

DOI: 10.26693/jmbs06.02.249

УДК 572.786: 546.175

Чумаченко О. Ю.¹, Редька О. Г.²

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПІНЕАЛЬНИХ КЛІТИН ЕПІФІЗА ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ДІЇ НІТРАТІВ ПИТНОЇ ВОДИ ТА ЗАСОБІВ КОРЕКЦІЇ

¹Відокремлений структурний підрозділ закладу вищої освіти
«Відкритий міжнародний університет розвитку людини «Україна»
Миколаївський інститут розвитку людини,
Миколаїв, Україна

²Чорноморський Національний Університет імені Петра Могили,
Миколаїв, Україна

youngmykolayiv@gmail.com

За сучасними даними епіфіз (шишкоподібне тіло) є органом який поєднує процеси адаптогенезу і імуногенезу, приймає участь у запуску стресових реакцій та визначає послідовність порушень в організмі в різні стадії розвитку стресу.

Метою досліджень було вивчення структурно-функціональних змін пінеальних клітин епіфіза у щурів на різних етапах розвитку в нормі, під дією нітратів та одночасної дії нітратів та метиленової сині.

Матеріал і методи. Відповідно до мети роботи дослідження проведено на 90 нелінійних білих щурах-самцях різного віку. Тварини знаходились у віварії в рівноцінних умовах. Тривала дія нітратів на організм тварин досягала щоденним введенням у питний раціон, починаючи з 7 доби постнатального розвитку щурів (після попередньої очистки води) 120 мг/л нітрату натрію, тобто в дозі, що характерна для багатьох регіонів України.

При моделюванні дії метиленової сині, тваринам щодня перорально вводили дану речовину в дозах: 0,1-0,15 мл 1% водного розчину на 1 кг маси тіла.

Результати. В результаті 7-денної дії нітратів у 14-добових щурів в епіфізі відмічались структурні зміни, що відповідали зниженню функції світлих клітин та підвищенню функціональної активності пінеалоцитів II типу. В ультраструктурі цитоплазми пінеалоцитів I типу виявлялись слабо розвинуті органели та одиничні секреторні гранули. У 45-добових тварин в умовах дії нітратів в світлих пінеалоцитах відмічались виражені порушення в мембранних органелах, насамперед, в мітохондріях і гранулярній ендоплазматичній сітці. Функціональна активність темних пінеалоцитів в цей період дослідження наростала. В паренхімі епіфіза 90-добових щурів після дії нітратів функціональна активність пінеалоцитів I типу знаходилась на низькому рівні. Функціональна активність темних пінеалоцитів також послаблювалась.

В результаті одночасної дії нітратів і метиленової сині в епіфізі 14-добових щурів спостерігалась тенденція до поступового відновлення структурно-функціональних показників клітин.

У 45-добових тварин після одночасної дії нітратів і метиленової сині ультраструктурні дані пінеальних клітин свідчили про численні мітохондрії та секреторні гранули в цитоплазмі.

В паренхімі епіфіза 90-добових щурів після хронічної дії нітратів і метиленової сині на ультраструктурному рівні різких змін в цитоплазмі і ядрі світлих та темних пінеалоцитів не виявлено, порівняно з контролем.

Висновки. Аналіз отриманих результатів показав, що надходження нітратів у 14-добових щурів викликає розвиток стрес-реакції, в ультраструктурі світлих пінеалоцитів виявляються слабо розвинуті органели та ознаки дегрануляції, однак цитоплазма і ядра темних клітин свідчив про посилення функції. У 45-добових щурів після впливу нітратів ознаки стрес-реакції посилюються. В ультраструктурі цитоплазми світлих клітин визначаються виражені порушення мембранних органел. Посилення функції продовжується в темних пінеалоцитах. Після дії нітратів у 90-добових щурів настають зміни, що характерні для стадії виснаження загального адаптаційного синдрому, результатом якого є глибокий дисбаланс у роботі епіфіза. Спільна дія нітратів і метиленової сині у 14-добових тварин сприяє зниженню токсичного впливу і сили стресорної реакції в епіфізі. В ультраструктурі пінеалоцитів збільшується кількість рибосом, дрібних секреторних гранул та мітохондрій порівняно з дією одних нітратів. У 45-добових тварин при одночасному надходженні нітратів і метиленової сині в ультраструктурі меланотропних клітин відмічається накопичення секреторних гранул однакових розмірів та електронної щільності, збільшення кількості органел та ознаки відновлення структури цитоплазми і ядра. Застосування метиленової сині на фоні тривалого надходження нітратів у 90-добових щурів на ультраструктурному рівні різких змін в цитоплазмі й ядрі світлих та темних пінеалоцитів не виявляється, порівняно з контролем.

Ключові слова: пінеальні клітини, нітрати, епіфіз, метиленова синь.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідницької роботи Відокремленого структурного підрозділу закладу вищої освіти «Відкритий міжнародний університет розвитку людини «Україна» Миколаївського інституту розвитку людини «Гістофізіологічний стан ендокринної системи в умовах впливу несприятливих факторів навколишнього середовища», № держ. реєстрації 01082002830.

