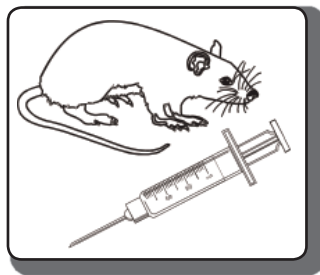


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 611.018.3 : (612.82) – 092.9 : 599.323.4

Б.Я. Рыжавский, О.В. Задворная, Е.М. Литвинцева

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ 3 β -ГИДРОКСИСТЕРОИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ В НЕЙРОНАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС РАЗНОГО ПОЛА

*Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Нейростероиды — стероиды, продуцируемые как в нейронах, так и в глиоцитах (олигодендроцитах, астроцитах) в различных отделах нервной системы [1, 7]. Их образование показано в клетках Пуркинье мозжечка, нейронах гиппокампа, неокортекса. Установлено, что в процессе органогенеза мозга они влияют на развитие нейронов, рост дендритов, формирование шипиков, могут выступать в качестве медиаторов и модуляторов в синапсах. Синтез нейростероидов в нейронах показан методом гибридизации *in situ*, биохимическими и иммуноцитохимическими методами [1, 7-10]. Вместе с тем, в доступной литературе нами не было найдено данных о светооптическом гистохимическом выявлении ферментов, катализирующих их синтез. В то же время, по нашему мнению, такой подход может дополнить применяемые методы и быть полезным в изучении образования нейростероидов в процессе развития мозга, его старения, а также в условиях патологии и при действии различных агентов. Есть основания полагать, что он может обладать рядом достоинств. Так, при гистохимическом изучении синтеза нейростероидов реальной является возможность изучения ферментов, катализирующих разные стадии стероидогенеза [3]. Кроме того, активность дегидрогеназ, участвующих в синтезе стероидных гормонов, может быть количественно оценена при помощи цитоспектрофотометрии. Немаловажно и то, что гистохимия дегидрогеназ не требует больших трудозатрат и дорогостоящих реактивов. Представляет интерес вопрос о гендерных особенностях локализации клеток, синтезирующих нейростероиды, поскольку спектр других стероидных гормонов отличается у представителей мужского и женского пола, а продукция различных гормонов связана с определенными структурами. В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось изучение

возможности гистохимического выявления ключевого фермента стероидогенеза — 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы (ГСДГ), катализирующей превращение прегненолона в прогестерон [5] в нейронах ряда отделов головного мозга взрослых крыс различного пола.

Материалы и методы

Исследовалась активность ГСДГ в головном мозге 15 взрослых интактных крыс, самцов (n=10) и самок (n=5). Животных забивали декапитацией, тотчас выделяли следующие отделы мозга: мозжечок и собственно теменную доли полушарий по [2, 3]. Каждый из этих отделов помещали на отдельный блок для получения криостатных срезов (по 4-5 срезов толщиной 40 и 60 мкм) на криостате «Leica CM 1850» (Германия). Срезы монтировались на покровные стекла, и на них наносили инкубационный раствор для выявления ГСДГ, приготовленный по прописи [3], с использованием дегидроэпиандростерона (субстрат), НАД и нитросинего тетразолия (все реактивы производства «Sigma», США). Реакцию проводили в термостате при температуре 37°C в течение 30 мин. Заключение препаратов осуществляли в глицерин-желатину, а также в канадский бальзам.

Результаты и обсуждение

Изучение препаратов показало, что в неокортексе нейроны, в которых обнаруживается активность ГСДГ, были немногочисленны, т.к. подавляющая их часть не выявляется при проведении реакции. Положительную реакцию давало небольшое число нейронов слоя V и VI, которые обычно располагались поодиночке, на расстоянии 100-200 мкм и более друг от друга (рис. 1). В прореагировавших нейронах продукты реакции, в виде гранул

формазана фиолетового цвета, окрашивали как цитоплазму перикарионов, так и отростки клеток.

В противоположность этому, в гиппокампе реакция обнаруживалась во всех или, по крайней мере, в значительном числе нейронов (рис. 2). В коре мозжечка продуктом реакции маркировались тела и дендриты клеток Пуркинье, тогда как клетки зернистого слоя практически не реагировали (рис. 3). Эти результаты согласуются с данными, полученными при использовании других методических подходов, об интенсивном синтезе нейростероидов в клетках Пуркинье [8-10]. Топография нейронов, дающих положительную реакцию на ГСДГ, ее характер не отличались в мозге самцов и самок.

Оценивая полученные результаты, необходимо учитывать, что нейростероиды синтезируются в определенных нейронах, в определенное время, то есть число и топография этих клеток, интенсивность образования в них нейростероидов могут меняться [1, 7, 9, 10]. Об этом, в частности, говорят факты об изменениях интенсивности синтеза данных соединений у крыс, пренатально подвергнутых стрессовому воздействию [4].

