

УДК 591.481.3:599.323.43

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПИНЕАЛОЦИТОВ ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ГРЫЗУНОВ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Герасимов А.В., Костюченко В.П., Логвинов С.В., Потапов А.В., Варакута Е.Ю.

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, e-mail: a_gerasimov@sibmail.com

С помощью методов световой и электронной микроскопии проведен кариометрический и органеллометрический анализ пинеалоцитов шишковидной железы крыс, мышей и полёвок различных возрастных групп и пола. У крыс вне зависимости от половой принадлежности в железе часть светлых пинеалоцитов имели более развитую гранулярную эндоплазматическую сеть и осмиофильные тельца с мелкими плотными конкрециями. Обнаруживались также светлые пинеалоциты с более крупными ядрами, комплексом Гольджи и митохондриями. Осмиофильные тельца проявляли сходство с аутолизосомами, располагались вблизи оболочки ядра, синаптических лент, в отростках, булавовидных окончаниях отростков, взаимодействовали с компонентами цитоскелета. У мышей и мышевидных грызунов в светлых пинеалоцитах одиночные плотные гранулы выявлялись в цитоплазматических везикулах, производных комплекса Гольджи. Они обнаруживались вблизи синаптических сфер, отростках и окончаниях. У крыс более старшей возрастной группы отмечалась агрегация и увеличение электронной плотности осмиофильных телец, у мышей и полёвок – агрегация и утилизация лизосомами везикул с плотной гранулой. Сделан вывод о возможном участии цитоплазматических везикул и осмиофильных телец с конкрециями в регуляции функционального состояния пинеалоцитов и нарушении данного механизма с возрастом.

Ключевые слова: пинеалоциты, ультраструктура, крысы, мыши, полёвки, возрастные особенности

ULTRASTRUCTURAL SPECIAL FEATURES OF PINEALOCYTES OF THE PINEAL GLAND OF RODENTS IN THE ASPECT DEPENDENT ON AGE

Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P., Logvinov S.V., Potapov A.V., Varakuta E.Y.

Siberian State Medical University, Tomsk, e-mail: a_gerasimov@sibmail.com

With the aid of the methods of light and electron microscopy is carried out the karyometric and organellometric analysis of pinealocytes of the pineal gland of rats, mice and field voles of different age classes and floor. In rats independently of the sexual belonging in gland the part of lucid pinealocytes had more developed rough endoplasmic reticulum and osmiophilic bodies with the small dense concretions. Were revealed also lucid pinealocytes with the larger nuclei, the Golgi complex and the mitochondria. Osmiophilic bodies manifested similarity to autolysosomes, they were located near the shell of nucleus, synaptic ribbons, in the branches, the branch endings, they interacted with the components of cytoskeleton. In mice and mouse-like rodents in lucid pinealocytes single dense granules were revealed in the cytoplasmic vesiculae, the derivatives of Golgi's complex. They were revealed near synaptic spheres, branches and endings. In the rats of more elder age class an aggregation and an increase in the electron density of osmiophilic bodies was noted, in mice and field voles – aggregation and utilization by the lysosomes of vesiculae with the dense granule. Is made conclusion about the possible participation of cytoplasmic vesiculae and osmiophilic bodies with the concretions in the regulation of the functional state of pinealocytes and the disturbance of this mechanism with the age.

Keywords: pinealocytes, ultrastructure, rats, mice, voles, special feature of age

Для шишковидной железы млекопитающих животных и человека характерен мозговой песок. В цитоплазме пинеалоцитов (Пц) кальцинированные конкреции откладываются в лизосомах, митохондриях, цитоплазматических везикулах, осмиофильных тельцах (ОТ). Они обнаруживаются в периваскулярном пространстве, под капсулой железы, в интерстиции, на месте гибели эндокринных клеток [3–6, 9–11]. Механизм формирования структур с кальцинированными конкрециями, их влияние на функциональное состояние гормонпродуцирующих клеток окончательно не выяснен. Отложение кальцинированных конкреций в лизосомах Пц, связанное с активностью лизосомных ферментов, даёт основание рассматривать ОТ производными лизосом [7]. Ранее были отмечены зависящие от светового режима и воздействия ионизирующего излучения

