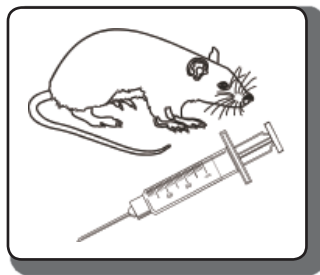


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 611.81/82 - 018.84 - 077 : 577.17 - 092.9

Б.Я. Рыжавский, О.В. Задворная

ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СИНТЕЗА НЕЙРОСТЕРОИДОВ ЭПЕНДИМОЦИТАМИ СПИННОГО МОЗГА, БОКОВЫХ ЖЕЛУДОЧКОВ И СОСУДИСТЫХ СПЛЕТЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

*Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел.: 8(4212) 30-53-11, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск*

Способность нервной ткани синтезировать ряд стероидных гормонов показана для нейронов разных отделов ЦНС [1, 2, 11, 14], а также для клеток нейроглии — олигодендроцитов, астроцитов [14]. Эпендимоциты также относятся к глиоцитам. Они выстилают канал спинного мозга, желудочки головного мозга, формируют наружный слой сосудистых сплетений мозга. На их апикальной поверхности имеются микроворсинки, реснички, в цитоплазме наиболее развиты такие органеллы, как митохондрии, гладкий и гранулярный эндоплазматический ретикулум, пластинчатый комплекс. Сообщается о наличии у них секреторной активности, участии в формировании цереброспинальной жидкости [4, 8, 9]. В головном мозге эпендимоциты участвуют в образовании субфornикального и субкомиссурального органа. В спинном мозге человека эти клетки формируют интраспинальный орган, имеющий морфологические признаки, характерные для эндокринных желез [4, 5, 8].

Участие эпендимоцитов в формировании цереброспинальной жидкости считается доказанной, тогда как химическая природа вырабатываемых ими веществ не установлена. В то же время показано, что в цереброспинальной жидкости содержатся стероидные гормоны [11]. Можно предполагать, что эти вещества поступают в цереброспинальную жидкость, подобно другим ее компонентам, из плазмы крови. Однако это не исключает возможности их образования и в эпендимоцитах. Данных о синтезе этих соединений в эпендимоцитах, то есть об их принадлежности к клеткам, секретирующим нейростероиды, в доступной литературе нами не обнаружено. Более того, ультраструктура эпендимоцитов не имеет характерных признаков, присущих эндокриноцитам коры надпо-

чекников и гонад: митохондрий с тубуло-везикулярными кристами, высокого содержания липидных включений, в частности, холестерина. Однако можно отметить, что этих признаков нет и у других клеток мозга, у которых способность секретиовать нейростероиды считается доказанной [14].

В связи с вышеизложенным, нам представлялось достаточно обоснованным рассмотрение вопроса о том, входят ли нейростероиды в число продуктов, секретируемых эпендимоцитами. Ответ на него может основываться как на биохимических, иммуноцитохимических методиках, так и на гистохимических подходах, включающих применение методов, выявляющих ферменты, катализирующих различные стадии синтеза этих гормонов и, благодаря этому, избирательно маркирующих клетки, продуцирующие стероидные гормоны, [9, 10]. К таким ферментам относится, в частности, 3 β -гидроксистероиддегидрогеназа (ГСДГ), под влиянием которой прегненолон трансформируется в прогестерон [7]. Анализ гистохимической реакции на данный фермент для определения возможного синтеза нейростероидов в клетках эпендимной глии, имеющих различную локализацию, был применен в настоящей работе.

Материалы и методы

Исследовалась активность ГСДГ в головном и спинном мозге 10 лабораторных взрослых белых крыс обоего пола. Животных забивали декапитацией, тотчас извлекали головной мозг, а также шейный и грудной отделы спинного мозга. Из переднетеменной доли головного мозга, а также из спинного мозга готовили криостатные срезы (криостат Leica CM 1850, Германия) толщиной 20-

30 мкм. Срезы головного мозга делали во фронтальной плоскости, спинного мозга — в поперечной. Их монтировали на покровные стекла и на них наносили инкубационный раствор для выявления ГСДГ, приготовленный по прописи [3]. Заключение срезов производили в глицерин-желатину, а также в канадский бальзам. Препараты изучали на микроскопе «Olympus». При этом исследовались эпендимоциты, выстилающие канал спинного мозга в шейном и грудном отделах, боковые желудочки головного мозга, а также покрывающие сосудистые сплетения боковых желудочков.

