

УДК 611.813.14.018: 599.323.4

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ НУКЛЕИНОВО-КИСЛОГО ОБМЕНА В НЕЙРОНАХ ЗАДНЕГО ОТДЕЛА МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА МОЗГА В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА

Ахмадеев А.В.

*Кафедра морфологии и физиологии человека и животных Башкирского государственного университета, Уфа*

**Установлено, что в дорсомедиальном ядре интенсивность включения  $^3\text{H}$ -уридина в нейроны значительно меняется на стадиях эструса ( $10,45 \pm 0,89$ ) и метэструса ( $8,29 \pm 0,27$ ). Сравнение тождественных показателей по заднему кортикальному ядру и пириформной коре не выявило различий, что можно объяснить меньшим представительством в заднем кортикальном ядре и пириформной коре нейроэндокринных нейронов или большей гетерогенностью эстрогенных рецепторов.**

Миндалевидный комплекс (МК) вовлечен в центральные механизмы регуляции широкого круга физиологических процессов, начиная от деятельности отдельных органов и систем до целостных поведенческих актов, определяющих адаптацию организмов, их пищевое и половое поведение [4,10,11,14]. Важна роль МК в модуляции деятельности нейроэндокринной системы [1,17], при этом сам МК испытывает влияние половых стероидов через рецепторы, выявленные на его территории [18,20].

Установлено, что колебание уровней гормонов в динамике эстрального цикла (ЭЦ) влияет на связывание нейронами  $^3\text{H}$ -эстрадиола на территории заднего отдела МК [2]. Можно полагать, что это сопровождается изменением интенсивности нуклеиново-кислого обмена, однако, такие исследования ранее не проводились.

Целью работы являлось изучение структурной организации и состояния нуклеиново-кислого обмена в нейронах заднего отдела МК в различные фазы ЭЦ.

**Материал и методы.** Исследования проведены на 20 самках крыс половозрелого возраста линии Вистар, весом тела 200-250 г. с регулярным ЭЦ, стадии которого определяли по цитологической картине влагалищных мазков. Животных декапитировали на стадии эструса и метэструса. Для изучения цитологических характеристик нейронов при световой микроскопии мозг 10 крыс (по 5 особей на каждую стадию) фиксировали в 10% -ном формалине. Материал заливали в парафин и готовили 7-10 мкм фронтальные срезы, которые окрашивали по Эйнарсону на нуклеиновые кислоты. Число «темных» и «светлых» клеток подсчитывали с помощью морфометрической сетки в окуляре в пяти полях зрения

у каждого животного.  $^3\text{H}$ -уридин (удельная радиоактивность 28 Ки/мМ) вводили внутривентриально в дозе 160 МБк/г (по 5 крыс для каждой стадии) за один час до фиксации материала. Кусочки МК фиксировали 12 ч в смеси формалин - спирт - ледяная уксусная кислота в холодильнике. Готовили парафиновые срезы толщиной 5 мкм, депарафинировали их и покрывали фотоэмульсией типа ПР-2М с экспозицией 1 месяц. После проявления и фиксации автографов препараты окрашивали гематоксилином с эозином. Интенсивность включения изотопа оценивали по числу зерен восстановленного серебра на единицу площади объекта ( $100 \mu^2$ ) в десяти полях зрения с учетом фона вне среза.

**Результаты.** Дорсомедиальное ядро (Med) представляет собой компактное скопление нейронов малого и среднего размера, расположенное около стенки бокового желудочка. Оно образовано длинноаксонными редковетвистыми нейронами, которые в препаратах, окрашенных крезолом фиолетовым, носят характер карихромных. Изучение цитологических характеристик нейронов Med в препаратах, окрашенных на нуклеиновые кислоты по Эйнарсону, показало, что они различаются по сродству к красителю и носят характер «темных» и «светлых». Подсчет количества «темных» и «светлых» клеток на стадиях эструса и метэструса показали, что при смене стадий ЭЦ изменяется их соотношение. Так на стадии эструса на долю «светлых» клеток приходится 60-65%, в метэструсе доля «темных» клеток составляет 58-62%.

В автографах Med белых крыс, которым был введен  $^3\text{H}$ -уридин, зерна восстановленного серебра обнаруживали преимущественно в ядрах нейронов и реже - в цитоплазме. Подсчет зерен

серебра на единицу площади объекта показал, что у крыс на стадии эструс он равен  $10,45 \pm 0,89$ , метэструс -  $8,29 \pm 0,27$ . Сравнение вариационных рядов групповых средних показало, что выявившиеся различия являются статистически значимыми ( $p < 0,01$ ).

Заднее кортикальное ядро (Cop) на основании своих цитоархитектонических характеристик может быть подразделено на медиальную и латеральную части. В его медиальной части (Corm) преобладают редковетвистые нейроны, при этом у определенной части этих нейронов имеет место поляризация тел и отростков, вследствие чего они приобретают признаки корковых нейронов. Длинноаксонные густоветвистые нейроны встречаются в виде отдельных клеток или небольших групп. В латеральной части этого ядра с появлением явлений стратификации, количество густоветвистых нейронов становится больше, они концентрируются в поверхностной клеточной зоне и носят характер веретенообразных и пирамидообразных нейронов. В глубокой клеточной зоне преобладают короткодendrитные и ретикулярные нейроны, а также встречаются густоветвистые нейроны подкоркового типа.

