

Б.Я. Рыжавский¹, О.В. Демидова^{1,2}

ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СИНТЕЗА НЕЙРОСТЕРОИДОВ В ЭПЕНДИМНЫХ КЛЕТКАХ ТРЕТЬЕГО ЖЕЛУДОЧКА МОЗГА

¹Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Институт охраны материнства и детства СО РАМН,
680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, тел. 8-(4212)-98-05-91, г. Хабаровск

Резюме

Исследовалась 3β -гидроксистероиддегидрогеназа (ГСДГ) в эпендимocyтах головного мозга взрослых белых крыс-самцов. Продукты реакции маркировали цитоплазму эпендимocyтов, выстилающих полость третьего и боковых желудочков и покрывающих поверхность ворсинок их сосудистых сплетений. Отличий интенсивности реакции эпендимocyтов в разных желудочках не выявлено. Среди клеток, выстилающих третий желудочек, значительное число таницитов, содержащих продукты реакции в как в теле, так и в отростке. Высказывается предположение, что эпендимocyты разных отделов мозга продуцируют нейростероиды, поступающие в мозг из ликвора или непосредственно из эпендимocyтов, а изменения их количества и состава могут влиять на состояние разных структур мозга.

Ключевые слова: нейростероиды, эпендимocyты, танициты.

B.Ya. Rizhavskiy, O.V. Demidova

CHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF NEUROSTEROID SYNTHESIS IN EPENDYMAL CELLS OF THE THIRD CEREBRAL VENTRICLE

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

We have studied 3β -hydroxysteroiddehydrogenase (HSDHG) in ependymocytes of the adult male albino rats. Reaction products mark ependymocytes cytoplasm lining the cavity of the third and lateral ventricles and covering celiac surface of their vascular plexuses. There was no intensity difference in ependymocytes of different ventricles. Among the cells lining the third ventricle there were many tanocytes containing reaction products both in the body and in the process. We suggest that ependymocytes of different cerebral compartments produce neurosteroids entering the brain from liquor or directly from ependymocytes. The changes in their amount and content may influence the conditions of different cerebral structures.

Key words: neurosteroids, ependymal cells, tanocyte.

В наших предыдущих работах [5-7] было показано, что гистохимическое выявление 3β -гидроксистероиддегидрогеназы (ГСДГ) может быть применено для маркировки клеток мозга, продуцирующих нейростероиды. При помощи этого подхода были получены данные о способности к стероидогенезу у нейронов гиппокампа, коры мозжечка (клеток Пуркинье), некоторых нейронов неокортекса. Эти данные совпадали с результатами, полученными при помощи других методов (биохимии, иммуноцитохимии, гибридизации *in situ*) [1, 8-10], что подтверждало возможность использования примененного нами подхода. Пользуясь гистохимическим выявлением ГСДГ, также показано, что признаки стероидогенеза имеют эпендимocyты, выстилающие полость боковых желудочков мозга и покрывающих ворсинки их сосудистых сплетений [5, 6].

В то же время известно, что эпендимocyты разных локализаций отличаются по ряду морфофункциональных свойств [3]. Так, одна из разновидностей эпендимocyтов, танициты, характеризуется нали-

чием отростка, отходящего от базального полюса, участвует в передаче различных компонентов ликвора в сосуды, к клеткам мозга и в противоположном направлении, являются одним из компонентов, обеспечивающих интеграцию нервной и эндокринной систем [3]. Эти эпендимocyты в значительном количестве встречаются в выстилке полости третьего желудочка. Данных о способности к стероидогенезу у эпендимных клеток третьего желудочка нами не обнаружено. В связи с этим, *целью настоящей работы* явилось выяснение вопроса о наличии активности ГСДГ в эпендиме третьего желудочка мозга крыс, сопоставление ее с таковой в боковых желудочках.

