

ЭТАПЫ МИГРАЦИИ ЯДРЫШЕК ГЕПАТОЦИТОВ ПЕЧЕНИ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Исаева Н.З., Садриддинов А.Ф.,

Ташкентский педиатрический медицинский институт.

✓ Резюме

Цель исследования. В сравнительном аспекте изучить миграцию ядрышек некоторых млекопитающих. **Материалы и методы:** использованы половозрелые кролики, массой 2,5-3,0 кг (n=6) и беспородные белые крысы массой 180-200гр (n=26).

Результаты. В печени млекопитающих обнаружен новый феномен - миграция ядрышек из ядра в цитоплазму гепатоцита, которое стимулируется как лекарственными препаратами, так и частичной резекцией печени. Результаты проведенных исследований показывают, что, некоторые комплексы моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты могут в печени кроликов стимулировать миграцию ядрышек гепатоцитов, подобным же образом действует и резекция печени у подопытных крыс.

Ключевые слова: печень, гепатоцит ядрышко, миграция, туглизид.

STAGES OF MIGRATION OF NUCLEOLUS OF LIVERHEPATOCYTES IN SOME MAMMALIAN SPECIES

Isaeva N.Z., Sadriddinov A.F.,

Tashkent Pediatric Medical Institute.

✓ Resume

Purpose of the study. To study and compare nucleolus migration in mammals.

Materials and methods: used mature rabbits weighing 2.5-3.0 kg (n = 6) and outbred white rats weighing 180-200g (n = 26).

Results: A new phenomenon has been discovered in the liver of mammals - extrusion of the nucleolus into the hepatocyte cytoplasm, which is stimulated by both drugs and partial resection of the liver. The results of the studies show that some complexes of the monoammonium salt of glycyrrhizin acid can stimulate the migration of hepatocyte nucleoli in the liver of rabbits, and resection of the liver in experimental rats works in a similar way.

Key words: liver, hepatocyte, nucleolus, migration, togilizide

Актуальность

В последние годы многочисленными исследователями установлены поли функциональность ядрышка [3, 19, 20, 21, 22, 23, 26]. Наряду с классической функцией биогенеза рибосом, было показано участие ядрышка в регуляции клеточного цикла, пролиферации клеток, при стрессовых состояниях, опухолевых процессах, вирусных поражениях, естественной гибели клеток, старении организма и даже некоторых патологических состояниях (синдром Вернера, анемия Дамонд-Блектона, ТричерКоллинз и Ротмунд-Томсон синдроме) и т.д.[21,22,24,25, 27]. В 60-ые годы прошлого столетия бурно обсуждался вопрос о выходе ядрышка в цитоплазму и участие их в процессе секреции и синтезе белка. Исследуя структуру клеточного ядра печени кроликов, после введения противовоспалительного препаратом было установлено усиление миграции ядрышек из ядра в цитоплазму гепатоцитов. Для подтверждения этих данных нами дополнительно проведены исследования интактных крыс, а также у этих же животных, после 25% резекции печени. Эти исследования также подтвердили возможность выхода ядрышек гепатоцитов в цитоплазму.

Цель: Сравнение клеточного механизма миграции ядрышек гепатоцитов крыс после резекции печени и у кроликов, после введения активного комплекса (МАСГК - моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты и противовоспалительных препаратов).

