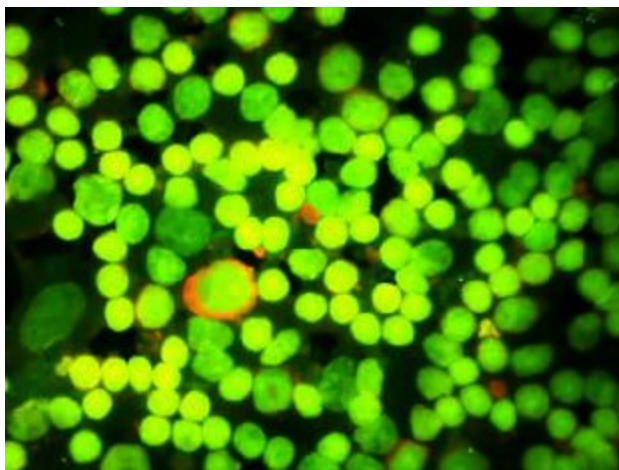


Рисунок 1 - Прояви регенеративних та проліферативних процесів у ядрах та цитоплазмі клітин підшлункової залози. Забарвлення акридиновим оранжевим Об. 40, ок. 10**

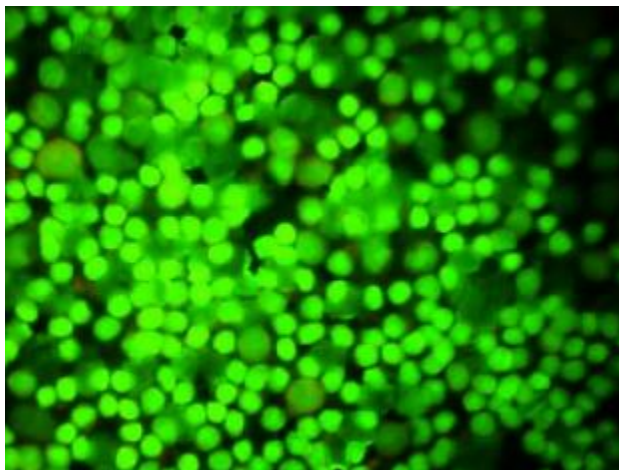


Рисунок 2 - Дистрофічні зміни у клітинах підшлункової залози. Забарвлення акридиновим оранжевим. Об. 40, ок. 10**

Отже, поряд з наростаючими дистрофічними процесами у клітинах ПЗ в цілому спостерігається пригнічення біосинтетичної активності хроматину ядра та ядерця, що виражається зміною в цих структурах (зниження активності ядерця – зменшення його розмірів, відсутність свічення РНК-структур, зміщення до каріомембрани; зниження активності хроматину – наростаюча його конденсація з утворенням тілець гетерохроматину). Разом з тим на деяких поодиноких ділянках спостерігаються

прояви регенеративних процесів у клітинах, що проявляється гіпетрофією їх ядер та високим ступенем насиченості цитоплазми РНК-структурами.

У тварин через три місяці експерименту зберігається достатньо високий рівень конденсації хроматину в ядрі з нерівномірним розподіленням тілець гетерохроматину у каріоплазмі, згущенням хроматину біля внутрішньої каріомембрани. Ядерця в ядрах одиничні, без РНК-структур. Каріолема у деяких ядер напівзруйнована або повністю лізована. Хроматинова сітка ядер гомогенна, спостерігається наростаюча конденсація еухроматину в ядрах. Нерідко грудки гетерохроматину скупчуються біля каріотеки та навколо ядерця, що люмінують сіро-зеленим світлом. Подекуди в ядрах контурується по 1-2 грудки гетерохроматину. Ступінь свічення РНК-структур у цитоплазмі – 0 або +. Цитоплазма клітин бліда, люмінує тьмяно-зеленим світлом.

Отже, у тварин третього місяця експерименту розвиваються дистрофічні зміни. Компенсаторно-адаптаційні процеси переходять у деструктивні.

ВИСНОВКИ

1 В умовах впливу на організм солей важких металів у клітинах ПЗ спостерігається пригнічення синтетичної активності клітин.

2 Збільшення тривалості експерименту спричиняє пригнічення білкового синтезу з розвитком дистрофічних та деструктивних змін у цитоплазмі та ядрах клітин ПЗ.

SUMMARY

THE DYNAMIC OF CYTOCHEMICAL CHANGES OF PANCREATIS OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF SALTS OF HEAVY METALS ON ORGANISM

Kravets O.V.

Sumy State University, Medical Institute

The morfofunctional and cytochemical changes of pancreatic cells of rates under due on organism of solts of high metals were evaluated using luminescent microscopy. The changing of protein secretion function of cells was noted. Long term experiment has caused decreasing of protein secretion function with dystrophic and destructive changes in cytoplasm and nuclears of cells.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Рош М.А. Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производства и окружающей среды // Довкілля та здоров'я. –1997. –№2. – С. 48-51.
3. Зеленин А.В. Люминесцентная микроскопия в гистохимии нуклеиновых кислот. //Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1961. – Т.3, №40. – С.88-98.
4. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. – М.: Наука, 1978. – 207 с.
5. Гурский Г.В. Взаимодействие акридинов с ДНК // Биофизика. – 1966. – Т.5, №11. – С.737-746.
6. Большая медицинская энциклопедия / Под редакцией академика Б.В.Петровского. – 3-е изд. – М.: Советская энциклопедия, 1983.– Т.20. – С. 51-81.
7. Загрядская А.П., Федоровцев А.Л., Королева Е.И. Судебно-медицинское исследование изолированных клеток и микрочастиц тканей животного происхождения. – М.: Медицина, 1984. – 186 с.

Кравець О.В., аспірант, Медичний інститут СумДУ,
м. Суми

Надійшла до редакції 10 червня 2008 р.