Вступ. У теперішній час в різних областях України виявляється значне забруднення нітратами ґрунтів, підземних вод, що в поєднанні з завищеними рівнями пестицидів, радіонуклідів та інших речовин створює реальну загрозу для всіх ланок екосистеми [1]. За сучасними даними [2] епіфіз (шишкоподібне тіло) є органом який поєднує процеси адаптогенезу і імуногенезу, приймає участь у запуску стресових реакцій та визначає послідовність порушень в організмі в різні стадії розвитку стресу. Дослідники вважають епіфіз найважливішим організатором біологічних ритмів, зв'язаних з фотоперіодизмом і органом, який визначає стереотип організму, його індивідуальні функції ритмічно змінні під впливом довкілля і віку. Проте, даних про морфогенез цієї залози не вистачає. Добре відомі роботи по використанню фармакологічних лікувальних засобів для корекції гіпоксичних станів та захисту клітин і організму в цілому при стресах різного походження, в тому числі хімічного, та метаболічного [3]. Відомості, що існують в літературі, присвячені вивченню структури даної залози, розкривають її організацію лише у деяких видів лабораторних тварин [4] але не під впливом пошкоджуючих факторів та засобів корекції.

У зв'язку з цим, вивчення морфофункціональних змін пінеальних клітин епіфіза у тварин різних вікових груп за умов тривалої дії нітратів та корекції метиленовою синню є не тільки актуальним, але й потребує подальшого вивчення.

Метою дослідження було вивчення структурно-функціональних змін пінеальних клітин епіфіза у щурів на різних етапах розвитку в нормі, під дією нітратів та одночасної дії нітратів та метиленової сині.

Матеріал та методи дослідження. Відповідно до мети роботи дослідження проведено на 90 нелінійних білих щурах-самцях різного віку. Кожна група тварин була поділена на вікові підгрупи: 14-, 45- і 90-добові. Утримання та використання тварин проводилось у відповідності до положень «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», ухваленим IV Національним конгресом з біоетики [5].

Тривала дія нітратів на організм тварин досягалась щоденним введенням у питний раціон, по-

чинаючи з 7 доби постнатального розвитку щурів (після попередньої очистки води) 120 мг/л нітрату натрію, тобто в дозі, що характерна для багатьох регіонів України.

При моделюванні дії метиленової сині, тваринам щодня перорально вводили дану речовину в дозах: 0, 1-0, 15 мл 1% водного розчину на 1 кг маси тіла.

При електронномікроскопічному дослідженні епіфіза інтактних та піддослідних щурів матеріал фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією в 1% розчині чотириокису осмію за Колфілдом [6]. З отриманих блоків виготовляли напівтонкі зрізи, які забарвлювали толуїдиновим синім.

Результати дослідження. У 14-добових інтактних щурів в епіфізі визначались два типи пінеальних клітин (світлі і темні) та нейрогліальні. В паренхімі епіфіза кількість темних клітин значно перевищувала чисельність світлих, що узгоджується з даними інших досліджень. В ультраструктурі цитоплазми пінеальних клітин відмічався помірний розвиток органел. Однак, накопичення в цитоплазмі вільних рибосом і рибосомальних комплексів та варіабельність розвитку ендоплазматичної сітки відображали різну їх функціональну активність навіть в умовах норми. Ультраструктурні еквіваленти цитоплазми і ядра пінеалоцитів інтактних тварин 45-добового віку відповідали послабленій функції, в порівнянні з 14-добовими щурами (рис. 1).

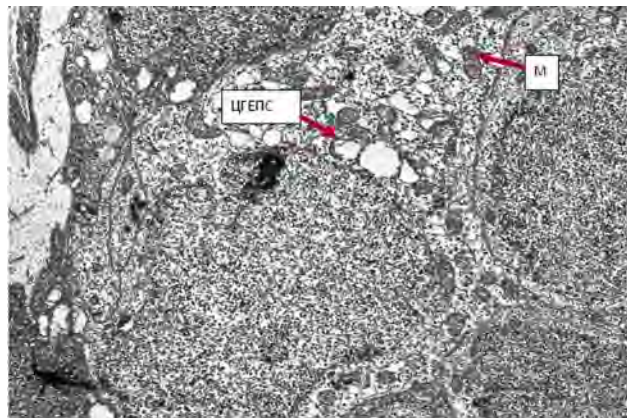


Рис. 1. Електроннограма. Епіфіз 45-добового інтактного щура. Темні і світлі пінеальні клітини. В цитоплазмі світлих клітин розширені цистерни ендоплазматичного ретикулуму (ЦГЕПС) без вмісту, які контактують з ядерною мембраною і зовнішніми мембранами мітохондрій. Помірна кількість мітохондрій округлої або витягнутої форми (М). В ядрі темної клітини мало гетерохроматину. x 9600

У 90-добових інтактних щурів ультраструктурні зміни темних пінеалоцитів показували також про підвищення функціональної активності, однак менш виражено, ніж 14-добових щурів.

При введенні нітратів протягом 7 днів в епіфізі 14-добових тварин в цитоплазмі світлих пінеалоцитів відмічались одиничні секреторні гранули, багато дрібних мітохондрій з просвітленим матриксом і кристами. Канальці зернистої ендоплазматичної сітки були помірно розширеними. Однак при цьому визначались гіпертрофовані ядерця. Ступінь просвітлення цитоплазми світлих клітин була різною. Зустрічались клітини в цитоплазмі яких визначалась велика кількість мітохондрій і зернистого матеріалу, а також клітини з слабо розвинутими органелами.

Темні клітини мали гіперхромні ядра і розширені канальці ендоплазматичної сітки. В досить великих ядрах гетерохроматин був майже відсутній, як пристінний, так і в інших ділянках нуклеоплазми (рис. 2).

