



УДК 615.32:616.71-018.46

Т.М. Владимцева,
И.А. Пашкевич

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ РОДИОЛЫ РОЗОВОЙ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЯДРЫШКОВОГО АППАРАТА КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПРИ СВИНЦОВОЙ И ЦИНКОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Ключевые слова: ядрышки, костный мозг, ацетат свинца, хлорид цинка, экстракт родиолы розовой, ксенобиотики, тяжелые металлы, ядро, клетка, интоксикация.

Введение

В соматических клетках эукариот ядрышко представляет собой мультидоменный структурный комплекс, основной функцией которого является биогенез рибосом. В 1965 г. Ф. Ритосса и С. Спигелмен установили, что ядрышко является участком хромосомы, называемым ядрышковым организатором, в котором транскрибируются гены рибосомных 18S РНК и 28S РНК.

Важным компонентом ядрышка является белок нуклеолин, регулирующий активность РНК-полимеразы I. Синтез белка в клетках эукариот проходит в несколько этапов, один из которых связан с синтезом рибосомальной РНК (рРНК), происходящим в ядрышках [1, 2]. Поэтому его биологическая роль – синтез рибосомных РНК и сборка рибосомы. Размер ядрышка отражает степень его функциональной активности, и в клетках, продуцирующих большое количество белков, оно может занимать до 25% объема всего ядра [3-5].

Форма, размер и число ядрышек являются морфологическим отражением транскрипции рибосомных генов в клетке. Изменения в нуклеолярном аппарате играют немаловажную роль в клеточной патологии, отражая степень функциональной активности клеток. При патологических процессах наблюдается снижение активности рибосомного синтеза [1-4, 6]. Ядрышки нуклеолонемного и компактного типов являются наиболее активными и обнаруживаются в интенсивно пролиферирующих или растущих клетках. Высокие темпы трансформации морфологии ядрышек являются критерием интенсивности их функциональной активности.

В настоящее время актуальной проблемой является профилактика и коррекция нарушений ядрышкового аппарата клеток костного мозга, вызванных воздействием ксенобиотиков. Для этих целей предлагается использовать адаптогены, обладающие широким спектром защитного действия, к различным ксенобиотикам, в том числе к таким тяжелым металлам, как цинк и свинец.

Объект и методы исследования

Целью наших исследований явилось изучение действия родиолы розовой на

клетки костного мозга в условиях интоксикации цинком и свинцом.

Работа проведена на 30 белых беспородных мышах-самцах массой 19-24 г в двухмесячном возрасте. В качестве модельных ксенобиотиков использовались хлорид цинка и ацетат свинца в дозе 20 мг/кг массы тела. Полиморфизм ядрышек анализировали через 24 часа, на 5-е и 14-е сутки после затравки животных. Контролем служили животные, получавшие физиологический раствор. В качестве адаптогена использовали экстракт родиолы розовой в дозе 5 мл/кг массы животного, который вводили внутривентрикулярно через зонд.

Аргентофильность ядрышек в клетках костного мозга осуществлялась методом окраски мазков клеток костного мозга нитратом серебра. Готовые препараты костного мозга фиксировали в метаноле 5-7 мин., затем обрабатывали в термостате при температуре 37-38°C в течение 20 мин. смесью 50%-ного водного раствора серебра и 2%-ного раствора желатина на 1%-ной муравьиной кислоте [7]. После окраски клетки классифицировали по форме ядра (на 200 клеток костного мозга, увеличение $\times 1000$) по видам: I – клетки без видимых морфологических повреждений; II – клетки с деградацией хроматина.

В данных клетках определяли 2 типа ядрышек по диаметру с помощью окуляр-микрометра МОВ – 1 \times 15: 1-й тип – компактные и нуклеолонемные (отличаются крупными размерами, 2-4 мкм); 2-й тип – плотные фибриллярные ядрышки (мелкие, до 1 мкм), что соответствует высокой (1-й тип) и низкой (2-й тип) функциональной активности ядрышек [8].

Статистическую обработку результатов проводили методами вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента [9]. Различия считали значимыми, если вероятность случайности не превышала 5% ($P < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

В ходе наших экспериментов установлено, что при затравке животных хлоридом цинка в дозе 20 мг/кг через 24 часа отмечалось достоверное снижение числа клеток без морфологических повреждений ядер, а число клеток с признаками деградации хроматина увеличилось. Число крупных и мелких ядрышек в клетках без морфологических изменений снизилось и

составило $89,70 \pm 0,32\%$ ($P < 0,001$) и $74,50 \pm 0,46\%$ ($P < 0,001$), соответственно, тогда как в клетках с деградацией хроматина число макроядрышек не изменилось, но в 5 раз возросло число микроядрышек по сравнению с контролем (рис. 1).