количественные изменения органелл и осмиофильных телец с конкрециями в пинеалоцитах шишковидной железы крыс, феномен «радиационного старения» [1, 3, 4]. Для оценки функционального состояния шишковидной железы в качестве морфологических маркёров наиболее удобно использовать карио- и органеллометрические параметры пинеалоцитов [7, 8, 11]. Для оценки участия структур с конкрециями в функционировании Пц необходимо также было обратить внимание на синаптические ленты (СЛ) и сферы, проявляющие суточную периодичность [2, 4, 11], использовать животных не только различных возрастных групп, но и разных видов и пола.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей ультраструктуры пинеалоцитов шишковидной железы у крыс, мышей и мышевидных грызунов

различных возрастных групп, клеточных механизмов формирования цитоплазматических везикул и осмиофильных телец с конкрециями, предполагаемого их влияния на функциональное состояние пинеалоцитов.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на 5-месячных ($n = 50$) и 20-месячных ($n = 50$) крысах Вистар обоего пола, 3-месячных ($n = 30$) и 7-месячных ($n = 20$) мышях (сток CD1) обоего пола, 3-недельных ($n = 9$) и 2-месячных самцах рыжей, красной и красно-серой полёвки ($n = 18$). Шишковидную железу извлекали после декапитации животного, фиксировали в смеси 4% параформальдегида и 2,5% глутаральдегида на 0,1M какодилатном буфере (pH 7,4), постфиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия, обезвоживали и заключали в смесь смол эпон-аралдит. Срезы готовили на ультратоме «Leica EM UC 7» (Австрия). Полутонкие срезы окрашивали азуром II. Светлооптическое исследование проводили в микроскопе «Primo Star» («Carl Zeiss», Германия) с цифровой фотокамерой G-10 («Canon», Япония) и программным обеспечением «Axio Vision 4.8.2» («Carl Zeiss», Германия). Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, исследовали в электронном микроскопе JEM-100 CX II («JEOL», Япония) и «Philips CM 12» (Нидерланды) с цифровой фотокамерой «Megaview G 2» («Olimpus», Германия). Удельный объём органелл в цитоплазме пинеалоцитов измеряли с помощью сетки Автандилова в 10 полях срезов при конечном увеличении 25000. Данные обрабатывали с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows v 6.0». О значимости различий судили по величине t-критерия.

Результаты исследования и их обсуждение

В шишковидной железе 5-месячных крыс вне зависимости от пола среди клеток с морфологическими признаками секреторной активности (тип I – светлые) различимы пинеалоциты (Пц) типа IA и IB. Площадь ядра IA-клеток составляет $33,08 \pm 0,56$ мкм², IB – $48,13 \pm 1,31$ мкм² ($P < 0,001$). Удельный объём гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС) в IA-клетках составляет $3,49 \pm 0,18\%$, в IB – $2,65 \pm 0,12\%$ ($P < 0,001$), митохондрий в IA – $6,13 \pm 0,28\%$, в IB – $14,29 \pm 0,60\%$ ($P < 0,001$), комплекса Гольджи в IA – $1,72 \pm 0,06\%$, в IB – $5,94 \pm 0,29\%$ ($P < 0,001$). Цитоплазма IA-клеток содержит осмиофильные тельца с пылевидными конкрециями (ОТ), производные лизосом, утилизирующих митохондрии, мешочки и везикулы Гольджи с плотными кальцинированными гранулами. ОТ контактируют с ГЭС и гладким ретикулумом и, по-видимому, обогащаются белками и липидами, составляющими матрикс «зрелых» ОТ. Располагаются ОТ в Пц типа IA в инвагинациях оболочки ядра, вблизи синаптических лент (СЛ), в отростках и булавовидных окончаниях отростков с эндокринными везикулами, взаимодействуют с цитоскелетом, компоненты которого вблизи СЛ имеют веерообразную укладку, содержат синаптические везикулы (рис. 1).