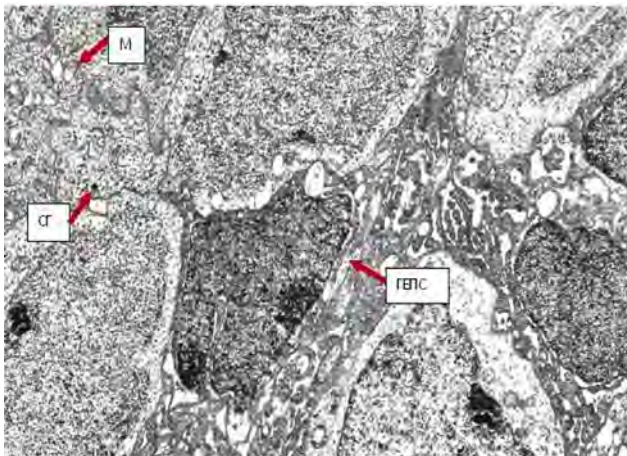


Рис. 2. Електроннограма. Епіфіз 14-добового піддослідного щура після дії нітратів. Світлі клітини з одиничними секреторними гранулами (СГ), мітохондрії з просвітленим матриксом і кристами (М). Темні клітини з гіперхромними ядрами та розширеними канальцями ендоплазматичного ретикулу (ГЕПС). x 4800

Ультраструктурний стан цитоплазми і ядра темних клітин також свідчив про посилення функції. Відмічалось збільшення кількості еухроматину, порівняно з гетерохроматином, накопичення дрібних цистерн зернистої ендоплазматичної сітки порівняно з контролем.

В ультраструктурі епіфіза 45-добових щурів після дії нітратів питної води визначались пінеалоцити I типу з вираженими змінами в мітохондріях. Останні виявлялись у великій кількості, однак майже всі вони мали вигляд вакуолей з залишками крист, які у більшості мітохондрій були лізовані (рис. 3). В матриксі цитоплазми цих клітин спостерігалось багато вільних рибосом і майже повністю були відсутні канальці гранулярної ендоплазматичної сітки. Ядра не містили брилок гетерохроматину. Ядерця були різко ущільнені.

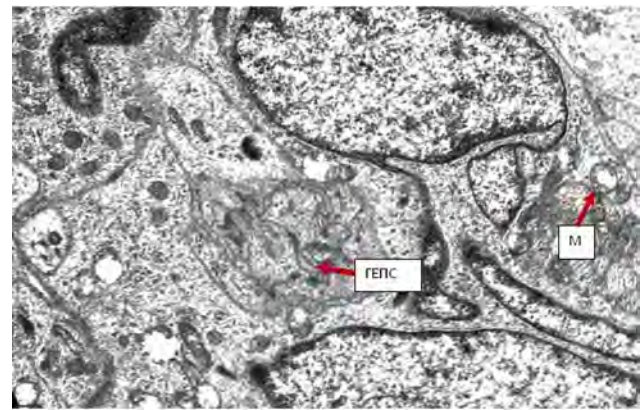


Рис. 3. Електроннограма. Епіфіз 45-добового піддослідного щура після тривалої дії нітратів. Світлі клітини з вираженими змінами мітохондрій (М). В цитоплазмі темної клітини розширені канальці ендоплазматичної сітки (ГЕПС). x 8000

В темних пінеалоцитах визначались розширені канальці ендоплазматичної сітки, зустрічались і клітини в цитоплазмі яких були слабо розвинуті органели. На деяких зрізах між клітинами відмічались прошарки строми з ядрами фіброцитів (рис. 3). Іноді визначались нервові закінчення, які контактували з пінеалоцитами, утворюючи втиснення в плазмолему. У 45-добових тварин після тривалої дії нітратів в епіфізі в ультраструктурі світлих пінеалоцитів відмічались виражені порушення мітохондрій і гранулярної ендоплазматичної сітки. Але функціональна активності темних клітин підвищувалась порівняно з 45-добовими інтактними тваринами.

При електронномікроскопічному вивченні епіфіза 90-добових щурів після 83-денної дії нітратної інтоксикації у цитоплазмі світлих пінеалоцитів можна було бачити величезні кісти без вмісту та деструктивні зміни в мітохондріях, а також скупчення вакуолей, які були заповнені осміофільним вмістом. Між світлими клітинами визначались відростки темних пінеалоцитів з різко ущільненою цитоплазмою. Були виявлені значні структурні зміни в темних пінеалоцитах, що торкались всіх органел цитоплазми. Спостерігалось потовщення і ущільнення мембран ендоплазматичної сітки (рис 4).

Місцями виявлялась руйнація мембран з утворенням ділянок деструкції. Мітохондрії різної величини і форми відмічались ущільнені, а кристи руйновані. З'являлись м'ялиноподібні структури і ліпідні краплі з фестончастими краями. Кровоносні судини були вистелені ендотелієм у стані вираженої деструкції. Перицити з різко гіперхромними ядрами містили дистрофічно змінену цитоплазму.

Після тривалої дії нітратів питної води в епіфізі 90-добових піддослідних щурів в ультраструктурі цитоплазми світлих клітин спостерігалось утворення численних кіст без вмісту та виражені деструктивні зміни в органелах, особливо в

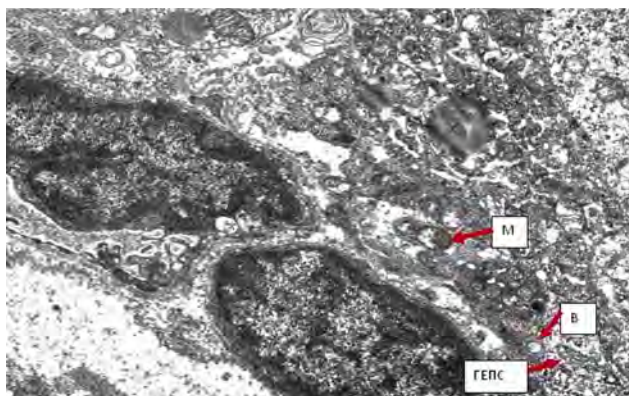


Рис. 4. Електронограма. Епіфіз 90-добового щура після дії нітратів питної води. Світлі клітини з деструктивними змінами в мітохондріях (М). Вакуолі з осміофільним вмістом (В). Темні клітини з різко ущільненою цитоплазмою та потовщеними мембранами ендоплазматичної сітки (ГЕПС). Руйнація мембран цитоплазми. В цитоплазмі ділянки деструкції. x 8000

мітохондріях. Функціональна активність темних пінеалоцитів також послаблювалась. В ультраструктурі темних клітин відмічалась руйнація мембран цитоплазми з утворенням ділянок деструкції. Деструктивні зміни торкалися всіх органел цитоплазми та кровоносних судин, які оточували клітини.

