

нейронах головного мозга // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 2011. - Т. 152, № 9. - С. 347-349.

7. Светухина В.М. Цитоархитектоника новой коры мозга в отряде грызунов (белая крыса) // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. - 1962. - Т. 42, № 2. - С. 31-45.

8. Семенова О.Г., Ракицкая В.В., Вершинина Е.А. и др. Избирательное влияние дегидроэпиандростерон-сульфата на тревожность, вызванную кортиколиберин-ом // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. - 2010. - Т. 96, № 10. - С. 907-988.

9. Суплотова Л.А., Храмова Е.Б., Макарова О.Б. и др. Скрининг беременных на наличие гиперандрогении // Акушерство и гинекология. - 2006. - № 5. - С. 61-63.

10. Титов В.Н. Эндогенная система противостояния окислительному стрессу. Роль дегидроэпиандро-

стерона и олеиновой жирной кислоты // Успехи современной биологии. - 2009. - Т. 129, № 1. - С. 10-26.

11. Шмогель К.В., Черешнев В.А. Стероидные гормоны: физиологическая роль и диагностическое значение в период беременности. Успехи физиологических наук. - 2004. - Т. 35, № 3. - С. 61-71.

12. Peper J. S., Brouwer R.M., Schnack H.G, et al. Sex steroids and brain structure in pubertal boys and girls // Psychoneuroendocrinology. - 2009. - Vol. 3, № 34. - P. 332-342.

13. Perrin J. S. Growth of white matter in the adolescent brain: role of testosterone and androgen receptor // Neurosci. - 2008. - Vol. 28, № 38. - P. 9519-9524.

14. Tunes L., Feijoo M., Collado J.A. et al. Effect of testosterone on oxidative stress and cell damage induced by 3-nitropropionic acid in striatum of ovariectomized rats // Life Sci. - 2007. - Vol. 80, № 13. - P. 1221-1227.

Координаты для связи с авторами: Рыжавский Борис Яковлевич – доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ДВГМУ; Задворная Ольга Викторовна – аспирант кафедры гистологии, цитологии и 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, С.С. Целуйко

ДОЛЕВАЯ СПЕЦИФИКА УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОСТАТЫ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ОСТРОМ ХОЛОДОВОМ СТРЕССЕ

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

Резюме

Изучены долевые особенности ультраструктурной организации простаты интактных крыс и простаты крыс при остром холодном стрессе. Установлено, что долевая специфика характерна только для эпителиального компонента железы. Гландулоциты вентральной и дорсолатеральной долей простаты отличаются по структуре синтетического аппарата, митохондриального компартмента и по типу секреции. Элементы стромы вентральной и дорсолатеральной простаты не имеют принципиальных различий ультраструктурной организации. При остром холодном стрессе вентральную простату характеризует относительная стабильность ультраструктурной организации. В дорсолатеральной простате обнаружены функциональные изменения железистого эпителия и стромального микроокружения, обусловленные развитием общего адаптационного синдрома. Таким образом, для изучения влияния средовых факторов дорсолатеральная простата крыс является наиболее адекватной моделью.

Ключевые слова: простата, вентральная доля, дорсолатеральная доля, железистый эпителий, стромальное микроокружение, ультраструктурная организация, острый холодный стресс.

I.Y. Sayapina, S.S. Tseluyko

LOBE-SPECIFICITY OF THE ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF THE INTACT RAT PROSTATE AND UNDER SHORT-TERM COLD STRESS

The Amur state medical academy, Blagoveshchensk

Summary

The lobe-specification of the ultra structural features of the intact rats prostate and rats prostate under short-term cold stress was studied by transmission electron microscopy. It was revealed that the lobe-specificity is noted in the epithelial component of the prostate only. The epithelial cells of the ventral and dorsolateral lobes of the prostate differ in structure of rough endoplasmic reticulum, mitochondrial compartment, and the type of secretion. The elements of the stroma of the

ventral and dorsolateral lobes do not differ in the ultrastructural features. Under short-term cold stress ventral prostate demonstrates relative stability of ultrastructural features. In the dorsolateral prostate in the glandular epithelium and the stromal microenvironment the functional changes revealed are caused by the development of the general adaptation syndrome. Thus, to study the influence of environmental factors, the dorsolateral prostate of rats may serve as the most appropriate model.

