

С.Сейфуллиннің 125 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 15: Жастар, ғылым, технологиялар: жаңа идеялар мен перспективалар» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 15: Молодежь, наука, технологии – новые идеи и перспективы», приуроченной к 125-летию С.Сейфуллина. - 2019. - Т. II, Ч 1 - С.20-23

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕПАТОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ОТДАЛЕННОГО ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

*Жумадина Ш.М.
Бактыбай Д.,
Бахбаева С.А.*

Введение. Печень обладает множеством функций, включая детоксикацию, продукцию различных гормонов и белков, хранение витаминов. Она играет ключевую роль в регулировании сахара в крови, продукции и секреции желчи, кетоновых тел, регуляции липидного обмена [1]. Она является центральным органом химического гомеостаза, выполняющий более 500 метаболических функций. Установлена и доказана ключевая роль печени в реакциях обмена углеводов, липидов, белков, макро- и микроэлементов, витаминов, поддержания иммунного баланса в организме. Нарушение ее функций влечет за собой каскад патологических изменений в организме, которые ухудшают качество жизни [2,3,4]. Печень, как центральный орган детоксикации и метаболизма, в наибольшей степени подвержена токсическому воздействию продуктов злокачественного роста. В связи с неуклонным ростом онкологической заболеваемости, актуальным является изучение возможных изменений ультраструктуры гепатоцитов, влекущих нарушение функции печени в условиях опухолевого роста в отдаленных органах, с целью коррекции ее состояния для поддержания гомеостаза организма.

Целью настоящей работы явилось изучить ультраструктурные изменения гепатоцитов в динамике отдаленного опухолевого роста

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования проводились на мышах-самцах линии СВА массой 18–20 г в возрасте 3-х месяцев. Животных содержали на стандартной диете со свободным доступом к воде и пище. Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

В эксперименте использовались 2 группы животных. В 1-ю группу вошли интактные мыши (n=5); во 2-ю группу – животные с развитием опухолевого процесса (n=20). Для индукции опухолевого роста использовали клетки гепатокарциномы-29. Гепатокарцинома-29 получена и верифицирована сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН [3] и любезно предоставлена для нашего исследования. Клетки ГК-29 перевивали мышам линии СВА в брюшную полость, через 10 суток

производили забор асцитической жидкости, суспендировали в 10-кратном объеме физиологического раствора и вводили по 0,1 мл интактным животным в мышцу правого бедра. Забор материала для исследований проводили через 3, 7, 13 и 30 суток эксперимента. Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом методом кранио-цервикальной дислокации.

Для электронно-микроскопического исследования образцы печени фиксировали в 4 % растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 часа в 1 % растворе OsO₄ (осмий тетроксид) (Sigma, США) на фосфатном буфере (pH=7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон (Serva, Германия). Полутонкие срезы толщиной 1 мкм получали на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Германия/Швейцария), окрашивали толуидиновым синим, изучали под световым микроскопом «LEICADME» (Германия), фотографировали с помощью компьютерной программы «Avigion».

Ультратонкие срезы толщиной 70-100 нм контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1010 (Japan). Гепатоциты морфометрировали с помощью компьютерной программы Image J. Оценивали объемную плотность митохондрий, цистерн гранулярной эндоплазматической сети, липидных включений, гликогена, первичных, вторичных лизосом и численные плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Вычисляли средние значения и стандартное отклонение, достоверность различий рассчитывали по U-критерию Манна-Уитни и принимали при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследований и обсуждение. Результаты исследований показали, что в условиях отдаленного опухолевого роста наблюдаются изменения ультраструктурной организации гепатоцитов. Изменялась величина объемной плотности митохондрий. На 3-и сутки эксперимента величина данного показателя снизилась на 22% ($p < 0,05$), а на 30-е сутки опухолевого роста она составила 68% ($p < 0,05$) от соответствующего значения в контроле (рисунок 1). Митохондрии представляют собой клеточные органеллы, которые играют важную роль в биоэнергетических процессах. Их дисфункция приводит к нарушению многих внутриклеточных процессов, в том числе и к нарушению белкового синтеза, так этот процесс является энергозависимым.

Источником энергии в гепатоцитах может быть гликоген. Объемная плотность гликогена уменьшалась на 67% ($p < 0,05$) на 3-и сутки развития опухоли, в последующем величина данного показателя достоверно не отличалась от соответствующего значения в контроле. На 30-е сутки эксперимента отмечали достоверное снижение объемной плотности цистерн эндоплазматического ретикулума. Эндоплазматический ретикулум представляет собой динамическую мембранно-связанную органеллу, которая примыкает к ядерной оболочке и распространяется по всей цитоплазме в

виде сетчатого массива из соединенных мешочков и ветвящихся канальцев эндоплазматический ретикулум (ER) принимает метаболические

