

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА МОЗГА

При электронно-микроскопическом исследовании нейронов миндалевидного комплекса (МК) мозга выявлены ультраструктурные перестройки на фоне повышенного содержания половых стероидов на стадии эструс и их снижения, обусловленных орхидэктомией. Полученные результаты демонстрируют наличие модулирующего влияния половых стероидов на деятельность нейронов МК и подтверждают сведения, полученные ранее, при световой микроскопии.

В обширных исследованиях по функциональной морфологии и нейроэндокринологии миндалевидного комплекса (МК) мозга доказано его участие в половой дифференциации мозга (ПДМ) и сформулированы основные положения концепции о rostro-caudальном градиенте в его структурно-функциональной организации [1]. Предполагается, что на территории МК существует два нейроэндокринных центра, расположенных в составе его переднего и заднего отделов, способных модулировать деятельность гипоталамических центров регуляции секреции гонадотропинов и половое поведение.

В переднем отделе МК – одной из основных зон полового диморфизма, формирование которой происходит в период половой дифференциации мозга, является передняя амигдаларная область (ААА) [1].

Цель данной работы – анализ ультраструктурных характеристик нейронов ААА, а также перестроек, вызванных изменениями уровней половых стероидов.

Материалы и методы

Исследования проведены на половозрелых крысах линии Вистар массой тела 300-320 г, содержащихся в условиях вивария кафедры морфологии и физиологии человека и животных в весенний период при продолжительности светового дня 14 часов. Материал для электронно-микроскопического исследования был взят у 6 крыс (3 самки на стадии эструса и 3 самки через две недели после гонадэктомии). Стадии эстрального цикла определяли по цитологической картине влагалищных мазков. Гонадэктомия проведена по общепринятому методу [4]. Для проведения электронно-микроскопических исследований материал фиксировали путем

погружения в охлажденный 2,5%-ный глутаральдегид на фосфатном буферном растворе (рН 7,4) и постфиксировали в 2%-ном растворе OsO₄, обезвоживали в этаноле и заливали в Эпон-812. Готовили ультратонкие срезы на ультратоме LKB III, контрастировали цитратом свинца [11] и анализировали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM 200 EX (75 кВ). Идентификацию функционального состояния нейронов проводили на основании критериев, разработанных ранее [2]. Статистическую обработку полученных данных проводили при использовании программы «Statistica 5.5».

Результаты исследования

На стадии эструс в клеточных ядрах нейронов ААА отмечаются признаки транскрипционной активности, что проявляется наличием очаговых скоплений интерхроматиновых гранул и перихроматиновых фибрилл. Интерхроматиновые гранулы выделяются четкой осмиофилией и имеют размер 20-25 нм. Скопления, формируемые ими, различны по величине в разных нейронах. Перихроматиновые фибриллы выявляются около гетерохроматина под внутренней ядерной мембраной или около его глыбок в центральных зонах кариоплазмы. Ядрышко увеличено, содержит гранулярный компонент. В нем выявляются фибриллярные центры, количество которых достигает пяти. Краевой хроматин представлен под внутренней ядерной мембраной небольшими скоплениями, местами отсутствует. Перинуклерное пространство имеет ширину до 160 нм и переходит в расширенные каналцы гранулярной цитоплазматической сети (ЦС). Ядерные поры выявляются четко, на тангенциальных срезах видны глобулярные белки поровых комплексов.

Поверхность клеточного ядра неровная из-за складок, при этом их выраженность в разных зонах поверхности ядра и в разных нейронах имеет различную выраженность.

В цитоплазме (рис. 1) определяется хорошо развитая сеть канальцев гранулярной ЦС, просвет которых значительно расширен. Между канальцами ЦС находятся полисомы, имеющие вид розеток из 6-8 рибосом. Размеры митохондрий и их число увеличены, матрикс обладает электронной плотностью, кристы хорошо различимы, располагаются поперек длинной оси. Митохондрии располагаются во всех зонах цитоплазмы. Гипертрофия комплекса Гольджи проявляется расширением просвета цистерн и увеличением числа транспортных пузырьков. Он располагается около ядра и в срединных зонах цитоплазмы. Около комплекса Гольджи видны формирующиеся мелкие и крупные осмиофильные капли секрета. В цитоплазме определяются многочисленные лизосомы, липофусциновые гранулы и липидные капли, наблюдается формирование мультиламеллярных и мультивезикулярных телец. Выявляемые везикулы с плотным центром имеют размер от 50 до 250 нм.