Key words: prostate, ventral lobe, dorsolateral lobe, glandular epithelium, stromal microenvironment, ultrastructural features, short-term cold stress.

Простата крыс *Rattus norvegicus* широко используется в экспериментальной медицине для моделирования воспалительных и гиперпластических процессов, что способствует расширению имеющихся представлений о механизмах патогенеза заболеваний предстательной железы [2, 6, 8, 10, 14, 15]. Еще одним направлением в использовании предстательной железы крыс как экспериментальной модели является изучение влияния на простату различных факторов внешней среды [4, 5, 7, 9, 11, 12]. Как у большинства грызунов, простата крыс *Rattus norvegicus* имеет сложную пространственную конфигурацию и состоит из 4 парных долей: вентральных, дорсальных, латеральных и передних [8, 12, 15]. Передние доли, представляющие собой коагулирующие железы, отличаются по строению от других долей простаты, поэтому их рассматривают как самостоятельные железы [3, 15].

Анализ работ зарубежных авторов показал, что вентральные, дорсальные и латеральные доли простаты крыс обладают уникальными структурными, функциональными и биохимическими характеристиками [8, 12-15]. Несмотря на то, что дорсальные и латеральные доли простаты крыс являются морфологическим и биохимическим эквивалентом простатических желез человека [8, 14, 15], большинство исследований проведено на вентральной доле простаты (ВП) [9-11]. Существует мнение, что это вызвано трудностями при визуализации дорсальных и латеральных долей простаты на макроскопическом уровне [15]. Дорсальные и латеральные доли простаты крыс не имеют принципиальных отличий структурной организации, поэтому их часто объединяют термином «дорсолатеральная доля простаты» (ДЛП) [8, 12, 15]. Установлено, что ДЛП крыс подвержена развитию спонтанной и возрастной гиперплазии, в ней чаще возникают воспалительные изменения, спонтанный и химически индуцированный рак предстательной железы. Все это делает ДЛП крыс ценным объектом экспериментальных исследований, результаты которых могут быть экстраполированы на человека [8, 12, 14, 15]. К сожалению, в работах отечественных авторов при описании функциональных и гистопатологических изменений простаты крыс не отражается долевая специфика [2, 3, 6, 7], а сведений по ультраструктурной организации органа явно недостаточно.

В наших предыдущих работах были описаны долевые морфологические и морфометрические отличия простаты крыс в норме и под влиянием экстремально низких температур [4, 5]. Цель настоящего исследования – изучить при помощи трансмиссионной электронной микроскопии особенности ультраструктурной организации долей простаты интактных крыс и при остром холодовом стрессе.

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на 20 крысах-самцах *Rattus norvegicus albinus* с массой тела 200-250 г. Интактные животные, составившие группу контроля, содержались в виварии при температуре 18-200°C, у крыс экспериментальной группы моделировали острый холодовой стресс путем ежедневного охлаждения в течение 7 дней при температуре –150°C по 3 ч ежедневно. Умерщвление животных экспериментальной группы и группы контроля проводили на следующий день после окончания эксперимента. Все манипуляции с животными проводились на основании разрешения Этического комитета АГМА (протокол № 1 от 23 декабря 2005 г.), в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и Приказа Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Для ультраструктурного исследования выделяли вентральные, дорсальные и латеральные доли простаты, после чего фрагменты долей простаты фиксировали в 2,5% глютаральдегиде, постфиксировали в четырехокиси осмия. После обезвоживания в спиртах восходящей крепости фрагменты простаты заливали в смесь эпон и аралдита. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме «Ultratome III 8800» (LKB, Швеция), контрастировали раствором уранилацетата и цитратом свинца. Исследование и фотографирование ультратонких срезов проводили на трансмиссионном электронном микроскопе «Tecnai G2 Spirit TWIN» (FEI Company, Нидерланды).

Результаты и обсуждение

При трансмиссионной электронной микроскопии ВП интактных крыс в составе железистого эпителия, выстилающего секреторные отделы и выводные протоки, обнаруживаются клетки трех типов – главные, или секреторные, базальные и нейроэндокринные. Главные клетки на продольном срезе имеют высокую призматическую форму, базальная часть клеток расположена на базальной мембране, апикальная поверхность обращена в просвет ацинуса. Ядра секреторных эпителиоцитов имеют овальную форму и резко смещены к базальному полюсу. Кариолемма образует неглубокие инвагинации, за счет которых контур ядер выглядит неровным, в кариолемме в большом количестве обнаруживаются поровые комплексы (рис. 1). В ядрах главных клеток преобладает эухроматин, гетерохроматин в виде тонкого слоя примыкает к ядерной оболочке, небольшое количество глыбок и зерен гетерохроматина распределено по всему объему ядра, хорошо выражены ядрышки (рис. 1).