В результаті 7-денної дії нітратів у 14-добових щурів в епіфізі відмічалась структурні зміни, що відповідали зниженню функції світлих клітин та підвищенню функціональної активності пінеалоцитів II типу. В ультраструктурі цитоплазми пінеалоцитів I типу виявлялись слабо розвинуті органели та одиничні секреторні гранули.

Ультраструктурний стан цитоплазми і ядра темних клітин також свідчив про посилення функції. Відмічалось збільшення кількості еухроматину, порівняно з гетерохроматином, накопичення дрібних цистерн зернистої ендоплазматичної сітки.

У 45-добових тварин в умовах дії нітратів в світлих пінеалоцитах відмічалась виражені порушення в мембранних органелах, насамперед, в мітохондріях і гранулярній ендоплазматичній сітці. Функціональна активність темних пінеалоцитів в цей період дослідження наростала.

В паренхімі епіфіза 90-добових щурів після дії нітратів функціональна активність пінеалоцитів I типу знаходилась на низькому рівні. В ультраструктурі цитоплазми цих клітин спостерігалось утворення численних кіст без вмісту та виражені деструктивні зміни в органелах, особливо в мітохондріях. Функціональна активність темних пінеалоцитів також послаблювалась. В ультраструктурі темних клітин відмічалась руйнація мембран цитоплазми з утворенням ділянок деструкції. Деструктивні та дистрофічні зміни торкалися всіх органел цитоплазми та кровоносних судин, які оточува-

ли клітини. Наявність останніх, очевидно, була пов'язана з прямою токсичною дією нітратів.

При введенні метиленової сині одночасно з нітратами у 14-добових щурів на ультратонких зрізах епіфіза в різних його ділянках можна було бачити як світлі, так і темні пінеальні клітини. В світлих клітинах визначалась велика кількість дрібних секреторних гранул і багато мітохондрій округлої форми. Велика частка мітохондрій була з дещо ущільненим матриксом і збереженими кристами, але в деяких мітохондріях кристи були частково лізовані. Відмічалась велика кількість вільних рибосом. В цитоплазмі окремих світлих клітин визначались великі порожнини з залишками руйнованих мембранних структур (рис. 5).

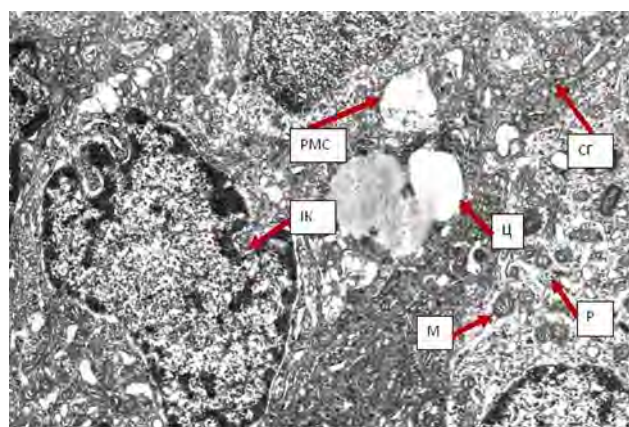


Рис. 5. Електронограма. Епіфіз 14-добового піддослідного щура після одночасної дії нітратів та метиленової сині. В світлій клітині велика кількість дрібних секреторних гранул (СГ) і мітохондрій округлої форми (М). Численні вільні рибосоми (Р) та порожнини з залишками руйнованих мембранних структур (РМС). Темні пінеалоцити з ущільненою цитоплазмою та великими цистернами (Ц). Мітохондрії з ущільненим матриксом. Численні інвагінації каріолеми (ІК). x 8000

В інших клітинах виявлялась дещо збільшена кількість дрібних вакуолей або цистерн ендоплазматичної сітки. В центрі ущільненої цитоплазми темних пінеалоцитів спостерігались великі цистерни. Мітохондрії мали ущільнений матрикс. Ядро містило численні інвагінації.

В паренхімі епіфіза 14-добових щурів після одночасної дії нітратів та метиленової сині в ультраструктурі клітин поряд з ознаками деструктивних змін визначалось збільшення кількості рибосом, дрібних секреторних гранул та багато мітохондрій округлої форми. В структурі цитоплазми пінеалоцитів I типу під дією тільки нітратів виявлялись слабо розвинуті органели та одиничні секреторні гранули порівняно з контролем.

В результаті одночасної дії нітратів і метиленової сині в епіфізі 14-добових щурів спостерігалась тенденція до поступового відновлення структурно-функціональних показників клітин.

При одночасній дії нітратів і метиленової сині в епіфізі 45-добових піддослідних щурів ультраструктурні зміни пінеалоцитів були менш виражені, ніж при дії тільки нітратів. В світлих пінеалоцитах виявлялись численні вакуолі середніх розмірів без вмісту. Це були цистерни ендоплазматичної сітки. Багато мітохондрій були з ущільненими мембранами, однак в кожній з них спостерігались поперечно розташовані кристи. В цитоплазмі визначались численні дрібні секреторні гранули і зв'язані вільні рибосоми, які утворювали рибосомальні комплекси (рис. 6). Ядро велике, овальної форми виявлялось без виражених інвагінацій мембрани і примембранно розташованого гетерохроматину. Останній в нуклеоплазмі був представлений дифузно. В цитоплазмі деяких світлих пінеалоцитів визначались скупчення великих осміофільних утворень (ліпідних крапель).