Для меньшей части нейронов ААА характерно наличие светлого, богатого эухроматином клеточного ядра с расположенным в его центральных зонах компактным ядрышком. Перинуклерное пространство узкое (50 нм). В кариоплазме отдельные мелкие гранулы – интерхроматиновые (20 нм) и перихроматиновые (от 40 до 60 нм). Ядрышко имеет четкие контуры, в нем выявляются один или два крупных светлых фибриллярных центра. Небольшие глыбки конденсированного хроматина располагаются равномерно в различных зонах кариоплазмы. В различных зонах цитоплазмы представлены узкие канальцы гранулярной ЦС, небольшие скопления полисом и умеренное количество митохондрий с поперечно расположенными кристами. Матрикс митохондрий обладает умеренной осмиофилией. Комплекс Гольджи представлен стопками уплощенных цистерн различной протяженности, располагается в перинуклеарной зоне. В цитоплазме клеток выявляются первичные лизосомы и отдельные липофусциновые гранулы.

В нейропиле ААА присутствуют аксо-дендритные и аксо-соматические синапсы, но преобладают аксо-шипииковые. Большинство синапсов имеют характер симметричных, среди них немало перфорированных. Синаптические пузырьки, выявляемые в пресинаптических бутонах, мелкие, прозрачные, с диаметром 50-60 нм или носят характер везикул с плотным центром, диаметр которых колеблется от 50 до 110 нм. Нами выявлены и межклеточные несинаптические контакты, которые носят характер плотных контактов или десмосомоподобных. Они определяются между телами нейронов и астроцитов, а также двумя нейронами или между астроцитами.

Глия ААА представлена протоплазматическими астроцитами и олигодендроцитами. Отростки астроцитов, выявляющихся около сосудов, набухшие, в некоторых из них определяются липидные капли и везикулы с плотным центром. Эндотелий сосудов имеет многочисленные микроворсинки, высота которых достигает 1,5–2 мкм.

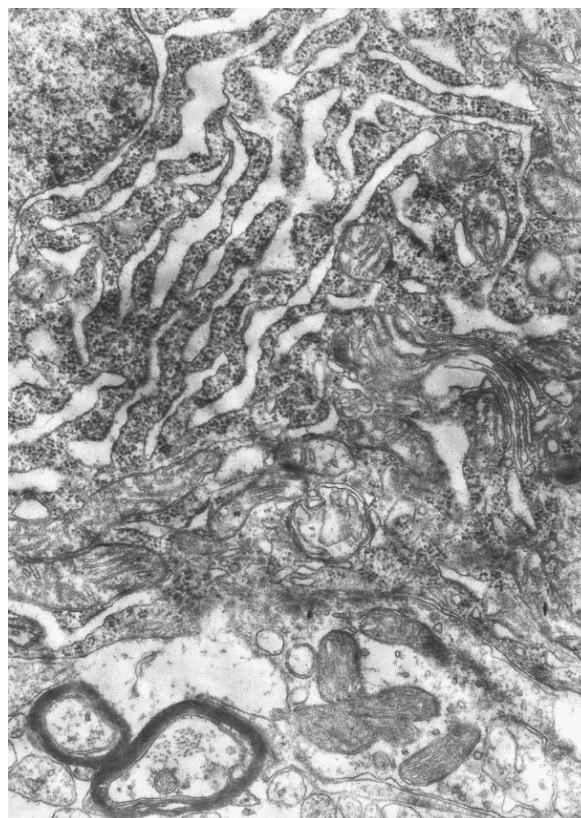


Рисунок 1. Ультраструктура нейрона на стадии эструс (кг – комплекс Гольджи, м – митохондрия, я – ядро, ям – ядерная мембрана, яп – ядерная пора).

В составе нейропиля находятся крупные терминалы, содержащие многочисленные везикулы с плотным центром, диаметр которых колеблется от 70 до 120 нм. Они хорошо выделяются на фоне нейропиля осмиофильным содержимым. Выявлено немало терминалей с пустыми пузырьками того же диаметра.