Основной объем цитоплазмы секреторных эпителиоцитов занимает хорошо развитый синтетический аппарат, представленный многочисленными цистер-

нами и вакуолями шероховатой эндоплазматической сети, имеющими сложную извилистую конфигурацию (рис. 1). Между профилями эндоплазматической сети располагаются митохондрии округлой формы. Ближе к апикальной поверхности в цитоплазме главных клеток располагается зона комплекса Гольджи, хорошо различимая уже на светооптическом уровне. В зоне Гольджи расположены уплощенные цистерны диктиосом, не имеющие четкой пространственной локализации, и множественные секреторные вакуоли. В апикальной части цитоплазмы расположены секреторные вакуоли, отличающиеся по размеру и по электронной плотности содержимого. Так как секреторные эпителиоциты ВП крыс секретируют по апокриновому типу [15], в непосредственной близости от эпителиального пласта можно было наблюдать отделившиеся фрагменты цитоплазмы glandулоцитов, содержащие секреторные вакуоли.

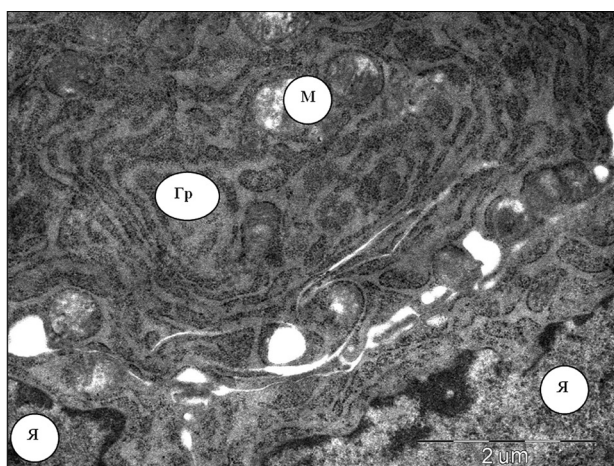


Рис. 1. ВП интактной крысы. В цитоплазме главных клеток хорошо развит синтетический аппарат, представленный многочисленными цистернами гранулярной ЭПС (Гр). М – митохондрии, Я – ядра главных эпителиоцитов. Окраска: уранилацетат, цитрат свинца

Нейроэндокринные клетки, присутствующие в составе железистого эпителия, хорошо визуализируются по наличию секреторных гранул в цитоплазме. Гранулы нейроэндокринных клеток обладают высокой электронной плотностью, форма и размеры гранул варьируют, но чаще остальных встречаются округлые гранулы. Иммуноцитохимическими методами установлено, что в популяции нейроэндокринных клеток простаты крыс преобладают мелатонин/серотонин – продуцирующие клетки [2, 6]. Среди нейроэндокринных клеток встречались клетки как открытого, так и закрытого типа, что согласуется с данными [2, 6].

Базальные клетки в эпителиальной выстилке акцинусов и протоков ВП встречаются значительно реже. В подавляющем большинстве базальные эпителиоциты имеют треугольную форму, расширенным основанием прилежат к базальной мембране, их апикальная часть не поднимается выше нижнего полюса ядер секреторных эпителиоцитов. Цитоплазма базальных клеток имеет низкую электронную плотность за счет небольшого количества органелл. Синтетический аппарат в клетках развит слабо и представлен, в основном, свободными рибосомами и полисомами.

Секреторные отделы и выводные протоки ВП окружены стромальным слоем, состоящим из гладких миоцитов, ориентированных циркулярно. Количество слоев гладких миоцитов в стромальном слое увеличивается по направлению от дистального сегмента ВП к промежуточному сегменту. Периацинарные гладкие миоциты имеют сильно вытянутую форму и такие же ядра, каждая клетка снаружи покрыта базальной мембраной. Ультраструктура гладких миоцитов выглядит единообразной из-за преобладания в цитоплазме актиновых филаментов. Между гладкими миоцитами стромального слоя, а также между стромальным слоем и базальной мембраной эпителия располагаются фибриллярные структуры, представленные коллагеновыми и эластическими волокнами. В стромальном компартменте ВП встречаются клетки с секреторным фенотипом. В их цитоплазме имеется хорошо развитый синтетический аппарат, представленный гранулярной эндоплазматической сетью, что указывает на участие этих клеток в волокнообразовании. Среди клеток с секреторным фенотипом выделяют фибробласты и миофибробласты, однако идентифицировать их фенотипы друг от друга можно только иммуноцитохимическим методом с использованием специфических маркеров [10].