Результаты и обсуждение

Сосудистые сплетения, расположенные в боковых желудочках головного мозга, интенсивно маркировались продуктами реакции. Их ворсинки попадали в срез в разных плоскостях. На срезах, прошедших продольно через центральную часть ворсинок, в их составе обнаруживались эпендимоциты, покрывающие ворсинки, и соединительная ткань, содержащая кровеносные сосуды. При этом соединительно-тканная строма была свободна от продуктов реакции. Эпендимная глия выявлялась на таких срезах в виде эпителиоподобного пласта клеток, с формой, близкой к кубической. Их цитоплазма была интенсивно окрашена продуктами реакции — гранулами

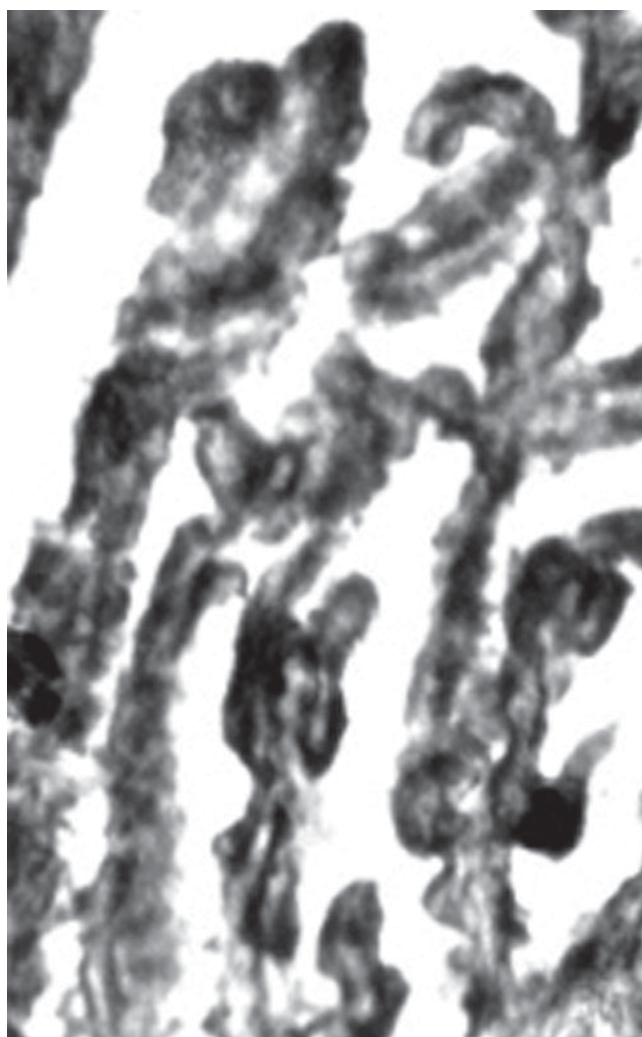


Рис. 1. Реакция на ГСДГ в ворсинках сосудистого сплетения (продольный срез). Увеличение 10×10

Резюме

При помощи гистохимического метода выявлено, что эпендимоциты, выстилающие боковые желудочки мозга, канал спинного мозга, а также покрывающие ворсинки сосудистого сплетения боковых желудочков мозга, дают положительную реакцию на 3β-гидроксистероиддегидрогеназу (ГСДГ) — ключевой фермент стероидогенеза. Эти результаты расцениваются как свидетельство синтеза в этих клетках стероидных гормонов, нейростероидов. Высказывается предположение о том, что вырабатываемые эпендимоцитами гормоны могут поступать в цереброспинальную жидкость, а затем — в вещество мозга, или через базальную поверхность этих клеток — сразу в вещество мозга, оказывая влияние на нейроны и глиocyты головного и спинного мозга. Полученные данные рассматриваются также как свидетельство необязательности для синтеза стероидных гормонов особенностей ультраструктуры цитоплазмы, характерной для адренокортикоцитов, лютеоцитов, текоцитов.