У 45-добових тварин після одночасної дії нітратів і метиленової сині ультраструктурні данні пінеальних клітин свідчать про численні мітохондрії та секреторні гранули в цитоплазмі та відсутність інвагінацій каріолеми. Де визначалися виражені зміни в мітохондріях, відсутність каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та брилок гетерохроматину в ядрі і різке ущільнення ядерця. Що доводить про відновлювальні зміни в структурі та функції пінеальної залози під дією корегуючого фактору метиленової сині.

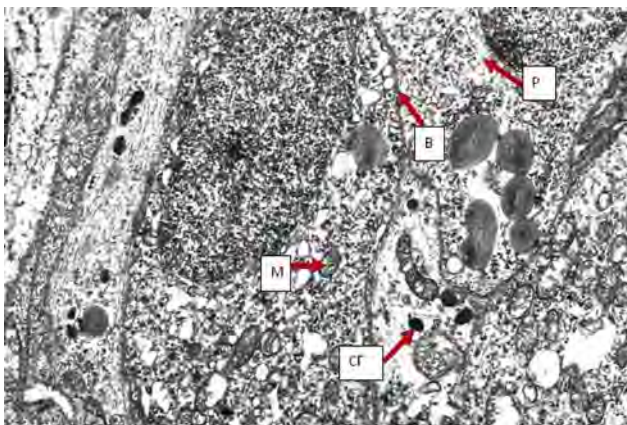


Рис. 6. Електронограма. Епіфіз 45-добового щура після дії нітратів питної води та метиленової сині. В світлих пінеалоцитах вакуолі середніх розмірів без вмісту (В). Мітохондрії з ущільненими мембранами і поперечно розташованими кристами (М). В цитоплазмі численні дрібні секреторні гранули (СГ) і зв'язані вільні рибосоми (Р). x 8000

При одночасній дії нітратів і метиленової сині в епіфізі 90-добових піддослідних щурів на ультраструктурному рівні різких змін в світлих та темних пінеалоцитах не виявлено. В світлих клітинах зустрічались великі ліпідні краплини, які заповнювали третину всієї цитоплазми. Мітохондрії мали

невеликі розміри та ущільнений матрикс. Ядро велике, неправильної форми з дифузно розміщеним в нуклеоплазмі гетерохроматином (рис. 7). Темні пінеалоцити мали дещо розширені порожнини каналців ендоплазматичної сітки. В цитоплазмі зустрічались цистерни з зернистим вмістом.

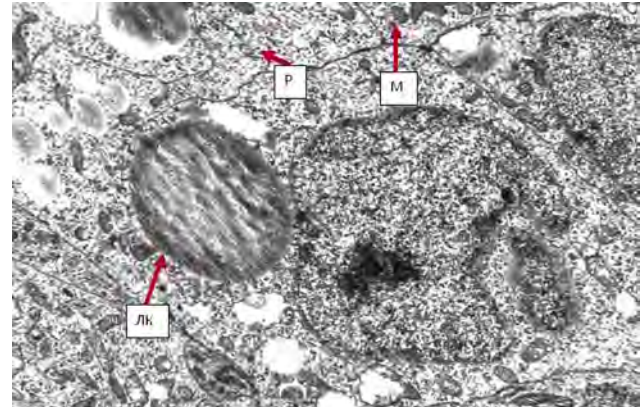


Рис. 7. Електронограма. Епіфіз 90-добового піддослідного щура після хронічної дії нітратів та метиленової сині. Світлі пінеалоцити з великими ліпідними краплями (ЛК), мітохондрії невеликих розмірів з ущільненим матриксом (М). Численні вільні рибосоми (Р). x 4800

В епіфізі 90-добових тварин після хронічної дії нітратів і метиленової сині на ультраструктурному рівні різких змін в світлих та темних пінеалоцитах не виявлено. Під впливом хронічної дії нітратів в ультраструктурі цитоплазми клітин I типу спостерігалось утворення численних кіст без вмісту та виражені деструктивні зміни в органелах, особливо в мітохондріях. В темних клітинах відмічалась руйнація мембран цитоплазми з утворенням ділянок деструкції. Деструктивні зміни торкались всіх органел цитоплазми та кровоносних судин, які оточували клітини. Корекція метиленовим синім призводить до відновлення структурно-функціональних показників пінеальної залози.

В результаті одночасної дії нітратів і метиленової сині в епіфізі 14-добових щурів спостерігалась тенденція до поступового відновлення структурно-функціональних показників клітин.

У 45-добових тварин після одночасної дії нітратів і метиленової сині ультраструктурні данні пінеальних клітин свідчили про численні мітохондрії та секреторні гранули в цитоплазмі. На відмінну від тварин котрі отримували тільки нітрати, в ультраструктурі цитоплазми яких відмічались виражені порушення в мембранних органелах, насамперед, в мітохондріях і гранулярній ендоплазматичній сітці.

Отримані дані свідчать про позитивні зміни в структурі та функції пінеальної залози під дією корегуючого фактору метиленової сині.

В паренхімі епіфіза 90-добових щурів після хронічної дії нітратів і метиленової сині на ультраструктурному рівні різких змін в цитоплазмі і ядрі світлих та темних пінеалоцитів не виявлено, порівняно з контролем. Під впливом тривалої дії нітратів в ультраструктурі цитоплазми клітин I типу спостерігалось утворення численних кіст без вмісту та виражені деструктивні зміни в органелах, особливо в мітохондріях. В темних клітинах відмічалась руйнація мембран цитоплазми з утворенням ділянок деструкції. Деструктивні зміни торкалися всіх органел цитоплазми та кровоносних судин, які оточували клітини.