Строение ДЛП интактных крыс, как уже упоминалось выше, отличается от ВП. Трансмиссионная микроскопия показала, что в эпителии концевых отделов и выводных протоков ДЛП численно преобладают секреторные эпителиоциты, представительство базальных и нейроэндокринных клеток по сравнению с ВП резко уменьшается. Главные эпителиоциты в ДЛП более низкие и более широкие, имеют куполообразную вершину, выступающую в просвет ацинуса. При больших увеличениях микроскопа на апикальной поверхности клеток выявляется щеточная каемка, состоящая из множества коротких микроворсинок. В отличие от glandулоцитов ВП, эпителиоциты ДЛП в физиологических условиях секретируют по мерокриновому типу [12, 14, 15].

Ядра главных эпителиоцитов тоже располагаются в базальных частях клеток, но их форма более округлая. Соотношение эухроматина и гетерохроматина в ядрах секреторных клеток такое же, как и в ВП. По сравнению с ВП, в популяции главных эпителиоцитов чаще встречаются двуядерные клетки.

При изучении ультраструктуры главных клеток обращает внимание мощно развитый аппарат белкового синтеза, занимающий большую часть цитоплазмы (рис. 2). В отличие от синтетического аппарата эпителиоцитов ВП, в клетках ДЛП цистерны шероховатой сети имеют четкие контуры, их удлиненные профили располагаются параллельно друг другу в виде четких и правильных линий (рис. 2). Ультраструктурная организация зоны комплекса Гольджи не имеет существенных отличий от таковой в главных клетках ВП.

Митохондриальный компартмент в цитоплазме glandулоцитов ДЛП развит лучше, чем в клетках ВП. Митохондрии имеют вытянутую форму, электронно-плотный матрикс и компактно упакованные кристы (рис. 2). Митохондрии располагаются между элементами эндоплазматической сети, кроме этого в цитоплазме многих клеток они образуют скопления возле ядра и в базальной части клеток, в непосредственной близости

от базальной мембраны. Интересно и то, что плазмалемма некоторых клеток в базальной части образует многочисленные инвагинации, так называемый базальный лабиринт. Стромальный слой, окружающий ацинусы и протоки ДЛП, устроен аналогично ВП.

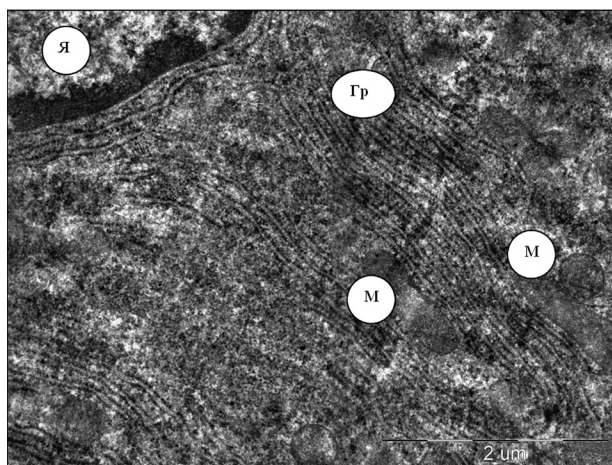


Рис. 2. ДЛП интактных крыс. Фрагмент цитоплазмы главного эпителиоцита. Основной объем цитоплазмы занимает синтетический аппарат, представленный цистернами гранулярной ЭПС (Гр). Профили гранулярной ЭПС имеют четкие контуры и линейную конфигурацию. М – митохондрии, Я – ядро главного эпителиоцита. Окраска: уранилацетат, цитрат свинца

В предыдущих работах упоминалось [4, 5], что ВП и ДЛП по-разному реагируют на холодовый стресс. ВП характеризует стабильность организации на тканевом, клеточном и, как показывает электронная микроскопия, субклеточном уровне организации. Единственным отличием ВП крыс экспериментальной группы от ВП группы контроля стала очаговая вакуолизация цитоплазмы glanduloцитов, что является стереотипной реакцией секреторных клеток на внешние воздействия [1]. При исследовании ДЛП крыс экспериментальной группы выявлены изменения железистого и стромального компонентов.