Для ультраструктуры нейронов ААА гонадэктомированных крыс характерны показатели снижения функциональной активности. В ядрах нейронов определяются большие скопления гетерохроматина, которые выявляются как в краевых, так и центральных зонах кариоплазмы (рис. 2). Ядрышко компактное, плотное. В нем не выявляются фибриллярные центры и отсутствует гранулярный компонент. Перихроматиновые фибриллы единичны, перихроматиновые гранулы отсутствуют. В сетевидной структуре эу-хроматина видны участки разряжения. Перинуклеарное пространство узкое (50 нм), с единичными, слабо выраженными складками.

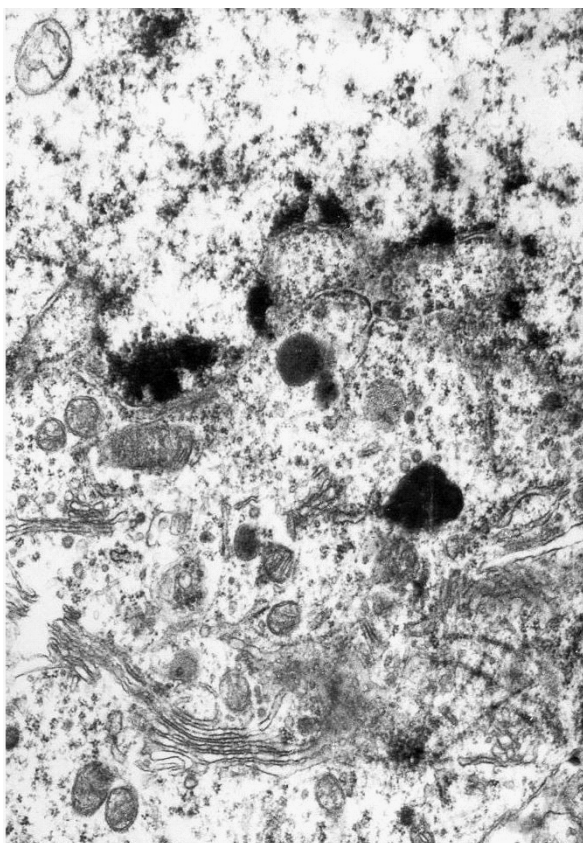


Рисунок 2. Ультраструктура нейрона гонадэктомированных крыс (в-везикула, кг-комплекс Гольджи, л-лизосома, м-митохондрия, х-хроматин, я-ядро, яп-ядерная мембрана, яп-ядерная пора).

В цитоплазме (рис. 2) определяются короткие редкие канальцы гладкой ЦС, между которыми располагаются небольшие группы рибосом и отдельные полисомы. В различных зонах клетки выявляются участки осмиофобной цитоплазмы, не содержащие рибосом. В таких участках можно видеть элементы цитоскелета нейрона – микротрубочки и нейрофиламенты. Комплекс Гольджи представлен уплощенными сближенными цистернами, просвет которых свободен от содержимого. Около комплекса Гольджи располагаются единичные микропузырьки. Комплекс Гольджи располагается в центральных зонах перикариона. Выявляются отдельные липофусциновые тельца, группы мультивезикулярных телец. В цитоплазме нейронов присутствуют везикулы с плотным центром, имеющие диаметр от 80 до 110 нм и 210 нм.

В цитоплазме отдельных нейронов обнаружены округлые гранулярно-фибриллярные структуры, не имеющие ограничивающей их мембраны. Их размер варьировал от одного до двух микрометров. Вокруг таких телец обычно отмечалась зона просветленной цитоплазмы, не содержащей канальцы ЦС. Определялись картины их маргинальной фрагментации. Они похожи на ядрышкоподобные тельца, описание которых есть в литературе.

На стадии эструса в цитоплазме нейронов ААА мы видели представительство канальцев гранулярной ЦС на всей территории цитоплазмы нейрона, при этом большая часть канальцев была значительно расширена. Высокую реактивность ЦС на повышение уровней половых стероидов можно объяснить наличием в ее мембране ферментов, участвующих в метаболизме этих гормонов, а также ряда белков, способствующих транспорту ERs к ядру нейрона. Транспорт гормон-рецепторного комплекса в ядро нейрона осуществляется при участии белка прср38, который входит в состав белков порового комплекса [10]. Половые стероиды способны оказывать влияние и на мембраны клетки, вызывая их пролиферацию, а также влиять на процессы трансляции через ключевые активаторы – две протеинкиназы и фактор инициации трансляции 4E [5].