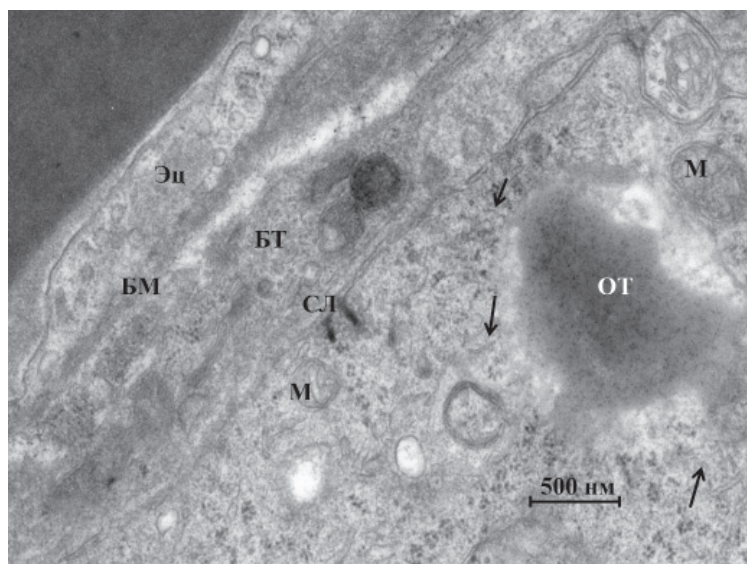


Рис. 1. Осмиофильное тельце (ОТ) в пинеалоците 5-месячной крысы: СЛ – синаптические ленты; М – митохондрии; Эц – эндотелиоцит; БМ – базальная мембрана; БТ – булавовидная терминаль с эндокринной везикулой, веерообразные фигуры цитоскелета (стрелки)

В светлых Пц 3-месячных мышей и 3-недельных красных и рыжих полёвок

одиночные плотные гранулы обнаруживаются в крупных везикулах Гольджи (рис. 2).

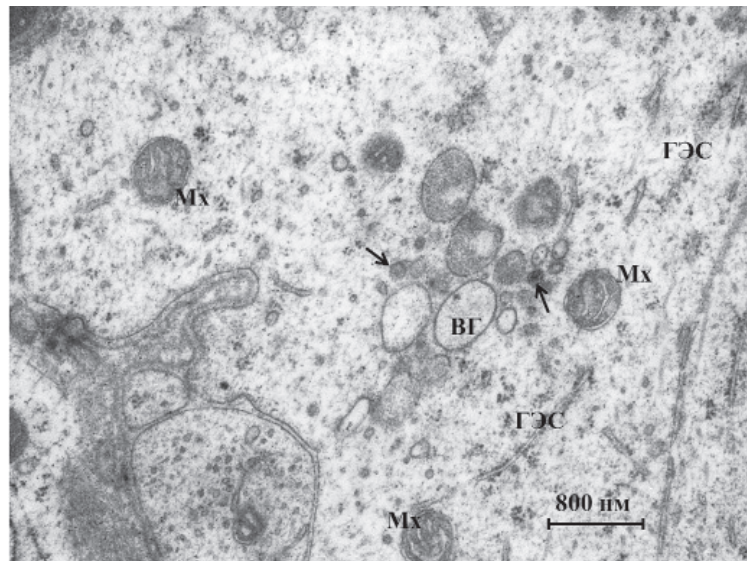


Рис. 2. Везикула с плотной гранулой (ВГ), митохондрии (Мх), цистерны гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС), эндокринные везикулы (стрелки) в зоне комплекса Гольджи пинеалоцита 3-недельного самца красной полёвки весенне-летней генерации

Везикулы с плотной гранулой у данных животных располагаются также за пределами зоны комплекса Гольджи вблизи синаптических сфер, в отростках и булавовидных окончаниях отростков. У неполовозрелых 3-недельных красно-серых полёвок, родившихся в конце июня, и 2-месячных позднелетней генерации шишковидная железа не проявляет морфологических признаков зрелости.