Наши данные не позволили обнаружить гендерных различий расположения нейронов, дающих положительную реакцию на ГСДГ. Оценивая это, необходимо учитывать, что фермент катализирует образование прогестерона, который может

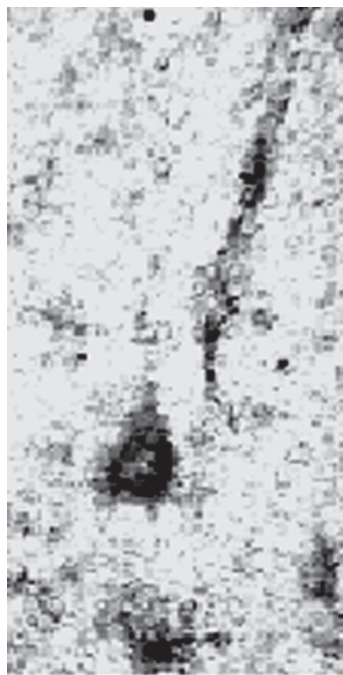


Рис. 1. Нейрон слоя V неокортекса. Реакция на ГСДГ. Увеличение 40×10

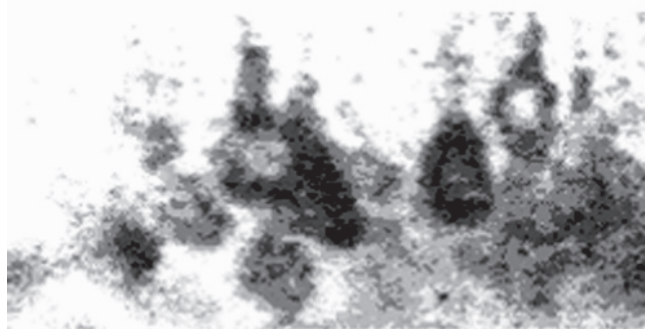


Рис. 2. Нейроны гиппокампа. Реакция на ГСДГ. Увеличение 40×10

далее трансформироваться в разные группы стероидных гормонов (эстрогены, андрогены, кортикостероиды), что можно установить, выявляя различные дегидрогеназы, катализирующие соответствующие реакции [3, 5]. Исследование данного вопроса, количественная цитоспектрофотометрическая оценка интенсивности таких реакций у животных разного пола, возраста, в условиях экспериментальных воздействий заслуживают специального изучения. Полученные факты позволяют при этом полагать, что для цитос-

Резюме

3 β -гидроксистероиддегидрогеназа (ГСДГ) является ключевым ферментом в синтезе стероидных гормонов в органах, продуцирующих стероидные гормоны, в том числе в головном мозге, где синтезируются нейростероиды. В связи с этим наличие ГСДГ может рассматриваться в качестве маркера стероидпродуцирующих клеток. В работе представлены результаты выявления гистохимическим методом ГСДГ в ряде отделов мозга взрослых крыс, самцов и самок. Положительная реакция наблюдалась в небольшом числе нейронов неокортекса, а также в значительном количестве нейронов гиппокампа и ганглиозного слоя коры мозжечка (клетках Пуркинье). Эти закономерности были характерны для мозга крыс обоего пола.

Ключевые слова: нейростероиды, нейроны мозга, 3 β -гидроксистероиддегидрогеназа.

B.Ya. Ryzhvkii, O.V. Zadornaya, Ye.M. Litvintseva

HISTOCHEMICAL CONFIRMATION OF 3 β -HYDROKSISTEROIDDEHYDROGENASE PRESENCE IN NEURONS OF THE BRAIN OF RATS OF A DIFFERENT SEX

Far Eastern state medical university, Khabarovsk

Summary

3 β -hydroksisteroiddehydrogenase (HSDH) is key enzyme in synthesis of steroid hormones in the organs producing steroid hormones, including the brain where neurosteroids are synthesized. In this connection the presence of HSDH can be considered as a marker of the steroids cells production. In our work results of determination of HSDH by histochemical method in a number of departments of the brain of adult rats, males and females are presented. The positive reaction was observed in a small number of neurons of the neocortex, as well as in a significant amount of neurons of hippocampus and a layer of ganglions cells of cortex of cerebellum (cells of Purkinje). These tendencies were characteristic for brain rats of both sexes.

Key words: neurosteroids, brain neurons, 3 β -hydroksisteroiddehydrogenase.

пектрофотометрического изучения активности ферментов стероидогенеза наиболее «удобными» структурами мозга являются кора мозжечка и гиппокамп, где положительная реакция характерна для большого числа плотно расположенных нейронов, функции которых хорошо изучены.

В целом полученные результаты позволяют, по нашему мнению, полагать, что гистохимическое изучение дегидрогеназ, катализирующих разные стадии образования стероидных гормонов, может стать одним из подходов в исследовании роли этих соединений в развитии и функционировании различных отделов мозга.