В секреторных эпителиоцитах ДЛП обнаруживаются функциональные изменения субклеточных структур, задействованных в синтезе белка и выведении секреторного продукта за пределы клетки, свидетельствующие об усилении секреторной активности клеток. Ядра glanduloцитов становятся светлыми, в них истончается полоска краевого хроматина, размеры ядрышек увеличиваются. Гранулярная эндоплазматическая сеть имеет обычное для ДЛП строение, в цитоплазме присутствует большое количество свободных рибосом. Комплекс Гольджи функционально активен, он ассоциирован с большим количеством секреторных вакуолей, за счет чего зона Гольджи на светоптическом уровне выглядит просветленной и гипертрофированной. От апикальной поверхности glanduloцитов в просвет ацинуса отделяются фрагменты цитоплазмы различной конфигурации (рис. 3), что свидетельствует о смене мерокринового типа секреции на апокриновый тип. Частичная смена типа секреции glanduloцитов в ДЛП крыс была описана [14] при экспериментальной пролактинемии.

Состояние функционального напряжения, в котором находятся клетки при остром холодовом стрессе,

приводит к деструктивным изменениям биологических мембран очагового характера, которым наиболее подвержена зона Гольджи (рис. 4), и усилению процессов аутофагии. В цитоплазме многих клеток формируются вакуоли, иногда гигантские, содержащие в своем составе фрагменты полуразрушенных мембранных органелл (рис. 5). Также следует отметить и очаговое расширение межклеточных промежутков.

Гладкие миоциты стромального слоя находятся в состоянии спазма, на что указывают полосы сокращения по ходу актиновых миофиламентов. В стромальном микроокружении увеличивается представительство клеток с секреторным фенотипом, вблизи которых расположены коллагеновые волокна с характерной поперечной исчерченностью (рис. 6). Увеличение количества гладких миоцитов с секреторным фенотипом и коллагеновых волокон в строме простаты крыс было отмечено под влиянием этанола и никотина [9, 11]. Следовательно, начальные этапы фиброобразования стромы, обнаруженные при трансмиссионной микроскопии, представляют собой стереотипную реакцию, обеспечивающую адаптацию органа к меняющимся условиям среды.

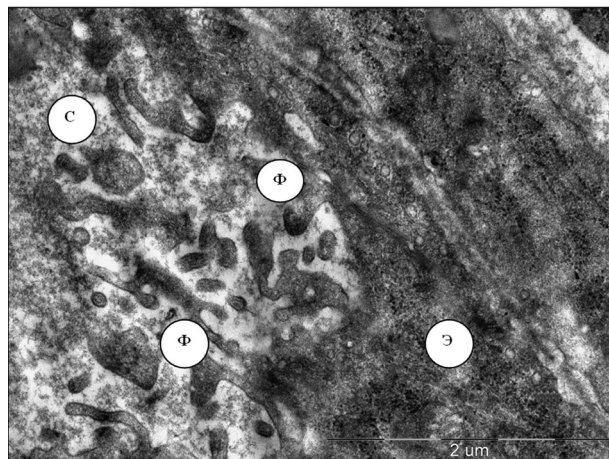


Рис. 3. ДЛП при остром холодовом стрессе. Фрагмент цитоплазмы эпителиоцита (Э). В просвет ацинуса от апикальной поверхности glanduloцита отделяются фрагменты цитоплазмы (Ф), имеющие различную конфигурацию. В просвете ацинуса виден секрет железы (С). Окраска: уранилацетат и цитрат свинца