У 7-месячных мышей наблюдается агрегация и утилизация лизосомами везикул с плотной гранулой. У 20-месячных крыс агрегация ОТ и расположенных вну-

три их конкреций сопровождается увеличением электронной плотности матрикса, ОТ приобретают вытянутую форму и бугристую поверхность. Компоненты цитоскелета ориентируются преимущественно в одном направлении, что предполагает нарушение механизма регуляции такими плотными ОТ через компоненты цитоскелета функционирования СЛ, проявляющих суточную периодичность морфофункциональной организации, транспорта эндокринных везикул и других внутриклеточных процессов (рис. 3).

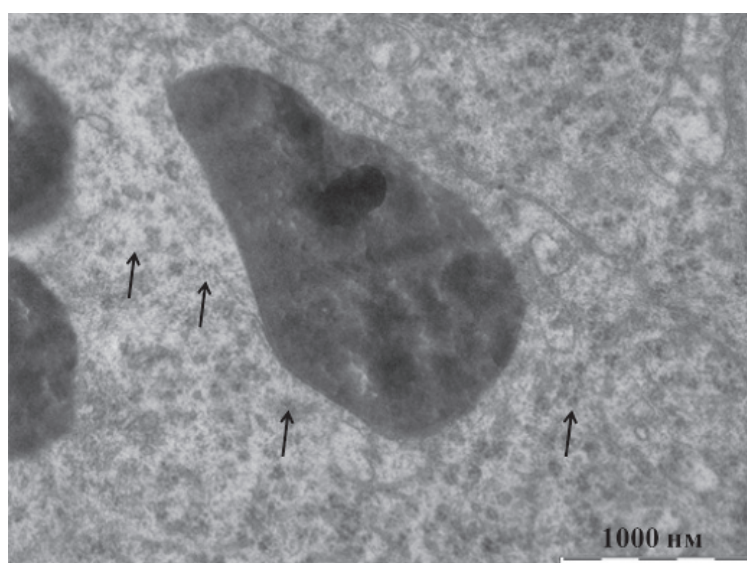


Рис. 3. Продольная ориентация компонентов цитоскелета (стрелки), уплотнение и агрегация осмиофильных телец и конкреций внутри телец у 20-месячной крысы

Заключение

Проведённое морфологическое исследование позволило изучить процессы формирования осмиофильных телец и цитоплазматических везикул с плотными гранулами в пинеалоцитах шишковидной железы грызунов разных видов, пола и возраста, оценить их значение в пространственной организации цитоскелета, синаптических лент и сфер, синаптических и эндокринных везикул, влияние на функциональное состояние пинеалоцитов.