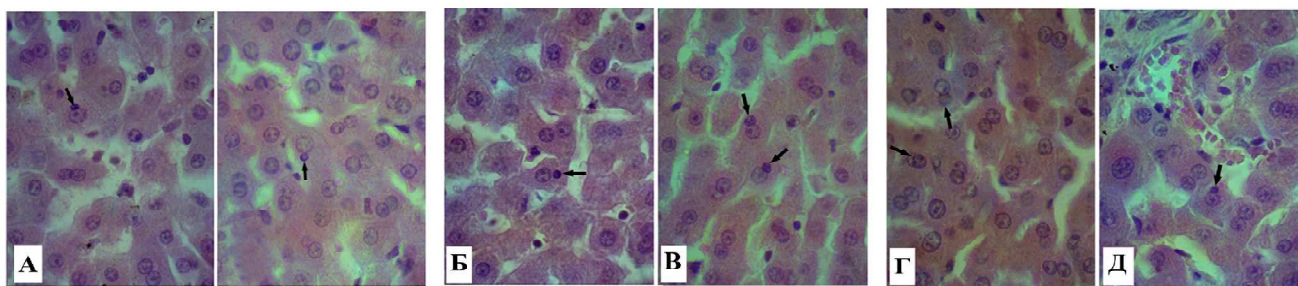
Материал и методы

Для эксперимента использованы половозрелые кролики, массой 2,5-3,0 кг (n=6), которым в течение месяца вводили "регос" 10 мг/кг противовоспалительных средств. Беспородные белые крысы массой 180-200гр (n=26) подвергались 25% резекции печени, которые забиты на 3, 5, 7, 10, 15 и 30 сутки после операции. Использование животных в экспериментах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте. Обезболивание и умерщвление животных проводили в соответствии с "Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных". Кусочки ткани печени для гистологических исследований после фиксации в 12% растворе нейтрального формалина и стандартной обработки заливали в парафин-воск. Срезы для гистологических исследований окрашивали гематоксилин - эозином, а фотографирование препаратов производили при помощи микроскопа модели N-800M, под иммерсионным объективом (x100).

Результат и обсуждение

Печеночная долька кролика на 30-ые сутки после введения препарата, выглядит подобно печени других млекопитающих, состоит из печеночных пластинок и синусоидных гемокапилляров, ориентированных к центру дольки. Гепатоциты формируют печеночные пластинки и имеют полигональную форму, цитоплазма их окрашена в светло-розовый цвет, а в центре содержат одно или два ядра (рис.1-3).





Окраска гематоксилин-эозином. Об.100 (иммерсия), ок.15

Рис.1. Печень кролика после введения препарата "Туглизид".

А-увеличение объема ядрышка имиграция ядрышка одноядерного гепатоцита.

Б-хорошо различимы последовательные этапы выхода и преобразования ядрышка в.

В- появление ядрышко вблизи ядра.

Г-одномоментная экструзия двух ядрышек из двух ядерного гепатоцита.

Д-перипортальная зона, гепатоциты менее дифференцированные, содержат одно или два ядра

Ядра гепатоцитов характеризуются полиморфизмом, наряду с крупными ядрами, встречаются средние и мелкие ядра, в которых хроматин мелко распылен по кариоплазме или же сконцентрирован под ядерной оболочкой. В кариоплазме выявляются одно или два крупных, изредка 3-4 мелких ядрышка, которые имеют нечеткие контуры, края их, размазаны или же содержат небольшие глыбки хроматина. Цитологическое изучение структуры ядра гепатоцитов подопытных животных показал, что в некоторых случаях ядрышко перемещается к периферии кариоплазмы или выбухает вместе с ядерной оболочкой (рис.1а). После контакта с ядерной оболочкой ядрышко выбрасывается в цитоплазму. Вначале нуклеолоплазма имеет темный вид и неровные края, после выхода приобретает гладкие контуры, в связи с чем, отчетливо выявляется в цитоплазме (рис.1б). Обычно в перипортальной зоне расположены менее дифференцированные гепатоциты, содержащие одно или два ядра (рис.1д)[2]. В наших исследованиях выход ядрышка часто встречался в клетках этой зоны. Все этапы выхода ядрышка и его превращение можно проследить на рисунках 1а,б,в,г. На следующем этапе, ядрышко отделяется от ядра, свободно располагаясь в цитоплазме, все еще имеет плотный вид. В последующем нуклеолоплазма ядрышка просветляется, увеличивается его объем. Выделившееся ядрышко вначале появляется непосредственно вблизи ядра, а иногда даже проследивается соединяющий их тоненький стебелек (рис. 1в). В некоторых случаях, создается впечатление, что вместе с ядрышком выделяется часть содержимого ядра, а выделившаяся масса напоминает "шляпку гриба", (рис.1г). Как известно, в печени существуют не только двуядерные, изредка встречаются 3-х, или 4-х ядерные гепатоциты. В редких случаях из одного ядра гепатоцита могут совершать одновременно выход два ядрышка, а иногда двух ядрышек из двуядерного гепатоцита.