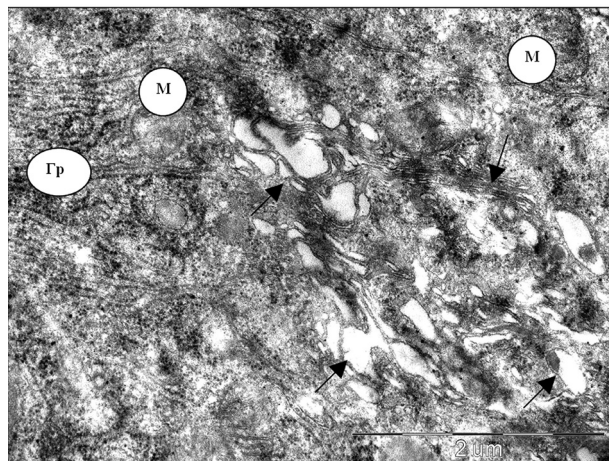


Рис. 4. ДЛП при остром холодовом стрессе. Фрагмент цитоплазмы главного эпителиоцита в области зоны Гольджи. Очаговая деструкция биологических мембран в зоне Гольджи (стрелки). Окраска: уранилацетат и цитрат свинца

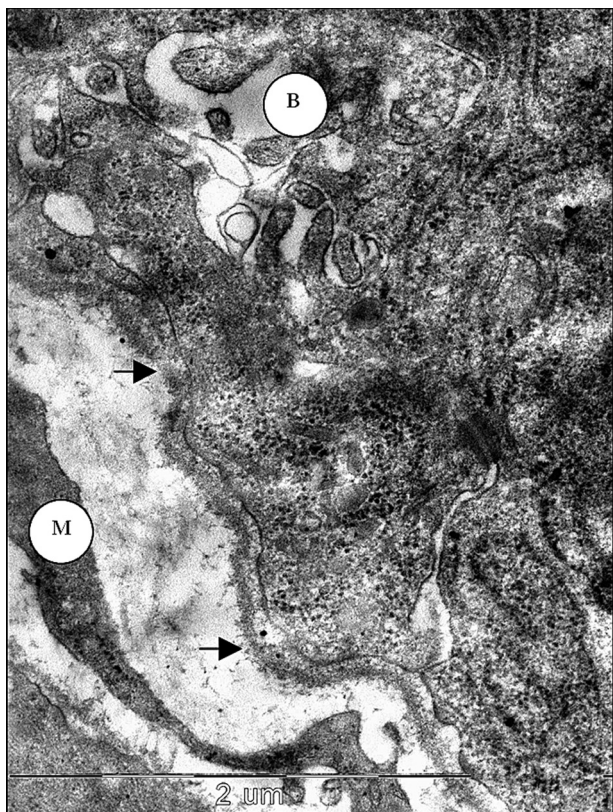


Рис. 5. ДЛП при остром холодовом стрессе. В базальном отделе одного из glandulocytov формируется гигантская вакуоль (В), в составе которой находятся фрагменты полуразрушенных мембранных органелл. М – гладкий миоцит стромального слоя, стрелки – базальная мембрана эпителия. Окраска: уранилацетат и цитрат свинца

Мы полагаем, что изменения эпителия ДЛП в совокупности с ремоделированием элементов стромального микроокружения, обнаруженные при трансмиссионной электронной микроскопии, обусловлены развитием стресс-реакции, опосредованной экстремально низкими температурами. Таким образом, ДЛП крыс можно

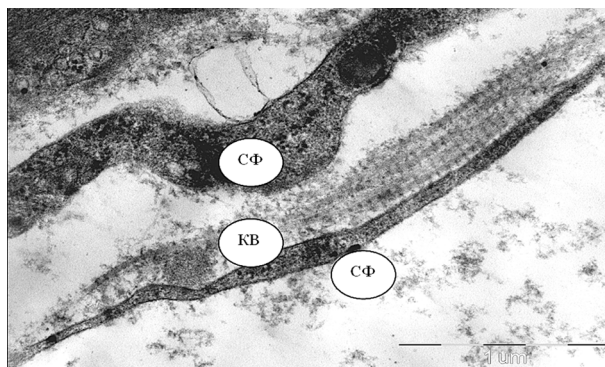


Рис. 6. ДЛП при остром холодовом стрессе. В стромальном микроокружении увеличивается представительство клеток с секреторным фенотипом, вблизи которых расположены коллагеновые волокна с характерной поперечной исчерченностью. СФ – фрагменты клеток с секреторным фенотипом, КВ – коллагеновое волокно. Окраска: уранилацетат и цитрат свинца

рассматривать как наиболее адекватную модель для изучения влияния средовых факторов.

Выводы

1. Долевая специфика ВП и ДЛП интактных крыс на ультраструктурном уровне характерна только для паренхиматозного компонента железы, элементы стромы ВП и ДЛП не имеют принципиальных различий в ультраструктурной организации.