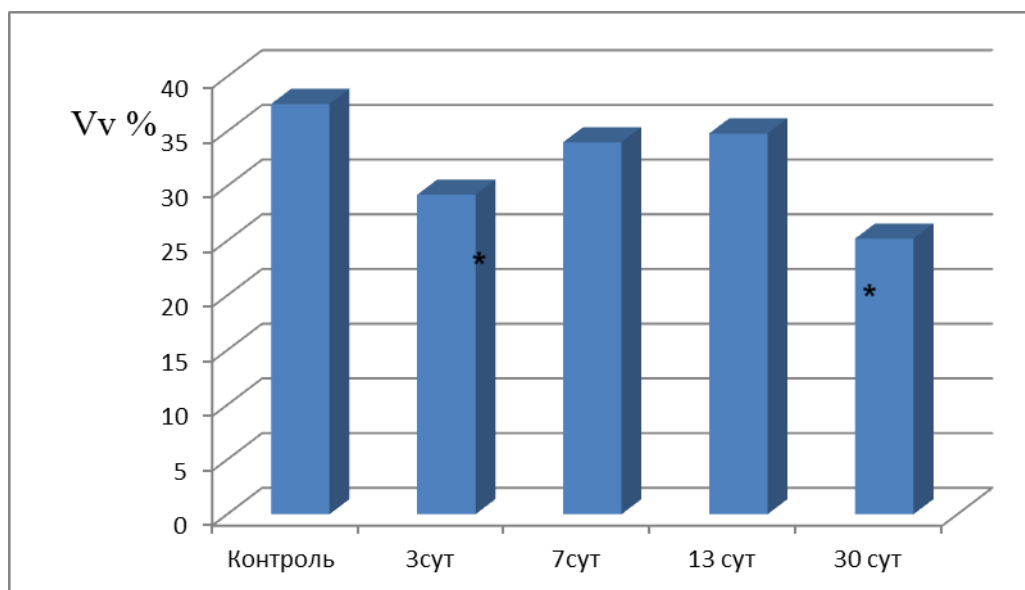


Рисунок 1– Объемная плотность митохондрий в цитоплазме гепатоцитов в условиях отдаленного опухолевого роста.

Vv – объемная плотность органелл (%); 3 сут, 7 сут, 13 сут, 30 сут – время развития гепатокарциномы в области бедра экспериментальных животных; * - значимость различий с контролем $p < 0,05$.

пути, которые синтезируют белки и различные липиды, включая холестерин, фосфолипиды и нейтральные липиды [например, стерильные эфиры и триацилглицерин [4,5,6].

Было выявлено уменьшение численной плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом. Численная плотность полисомальных рибосом на 30 сут снизилась в 3,5 раза, а прикрепленных рибосом в 3 раза (рисунок 2). Известно, что содержание рибосом в клетке определяет потенциальный уровень белкового синтеза. Полученные нами данные о снижении объемной плотности цистерн гранулярной эндоплазматической сети и численной плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом, свидетельствуют о снижении белок-синтетической функции гепатоцитов в условиях отдаленного опухолевого роста.

Структурные изменения в печени определялись развитием опухолевого процесса. К 30 суткам эксперимента в мышечной ткани бедра образовывался опухолевый узел [1]. При этом в динамике опухолевого роста наблюдали существенные изменения свободно-радикального окисления липидов. Отмечали повышение уровня вторичных продуктов перекисного окисления липидов, что было связано с инвазией опухолевых клеток и повреждением мембранных структур [4, 6] и не могло не оказывать токсического влияния на печень.