При введении ацетата свинца в той же дозе через 24 часа наблюдалось нарастание клеток с деградацией хроматина и увеличением количества всех видов ядрышек. Число крупных ядрышек достигает $31,40 \pm 0,82\%$ по сравнению с таковым в контроле $10,40 \pm 0,80\%$ ($P < 0,001$). Тогда как число мелких ядрышек составило $66,70 \pm 2,99\%$ в сравнении с контролем $16,90 \pm 0,78\%$ ($P < 0,001$) (рис. 2).

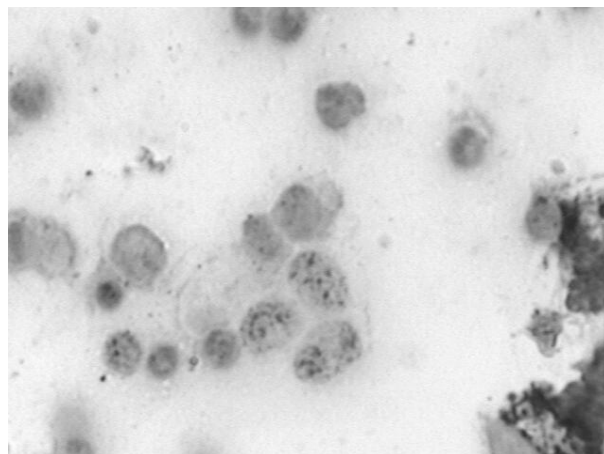


Рис. 1. Низкотранскрипционные ядрышки (2-й тип) в клетках костного мозга мышей при внутрибрюшинном введении хлорида цинка в дозе 20 мг/кг (окуляр $\times 15$, объектив $\times 90$)

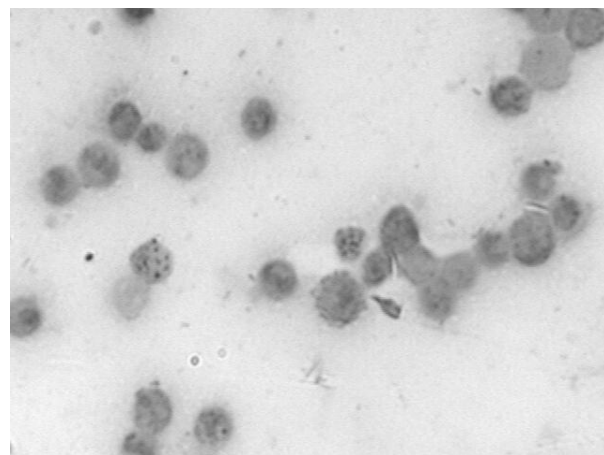


Рис. 2. Низкотранскрипционные ядрышки (2-й тип) в клетках костного мозга мышей при внутрибрюшинном введении ацетата свинца в дозе 20 мг/кг (окуляр $\times 15$, объектив $\times 90$)

Установлено, что пятисуточное введение хлорида цинка и ацетата свинца в дозе 20 мг/кг снизило процент клеток без морфологических повреждений и увеличило процент клеток с деградацией хроматина. При этом наблюдалось достоверное снижение всех типов ядрышек в клетках без морфологических изменений ядер, тогда как в клетках с деградацией хроматина число крупных ядрышек возросло в 2 раза, а мелких – в 6,5 раза по сравнению с контролем.

При введении хлорида цинка в течение 14 суток отмечалось значительное снижение числа клеток без морфологических повреждений ядер и десятикратное увеличение числа клеток с признаками деградации хроматина. Количество ядрышек 1-го и 2-го типов в клетках без морфологических повреждений ядер снизилось и составило $83,79 \pm 0,44\%$ ($P < 0,001$) и $59,74 \pm 0,35\%$ ($P < 0,001$) соответственно. Вместе с тем в клетках с признаками деградации хроматина число крупных и мелких ядрышек достоверно возросло и составило $16,21 \pm 0,45\%$ ($P < 0,001$) и $40,26 \pm 0,35\%$ ($P < 0,001$) соответственно.