Список литературы

1. Герасимов А.В., Логвинов С.В., Костюченко В.П. Морфологические изменения в эпифизе у крыс при длительном освещении ярким светом // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 2010. – Т. 150, № 7. – С. 97–99.
2. Герасимов А.В., Логвинов С.В., Костюченко В.П., Кравченко Л.Б. Морфология шишковидной железы мышей с задержкой полового созревания. // *Бюл. сибирской медицины*. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 22–25.
3. Логвинов С.В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Морфология эпифиза при воздействии света и радиации в эксперименте // *Бюл. сибирской медицины*. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 36–41.
4. Логвинов С.В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Ультраструктура пинеалоцитов у крыс при воздействии света и радиации // *Морфология*. – 2004. – Т. 125, № 1. – С. 71–75.
5. Allen D.J., DiDio J.A., Gentry E.R. The aged rat pineal gland as revealed in SEM and TEM // *Age*. – 1982. – Vol. 5. – P. 119–126.
6. Erlich S.S., Apuzzo L.J. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance // *J. Neurosurg.* – 1985. – Vol. 63. – P. 321–341.
7. Karasek M., Reiter R.J. Morphofunctional aspects of the mammalian pineal gland // *Microsc. Res. Tech.* – 1992. – Vol. 21. – P. 136–157.
8. Karasek M., Zielinska A., Marek K., Swietoslowski J. Effects of superior cervical gangliectomy on the ultrastructure of pinealocytes in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*): quantitative study // *Neuro Endocrinol. Lett.* – 2002. – Vol. 23, № 5–6. – P. 443–446.
9. Pizarro M., Pastor F., Lopez G., Munez B. Ultrastructural study of the distribution of calcium in the pineal gland of the rat subjected to manipulation of the photoperiod // *Histochemistry*. – 1989. – Vol. 92, № 2. – P. 161–169.
10. Reiter R.J., Welsh M.G., Vaughan M.K. Age-related changes in the intact and sympathetically denervated gerbil pineal gland // *Am. J. Anat.* – 1976. – Vol. 146. – P. 427–432.
11. Vollrath L. Functional anatomy of the human pineal gland // *The Pineal Research* / ed. R.J. Reiter. – N.Y.: Raven Press, 1984. – P. 285–322.

References

1. Gerasimov A.V., Logvinov S.V., Kostyuchenko V.P. Morphological changes in the epiphysis in rats with the prolonged illumination by the bright light // *Bul. Exp. Biol. Med.* 2010. Vol. 150, no. 7. pp. 97–99.
2. Gerasimov A.V., Logvinov S.V., Kostyuchenko V.P., Kravchenko L.B. Morphology of the pineal gland of forest mice with the delay of sexual ripening // *Bul. Siberian Medicine*. 2012. Vol. 10, no. 4. pp. 22–25.
3. Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P. Epiphysis morphology under light and radiation exposure in experiment // *Bul. Siberian Medicine*. 2003. Vol. 2, no. 3. pp. 36–41.
4. Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P. Ultrastructure of pinealocytes in rats under the influence of light and radiation // *Morphology*. 2004. Vol. 125, no. 1. pp. 71–75.
5. Allen D.J., DiDio J.A., Gentry E.R. The aged rat pineal gland as revealed in SEM and TEM // *Age*. 1982. Vol. 5. pp. 119–126.
6. Erlich S.S., Apuzzo L.J. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance // *J. Neurosurg.* 1985. Vol. 63. pp. 321–341.
7. Karasek M., Reiter R.J. Morphofunctional aspects of the mammalian pineal gland // *Microsc. Res. Tech.* 1992. Vol. 21. pp. 136–157.
8. Karasek M., Zielinska A., Marek K., Swietoslowski J. Effects of superior cervical gangliectomy on the ultrastructure of pinealocytes in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*): quantitative study // *Neuro Endocrinol. Lett.* 2002. Vol. 23, no. 5–6. pp. 443–446.
9. Pizarro M., Pastor F., Lopez G., Munez B. Ultrastructural study of the distribution of calcium in the pineal gland of the rat subjected to manipulation of the photoperiod // *Histochemistry*. – 1989. Vol. 92, no. 2. pp. 161–169.
10. Reiter R.J., Welsh M.G., Vaughan M.K. Age-related changes in the intact and sympathetically denervated gerbil pineal gland // *Am. J. Anat.* – 1976. – Vol. 146. – P. 427–432.
11. Vollrath L. Functional anatomy of the human pineal gland // *The Pineal Research* / ed. R.J. Reiter. – N.Y.: Raven Press, 1984. – P. 285–322.

Рецензенты:

Алябьев Ф.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой судебной медицины с курсом токсикологической химии Сибирского государственного медицинского университета, г. Томск;

Пурлик И.Л., д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии Сибирского государственного медицинского университета, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 15.01.2014.