Л и т е р а т у р а

1. Гончаров Н.П., Кацяя Г.В., Нижник А.Н. Нейростероиды и их биологическое значение // Успехи физиологических наук. - 2004. - Т. 35, №4. - С. 3-10.
2. Курепина М.М. Мозг животных. - М.: Наука, 1981. - 148 с.

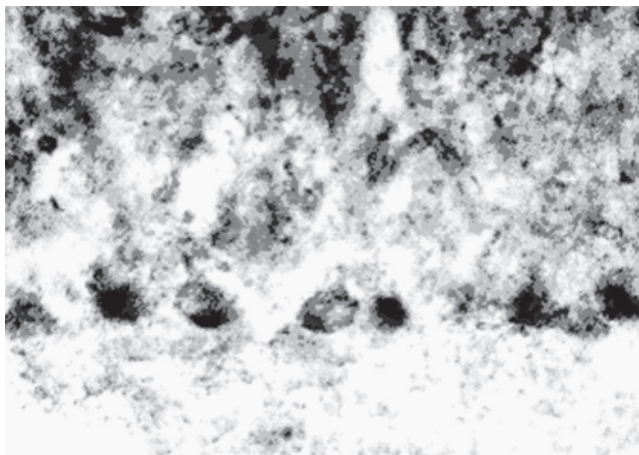


Рис. 3. Кора мозжечка. Активность фермента в клетках Пуркинье. Реакция на ГСДГ. Увеличение 40×10

3. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. - М.: Мир, 272 с.

4. Ордян Н.Э., Пивина С.Г. Влияние пренатального стресса на активность фермента, участвующего в синтезе нейростероидов в «критический период» половой дифференциации мозга самцов крыс // Рос. физиол. журнал. - 2004. - Т. 90, №10. - С. 1255-1261.

5. Розен В.Б. Основы эндокринологии. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1994. - 383 с.

6. Светухина В.М. Цитоархитектоника новой коры мозга в отряде грызунов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1962. - Т. 42, №3. - С. 66-71.

7. Mellon S.H., Griffin L.D., Compagnone N.A. Biosynthesis and action of neurosteroids. Novel brain function: biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons // Brain Res Rev. - 2001. - Vol. 37, №1-3. - P. 3-12.

8. Sakamoto H., Ukena K., Kawata M. et al. Expression, localization and possible actions of 25-Dx, a membrane-associated putative progesterone-binding protein, in the developing Purkinje cell of the cerebellum: a new insight into the biosynthesis, metabolism and multiple actions of progesterone as a neurosteroid // Cerebellum. - 2008. - Vol. 7, №1. - P. 18-25.

9. Tsutsui K., Sakamoto H., Ukena K. A novel aspect of the cerebellum: biosynthesis of neurosteroids in the Purkinje cell. Cerebellum. - 2003. - Vol. 2, №3. - P. 215-222.

10. Tsutsui K., Sakamoto H., Shikimi H. et al. Organizing actions of neurosteroids in the Purkinje neuron // Neurosci Res. - 2004. - Vol. 49, №3. - P. 273-279.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии ДВГМУ; Задворная Ольга Викторовна — аспирант кафедры гистологии, цитологии, клеточной биологии ДВГМУ, e-mail: zadornaya.87@mail.ru, тел.: 8(4212)-52-05-48; Литвинцева Екатерина Марковна — ст. преподаватель кафедры биоорганической химии ДВГМУ.



УДК 671 - 001.4 - 022.7 : 611.018

Л.С. Годлевский¹, Е.В. Коболев¹, В.Ф. Мустяца², Г.А. Дроздова²

ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ АНТИАГРЕССИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ У КИНДЛИНГОВЫХ КРЫС

Одесский государственный медицинский университет¹,
Украина, 65082, Валиховский пер., 2, г. Одесса; Российский университет Дружбы народов²,
117198, ул. Миклухо-Маклая, 6, г. Москва

Показано, что агрессивное поведение животных усиливается в условиях формирования киндлинга [3, 5]. Данный эффект проявлялся в виде снижения порога формирования драк в парах животных и уменьшался под влиянием внутринигрального применения диазепама [3, 5]. Усиление агрессивного поведения крыс может быть связано с повышением функционального состояния дофаминергической системы мозга [3, 5, 9]. Однако при киндлинге дофаминергическая система имеет сниженную функциональную активность [5], в связи с чем необходимо исследовать ее роль в формировании агрессивно-оборонительных форм поведения [4].

Учитывая тот момент, что воздействие импульсным магнитным полем оказывает тормозное действие в отно-

шении эпилептиформных проявлений у киндлинговых животных [1, 2], представляло существенный интерес исследовать особенности агрессивного поведения при воздействии импульсов магнитного поля в условиях сформированного киндлинга, что составило задачу данного исследования. Другой задачей работы было изучение роли дофаминергической системы мозга в реализации эффектов импульсного магнитного поля на агрессивное поведение крыс.

Материалы и методы

Киндлинг у крыс формировали с помощью методики [3], путем ежедневных повторных введений пикротокси-