Печень крысы в общих чертах имеет схожее строение печени кролика, однако, в печени крыс гепатоциты их ядра более крупные. В начале, мы попытались обнаружить миграцию ядрышка у интактных крыс. В единичных случаях обнаруживались ядрышки в контакте с ядерной оболочкой, однако полную картину миграции проследить не удалось. В тоже время миграцию ядрышка наглядно можно было проследить у подопытных животных после 25%-резекции органа,

особенно это выражено на 7-10 сутки. Гепатоциты крыс большей частью содержат 2-3 ядрышка, однако величина их варьирует. Выделившееся ядрышко, как кролика, так и крыс перемещается к ядерной оболочке, объем его увеличивается, затем пенетрируя кариолемму выходит в цитоплазму (рис. 2а). Чаще всего ядрышко выявляется вблизи ядра, и имеет небольшие размеры, в связи с этим не всегда отчетливо выделяется. Если у кроликов объем ядрышка значительно увеличивается, то у крыс объем их не меняется. Тем не менее, на 7-е сутки опыта в печени, в одном поле зрения можно обнаружить выход 3-х ядрышек. Более того, у кроликов выделившееся ядрышко приобретает четкие гладкие контуры, но у крыс остаются неровными. Несмотря на некоторые отличия в печени крыс также обнаружена миграция ядрышек гепатоцитов в цитоплазму (рис. 2б).

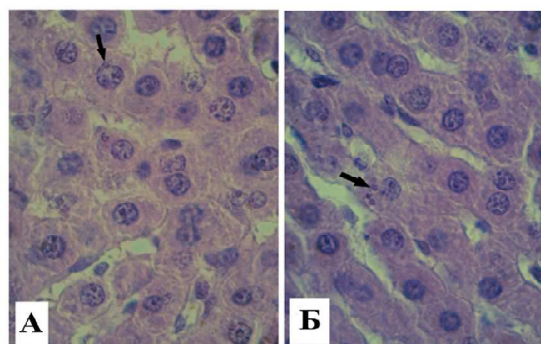


Рис.2. Печень крысы после 25% её резекции.

А-начало миграции ядрышка. Отчетливо проследивается экструзируемое ядрышко гепатоцита (5-ые сутки опыта).

Б-мигрированное ядрышко выявляется вблизи ядер гепатоцита (такой же срок исследования).

Таким образом, гистологическими методами установлено, что в печени некоторых животных - кроликов при введении препарата туглизид, а также у белых беспородных крыс после резекции печени отмечены явления миграции ядрышка в цитоплазму гепатоцитов.

Результаты проведенных исследований показывают, что применение противовоспалительных препара-

ратов в печени кроликов стимулирует миграцию ядрышка гепатоцитов, подобным же образом действует и резекция печени у подопытных крыс. Однако миграция ядрышка совершается очень редко и обнаружение единичных случаев выхода ядрышка, не даёт полного представления о динамике данного процесса. Очевидно, в связи с этим верификация миграции ядрышка у интактных кроликов и крыс оказалось весьма трудоёмким явлением. В связи с этим, в доступной литературе последних лет мы не обнаружили сведений, относительно миграции ядрышка гепатоцитов у млекопитающих. Тем не менее, данное явление, в 60-ые годы прошлого столетия был описан в ооцитах низших животных [4,6, 7, 8,9, 10]. При этом было установлено, что перед выходом ядрышка многократно увеличивается в объеме, т.е. происходит его амплификация [1,8] Данный процесс обусловлен необходимостью синтеза огромного количества белка, для полноценного развития зародыша животных [11]. В связи с этим, первоначально предполагалось, что оно характерно только для ооцитов, т.е., половых клеток с гаплоидным набором хромосом. Последующие исследования показали, что они существуют и в соматических клетках низших позвоночных [13,14]. Особенно, это проявлялось в железистых (секреторных) клетках. Последовательные этапы миграции ядрышка в клетках биссусной железы мидии схематически представили и внесли в учебное пособие по гистологии [12].

В работе Е.А.Шубниковой, 1966 предполагается, что ядро печеночной клетки (гепатопанкреозе речного рака) участвует в выработке секрета, путем уменьшения феллген-позитивных веществ. Как показывают наши исследования, выход ядрышка может происходить, также в клетках печени млекопитающих (кролики, крысы). Перед миграцией ядрышко обычно несколько увеличивается в объеме и уплотняется, затем приближается к ядерной оболочке. Увеличение объема, по-видимому, связано с усиленным синтезом рибосомальных генов ядрышковыми организаторами, подобно тем, как осуществляется в ооцитах амфибий (Dapplels, King, 1970, Miller, 1966).