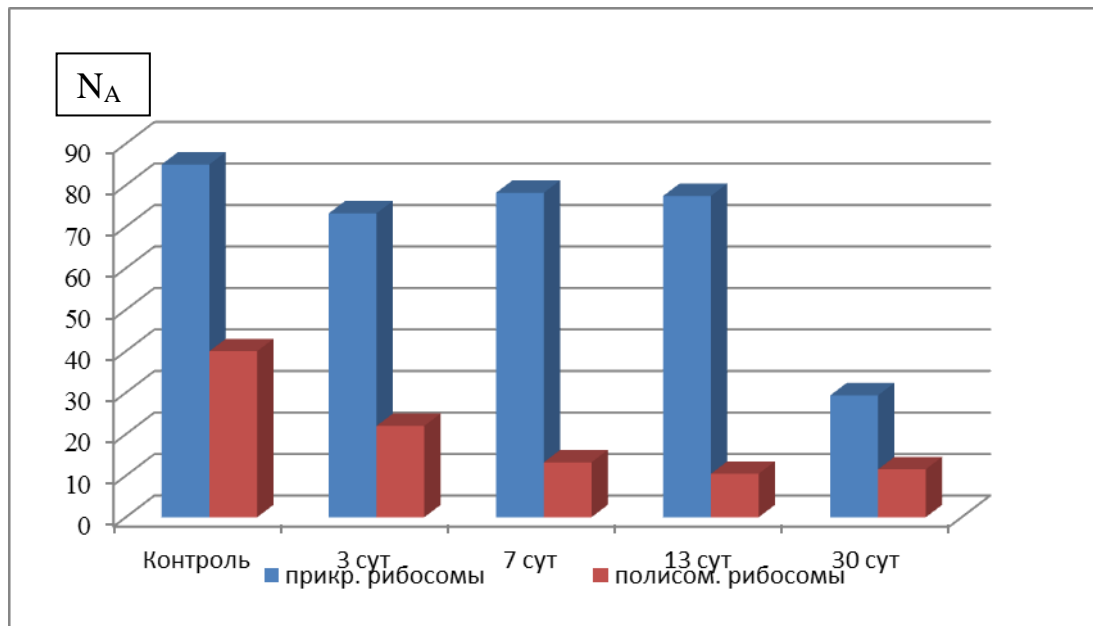


Рисунок 2 – Численная плотность прикрепленных и свободных полисомальных рибосом в цитоплазме гепатоцитов животных в динамике опухолевого роста экспериментальной гепатокарциномы-29 в мышечной ткани бедра. N_A – численная плотность структур; 3, сут, 7 сут, 13 сут, 30 сут – время развития гепатокарциномы в области бедра экспериментальных животных; * - значимость различий с контролем $p < 0,05$.

Структурные изменения в печени определялись развитием опухолевого процесса. К 30 суткам эксперимента в мышечной ткани бедра образовывался опухолевый узел [1]. При этом в динамике опухолевого роста наблюдали существенные изменения свободно-радикального окисления липидов. Отмечали повышение уровня вторичных продуктов перекисного окисления липидов, что было связано с инвазией опухолевых клеток и повреждением мембранных структур [4, 6,7,8] и не могло не оказывать токсического влияния на печень.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют, что в условиях моделирования периферического опухолевого роста в мышечной ткани бедра экспериментальных животных, в печени происходит снижение объемной плотности гепатоцитов и возрастание размеров синусоидальных пространств. В цитоплазме гепатоцитов к 30-м суткам развития опухоли отмечаются ультраструктурные признаки развития недостаточности функции клеток – снижаются объемные плотности митохондрий, цистерн гранулярной эндоплазматической сети, уменьшаются численные плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом.

Следовательно, при моделировании опухолевого роста – гепатокарциномы-29 в мышечной ткани бедра экспериментальных

животных, к 30-м суткам развития опухоли в гепатоцитах развиваются структурные признаки, свидетельствующие о нарушении белок-синтетической и энергетической функции клеток. Происходит снижение объемной плотности цистерн гранулярной эндоплазматической сети и митохондрий и численной плотности прикрепленных и свободных полисомальных рибосом. Полученные результаты свидетельствуют о развивающейся недостаточности секреторной функции печени в условиях периферического опухолевого роста.

Список литературы

1. Flores –Toro J. A., Go K. L., Leeuwenburgh C., Kim J. - S. Autophagy in the liver: Cell's cannibalism and beyond. Arch Pharm Res, 2016. -Vol. 39. - №8 -P. 1050-1061.
2. Уша Б.В. Биохимические показатели крови собак при гастрите // Б.В.Уша, Г.М.Крюковская, Т.Б.Горовая, Э.Жавнис // Ветеринария. -2006– №12–С.54-56.
3. Каледин В.И., Жукова Н.А., Николин В.П. и др. Гепатокарцинома-29 – метастазирующая перевиваемая опухоль мышей, вызывающая кахексию // Бюл. экспер. биол. -2009. -Т. 148-№ 12- С. 664-669.
4. Lev S. Nonvesicular lipid transfer from the endoplasmic reticulum. Cold Spring Harb. Perspect. Biol // - 2012 -Т. 4 - № 10. - P. 1-16.
5. Бгатова Н.П., Бородин Ю.И., Макарова В.В., Пожидаева А.А., Рачковская Л.Н., Коненков В.И. Влияние наноразмерных частиц карбоната лития на интактную мышечную ткань и опухолевый рост // Бюл. экспер. биол. -2014. -Т. 157.-№ 1. -С. 102-108.
6. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Макарова О.П., Бгатова Н.П., Рачковская Л.Н. Эффекты наноразмерных частиц карбоната лития на оксидантно-антиоксидантный статус опухолевой ткани при развитии гепатокарциномы-29 // Патол. физиол. эксп. терапия. - 2015. -Т. 59 № 2 -С. 57-64.
7. Bgatova N. P., Makarova O.P., Pozhidayeva A.A., Borodin Yu.I., Rachkovskaya L.N., Konenkov V.I. Effects of Lithium Nano-Scaled Particles on Local and Systemic Structural and Functional Organism Transformations Under Tumour Growth. Achievements in the Life Sciences. - 2014. -V. 8, № 2. - P. 101-111.
8. Zhumadina Sh.M., Bahbayeva S.A., Bgatova The influence of lithium carbonate salts on the structural organization of cells and vessels in the development of experimental hepatocarcinoma N.P., Rakhmetova A.M., Satybaldiyeva G.K. Journal of Biotechnology 256 (2018) S-79.