

Эпифизарная регуляция временной организации пролиферации эпителия крипт тощей кишки у белых крыс

С.М.Слесарев¹, А.И.Антохин², В.И.Арав³

¹Ульяновский государственный университет, кафедра общей биологии
(зав. кафедрой – проф. В.Ф.Сыч);

²Российский государственный медицинский университет,
кафедра биологии медико-биологического факультета, Москва
(зав. кафедрой – проф. А.И.Антохин);

³Ульяновский государственный университет, кафедра морфологии
(зав. кафедрой – проф. Т.Я.Тарарак)

Изучалось влияние эпифизэктомии и последующего введения мелатонина и пептидов эпифиза эпифизэктомированным белым крысам на суточную динамику пролиферации эпителия крипт тощей кишки. Временная организация пролиферации эпителия крипт тощей кишки у интактных животных характеризуется циркадианной ритмичностью. Эпифизэктомия приводит к исчезновению, а последующее введение мелатонина и пептидов эпифиза к восстановлению циркадианного ритма пролиферации эпителия крипт тощей кишки.

Ключевые слова: циркадианный ритм, пролиферация, эпифизэктомия, пептиды эпифиза, мелатонин

The pineal regulation of temporary organized proliferation of jejunum crypt's epithelium of white rats

S.M.Slesarev¹, A.I.Antokhin², V.I.Arav³

¹Ulyanovsk State University, Department of Common Biology
(Head of the Department – Prof. V.F.Sych);

²Russian State Medical University, Department of Biology of Medical and Biological Faculty, Moscow
(Head of the Department – Prof. A.I.Antokhin);

³Ulyanovsk State University, Department of Morphology
(Head of the Department – Prof. T.Ya.Tararak)

We investigated the influence of pinealectomy and melatonin and polipeptide pineal extract treatment on the diurnal rhythm of the proliferation of jejunum crypt's epithelium in white rats. The present data suggest that the circadian rhythm of proliferation was recorded in intact animals. Pinealectomy thus leads to abolishment of the circadian rhythm of proliferation. Pineal polypeptide and melatonin treatment restored the circadian rhythm proliferation of jejunum crypt's epithelium.

Key words: circadian rhythm, proliferation, pinealectomy, pineal polypeptide, melatonin

Одной из актуальных проблем современной биологии и медицины является выяснение механизмов регуляции деления клеток. Пролиферативные процессы, лежащие в основе всех морфогенетических процессов и многих патологических состояний организма, характеризуются циркадианной ритмичностью [1]. Циркадианные биоритмы стали неотъемлемой составляющей адаптации организмов, в первую очередь, к суточной смене и продолжительности дня и ночи,

что позволило с максимальной выгодой использовать благоприятные условия в определенное время суток [2]. При различных патологиях наблюдается нарушение циркадианных ритмов [3], а сам десинхронизм может завершаться формированием патологии либо усугубить течение имеющихся заболеваний [4]. В связи с этим изучение временной организации пролиферации, а также механизмов ее регуляции представляет несомненный интерес для различных разделов биологии, теоретической и практической медицины.

В обеспечении фотопериодического контроля суточных и сезонных биоритмов различных функций важная роль принадлежит эпифизу [5]. Трансформируя нервный импульсный ответ на световой раздражитель в эндокринный сигнал, он продуцирует гормон мелатонин и комплекс биологически активных пептидов [6]. Синтез и секреция эпифизом биологически активных веществ носят циркадианный характер [7].

Для корреспонденции:

Слесарев Сергей Михайлович, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей биологии Ульяновского государственного университета

Адрес: 432017, Ульяновск, ул. Карла Либкнехта, 1,
Институт медицины и экологии УлГУ
Телефон: (8422) 32-7322
E-mail: Sergey_SI@mail.ru

Статья поступила 24.01.2008 г., принята к печати 30.06.2008 г.

Экспериментально установлено наличие у мелатонина синхронизирующих свойств в организации циркадианного ритма ряда физиологических функций организма [8].

Наличие циркадианного биоритма пролиферации различных тканей позволяет предполагать участие эпифиза в его формировании, которое должно осуществляться непосредственным или опосредованным влиянием его биологически активных веществ на процессы клеточной репродукции. В настоящее время имеется ряд работ, свидетельствующих о способности биологически активных веществ эпифиза угнетать активность деления клеток различных тканей в норме и опухолей некоторых типов как *in vivo*, так и *in vitro* [9, 10]. Однако роль биологически активных веществ эпифиза в регуляции циркадианного ритма пролиферации продолжает оставаться недостаточно изученной, что в значительной мере обусловлено сложным и неоднозначным характером действия мелатонина на пролиферацию и отсутствием идентификации большинства компонентов полипептидного комплекса.