Однако, гепатоциты, в отличие от половых клеток иногда могут быть двудерными, более того и полиплоидными клетками [13,14]. В связи с этим, можно предположить, что увеличение объема ядрышка обусловлено не только обычным синтезом рибосомальных генов (организаторов ДНК ядрышка), но и многократным их амплификацией, соответственно плоидности клеток. После увеличения объема ядрышка перемещается к ядерной оболочке и при проникновении через эту мембрану обволакивается ею, подобно пиноцитозу или эндоцитозу в плазмолемме или везикуляция лизосом или секреторных гранул в зоне комплекса Гольджи [5]. Вероятно, поэтому расплывчатые контуры ядрышка после выхода в цитоплазму становится гладкой, а форма строго шаровидной. Мигрированное ядрышко в цитоплазме гепатоцита подвергается внутренней перестройке, что проявляется превращением мелкого плотного тельца в крупный светлый "пузырек" -псевдоядро [10]. Постепенно этот процесс сопровождается увеличением объема и просветлением нуклеолоплазмы, что вероятно, связано с деспирализацией цепочки РНК, частично и ДНК. Однако, данный процесс имеет место только у кроликов, тогда, как у подопытных крыс он отсут-

ствует, что, возможно связано с видовыми особенностями. Как известно, выход отдельных составных частей ядрышка - рибосомальных субъединиц, из ядра в цитоплазму является общепризнанным фактом. Выход более крупных фрагментов ядрышкового материала, как это обозначено в литературе "элиминация экстрахромосомного материала" обнаружено также в ооцитах различных насекомых, ракообразных, рыб и амфибий (Har, 1967, Wuizmann, 1979, Манских В. Н., 2006).

Обнаруженная нами миграция ядрышек человека и млекопитающих, хотя по механизму течения аналогичны выделению ядрышек у низших позвоночных, то значение данного процесса остается не известным. Если у низших животных выход ядрышка связывается с синтезом белка, то в клетках млекопитающих, вероятно также обусловлено синтезом важнейших белков организма гепатоцитами, каковым является синтез альбумина. Как известно, альбумин является главным белком плазмы крови и его усиленный синтез необходим для восстановления нужд самой печени или же, когда организм нуждается в большом количестве строительного материала. В наших исследованиях уменьшение объема печеночной ткани искусственно произведено у подопытных белых крыс, у которых на 7-15 сутки опыта отмечался усиление миграции ядрышек, вероятно направлено на усиленный синтез структурных белков, какими являются клеточные органеллы. В отличие от белых крыс, у кроликов повреждений самой печеночной ткани не отмечался, более того явных признаков нарушений обмена веществ в организме этих животных также отсутствовало. В связи с этим, выяснение значения миграции ядрышек гепатоцитов остается предметом дальнейших исследований. Данный феномен, хотя в нормальных условиях проявляется очень редко, однако при поражении печени, при её болезнях в плане усиления регенераторных процессов может приобретать центральное значение [16, 17].

Заключение

В печени млекопитающих обнаружен новый феномен -миграция ядрышка в цитоплазму гепатоцита, которое стимулируется как лекарственными препаратами, так и частичной резекцией печени. Предполагается, что миграция ядрышка способствует усиленному синтезу белка печеночными клетками, следовательно, может оказать существенную роль в регенераторных процессах печени, а возможно и целого организма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Садриддинов А. Ф. Роль и значение ядрышка в возникновении бинуклеаров в клетках печени, //В сборнике материалов Международной научно-практической конференции. - 2013г. с. 153-160. Краснодар.
2. Садриддинов А. Ф. Порто-венозный градиент функциональный элемент печени. //В сборнике материалов XII международной заочной научно- практической конференция Научная дискуссия: вопросы медицины-2013 г. с. 101-112. Москва.
3. Sadrididinov A.F., Cheraliev K.S., Isaeva N.Z., Murotov O.U. The Wonderful Multifunctional Nucleolus of Hepatic Cell. // Journal of Pharmacy and Pharmacology-2015; 268-277 (in American).
4. Студитский А. П. Природа происхождения ядрышка. //Успехи современной биологии. -1973, т. 76, с. 199-221, Россия.
5. Mikhailovskaya V. Migration of nucleoli and karyoplasm into the cytoplasm of reticular cells in lymph node cultures. //Bull

