

УДК 611.814.53

**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПИНЕАЛОЦИТОВ
С ПРИЗНАКАМИ СЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ
У КРЫС И ПОЛЁВОК ПРИ СТРЕССЕ**

**¹Герасимов А.В., ¹Костюченко В.П., ²Кравченко Л.Б., ¹Логвинов С.В.,
¹Потапов А.В., ¹Варакута Е.Ю., ¹Аникина Е.Ю.**

*¹ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Томск, e-mail: a_gerasimov@sibmail.com;*

²ФГАОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск

С помощью методов электронной микроскопии проведён анализ пинеалоцитов с признаками секреторной активности в шишковидной железе крыс и полёвок, подвергнутых стрессу. Крыс длительно освещали ярким светом. Полёвок содержали совместно, моделируя высокую численную плотность популяции. Через 24 часа после прекращения воздействия у гипериллюминированных крыс и у совместно содержавшихся в течение двух месяцев полёвок проявлялись характерные для гиперфункции шишковидной железы ультраструктурные изменения пинеалоцитов. Сделано предположение, что удалённые от ядра стопки Гольджи, цистерны и осмиофильные тельца с зёрнами электронно-плотного материала, гигантские извитые и ковшеобразные митохондрии, синаптические ленты и сферы, секреторные везикулы, компоненты цитоскелета задействованы в секреторном процессе и являются морфологическими маркерами сдвига функционального состояния пинеалоцитов в сторону активизации.

Ключевые слова: пинеалоциты, ультраструктура, крысы, полёвки, стресс

**ULTRASTRUCTURAL SPECIAL FEATURES OF PINEALOCYTES WITH THE SIGNS
OF SECRETORY ACTIVITY IN RATS AND FIELD VOLES WITH THE STRESS**

**¹Gerasimov A.V., ¹Kostyuchenko V.P., ²Kravchenko L.B., ¹Logvinov S.V.,
¹Potapov A.V., ¹Varakuta E.Y., ¹Anikina E.Y.**

¹Siberian State Medical University, Tomsk, e-mail: a_gerasimov@sibmail.com;

²National Research Tomsk State University, Tomsk

With the aid of the methods of electron microscopy is carried out the analysis of pinealocytes with the signs of secretory activity in the pineal gland of rats and field voles, subjected to stress. They prolongedly illuminated rats by bright light. They contained field voles together, simulating the high numerical density of population. 24 hours after the curtailment of action in the hyper-illuminated rats and in the field voles together contained in the course of two months were manifested ultrastructural changes in pinealocytes characteristic for the hyperfunction of pineal gland. Is made the assumption that the Golgi stacks, remote from the nucleus, cisterns and osmiophilic bodies with the grains of electron-dense material, gigantic convoluted and ladle-shaped mitochondria, synaptic ribbons and spheres, secretory vesicles, components of cytoskeleton are begun to operate in the secretory process and are the morphological markers of the shift of the functional state of pinealocytes to the side of making more active.

Keywords: pinealocytes, ultrastructure, rats, field voles, stress

Шишковидная железа принимает участие в адаптации организма к различным видам стресса [9]. Морфологическими маркерами сдвигов её функционального состояния рассматриваются изменения ядер и органелл в цитоплазме пинеалоцитов с секреторными везикулами и синаптическими лентами и сферами в цитоплазме, ранее называемых светлыми [10, 11, 12]. Светлые пинеалоциты секретируют хронобиотик гормон мелатонин преимущественно в тёмное время суток под контролем циркадианного пейсмекера – супрахиазматических ядер гипоталамуса. Ранее нами было выявлено, что у крыс при нарушении суточного фотопериодизма через 24 ч после окончания воздействия светом супрахиазматические ядра гипоталамуса и шишковидная железа

реагируют на стресс [2, 9]. В шишковидной железе гипериллюминированных крыс в светлое время суток выявлялся мелатонин [1]. В пинеалоцитах увеличивались размеры ядрышек, ядра, складчатость его оболочки [7]. В цитоплазме клеток возрастал удельный объём митохондрий, комплекса Гольджи и гранулярной эндоплазматической сети. Комплекс Гольджи смещался от ядра на периферию перикарионов. Удлинились синаптические ленты [8]. На 45-е и 90-е сутки освещения крыс диктиосомы в пинеалоцитах располагались вблизи ядра. Удельный объём комплекса Гольджи, митохондрий и размер ядер уменьшались [3]. При постоянной 12-часовой суточной фотофазе у крыс кариометрические параметры супрахиазматических нейронов