Ключевые слова: эпендимоциты, нейростероиды, 3β-гидроксистероиддегидрогеназа, головной и спинной мозг.

B.Ya. Ryzhavskii, O.V. Zadornaya

HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF SYNTHESIS OF NEUROSTEROIDS BY EPENDIMAL CELLS OF THE SPINAL CORD, LATERAL VENTRICLES AND VASCULAR PLEXUSES OF THE BRAIN

Far Eastern state medical university, Khabarovsk

Summary

By means of histochemical method it was revealed that ependimal cells, covering lateral ventricles of the brain, spinal cord channel and also covering villuses of vascular plexus of lateral ventricles of brain, have positive reaction to 3β-hydroxysteroiddehydrogenase (HSDG) that is the key enzyme of steroidogenesis. These results are regarded as the evidence of synthesis of steroid hormones in these cells. We assumed that synthesized by ependimal cells hormones can reach cerebrospinal liquid and then the substance of the brain or, through a basal surface of these cells, directly to the substance of the brain and spinal cord to influence neurons and glial cells of the brain and the spinal cord. The obtained data are considered as the evidence of non-obligation for synthesis of steroid hormones, of ultrastructure of cytoplasm characteristic for adrenocorticocytes, luteocytes, tecocytes.

Key words: ependimal cells, neurosteroids, 3β-hydroxysteroiddehydrogenase, brain, spinal cord.

форма зана сине-фиолетового цвета, ядра клеток их не содержали (рис. 1, 2). При этом апикальная часть многих эпендимоцитов окрашивалась более интенсивно, чем базальная. На срезах, прошедших параллельно длиннику ворсинок, не через центр, а через их поверхностную зону, интенсивность реакции цитоплазмы разных эпендимоцитов существенно различалась, что зависело от толщины среза, прошедшего через клетку. Контур поверхности эпендимных клеток имели при этом обычно округлую форму.

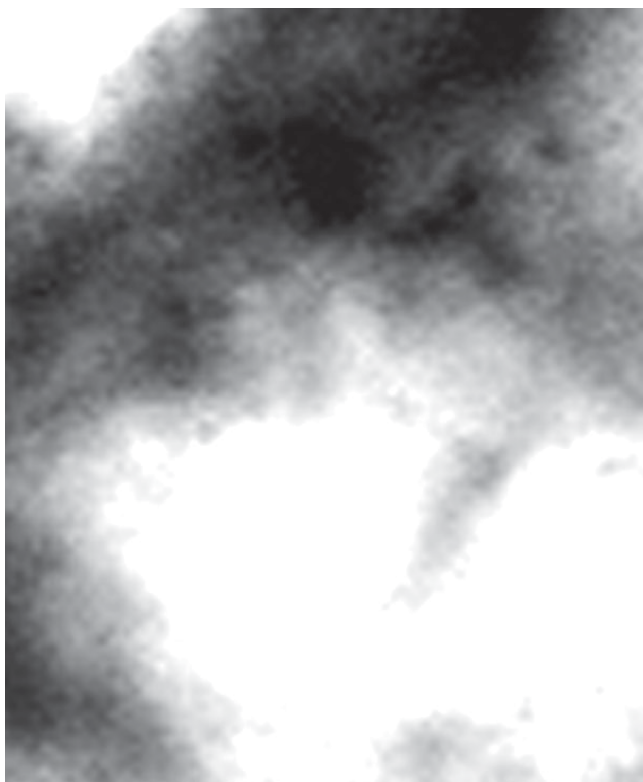


Рис. 2. Реакция на ГСДГ в ворсинке сосудистого сплетения (фрагмент поперечного среза). Увеличение 100×10