Исследование структуры нейронов выявило гипертрофию и гиперплазию многих органоидов, но особенно она была выражена в митохондриях. Этот факт можно объяснить наличием в них рецепторов стероидных гормонов [12]. С их участием в митохондриях обеспечивается увеличение синтеза ферментов дыхательной цепи за счет усиления экспрессии митохондриальных генов, а также митохондриогенез.

Увеличение количества гетерохроматина в нейронах гонадэктомированных крыс следует рассматривать как следствие повышения конденсации хроматина, которая наблюдалась при резком снижении содержания тестостерона в крови орхидэктомированных крыс. Известно, что половые стероиды в форме гормон-рецепторного комплекса после поступления в ядро клет-

ки выполняют там роль транскрипционных факторов [7].

Появление в нейронах гонадэктомированных крыс ядрышкоподобных телец можно объяснить развитием явлений сегрегации ядрышка, наступающей при блокаде синтеза РНК в ядрышке [8].

В цитоплазме нейронов ААА определялись везикулы с плотным центром, размер которых варьировал от 50 до 250 нм. Согласно данным литературы, они могут содержать моноамины (50-110 нм), пептиды (80-120 нм) и нанопептиды (130-300 нм) [3, 6]. Наличие везикул с плотным центром в нейронах гонадэктомированных крыс, вероятно, свидетельствует о нарушении их транспорта внутри нейронов и последующего экзоцитоза, осуществляемого элементами цитоскелета клетки при участии половых стероидов [9].

Список использованной литературы:

1. Акмаев И.Г., Калимуллина Л.Б. 1993. Миндалевидный комплекс мозга: функциональная морфология и нейроэндокринология. М.: Наука. 272 с.
2. Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б. 2006. Показатели модулирующего влияния половых стероидов на ультраструктурные характеристики нейронов дорсомедиального ядра миндалевидного комплекса мозга. Цитология. 48 (12): 971-979.
3. Гарлов П.Е. 2002. Морфофункциональная основа пластичности нейросекреторных клеток. Цитология. 44(8) : 747-767.
4. Кабак Я. М. 1968. Практикум по эндокринологии. 2-е изд. М., Изд-во МГУ, 275 с.
5. Кулинский В.Н., Колесниченко Л.С. 2005. Молекулярные механизмы действия гормонов. II. Киназные системы. Системы с внутриклеточными рецепторами. Трансактивация СТС. Биохимия. 70: 476-492.
6. Поленов А.Л. 1993. Морфофункциональная организация нейросекреторных клеток гипоталамуса. В кн.: Нейроэндокринология. СПб.: Наука. 31-70.
7. Смирнов А.Н. 2005. Мембранная локализация ядерных рецепторов: парадокс с важными последствиями. Росс. физиол. журнал. им. И.М.Сеченова. 91: 31-45.
8. Ченцов Ю.С. 2004. Введение в клеточную биологию. М.: Академкнига:67-71.
9. Charalampopoulos I., Dermizaki E., Vardouli L. 2005. Dehydroepiandrosterone sulfate and allopregnanolone directly stimulate catecholamine production via induction of tyrosine hydroxylase and secretion by affecting actin polymerization. Endocrinology. 146(8) :3309-3318.
10. Govind A., Sreeja S., Thampan R. 2003. Proteins that mediate the nuclear entry of the goat uterine estrogen receptor activation factor (E-RAF): idenrification of a molecular basis for the inhibitory effect of progesterone on estrogen action. Cell Biochem. 89 (1):108-119.
11. Reynolds E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. I. cell Biol. 17: 157-176.
12. Solakidi S., Psarra A., Sekeris C. 2005. Differential subcellular distribution of estrogen isoforms: Localization of ER α in the nucleoli and ER β in the mitochondria of human osteosarcoma SaOS-2 and hepatocarcinoma HepG2 cell lines. Biochimica et Biophysica Acta. 3 (1):467-478.