- Exp Biol Med-1978, № 85 p. 641-645 Ukraine
6. Райкова Е. В. Морфология ядрышек в период роста ооцитов сетчатых рыб. // Журнал общей биологии. - 1968, т. 29, с. 316-333.
 7. Kessel R. G, Reams H. W. Nuclear extrusion in the oocyte of *Thyona briareus*. - Exp. Cell Res, 1964, vol. 32, p. 612-615.
 8. King P. E., Fordy M. R. The formation of "accessory nuclei" in the developing oocytes of the parasitoid Hy-menopterans *Ophionlutens* (4) and *Apanteles glomeratus* (4). - Z. Zellforsch, 1970, Bd. 109, S. 158-170.
 9. Kishi K. Fine structural and cytochemical observations on cytoplasmic nucleoluslike bodies of rat medulla oblongata. Z. Zellforsch, 1972, Bd. 132, S. 523-532.
 10. Манских В.Н.К вопросу о механизмах образования микроядер в соматических клетках бесхвостых амфибий в норме и при действии N-нитрозо-N-метилкарбамида; Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, изд. Рос. акад. мед. наук (М.), 2006-том 141, №2, с. 217-220.
 11. Зацепина О.В. локализация ДНК в ядрышках клеток млекопитающих. "Цитология". 1992. т. 34. № 5. С.34-39.
 12. Кирпичникова У.С., и Левинсон Л.Б. Практикум по общей гистологии - 1962, 236 с. Москва
 13. Кудрявцев Б.Н., Штейн Г.И., Терешин Г.Г. Анализ кинетики полиплоидизации клеток паренхимы печени крысы "Цитология" -1986.Т.28, № 8 с.57-60.
 14. Урываева И.В. Клеточное размножение и полиплоидия в печени, Москва, 1987. Автореф. диссер. д. б.н. Москва
 15. Шубникова Е.А., Секреторная деятельность. В кн.: Руководство по цитологии, т. 2, М-Л., 1966.
 16. Романова Л.П., Малышев И.И. Роль двуядерных гепатоцитов в регенерации печени после механической травмы в раннемонтотенезе у крыс. Вестн Чувашского Университета-2011;3, с 398-402.
 17. Скуратов А. Г., Лычиков А.Н., Зиновкин Д. А., Чешик И.А., Петренев Д.Р. Морфометрические параметры регенерации печени при частичной гепатэктомии и трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте. Вестник НацАкадНаукБеларусь. СерМедНаук. 2016; 4:57-65, Беларусь
 18. Miller O.J. The nucleolus, chromosomas and visualization of genetic activity. J. Cell. Biol. 1981, 9, p. 15-27
 19. Boisvert FM, van Koningsbruggen S, Navascues J, Lamond AI (2007) The multifunctional nucleolus. Nat Rev Mol Cell Biol 8:574-585p.
 20. Carmo-Fonseca M, Mendes-Soares L, Campos I (2000) To be or not to be in the nucleolus. Nat Cell Biol 2:107-112p.
 21. Hernandez-Verdun D (2006) The nucleolus: a model for the organization of nuclear functions. Histochem Cell Biol 126:135-148p.
 22. Isaac, C. et al. Characterization of the nucleolar gene product, treacle, in Treacher Collins syndrome. Mol. Biol. Cell 11, 3061-3071 p. (2000).
 23. Mayer, C. Bierhoff, H. & Grummt, I. The nucleolus as a stress sensor: JNK2 inactivates the transcription factor TIF-LA and down-regulates rRNA synthesis. Genes Dev. 19, 933-941 (2005). 15, 18-13, 20, 22
 24. Olson, M. O.J. Sensing cellular stress: another new function for the nucleolus? Sci. STKE 224, pe10 (2004).
 25. Pederson T (1998) The plurifunctional nucleolus. Nucleic Acids Res 26:3871-3876
 26. Woo, L.L., Futami, K., Shimamoto, A., Furuichi, Y. & Frank K.M. The Rothmund-Thomson gene product RECQL4 localizes to the nucleolus in response to oxidative stress. Exp. Cell Res. 312, 3443-3457 (2006).
 27. Scherl A. et al. Functional proteomic analysis of human nucleolus. Mol. Biol. Cell 13, 4100-4109 (2002).
 28. Brosh, R. M. Jr et al. p53 Modulates the exonuclease activity of Werner syndrome protein. J. Biol. Chem. 276, 35093-35102 p. (2001).

Поступила 09.09.2020