Таким чином, дія метиленового синього дала підставу вважати про розвиток позитивних змін в структурі і функції пінеальної залози.

Обговорення результатів дослідження. У 14-добових інтактних щурів в цей період розвитку в ультраструктурі цитоплазми пінеальних клітин відмічався помірний розвиток органел. Однак, накопичення в цитоплазмі клітин вільних рибосом і рибосомальних комплексів та варіабельність розвитку ендоплазматичної сітки відображали різну їх функціональну активність навіть в умовах норми.

Ультраструктурний стан цитоплазми і ядра пінеалоцитів інтактних тварин 45-добового віку відповідав підвищеній активності, однак менш виражено, ніж у 14-добових щурів. На 90 добу розвитку щурів в ультраструктурі відмічались ознаки посилення функціональної активності, проте слабше, ніж у 14-добових інтактних щурів.

В даному експерименті при тривалій дії нітратів виникала тканинна гіпоксія, що була причиною деструктивних змін в пінеальних клітинах епіфіза, внаслідок чого порушувалась цілісність клітинних мембран. Крізь дефекти плазмолемати гранули секрету та окремі ділянки цитоплазми переходили безпосередньо в міжклітинний простір і виділення секреторного матеріалу відбувалось безпосередньо у розширені міжклітинні каналці з утворенням псевдофолікулів. Накопичений колоїд через систему каналців згодом потрапляв в перикапілярний простір і в кров. Ці дані корелюють з результатами інших досліджень [7, 8], які доводять також, що нітрати, вступаючи в реакцію з функціональними групами білків, порушують їх синтез та патологічно змінюють структуру мітохондрій. Дія нітратів як гіпоксичних отрут приводило до порушення нормальних взаємодій у епіфізі, що сприяло розвитку морфофункціональних змін в пінеальних клітинах епіфіза. При цьому, надто тривала дія нітратів була причиною виснаження захисно-адаптивних механізмів в пінеальних клітинах епіфіза з розвитком пригнічення їх функціональної активності та подальшої трансформації.

Дослідження показали, що в паренхімі епіфіза 14-добових щурів після одночасної дії нітратів та

метиленової сині в ультраструктурі клітин епіфіза, поряд з ознаками деструктивних змін, визначалось збільшення кількості рибосом, дрібних секреторних гранул та багато мітохондрій округлої форми, тоді як після дії тільки нітратів в цитоплазмі пінеалоцитів виявлялись слабо розвинуті органели та ознаки дегрануляції.

У 45-добових тварин після одночасної дії нітратів і метиленової сині в ультраструктурі цитоплазми пінеальних клітин відмічались численні мітохондрії та секреторні гранули, на відміну від тварин, які отримували тільки нітрати, де визначалися виражені деструктивні зміни в мітохондріях, відсутність каналців гранулярної ендоплазматичної сітки.

В умовах більш тривалого надходження нітратів на фоні дії метиленової сині (у 90-добових щурів) на ультраструктурному рівні різких змін в світлих та темних пінеалоцитах не виявлялось.

Метиленова синь на фоні надходження організм нітратів зм'якшувала їх токсичний ефект на пінеальні клітини епіфіза та була своєрідним протектором дії нітратів, знижуючи прояв стадії виснаження загального адаптаційного синдрому і сприяючи відновленню гормональної рівноваги в епіфізі.

Висновки. Аналіз отриманих результатів показав, що:

1. Надходження нітратів у 14-добових щурів викликає розвиток стрес-реакції, в ультраструктурі світлих пінеалоцитів виявляються слабо розвинуті органели та ознаки дегрануляції, однак цитоплазма і ядра темних клітин свідчив про посилення функції.
2. У 45-добових щурів після впливу нітратів ознаки стрес-реакції посилюються. В ультраструктурі цитоплазми світлих клітин визначаються виражені порушення мембранних органел. Посилення функції продовжується в темних пінеалоцитах.
3. Після дії нітратів у 90-добових щурів настають зміни, що характерні для стадії виснаження загального адаптаційного синдрому, результатом якого є глибокий дисбаланс у роботі епіфіза.
4. Спільна дія нітратів і метиленової сині у 14-добових тварин сприяє зниженню токсичного впливу і сили стресорної реакції в епіфізі. В ультраструктурі пінеалоцитів збільшується кількість рибосом, дрібних секреторних гранул та мітохондрій порівняно з дією одних нітратів.
5. У 45-добових тварин при одночасному надходженню нітратів і метиленової сині в ультраструктурі меланотропних клітин відмічається накопичення секреторних гранул однакового розмірів та електронної щільності, збільшення кількості органел та ознаки відновлення структури цитоплазми і ядра.

6. Застосування метиленової сині на фоні тривалого надходження нітратів у 90-добових щурів на ультраструктурному рівні різких змін в цитоплазмі й ядрі світлих та темних пінеалоцитів не виявляється, порівняно з контролем.
7. Протекторна дія метиленової сині полягає в зниженні токсичного впливу нітратів, і наближає морфофункціональний стан епіфіза до контрольних даних.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується вивчити структурно-функціональні зміни в гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковій системі за умов нітратної інтоксикації різної тривалості та пошуку ефективних засобів корекції дії цих речовин.