и пинеалоцитов проявляли инфрадианный ритм изменений в течение месяца [6]. При естественном укорочении суточной фотофазы у полёвок отмечались морфологические признаки активизации деятельности шишковидной железы [4]. Предполагается, что в секреторном процессе шишковидной железы у грызунов, наряду с митохондриями, комплексом Гольджи, цитоскелетом, синаптическими лентами и сферами, принимают участие осмиофильные тельца и везикулы с конкрециями [5]. Поскольку механизм секреции пинеалоцитов до настоящего времени остаётся невыясненным, интерес представляет исследование всего комплекса ультраструктур цитоплазмы, проявляющего себя при активизации их деятельности у различных видов грызунов в условиях стресса.

Цель настоящего исследования – изучение особенностей ультраструктуры пинеалоцитов с признаками функциональной активности в шишковидной железе крыс и полёвок в условиях стресса.

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на самцах 4-месячных беспородных белых крыс ($n = 12$) и 2-месячных красно-серых полёвок ($n = 11$). Крыс содержали в условиях 12-часовой суточной фотофазы (свет с 8 до 20 ч, освещённость животных 200 лк). Группу опытных животных на 48 ч помещали в гипериллюминированные клетки (освещённость 3500 лк) и выводили

из эксперимента через 24 ч после окончания воздействия совместно с контролем. Полёвок, рождённых в июле от изъятых из природной среды самок, содержали в естественных условиях освещения изолированно в выводке с матерями (контрольная группа) и совместно (опытная группа). Шишковидную железу извлекали в 10–11 ч после декапитации животных, фиксировали в 4% параформальдегиде и 2,5% глутаральдегиде на 0,1 М какодилатном буфере (pH 7,4), постфиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия, обезвоживали в этаноле и заключали в смесь смол эпон-аралдит. Срезы готовили на ультратоме «LKB-III» (Швеция) и «Leica EM UC 7» (Австрия), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, исследовали в электронном микроскопе JEM-100 CX II («JEOL», Япония). При конечном увеличении 25000, используя программное обеспечение «Axio Vision 4.8.2» («Carl Zeiss», Германия), в пинеалоцитах измеряли площадь среза митохондрий. Данные обрабатывали с помощью пакета прикладных программ «Statistica for Windows v 6.0». О значимости различий судили по величине U-критерия Манна – Уитни. Данные представляли в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q_1 – Q_2).

Результаты исследования и их обсуждение

В светлых пинеалоцитах шишковидной железы у крыс и полёвок, подвергнутых различным видам стресса, обнаруживаются извитые и ковшеобразные митохондрии, площадь продольного среза которых в 1,3 раза превосходит величину показателя в контроле (таблица).

Площадь продольного среза митохондрий в пинеалоцитах у грызунов (Me (Q_1 – Q_2), мкм²)

Крысы		Полёвки	
гипериллюминированные	контроль	совместное содержание	контроль
0,452* (0,429–0,465)	0,354 (0,337–0,378)	0,263* (0,253–0,274)	0,205 (0,196–0,214)

Примечание. * – значимые различия с контролем ($p \leq 0,05$).

У крыс между завитками митохондрий располагаются микротрубочки и микрофиламенты, ориентированные веерообразно, секреторные везикулы с электронно-плотной сердцевиной, окружённой светлым ободком, цистерны и осмиофильные тельца с электронно-плотными гранулами, синаптические ленты. От поверхности пинеалоцитов в перикапиллярное пространство вблизи fenestрированных участков эндотелия отпочковываются мембранные структуры, опустошённые или ещё содержащие электронно-плотную гранулу в светлом матриксе (рис. 1). Подобные комплексы формируются также в местах контакта светлых пинеалоцитов друг с другом. Синаптические ленты, митохон-

дрии, секреторные везикулы и цистерны гладкой эндоплазматической сети сближаются в контактирующих клетках с диктосомами (рис. 2). У полёвок совместного проживания ковшеобразные митохондрии извитой «ручкой» и расширенной частью «зачерпывают» участки цитоплазмы с гранулярными секреторными везикулами, контактируют с цистернами гладкого эндоплазматического ретикулума. Веерообразно ориентированные микротрубочки и микрофиламенты объединяют митохондрии в единый комплекс с синаптическими сферами, секреторными везикулами, производными комплекса Гольджи и фрагментами цистерн гранулярной эндоплазматической сети, теряющими рибосомы (рис. 3).