2. Долевая специфика железистого эпителия на субклеточном уровне заключается в ультраструктурной организации синтетического аппарата и митохондриального компартмента, имеются различия в типах секреции клеток.

3. При остром холодовом стрессе ВП характеризуется относительной стабильностью организации на субклеточном уровне, в ДЛП отмечаются структурно-функциональные изменения эпителиального компонента и стромального микроокружения, обусловленные развитием общего адаптационного синдрома.

Литература

1. Казанин В.И. Систематика клеточных реакций в патологии. - М.: Медицина, 2004. - 104 с.
2. Князькин И.В., Кветной И.М., Зезюлин П.Н. и др. Нейроиммуноэндокринология мужской половой системы, плаценты и эндометрия. - СПб.: Знание, 2007. - 192 с.
3. Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. Анатомия крысы (Лабораторные животные). - СПб.: Лань, 2001. - 464 с.
4. Саяпина И.Ю. Структурно-функциональная организация предстательной железы крыс при адаптации организма к низким сезонным температурам // Вестник новых мед. технологий. - Тула, 2010. - Т. 17, № 2. - С. 36-39.
5. Саяпина И.Ю., Целуйко С.С. Окислительный стресс в предстательной железе на этапах адаптации организма к низким сезонным температурам // Сибирский мед. журнал. - Иркутск, 2011. - Т. 106, № 7. - С. 31-34.
6. Супиев А.Т. Нейроэндокринные клетки предстательной железы при старении: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - СПб., 2005. - 22 с.
7. Троценко Б.В., Лугин И.А. Морфофункциональное состояние стромы и паренхимы простаты молодых крыс при гипокинетическом стрессе и воздействии КВЧ-сигналов // Карповские чтения: мат. II Всеукраинской науч. конф. - Днепропетровск, 2005. - 93 с.
8. Banerjee P.P., Banerjee S., Brown T.R. Increased androgen receptor expression correlates with development of age-dependent, lobe-specific spontaneous hyperplasia of the Brown Norway rat prostate. // Endocrinology. - 2001. - Vol. 142, № 9. - P. 4066-4075.
9. Carvalho C.A., Pissolato M., Candido E.M., Liberty E.A., Cagnon V.H. Morphological alterations in the prostate stroma of rats submitted to chronic nicotine treatment // Microsc Res Tech. - 2011. - Vol. 75, № 1. - P. 46-53.
10. Gobbo M.G., Taboga S.R., Ribeiro D.L. et al. Short-term stromal alterations in the rat ventral prostate following alloxan-induced diabetes and the influence of insulin replacement // Micron. - 2011. - Vol. 43, № 2-3. - P. 326-333.

11. Favaro W.J., Cagnon V.H. Morphometric and morphological features of the ventral prostate in rats submitted to chronic nicotine and alcohol treatment // *Tissue Cell*. - 2006. - Vol. 38, № 5. - P. 311-323.

12. Hofkamp L., Bradley S., Tresguerres J. et al. Region-Specific Growth Effects in the Developing Rat Prostate Following Fetal Exposure to Estrogenic Ultraviolet Filters // *Environmental Health Perspectives*. - 2008. - Vol. 116, № 7. - P. 867-872.

13. Pechenino A.S., Brown T.R. Superoxide dismutase in the prostate lobes of aging Brown Norway rats // *Prostate*. - 2006. - Vol. 66, № 5. - P. 522-535.

14. Sluczanowska-Glabowska S., Laszczynska M., Glabowski W. Morphology of the epithelial cells and expression of androgen receptor in rat prostate dorsal lobe in experimental hyperprolactinemia // *Folia Histochemica et cytobiologia*. - 2006. - Vol. 44, № 1. - P. 25-30.

15. Suwa T., Nyska A., Peckham John C. et al. A retrospective analysis of background lesions and tissue accountability for male accessory sex organs in Fisher-344 rats // *Toxicologic Pathology*. - 2001. - Vol. 29, № 4. - P. 901-910.

Координаты для связи с авторами: Саяпина Ирина Юрьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры гистологии АГМА, тел.: 8 (4162) 52-53-56, e-mail: irina6336@mail.ru; Целуйко Сергей Семенович – зав. кафедрой гистологии АГМА, доктор мед. наук, профессор, тел.: 8 (4162) 52-53-56, e-mail: agma@nm.ru.