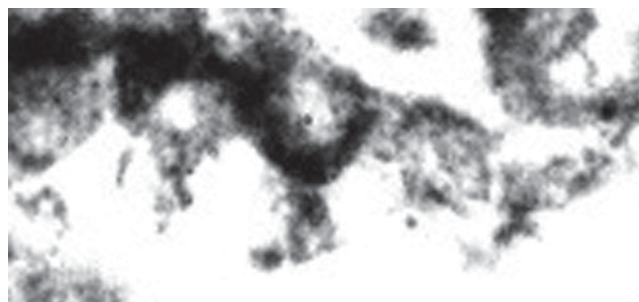


Рис. 3. Реакция на ГСДГ в эпендимоцитах выстилки бокового желудочка головного мозга. Увеличение 100×10

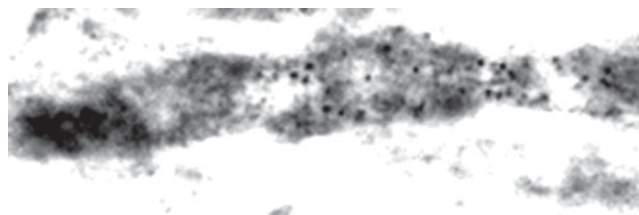


Рис. 4. Реакция на ГСДГ в эпендимоцитах выстилки канала спинного мозга. Увеличение 100×10

Эпендима, выстилающая полости боковых желудочков, состояла из одного или нескольких рядов клеток, форма которых была кубической, причем эпендимоциты в разных участках выстилки желудочков различались по высоте. Цитоплазма содержала продукты реакции, причем их количество различалось в разных клетках. Гранулы формазана имелись и в коротких отростках, обнаруживавшихся у базальных полюсов некоторых из эпендимоцитов (рис. 3). Интенсивность реакции в эпендимоцитах сосудистого сплетения и клетках, выстилающих полость бокового желудочка, была близкой по интенсивности.

Эпендимоциты выстилки канала спинного мозга имели меньшие размеры, чем эпендимоциты боковых желудочков мозга. Их цитоплазма так же, как и последних, содержала гранулы формазана, которых больше было в апикальной части клеток. При этом интенсивность реакции цитоплазмы эпендимоцитов канала спинного мозга, оцененная визуально, была меньше, чем в исследованных эпендимоцитах головного мозга (рис. 4). Количественная оценка степени отличий активности фермента в эпендимоцитах различной локализации может быть дана при ее цитоспектрофотометрическом изучении.

Таким образом, нами показано, что эпендимоциты ЦНС разной локализации обладают активностью ключевого фермента стероидогенеза, ГСДГ [6], хотя эти клетки, как и другие клетки мозга, нейростероидпродуцирующая функция которых не вызывает сомнений [14], не имеют особенностей ультраструктуры, присущих таким стероидсекретирующим эндокриноцитам, как адренокортикоциты, текоциты, лютеоциты, клетки Лейдига. В связи с этим можно заключить, что особенности ультраструктуры переносных клеток не являются облигатными для синтеза

клеткой стероидных гормонов. Это заключение является основанием для предположения, что продукция данных соединений может осуществляться в более широком наборе клеток, чем это установлено в настоящее время.

Мы полагаем, что новые факты, полученные в нашем исследовании, могут рассматриваться как свидетельство способности эпендимоцитов головного и спинного мозга синтезировать нейростероиды. При этом нам представляется достаточно обоснованным предположение, что эти соединения могут секретироваться (прежде всего, клетками сосудистых сплетений) в цереброспинальную жидкость, а из нее поступать в вещество мозга [5] или/и непосредственно в вещество мозга, через базальную поверхность клеток эпендимы, выстилающей полости головного и спинного мозга, оказывая влияние на состояние их нейронов и глиоцитов. В определенной степени предположение о возможном поступлении стероидных гормонов в желудочки мозга подтверждается данными о их нахождении в составе цереброспинальной жидкости, ткани разных отделов мозга, транспорте ее компонентов через межклеточные пространства головного мозга [6, 12, 13]. Вышеизложенное обосновывает, по нашему мнению, целесообразность детального исследования региональных и онтогенетических особенностей стероидпродуцирующей функции эпендимоцитов, ее изменений в условиях патологии головного и спинного мозга, в том числе при помощи гистохимического изучения ферментов, катализирующих синтез стероидных гормонов.