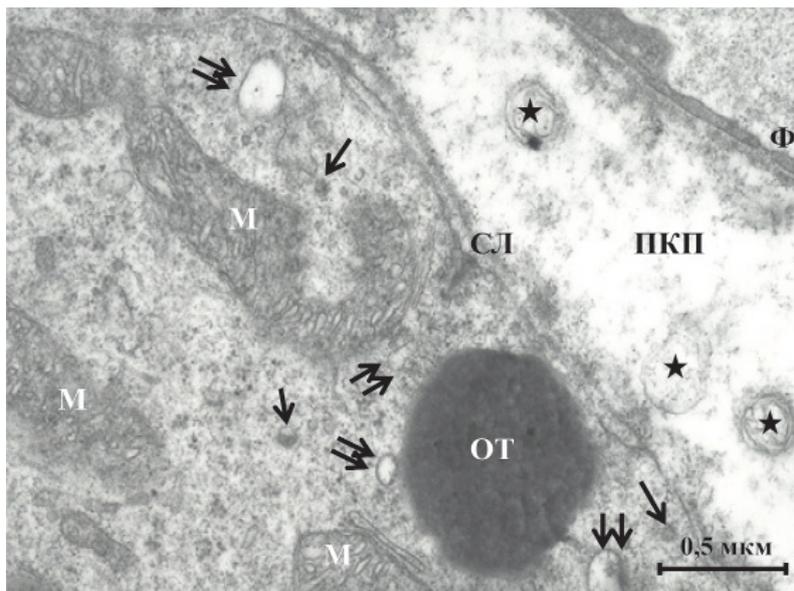


Рис. 1. Комплекс ультраструктур в цитоплазме светлого пинеалоцита гипериллюминированной крысы: М – митохондрии извитой формы, СЛ – синаптическая лента, ОТ – осмиофильное тельце. Секреторные везикулы обозначены стрелками, цистерны – двойными стрелками, мембранные структуры перикапиллярного пространства (ПКП) – звёздочками, Ф – фенестра

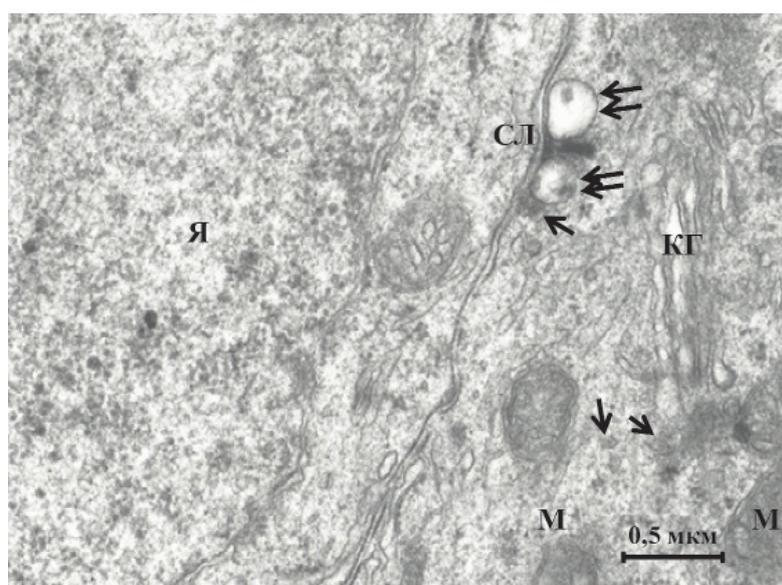


Рис. 2. Митохондрии, синаптическая лента, цистерны и секреторные везикулы в пинеалоците гипериллюминированной крысы: КГ – комплекс Гольджи, Я – ядро соседнего пинеалоцита, другие обозначения те же

Крупные размеры, извитая и выпукловогнутая форма, по-видимому, делает более эффективным взаимодействие митохондрий с окружающими структурами цитоплазмы пинеалоцитов при стрессе. Известно, что митохондрии не только обеспечивают энергией процессы синтеза веществ, двигательную активность компонентов цитоскелета, но и участвуют в обмене кальция, возможно,