Таким образом, установленное участие эпифиза в формировании циркадианного ритма различных функций, с одной стороны, действие биологически активных веществ эпифиза на деление клеток и существование суточной ритмичности пролиферативных процессов с другой указывают на актуальность изучения эпифизарных механизмов регуляции биоритмов клеточной репродукции.

Цель работы – определение роли биологически активных веществ эпифиза – мелатонина и пептидов – в формировании циркадианного ритма пролиферации эпителия крипт тощей кишки у белых крыс.

Материалы и методы

Опыты выполнены на 250 самцах беспородных белых крыс массой 170–200 г. Животных содержали при режиме освещенности: темнота = 12 : 12 (освещение с 6 до 18 ч) с обеспечением свободного доступа к пище и воде. Животных разделили на три экспериментальные группы: интактные контрольные, эпифизэктомизированные и эпифизэктомизированные животные с последующей инъекцией им мелатонина и эпитеаламина (уксуснокислого экстракта пептидов из эпифизов крупного рогатого скота).

Эпифизэктомия проводилась по оригинальной методике. Водный раствор эпитеаламина в дозе 2,5 мг/кг и 30% спиртовой раствор мелатонина в дозе 10 мг/кг вводили эпифизэктомизированным животным подкожно в 18 ч в течение 14 дней перед умерщвлением. Выбор доз осуществляли, принимая во внимание данные литературы [11]. Декапитацию проводили под эфирным наркозом через 40 дней после эпифизэктомии в течение двух суток с интервалом в три часа с соблюдением правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Для исследования брали проксимальный участок тощей кишки, который фиксировали в жидкости Карнуа, затем обезжировали в спиртах и заключали в парафин. Поперечные срезы тощей кишки толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Учет количества делящихся клеток производили в концевых отделах крипт тощей кишки. Митотический индекс (МИ) в промилле вычисляли как отношение количества делящихся клеток к 1000 изученных. Статистическую обработ-

ку результатов проводили с использованием метода Фишера–Стьюдента. Выявление циркадианного и ультрадианного ритмов пролиферации, а также определение их периодов осуществлялось методом спектрального анализа значений МИ.

Результаты исследования и их обсуждение

Динамика МИ эпителия крипт тощей кишки у интактных животных представлена на рис. 1. Изменения МИ характеризовались монофазным ритмом на протяжении суток, активная фаза которого приходилась на темновой период фоторежима и имела различную продолжительность в первые и вторые сутки опыта. В 1-е сутки она начиналась сразу после смены светового периода на темновой (18 ч) и продолжалась до 3 ч, во 2-е сутки она продолжалась с 24 до 6 ч. Значения МИ были максимальными в 21 ч (в первые сутки) и в 3 ч (во вторые сутки), достоверно превышая минимальные значения МИ в 12 ч ($p < 0,001$). Митотическая активность в темновую фазу фотопериода была достоверно выше ($p < 0,05$), чем в световую фазу. Данные спектрального анализа динамики МИ свидетельствуют о наличии циркадианного (период, близкий к 24 ч) и ультрадианного (период около 9 ч) биоритмов пролиферации. Аналогичные результаты были получены нами при изучении пространственно-временной организации пролиферации эпителия крипт тощей кишки у мышей [1].

Эпифизэктомия привела к исчезновению циркадианного ритма МИ эпителия крипт тощей кишки (рис. 2). Изменения МИ на протяжении двух суток не обнаруживают связь с режимом освещения. На общем фоне монотонных изменений МИ наблюдалось три статистически достоверных его подъема ($p < 0,05$): в 9 ч (первые сутки), в 18 ч (начало вторых суток) и в 9 ч (вторые сутки). Максимум МИ отмечен в 18 ч, минимум – в 3 ч ($p < 0,01$). Уровень пролиферации эпителия крипт тощей кишки у эпифизэктомизированных животных был таким же, как у интактных, что выражалось в отсутствии различий ($p > 0,05$) между среднесуточным количеством делящихся клеток у животных обеих групп ($61,4 \pm 3,2\%$ и $59,4 \pm 2\%$). Пролиферативная активность в световой и темновой фазах фотопериода не имела статистически достоверных ($p > 0,05$) различий. Результаты спектрального анализа показали отсутствие циркадианного и наличие ультрадианного ритма МИ с периодом около 9 ч.