Материалы и методы

Исследовалась ГСДГ в головном мозге 7 интактных лабораторных взрослых белых крыс-самцов в возрасте 3-3,5 месяца. Работа проведена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Животных забивали декапитацией, тотчас извлекали головной

мозг, вырезали участки в области локализации боковых и третьего желудочков, помещали их на охлажденные блоки для получения криостатных срезов (криостат Leica CM 1850, Германия) толщиной 20–40 мкм, сделанных во фронтальной плоскости. Срезы монтировали на покровные стекла и на них наносили инкубационный раствор для выявления ГСДГ [2]. Реакцию проводили в термостате при температуре 37°C в течение 30 минут. Для контроля часть срезов инкубировали в инкубационном растворе, не содержащем субстрата (дегидроэпиандростерона), часть – после обработки кипящей водой. В качестве «положительного контроля» ставили реакцию на корковом веществе надпочечников. Закрепление препаратов осуществляли в глицерин-желатин. На микроскопе «Olympus» исследовались эпендимоциты, выстилающие третий и боковые желудочки головного мозга, а также покрывающие ворсинки их сосудистых сплетений.

Результаты и обсуждение

Изучение препаратов показало, что продукты реакции в виде мелких гранул синего и фиолетового цвета маркировали цитоплазму эпендимоцитов, выстилающих полость боковых желудочков и покрывающих поверхность ворсинок их сосудистого сплетения. Исследование третьего желудочка также показало, что их эпендимная выстилка и клетки, покрывающие ворсинки сплетений аналогичным образом реагировали при реакции на ГСДГ. Ядра эпендимоцитов, строма ворсинок и вещество мозга, прилежащее к эпендимным клеткам, практически не окрашивались продуктами реакции (рис. 1, 2).

Сравнение интенсивности реакции в эпендимоцитах разных желудочков проводилась прежде всего в мозге каждого животного, затем – «суммарно» между ее интенсивностью во всех исследованных случаях. Такие сопоставления выстилки третьего и боковых желудочков, при визуальной оценке интенсивности реакции, четких закономерных отличий не выявили. Интенсивность реакции в эпендимоцитах сосудистых сплетений также не имела визуально регистрируемых различий.

Изучение препаратов также показало, что среди клеток, выстилающих третий желудочек, содержится значительное число эпендимоцитов, имеющих отросток, отходящий от базального полюса, то есть таницитов. При этом как в их телах, так и в отростках, содержалось значительное число гранул продуктов реакции (рис. 1, 2). Полученные факты можно рассценивать как свидетельство участия и этих клеток (включая их отросток) в синтезе нейростероидов. Учитывая топографию данных клеток, их взаимодействие с гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системой [3], можно полагать, что продуцируемые в

эпендимоцитах третьего желудочка нейростероиды являются одним из компонентов, участвующих в этом взаимодействии.

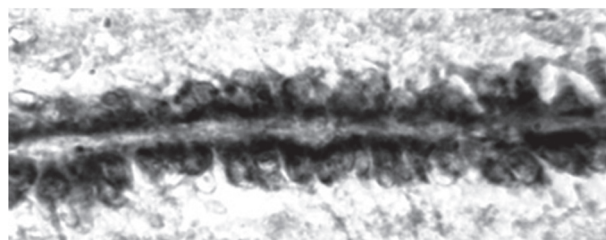


Рис. 1. Эпендимоциты, выстилающие полость третьего желудочка. Среди них клетки, имеющие на базальном полюсе отросток. Реакция на ГСДГ. Увеличение 100х10

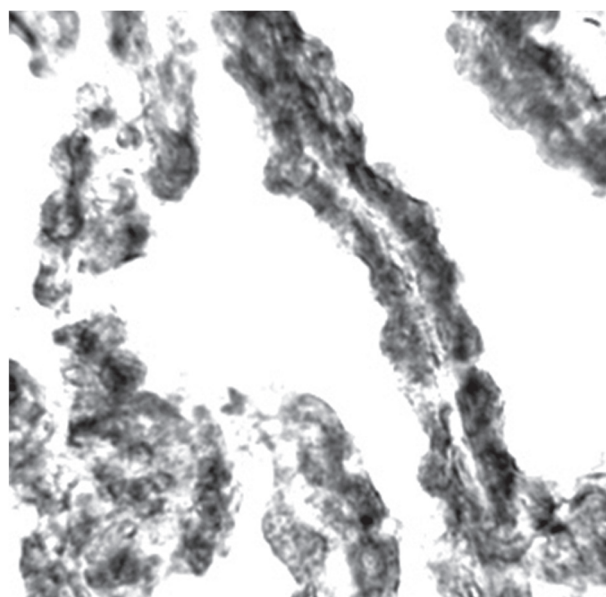


Рис. 2. Эпендимоциты, покрывающие ворсинки в сосудистом сплетении полости третьего желудочка. Реакция на ГСДГ. Увеличение 100х10