в наполнении цистерн гладкой эндоплазматической сети и осмиофильных телец кальцием с отложением конкреций. Везикулы с электронно-плотной гранулой, производные комплекса Гольджи, и осмиофильные тельца с вкраплениями электронно-плотных конкреций, производные комплекса Гольджи, лизосом и эндоплазматического ретикулума, в свою очередь, возможно,

благодаря смещению песчинок, оказывают влияние на цитоскелет, опосредованный клеточными мембранами транспорт веществ, формирование синаптических лент и сфер. Увеличение числа синаптических лент и сфер в месте контакта пинеалоцитов с капиллярами и друг с другом при активизации деятельности шишковидной железы делает обоснованным предположение об их участии в механизме секреции и синхронизации функциональной активности клеток [12]. По данным литературы [10], митохондрии, кроме того, могут быть задействованы в обмене индоламинами. Индоламин мелатонин способен проникать через клеточные мембраны, связываться с белком-носителем в секреторных везикулах, производных комплекса Гольджи.

Секреция сопровождается вытеснением кальцием мелатонина из комплекса с белком-носителем, отложением мозгового песка в перикапиллярном пространстве и включением мелатонина в кровотоки. Не исключено, что структуры с конкрециями – везикулы и осмиофильные тельца также задействованы в транспорте и секреции мелатонина, отложении мозгового песка. Мерокринная нейросекреция, высвобождение через поры в плазмолемме содержимого секреторных везикул с электронно-плотной сердцевиной, окружённой светлым ободком, производных комплекса Гольджи, не является единственным механизмом, проявляющимся в шишковидной железе у грызунов при различных видах стресса.

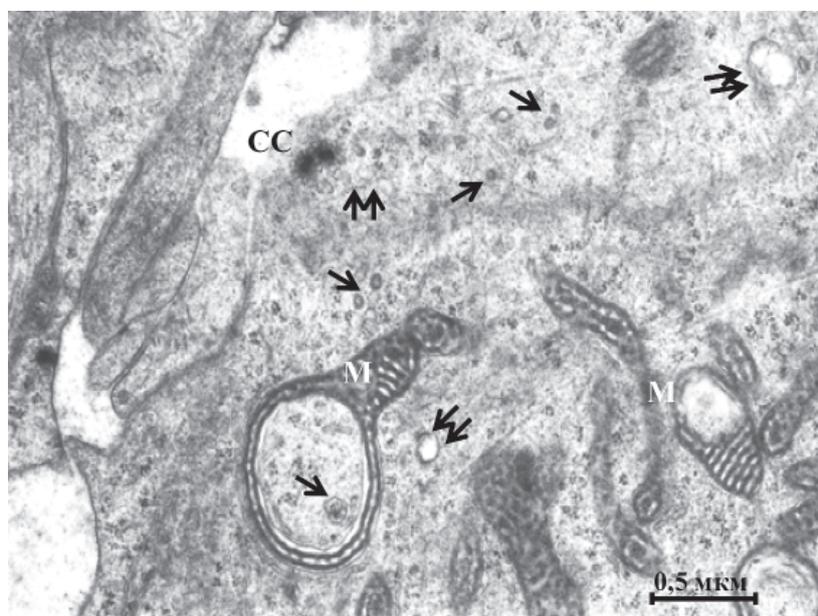


Рис. 3. Ковшеобразные митохондрии, секреторные везикулы и цистерны в пинеалоците у полёвки совместного содержания:
 CC – синаптические сферы, другие обозначения те же

Наличие мембранных структур с электронно-плотным материалом в перикапиллярном пространстве и теряющих рибосомы фрагментов цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума в перикарионах пинеалоцитов свидетельствует об апокринной эпэндимоподобном характере секреции, при которой также, как и при механизме, подобном нейросекреции, организуются характерные комплексы митохондрий, синаптических лент и сфер, везикул, цистерн и осмиофильных телец с конкрециями.

Заключение

Проведённое морфологическое исследование даёт основание рассматривать комплексы, состоящие из удалённых от ядра стопок Гольджи, цистерн и осмиофильных телец с зёрнами электронно-плотного материала, гигантских извитых и ковшеобразных митохондрий, синаптических лент и сфер, гранулярных секреторных везикул и компонентов цитоскелета морфологическими маркерами секреторной активности пинеалоцитов у грызунов при различных видах стресса.