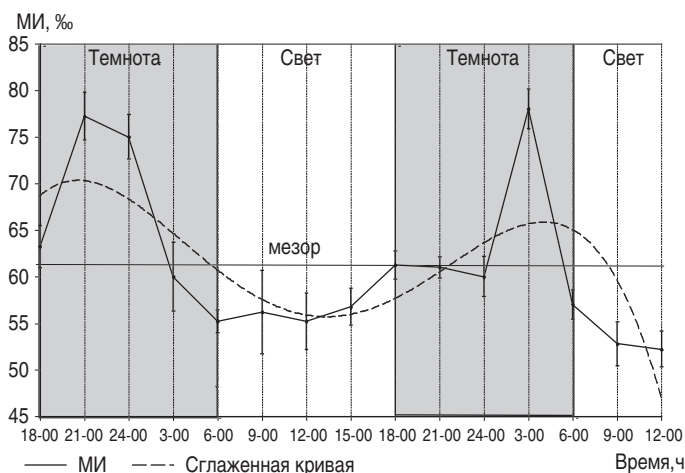


Рис. 1. Динамика МИ эпителия крипт тощей кишки у интактных контрольных животных.

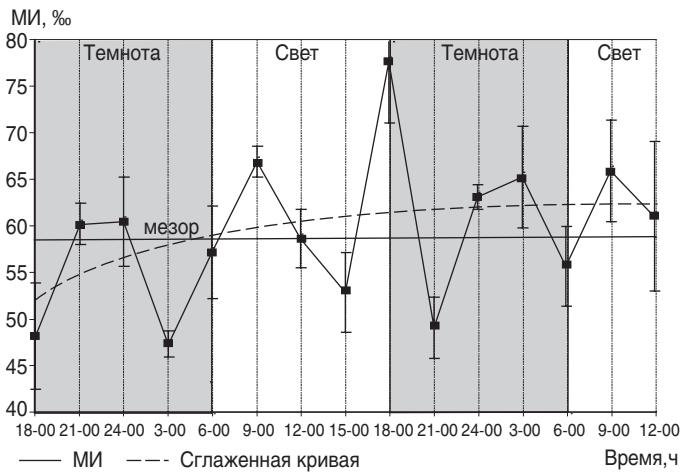


Рис. 2. Динамика МИ эпителия крипт тощей кишки у эпифизэктомированных животных.

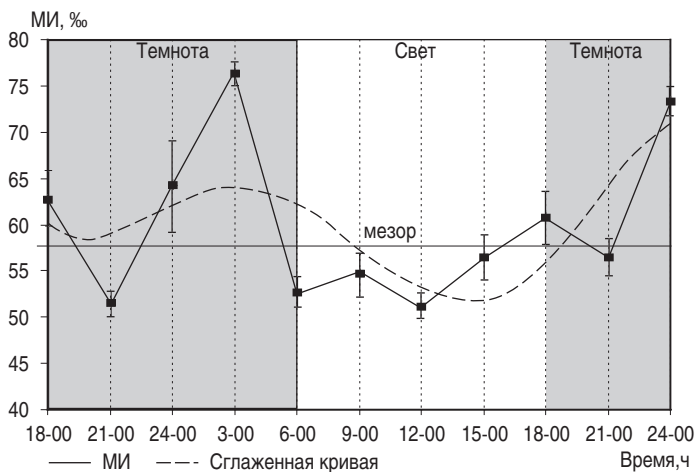


Рис. 3. Динамика МИ эпителия крипт тощей кишки у эпифизэктомированных животных после введения пептидов эпифиза и мелатонина.

Принимая во внимание, что синтез пептидов протекает в эпифизе совместно с образованием аминов (серотонин, мелатонин), а также способность данных веществ оказывать влияние на пролиферацию, мы предприняли попытку воспроизведения эффектов шишковидной железы путем совместного введения мелатонина и пептидов эпифиза эпифизэктомированным животным.