References

1. Lukashova OP. Ultrastruktura kletok endokrynnykh organov v otdelnye sroky posle obshchego y chastychnogo oblucheniya v maloy doze [Ultrastructure of cells of endocrine organs in separate terms after the general and partial irradiation in a small dose]. *Ukrayinskyy radiologichnyy zhurnal*. 2018; 26(4): 252-261. [Ukrainian]
2. Lomakina YuV, Bulyk RYe. Morfofunktsionalnyy stan shyshkopodibnoyi zalozy za standartnogo rezhymu osvityleniya u starykh shchuriv [Morphofunctional state of the pineal gland under the standard mode of lighting in old rats]. *Klinichna anatomiya ta operatyvna khirurgiya*. 2016; 15(2): 50-54. [Ukrainian]
3. Kryvchanska MI, Pishak OV, Pishak VP. Reaktsiya shyshkopodibnoyi zalozy na deyaki agonisty ta ontogonisty beta-adrenoretseptoriv u postnatalnomu ontogenezi [The response of the pineal gland to some agonists and antagonists of beta-adrenoceptors in postnatal ontogenesis]. *Klinichna ta eksperymentalna patologiya*. 2018; 17.3(65): II 156-161. [Ukrainian]
4. Danylova MV, Usoltseva EN. Rol gormona epyfyza melatonyna v sokhranenyi zdorovya zhenshchyn reproductyvnoho vozrasta (obzor lyteratury). [The role of pineal gland hormone melatonin in maintaining the health of women of reproductive age (literature review)]. *Akusherstvo, Gynekologyya i Reproduktsyya*. 2019; 13(4): 337-344. [Russian]
5. Zagalni yetychni pryntsyipy yeksperymentiv na tvarynakh [General ethical principles of animal experiments]. *Endokrynologiya*. 2006; 8(1): 142-145. [Ukrainian]
6. Khodorovska AA, Chernikova GM, Chala KM, Popova IS. Vplyv funktsionalnoyi aktyvnosti shyshkopodibnoyi zalozy na stan shchytovidnoyi zalozy u shchuriv [The effect of functional activity of the pineal gland on the condition of the thyroid gland in rats]. *Klinichna ta eksperymentalna patologiya*. 2018; 17. 3(65): II 136-142. [Ukrainian]
7. Pshychenko VV, Chernov VS. Vplyv khronichnogo stresu na morfometrychni pokaznyky pinealnykh klityn shchuriv [Influence of chronic stress on morphometric parameters of rat pineal cells]. *Visnyk problem biologiyi i medytsyny*. 2018; 4. 2(147): 298-300. [Ukrainian]
8. Chumachenko OYu, Petrenko OV, Redka OG, Rozhkov IM. Morfofunktsionalna kharakterystyka tsentralnoyi lanky endokrynnoyi systemy [Morphofunctional characteristic of the central part of the endocrine system]. *U zbirnyku materialiv KhV Mizhnarodnoyi naukovo-praktychnoyi konferentsiyi «Aktualni problemy suchasnoyi biologiyi ta zdorov'ya lyudyny»*. 2015; 15. 42-45. [Ukrainian]

УДК 572.786: 546.175

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПИНЕАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЭПИФИЗА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ДЕЙСТВИИ НИТРАТОВ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ И СРЕДСТВ КОРРЕКЦИИ Чумаченко А. Ю., Редька Е. Г.

Резюме. По современным данным эпифиз (шишковидное тело) является органом, который сочетает процессы адаптогенезу и иммуногенеза, принимает участие в запуске стрессовых реакций и определяет последовательность нарушений в организме в разные стадии развития стресса.

Целью исследований было изучение структурно-функциональных изменений пинеальных клеток эпифиза у крыс на разных этапах развития в норме, под действием нитратов и одновременного действия нитратов и метиленовой сини.

Материал и методы. В соответствии с целью работы исследование проведено на 90 нелинейных белых крысах-самцах разного возраста. Животные находились в виварии в равноценных условиях. Длительное воздействие нитратов на организм животных достигалось ежедневным введением в питьевой рацион, начиная с 7 суток постнатального развития крыс (после предварительной очистки воды) 120 мг/л нитрата натрия, то есть в дозе, которая характерна для многих регионов Украины.

При моделировании действия метиленовой сини, животным ежедневно перорально вводили данное вещество в дозах: 0,1-0,15 мл 1% водного раствора на 1 кг массы тела.

Результаты. В результате 7-дневного действия нитратов у 14-суточных крыс в эпифизе отмечались структурные изменения, которые отвечали снижению функции светлых клеток и повышению

функциональной активности пинеалоцитов II типа. В ультраструктуре цитоплазмы пинеалоцитов I типа оказывались слабо развитые органеллы и единичные секреторные гранулы. У 45-суточных животных в условиях действия нитратов в светлых пинеалоцитах отмечались выраженные нарушения в мембранных органеллах, прежде всего, в митохондриях и гранулярной эндоплазматической сети. Функциональная активность темных пинеалоцитов в этот период исследования нарастала. В паренхиме эпифиза 90-суточных крыс после воздействия нитратов функциональная активность пинеалоцитов I типа находилась на низком уровне. Функциональная активность темных пинеалоцитов также ослаблялась.

В результате одновременного действия нитратов и метиленовой сини в эпифизе 14-суточных крыс наблюдалась тенденция к постепенному восстановлению структурно-функциональных показателей клеток.

У 45-суточных животных после одновременного действия нитратов и метиленовой сини ультраструктурные данные пинеальных клеток свидетельствовали о многочисленных митохондриях и секреторных гранулах в цитоплазме.

В паренхиме эпифиза 90-суточных крыс после хронического действия нитратов и метиленовой сини на ультраструктурном уровне резких изменений в цитоплазме и ядре светлых и темных пинеалоцитов не обнаружено, по сравнению с контролем.