При введении ацетата свинца в дозе 20 мг/кг в течение 14 суток увеличивалось количество клеток с деградацией хроматина в ядре ($35,33 \pm 1,19\%$ и $6,70 \pm 0,61\%$ ($P < 0,001$) в опыте и контроле соответственно). Среднее количество крупных и мелких ядрышек в данном типе клеток достоверно увеличивалось в 2,8 и 3,3 раза соответственно. Причем в этом случае наблюдалось преобладание количества ядрышек 2-го типа над 1-м ($55,08 \pm 1,57\%$ и $28,97 \pm 2,77\%$ по сравне-

нию с контролем $16,90 \pm 0,78\%$ ($P < 0,001$) и $10,40 \pm 0,80\%$ ($P < 0,001$), что может свидетельствовать об изменении степени транскрипционной активности.

Вывод

Таким образом, воздействие хлорида цинка и ацетата свинца проявляется в повреждении нуклеолярного аппарата клеток костного мозга по типу снижения транскрипционной активности в прямой зависимости от времени воздействия данных ксенобиотиков.

При совместном действии экстракта родиолы розовой с хлоридом цинка и ацетата свинца в дозе 20 мг/кг наблюдалось достоверное уменьшение количества клеток с деградацией хроматина, а количество клеток без видимых морфологических повреждений ядра приближалось к контрольным (таб.).

При анализе содержания крупных и мелких ядрышек в клетках костного мозга установлено, что профилактическое применение экстракта родиолы розовой на фоне действия хлорида цинка в дозе 20 мг/кг оказывало более защитное действие, возвращая количество ядрышек 1-го и 2-го типов к уровню контроля, в сравнении совместного действия экстракта родиолы розовой с ацетатом свинца, то есть оказался менее эффективным в плане защитного действия ядрышек 1-го и 2-го типов.

Таким образом, на основании полученных данных мы делаем заключение, что эффективнее проявляет свое антиоксическое действие экстракт родиолы розовой интоксикации хлоридом цинка.

Таблица

Влияние экстракта родиолы розовой (ЭРР) при совместном введении с солями тяжелых металлов на ядерный и ядрышковый материалы клеток костного мозга

Серия	Клетки без видимых морфологических повреждений ядра			Клетки с деградацией хроматина		
	% данного типа клеток	% ядрышек 1-го типа	% ядрышек 2-го типа	% данного типа клеток	% ядрышек 1-го типа	% ядрышек 2-го типа
Контроль	93,30 ±3,20	89,60 ±2,01	83,10 ±2,12	6,70 ±0,61	10,40 ±0,80	16,90 ±0,78
ЭРР, 5 мл/кг	93,20 ±0,51	91,29 ±0,86	84,03 ±0,73	6,80 ±0,51	8,71 ±0,85	15,97 ±0,73
ЭРР + Zn, 20 мг/кг	83,90 ±1,23****	83,88 ±0,78****	70,39 ±1,54****	16,10 ±1,23****	16,12 ±0,77****	29,61 ±1,54****
ЭРР + Pb, 20 мг/кг	80,0 ±0,92****	76,42 ±0,40****	70,07 ±0,63****	20,0 ±0,92****	23,58 ±0,40****	29,93 ±0,63****

Библиографический список

1. Derenzini M. Interphase nucleolar organizer regions in cancer cells / M. Derenzini, D. Pecton // *Int. Rev. Exp. Pathol.* 1991. V. 32. P. 149-191.
2. Hernandez-Verdun D. The nucleolus today / D. Hernandez-Verdun // *J. Cell Sci.* 1991. V. 99. P. 465-471.
3. Мамаев Н.Н. Структура и функция ядрышкообразующих районов хромосом: молекулярные, цитологические и клинические аспекты / Н.Н. Мамаев, С.Е. Мамаева // *Цитология.* 1992. Т. 34. № 10. С. 3-13.
4. Фролова О.Е. Морфофункциональная характеристика моноцитов. Значение исследования нуклеолярного аппарата / О.Е. Фролова // *Гематология и цитология.* 1998. № 10. С. 3-8.
5. Штейн Г.И. Морфометрическое исследование окрашенных серебром ядрышек в одноядерных и двуядерных гепатоцитах крысы / Г.И. Штейн, Б.Н. Кудрявцев // *Цитология.* 1997. Т. 32. № 9. С. 775-783.
6. Погорелов В.М. Морфометрические параметры злокачественных клеток при нелейкемических гемобластозах с первичным поражением лимфатических узлов / В.М. Погорелов, С.А. Байдулин, И.Б. Капланская // *Гематология.* 1992. № 3. С. 5-10.
7. Ploton D. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level / D. Ploton, M. Menager, P. Jeannesson // *Histochem. J.* 1986. V. 18. P. 5-18.
8. Челидзе П.В. Морфофункциональная классификация ядрышек / П.В. Челидзе, О.В. Зацепина // *Успехи соврем. биологии.* 1988. Т. 105. № 2. С. 252-268.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.