Совместное введение пептидов эпифиза и мелатонина эпифизэктомированным животным привело к формированию монофазного суточного ритма МИ эпителия крипт тощей кишки (рис. 3). Соотношение фазовой структуры суточного ритма МИ с суточным свето-темновым циклом характеризовалось повышением уровня митотической активности незадолго перед сменой фотопериода с темновой на световую фазу. Максимум пролиферирующих клеток отмечен в 3 ч, минимум — в 12 ч ($p < 0,001$). Аналогичный характер изменений свойствен ритмическим колебаниям МИ эпителия крипт тощей кишки у интактных животных (см. рис. 1). Среднесуточное значение МИ ($58,74 \pm 3\%$) не имело статистически достоверных отличий ($p > 0,05$) от аналогичных показателей интактных и эпифизэктомированных животных. В то же время динамика МИ, в отличие от эпифизэктомированных животных, характеризовалась наличием циркадианного ритма. Доля клеток, делящихся в темновой фазе фотопериода, была достоверно выше

($p < 0,05$), чем в световой фазе. Результаты спектрального анализа показали наличие циркадианного (период около 24 ч) и ультрадианного (период около 8 ч) ритмов МИ эпителия крипт тощей кишки у эпифизэктомированных животных, которым вводили совместно мелатонин и пептиды эпифиза.

Заключение

Полученные данные указывают на важную роль эпифиза как необходимого звена регуляции биоритмов пролиферации. Тот факт, что у животных разных экспериментальных групп общее количество делящихся в течение суток клеток остается неизменным, позволяет заключить, что роль эпифиза сводится не к регуляции уровня пролиферации, а к формированию его биоритма, обеспечивающего адаптацию организма к ритмическим изменениям режима освещенности внешней среды. Определяющая роль биологически активных веществ эпифиза в формировании циркадианного биоритма пролиферации подтверждается не только его исчезновением у эпифизэктомированных животных, но и его восстановлением после совместного введения эпифизэктомированным животным пептидов эпифиза и мелатонина. Особенности взаимодействия мелатонина и пептидов эпифиза в формировании циркадианного ритма пролиферации представляют несомненный интерес как объект последующих исследований.

Литература

1. Романов Ю.А., Маркина В.В., Слиякова А.Ю. и др. Хронотопобиологический анализ состояния пространственно-временной организации систем пролиферации и энергетического обмена у мышей до и после заражения их брюшнотифозной инфекцией. — В кн.: Хронобиология и хрономедицина / Под ред. Ф.И.Комарова и С.И.Рапопорта. — М.: Триада-Х, 2000. — С.25–49.
2. Бернс Д.Т., Мошкин М.П. Внутренняя координация циркадных ритмов и временной синергизм в приспособительных реакциях животных // Журн. общ. биол. — 1998. — №4. — С.377–399.
3. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И., Малиновская Н.К. Суточные ритмы в клинике внутренних болезней // Клин. мед. — 2005. — №8. — С.8–12.
4. Рапопорт С.И. «Нетрадиционная» гастроэнтерология // Клин. мед. — 1997. — №5. — С.14–17.
5. Арушанян Э.Б. Комплексное взаимодействие супрахиазматических ядер гипоталамуса с эпифизом и полосатым телом — функционально единая система регуляции суточных колебаний поведения // Журн. высш. нервн. деят. — 1996. — Т.46. — №1. — С.15–22.
6. Анисимов В.Н. Физиологические функции эпифиза (геронтологический аспект) // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. — 1997. — Т.83. — №8. — С.1–13.
7. Gunduz B. Daily rhythm in serum melatonin and leptin levels in the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) // Comp. Biochem. Physiol. A — Mol. Integr. Physiol. — 2002. — V.132. — №2. — P.393–401.
8. Schuhler S., Pitrosky B., Kirsch R., Pevet P. Entrainment of locomotor activity rhythm in pinealectomized adult Syrian hamsters by daily melatonin infusion // Behav. Brain. Res. — 2002. — V.133. — №2. — P.343–350.
9. Хавинсон В.Х. Тканеспецифическое действие пептидов // Бюл. exper. биол. и мед. — 2001. — №8. — С.228–229.
10. Shiu S.Y., Xi S.C., Xu J.N. et al. Inhibition of malignant trophoblastic cell proliferation in vitro and in vivo by melatonin // Life Sci. — 2000. — V.67. — №17. — P.2059–2074.
11. Батурин В.А., Арушанян Э.Б. Особенности синхронизирующего действия мелатонина на динамику циркадианной подвижности у крыс // Журн. высш. нервн. деят. — 1990. — Т.40. — №4. — С.681–687.