Исследование цитологических особенностей нейронов Cop позволило выделить среди них три основных группы, которые названы кариохромными, светлыми и цитохромными. Для кариохромных нейронов характерно наличие крупного, гиперхромного клеточного ядра, узкого перикариона, содержащего пылевидную базофильную зернистость. У светлых нейронов крупное, богатое эухроматином клеточное ядро, более массивный ободок цитоплазмы с отдельными глыбками базофильного вещества. Цитохромные нейроны обладают широким перикарионом, содержащим тельца Ниссля, и имеют светлое богатое эухроматином клеточное ядро с крупным ядрышком.

Представительство кариохромных, светлых и цитохромных нейронов в составе рассматриваемых ядер различно. Med преобладали кариохромные нейроны, в Cop все три типа клеток найдены примерно в равных соотношениях. В препаратах Cop, окрашенных на нуклеиновые кислоты по Эйнарсону, определялись не только «темные» и «светлые» клетки, но и переходные между ними формы. При этом изменение их соотношения в изученные стадии ЭЦ показало, что процент «светлых» клеток в стадию эструс было равным 42%, остальное приходилось на «темные» и переходные формы, на стадии метэструса процент «темных» клеток составлял 35-37%.

Подсчет зерен серебра на единицу площади объекта в Cop показал, что у крыс на стадии эструс он равен  $7,89 \pm 1,49$  в медиальной и  $8,01 \pm$

$1,12$  в латеральной части ядра. На стадии метэструс – соответственно  $8,09 \pm 1,87$  и  $9,03 \pm 2,33$ . Сравнение вариационных рядов групповых средних, отражающих интенсивность включения изотопа в двух частях Cop на стадиях эструса и метэструса, показало, что выявившиеся различия не достоверны ( $p > 0,05$ ).

Пириформная кора (PC) - структура палеокортекса и в ее составе преобладают длинноаксонные густоветвистые нейроны коркового типа, по своей цитологической характеристике являющиеся цитохромными нейронами. Подсчет меток на территории этой структуры показал, что на стадии эструса их количество равно  $11,39 \pm 1,48$ , на стадии метэструса их количество уменьшается и составляет  $9,41 \pm 0,22$ . Выявившиеся различия не являются достоверными ( $p > 0,05$ ).

**Обсуждение** Наличие рецепторов к половым стероидам в нейронах заднего отдела МК предопределяет изменение их функциональной активности в ответ на колебания уровней этих гормонов, имеющее место в ЭЦ. Известно, что самые низкие уровни эстрадиола и ЛГ имеют место в метэструсе, пик эстрогенов отмечен в 12 ч стадии проэструса, а ЛГ – в 18 ч этой же стадии ЭЦ [3]. Выброс ЛГ на фоне повышения концентрации эстрогенов приводит к овуляции, которая происходит в эструсе.

В ранее проведенном исследовании получены данные о динамике  $^3\text{H}$ -эстрадиолсвязывающей активности ткани заднего отдела МК в динамике ЭЦ [2]. Из них следует, что в метэструсе отмечается наибольшее содержание эстрогенных рецепторов, количество их снижается в диэструсе, становясь минимальным в проэструсе и эструсе. Опираясь на эти данные, мы посчитали целесообразным проведение исследования состояния нуклеиново-кислого обмена в структурах заднего отдела МК в стадии эструс и метэструс ЭЦ, полагая, что в этих условиях можно будет обнаружить происходящие в нем сдвиги.

Изучение цитологических характеристик нейронов Med в препаратах, окрашенных на нуклеиновые кислоты, и подсчет количества «темных» и «светлых» клеток на стадии эструс и метэструс показали, что при смене стадий ЭЦ изменяется их соотношение. Можно полагать, что нейроны МК под влиянием гормональных факторов способны возвращаться в некое исходное состояние, для того чтобы вновь его изменить в следующую фазу ЭЦ, т.е. имеет место явление реверсии, широко представленное среди нейросекреторных клеток [5].

Часть нейронов Med, Cop и PC, по видимому, или не реагируют на колебания уровней половых стероидов (вследствие временной

десенсибилизации к действию гормонов), или реагируют асинхронно. Предполагать последнее позволяют сведения о гетерогенности эстрогенных рецепторов, в составе которых выделено два подтипа: эстрогенные рецепторы  $\alpha$ -типа и  $\beta$ -типа [15]. Показано, что их биологическое значение существенно различается: если рецепторы субтипа  $\alpha$  способны, формируя гормон-рецепторные комплексы, оказывать активизирующее действие на транскрипционные процессы в клетке, то субтипа  $\beta$  - ингибирующее [6,13].