Л и т е р а т у р а

1. Балашов А.М. Нейростероиды при аддиктивной патологии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2010. - Т.110, №6. - С. 106-111.
2. Гончаров Н.П., Кацья Г.В., Нижник А.Н. Нейростероиды и их биологическое значение // Успехи физиологических наук. - 2004. - Т.35, №4. - С. 3-10.
3. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. - М.: Мир, 1982. - 272 с.

4. Мотавкин П.А. Введение в нейробиологию. - Владивосток: Медицина ДВ, 2003. - 251 с.
5. Мотавкин П.А., Пиголкин Ю.И., Каминский Ю.В. Гистофизиология кровообращения в спинном мозге. - М.: Наука, 1994. - 223 с.
6. Отеллин В.А. Межклеточное пространство и синаптические связи головного мозга млекопитающих // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1987. - Т. 93, №9. - С. 5-19.
7. Розен В.Б. Основы эндокринологии. - М.: Изд. Моск. ун-та, 1994. - 383 с.
8. Руководство по гистологии. - Т. 1, 2. - СПб.: Спецлит, 2001. - 735 с.
9. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга крысы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2011. - Т. 152, №9. - С. 347-349.
10. Рыжавский Б.Я., Задворная О.В., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга крыс разного пола // Дальневост. мед. журнал. - 2011. - №1. - С. 86-88.
11. 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.
12. Michele F., Longone P., Romeo E. et al. Decreased plasma and cerebrospinal fluid content of neuroactive steroids in Parkinson's disease // Neurol. Sci. - 2003. - Vol. 24, №3. - P. 172-173.
13. Schwarz S., Pohl P. Steroid Hormones and Steroid Hormone Binding Globulins in Cerebrospinal Fluid Studied in Individuals with Intact and with Disturbed Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier // Neuroendocrinology. - 1992. - Vol. 55. - P. 174-182.
14. Tsutsui K.. Neurosteroid biosynthesis and action in the Purkinje cell // J. Experimental Neuroscience. - 2009. - №2. - P. 1-12.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич — доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии ДВГМУ; Задворная Ольга Викторовна — аспирант кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии ДВГМУ, e-mail: zadvornaya.87@mail.ru, тел.: 8(4212) 52-05-48.



УДК 591.463.05 : 616 - 001.18/19

И.Ю. Саяпина

РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОСТАТЫ КРЫС ПРИ АДАПТАЦИИ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ И В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ АДАПТАЦИИ

*Амурская государственная медицинская академия,
675000, ул. Горького, 95, тел.: 8(4162) 52-53-56, e-mail: agma@pm.ru, г. Благовещенск*

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о нестабильном функционировании мужской репродуктивной системы в период адаптации к климато-географическим (метеорологическим) факторам среды, одним из которых являются низкие сезонные температуры. Так, установлено [3] влияние целого ряда метеорологических факторов, включая низкие температуры, на качественные и количественные показатели спермограммы. Описываются сезонные флуктуации концентрации и подвижности сперматозоидов у мужчин, причем колебания оказались особенно выраженными при работе, связанной с постоянным пребыванием на открытом воздухе [11], что подчеркивает роль температурного фактора в сезонных изменениях сперматогенеза.

Полноценное осуществление репродуктивной функции у мужчин в значительной мере зависит от структурно-функционального состояния добавочных желез, таких как простата и семенные пузырьки. Однако структурные изменения простаты, обусловленные адаптацией к метеорологическим факторам, остаются недостаточно изученными, что объясняется естественными препятствиями для взятия образцов ткани простаты человека для морфологического анализа. В подобных ситуациях на первое место выходят экспериментальные методы исследования [6-8, 10, 13-15], которые позволяют моделировать большинство из экстремальных воздействий на организм и дают возможность получить материал для морфологического исследования. В связи с этим целью настоящего экспериментального исследования являлось изучить структурные аспекты ремоделирования простаты крыс при адаптации организма к низким сезонным температурам и в отдаленные сроки после завершения адаптации.

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 90 белых нелинейных крысах-самцах с массой тела 200-250 г. Крысы I и II экспериментальных групп охлаждажали ежедневно в течение 4 нед., что соответствует первому этапу адаптации орга-