Список литературы

1. Герасимов А.В., Радченко Д.В. Способ гистохимического выявления мелатонина // Патент России № 2099706.1997. Бюл. № 35.
2. Герасимов А.В. Функциональная морфология нейронов супрахиазматических ядер гипоталамуса крыс после комбинированного воздействия рентгеновского излучения и света // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2003. – Т. 43, № 4. – С. 389–395.
3. 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.
4. Герасимов А.В. Морфология шишковидной железы мышей с задержкой полового созревания / А.В. Герасимов, С.В. Логвинов, В.П. Костюченко, Л.Б. Кравченко // Бюл. сибирской медицины. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 22–25.
5. Герасимов А.В. Ультраструктурные особенности пинеалоцитов шишковидной железы грызунов в возрастном аспекте / А.В. Герасимов, В.П. Костюченко, С.В. Логвинов, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 12, ч. 3. – С. 449–452.
6. Герасимов А.В. Морфологические маркеры лунных изменений органов у крыс / А.В. Герасимов, В.П. Костюченко, Д.К. Гармаева Д.К., С.А. Фёдорова // Якутский мед. журн. – 2014. – № 1. – С. 13–16.
7. 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.
8. Логвинов С.В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Ультраструктура пинеалоцитов у крыс при воздействии света и радиации // Морфология. – 2004. – Т. 125, № 1. м. С. 71–75.
9. Логвинов С.В., Герасимов А.В. Циркадианная система и адаптация. Морфофункциональные и радиобиологические аспекты. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. – 200 с.
10. Karasek M., Reiter R.J. Morphofunctional aspects of the mammalian pineal gland // *Microsc. Res. Tech.* – 1992. – Vol. 21. – P. 136–157.
11. Karasek M. Effects of superior cervical gangliectomy on the ultrastructure of pinealocytes in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*): quantitative study / M. Karasek, A. Zielinska, K. Marek, J. Swietoslowski // *Neuro Endocrinol. Lett.* – 2002. – Vol. 23, № 5–6. – P. 443–446.
12. 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., Radchenko D.V. *Method of the histochemical development of melatonin – Patent Rus.*, no. 2099706., 1997, Bul. no. 35.
2. Gerasimov A.V. *Functional morphology of the neurons of the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus of rats after*

the combined action of X-irradiation and light exposure – Rad. Biol. Radioecol., 2003, Vol. 43, no. 4, pp. 389–395.

3. 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.

4. Gerasimov A.V., Logvinov S.V., Kostyuchenko V.P., and Kravchenko L.B. *Morphology of the pineal gland of forest mice with the delay of sexual ripening – Bul. Siberian Med.*, 2012, Vol. 10, no. 4, pp. 22–25.

5. Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P., Logvinov S.V., Potapov A.V., Varakuta E.Yu. *Ultrastructural special features of pinealocytes of the pineal gland of rodents in the aspect dependent on age – Fundamental Res.*, 2013, no. 12, 3, pp. 449–452.

6. Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P., Garmaeva D.K., Fedorova S.A. *Morphological markers of lunaphasing changes in the organs in rats – Yakut Med. J.*, 2014, no. 1, pp. 13–16.

7. Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Kostyuchenko V.P. *Epiphysis morphology under light and radiation exposure in experiment – Bul. Siberian Med.*, 2003, Vol. 2, no. 3, pp. 36–41.

8. 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.

9. Logvinov S.V., Gerasimov A.V. *Tsyrkadiannaya sistema i adaptatsiya. Morfofunktsionalnye i radiobiologicheskie aspekty* [Circadian system and adaptation. Morphofunctional and radiobiological aspects]. Tomsk: «Pechatnaya manufaktura», 2007, 200 p.

10. Karasek M., Reiter R.J. *Morphofunctional aspects of the mammalian pineal gland – Microsc. Res. Tech.*, 1992, Vol. 21, pp. 136–157.

11. 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.

12. Vollrath L. *Functional anatomy of the human pineal gland – Pineal Res.*, ed. R.J. Reiter, N.Y.: Raven Press, 1984, pp. 285–322.

Рецензенты:

Солонский А.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» СО РАМН, г. Томск;

Муштафина Л.Р., д.м.н., заведующая лабораторией кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 24.10.2014.