Приведенные выше данные могут быть объяснены на основании механизма действия половых стероидов на геном клетки [7]. Известно, что эти гормоны легко проникают в клетку и связываются со специфическими рецепторами в цитоплазме, формируя гормон-рецепторные комплексы. Ядерная транслокация гормон-рецепторных комплексов вызывает активацию генома вследствие их взаимодействия с акцепторными местами хроматина. К последним могут быть причислены участки генома, которые кодируют гормон-зависимые РНК. Это обеспечивает интенсивный синтез белка в клетке, идущего на создание необходимого пула цитозольных рецепторов, представляющих собой гидрофильные белки, а также других веществ, обладающих свойствами секретов – аргинин-вазопрессина, энкефалина, субстанции P, катехоламинов [10,11,12,13,16,19].

Полученные нами результаты методом автордиографии показали, что интенсивность включения  $^3\text{H}$ -уридина была больше в эструсе. Наши данные согласуются с результатами исследований [8,9]. Однако, хотелось бы заметить, что вопрос о большей или меньшей активности метаболизма в «темных» и «светлых» клетках должен всегда обсуждаться конкретно к рассматриваемым процессам. На стадии эструса, вероятно, можно говорить о большей активности транскрипционных процессов, а на стадии метэструса – процессов трансляции, проявляющихся высокими уровнями синтеза белка.

Имевшее место изменение интенсивности включения  $^3\text{H}$ -уридина в нейроны  $\text{C}_{\text{op}}$  и  $\text{P}_{\text{C}}$  на стадиях эструса и метэструса не достигало уровня значимости. Это обстоятельство, вероятно, можно объяснить наличием в их составе меньшего количества нейроэндокринных нейронов, или большей гетерогенностью находящихся в структурах  $\text{C}_{\text{op}}$  и  $\text{P}_{\text{C}}$  эстрогенных рецепторов.

Авторы приносят свою благодарность зав. кафедрой гистологии Военно-медицинской Академии проф., д.б.н. Р.К.Данилову за помощь в

проведении автордиографических исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта МО РФ PD 02-1.4-93

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Акмаев И.Г., Калимуллина Л.Б. 1993. Миндалевидный комплекс мозга: функциональная морфология и нейроэндокринология. М.: Наука, 269 с.
2. Асрибекова М.К., Калимуллина Л.Б.// Бюлл. эксп. биол. и мед. 1989. Т.107, №. 10, С.748.
3. Бабичев В.Н. В кн. Физиология гормональной регуляции. 1986, Л.: Наука, С.70.
4. Бериташвили В.С. Гагрские беседы: Структура и функция архипалеокортекса. М.: Наука, 1968. С.289.
5. Гарлов П.Е.// Цитология. 2002. Т.44.№ 8. С. 747.
6. Ишунина Т.А., Должиков А.А., Гриневиц В.В.// Успехи физиол. наук. 2001.Т.32. №1. С.48.
7. Розен В.Б. В кн.: Физиология гормональной рецепции. Л.: Наука, 1986.С. 5.
8. Рублева З.Я., Савулев Ю.И., Пылаев А.С.// Ж-л невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1977.Т.7.№7.С.966.
9. Салович Е.А., Пальцын А.А., Туманов В.П.// Бюлл. экспер. биол. и мед. 1981.Т.91.№4.С. 498.
10. Чепурнов С.А., Чепурнова Н.Е. Миндалевидный комплекс мозга М.: Изд-во МГУ, 1981. 255с.
11. Чепурнов С. А., Чепурнова Н.Е. Нейропептиды и миндалина. М. : Изд-во МГУ, 1985.128 с.
12. Asmus S., Neuman S. // J. Neurobiol. 1994. V.25. P.156
13. Isgor C.et al. // Brain Res.Mol. Brain Res.2002 V.106.P. 30.
14. Kondo Y.,Sachs B.D.,Sakuma Y. // Behav. Brain. Res. 1998. V.91, №1-2, P 215.
15. Kuiper G.G.J.M. et al.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P 5925
16. Plumari L.et al. // J.of Neuroendocrinology. 2002. V.14.P. 971.
17. Ramhres-Amaya V., Alvares-Borda B., Bermzdes-Rattoni F. // Brain Behav. Immun. 1998.V 12. №2. P.140
18. Sato M.et al. // Neurosci. Res. 1987.V.5. P.131.
19. Sinchak K. et al. // Physiol Behav. 2000. V.69. P.425.
20. Takeshita H. // Yonago acta med.1976.V. 20. P.125.

**The structural organization and indexes of nuclei acid metabolism in neurons of posterior division of amygdala into estrous cycle.**

Akhmadeev A.V.

Was found, that incorporation of  $^3\text{H}$ -uridine into neurons of dorsomedial nucleus change between stage estrous ( $10,45 \pm 0,89$ ) and metestrous ( $8,29 \pm 0,27$ ). The comparison of this data on nucleus corticalis posterior and cortex piriformis show no differences between them, that could be explained smaller quantity of the neuroendocrine neurons and heterogeneous estrogen receptors