Таким образом, изложенные факты свидетельствуют, что, несмотря на различия локализации исследованных эпендимоцитов, все они обладали активностью ключевого фермента стероидогенеза – ГСДГ, катализирующего трансформацию прегненолона в прогестерон [4]. Представленные в данной и наших предыдущих работах результаты [5, 6] позволяют полагать, что эпендимоцитам, локализованным в разных отделах мозга, присуща продукция нейростероидов, которые могут поступать к его нейронам как из цереброспинальной жидкости, так и непосредственно через базальный полюс или базальный отросток эпендимоцитов. При этом изменения количества и состава синтезируемых эпендимоцитами нейростероидов, по-видимому, могут влиять на состояние разных структур мозга.

Литература

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. Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. – М.: Мир, 1982. – 272 с.

3. Мотавкин П.А. Введение в нейробиологию. – Владивосток: Медицина ДВ, 2003. – 251 с.
4. Розен В.Б. Основы эндокринологии. – М.: Изд. Московского университета. 1994. – 383 с.
5. Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. 3β -гидроксистероиддегидрогеназа в эпендимоцитах выстилки боковых желудочков мозга и ворсинках сосудистого сплетения у крыс. Возрастные особенности // Морфология, 2012. – Т. 142. – № 5. – С. 48–52.
6. Рыжавский Б.Я., Задворная О.В. 3β -гидроксистероиддегидрогеназа в эпендимоцитах головного мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2013. – Т. 155. – № 1. – С. 123–124.
7. Рыжавский Б.Я., Литвинцева Е.М. Гистохимическое выявление 3β -гидроксистероиддегидрогеназы в нейронах головного мозга крысы. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2011. – Т. 152, № 9. – С. 347–349.
8. 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.
9. 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.
10. 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 – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии ДВГМУ, тел. +7-924-303-99-77; Демидова Ольга Викторовна – старший преподаватель кафедры физиологии ДВГМУ.



УДК 616.831.71-053.31-092.9:599.323.4]:546.815

И.Р. Еременко, Е.В. Васильева, Б.Я. Рыжавский, О.В. Демидова

ВЛИЯНИЕ ПОСТУПЛЕНИЯ СВИНЦА КРЫСАМ В МОЛОЧНОМ ПЕРИОДЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ЛИПИДОВ В ПОЛУШАРИЯХ МОЗГА И МОЗЖЕЧКА В ПРЕПУБЕРТАТНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

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

Резюме

Исследован головной мозг 40-дневного потомства самок крыс, которым в первые 10 дней после родов (во время вскармливания молоком потомства) в воду добавляли нитрат свинца в концентрации 0,25 % и 0,5 %. Подопытные животные имели уменьшенную массу мозга и полушария, достоверно сниженную концентрацию суданofilных липидов в молекулярном слое коры и белом веществе полушарий, более выраженные при концентрации нитрата свинца в воде 0,5 %. Концентрация липидов в молекулярном слое и белом веществе полушария мозжечка была значительно снижена в равной степени при использовании токсиканта в концентрации 0,25 % и 0,5 %. Эти изменения свидетельствуют о существенном замедлении миелинизации в исследованных отделах мозга под влиянием нитрата свинца.

Ключевые слова: мозг, кора, мозжечок, свинец, липиды, миелинизация.

I.R. Eremenko, E.V. Vasilyeva, B.Ya. Ryzhavsky, O.V. Demidov

THE EFFECT OF LEAD IN MILK PERIOD IN LIPID CONCENTRATION ON THE CEREBRAL HEMISPHERES AND CEREBELLUM IN THE PREPUBERTAL RAT ONTOGENY

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

We studied the brain of 40 days rats posterity of females offspring in the first 10 days after birth (during milk feeding). Lead nitrate concentration of 0,25 % and 0,5 % was added to water. Experimental animals demonstrated reduction in brain and hemisphere mass, significantly reduced concentration of lipids in the molecular layer of the cortex and white matter of the cerebral hemispheres that were more pronounced when the concentration of lead in water was 0,5 %. The concentration