Выводы. Поступление нитратов у 14-суточных крыс вызывает развитие стресс-реакции, в ультраструктуре светлых пинеалоцитов оказываются слабо развитые органеллы и признаки дегрануляции, однако цитоплазма и ядра темных клеток свидетельствовал об усилении функции. У 45-суточных крыс после воздействия нитратов признаки стресс-реакции усиливаются. В ультраструктуре цитоплазмы светлых клеток определяются выраженные нарушения мембранных органелл. Усиление функции продолжается в темных пинеалоцитах. После действия нитратов у 90-суточных крыс наступают изменения, характерные для стадии истощения общего адаптационного синдрома, результатом которого является глубокий дисбаланс в работе эпифиза. Совместное действие нитратов и метиленовой сини у 14-суточных животных способствует снижению токсического воздействия и силы стрессорные реакции в эпифизе. В ультраструктуре пинеалоцитов увеличивается количество рибосом, мелких секреторных гранул и митохондрий по сравнению с действием одних нитратов. У 45-суточных животных при одновременном поступлении нитратов и метиленовой сини в ультраструктуре меланотропного клеток отмечается накопление секреторных гранул одинаковых размеров и электронной плотности, увеличение количества органелл и признаки восстановления структуры цитоплазмы и ядра. Применение метиленовой сини на фоне длительного поступления нитратов у 90-суточных крыс на ультраструктурном уровне резких изменений в цитоплазме и ядре светлых и темных пинеалоцитов не проявляется, по сравнению с контролем.

Ключевые слова: пинеальные клетки, нитраты, эпифиз, метиленовая синь.

UDC 572.786: 546.175

Ultrastructural Changes in Pineal Cells of the Epiphysis during Long Exposure of Drinking Water Nitrates and Correction Means

Chumachenko A. Yu., Redka E. G.

Abstract. According to modern data, the epiphys (pineal gland) is an organ that combines the processes of adaptogenesis and immunogenesis, takes part in triggering stress reactions and determines the sequence of disorders in the body at different stages of stress development. Researchers consider the pineal gland to be the most important organizer of biological rhythms associated with photoperiodism and the organ that determines the stereotype of the organism. Its individual functions are rhythmically variable under the influence of the environment and age.

The purpose of the study was to study the structural and functional changes of pineal cells of the pineal gland in rats at different stages of normal development, under the action of nitrates and the simultaneous action of nitrates and methylene blue.

Materials and methods. In accordance with the purpose of the work, the study was carried out on 90 non-linear white male rats of different ages. The animals were kept in the vivarium in equivalent conditions. Long-term exposure to nitrates on the body of animals was achieved by daily introduction into the drinking ration, starting from the 7th day of postnatal development of rats (after preliminary water purification), 120 mg/l sodium nitrate, that is, in a dose that is typical for many regions of Ukraine.

When simulating the action of methylene blue, this substance was daily orally administered to the animals in doses: 0.1-0.15 ml of a 1% aqueous solution per 1 kg of body weight.

Results and discussion. As a result of the 7-day action of nitrates in 14-day-old rats, structural changes were observed in the pineal gland, which corresponded to a decrease in the function of light cells and an increase in the functional activity of type II pinealocytes. The ultrastructure of the cytoplasm of type I pinealocytes contained poorly developed organelles and single secretory granules. In 45-day-old animals exposed to nitrates in light pinealocytes, pronounced disturbances in membrane organelles, primarily in mitochondria and the granular endoplasmic reticulum, were noted. The functional activity of dark pinealocytes increased during this period of the study. In the pineal parenchyma of 90-day-old rats after exposure to nitrates, the functional activity of type I pinealocytes was at a low level. The functional activity of dark pinealocytes was also weakened.

Thus, as a result of the simultaneous action of nitrates and methylene blue in the pineal gland of 14-day-old rats, a tendency to gradual restoration of the structural and functional parameters of cells was observed.

In 45-day-old animals, after the simultaneous action of nitrates and methylene blue, the ultrastructural data of pineal cells indicated numerous mitochondria and secretory granules in the cytoplasm.

In the parenchyma of the pineal gland of 90-day-old rats after chronic action of nitrates and methylene blue at the ultrastructural level, no sharp changes in the cytoplasm and nucleus of light and dark pinealocytes were found in comparison with the control.

Conclusion. The intake of nitrates in 14-day-old rats causes the development of a stress reaction, poorly developed organelles and signs of degranulation appear in the ultrastructure of light pinealocytes, however, the cytoplasm and nuclei of dark cells indicated an increase in function. In 45-day-old rats after exposure to nitrates, the signs of the stress reaction are enhanced. In the ultrastructure of the cytoplasm of light cells, pronounced violations of membrane organelles are determined. Enhanced function continues in dark pinealocytes. After the action of nitrates in 90-day-old rats, changes occur that are characteristic of the stage of depletion of the general adaptation syndrome, the result of which is a deep imbalance in the work of the pineal gland. The combined action of nitrates and methylene blue in 14-day-old animals helps to reduce the toxic effect and the strength of stress reactions in the pineal gland. In the ultrastructure of pinealocytes, the number of ribosomes, small secretory granules and mitochondria increases in comparison with the action of nitrates alone. In 45-day-old animals with the simultaneous intake of nitrates and methylene blue in the ultrastructure of melanotropic cells, the accumulation of secretory granules of the same size and electron density, an increase in the number of organelles and signs of restoration of the structure of the cytoplasm and nucleus are noted. The use of methylene blue against the background of long-term intake of nitrates in 90-day-old rats at the ultrastructural level of abrupt changes in the cytoplasm and nucleus of light and dark pinealocytes is not manifested in comparison with the control.

Keywords: pineal cells, nitrates, pineal gland, methylene blue.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 14.02.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування