

УДК 612.826.4.014.44

К.В. Власова*Кафедра медичної біології та генетики (зав. – проф. Р.С. Булик) ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, м. Чернівці***УЛЬТРАМІКРОСКОПІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ СУПРАОПТИЧНОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА ЩУРІВ ЗА УМОВ ГІПЕРЛЮМІНАЦІЇ**

Резюме. Досліджено ультрамікроскопічну організацію нейросекреторних клітин супраоптичних ядер переднього гіпоталамуса щурів. За стандартного режиму освітлення (12.00С:12.00Т) ультраструктура нейронів свідчить про зниження їх функціональної активності у світловий період доби та зростання – у темновий період доби. Світловий стрес (24.00С:00Т) призводить до істотного десинхронізму та спричинює деструктивні зміни компонентів досліджуваних структур, які більш виражені о 02.00 год.

Ключові слова: супраоптичні ядра гіпоталамуса, постійне освітлення, електронна мікроскопія.

Періодична зміна дня і ночі (фотоперіодизм) є визначальним чинником у формуванні біологічних ритмів [1]. Вагому роль у адаптації організму до зміни освітленості відіграє гормон шишкоподібної залози (ШЗ) – мелатонін (МТ). Саме в темновий період доби виробляється близько 70% добової кількості МТ, який володіє антиоксидантним, антистресовим, геропротекторним та іншими ефектами [2].

Світлова інформація, що сприймається фоторецепторами сітківки, передається по ретиногіпоталамічному шляху (наявних у ньому гангліонарних клітинах сітківки) і волокнах супраоптичних (СОЯ), супрахіазматичних (СХЯ), паравентрикулярних (ПВЯ), аркуатних ядрах гіпоталамуса, через стовбур верхньої грудної частини і латеральні інтермедіальні ядра спинного мозку, симпатичні нейрони верхнього шийного ганглія в ШЗ. У темряві сигнали від СХЯ посилюють синтез і вивільнення норадреналіну із симпатичних закінчень. У свою чергу, цей нейромедіатор збуджує рецептори на поверхні клітин ШЗ, стимулює синтез основного гормону – МТ [3, 4]. Від ШЗ інформація про світловий режим навколишнього середовища надходить у внутрішнє середовище організму [5, 6].

Серед мозкових структур, залучених до забезпечення часової організації фізіологічних функцій, у відповідь на зміну фотоперіоду чільне місце посідають СОЯ гіпоталамуса [7, 8], проте вплив зміненого фотоперіоду на ультраструктуру нейросекреторних клітин СОЯ гіпоталамуса щурів вивчено недостатньо.

Мета дослідження: з'ясувати субмікроскопі-

чні перебудови нейросекреторних клітин супраоптичних ядер гіпоталамуса в різні добові періоди при цілодобовому освітленні.

Матеріал і методи. Експерименти проведені на 40 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 0,15-0,18 кг. Тварин утримували в твариннику при сталій температурі, вологості повітря та вільному доступі до води і їжі. Експериментальні тварини розподілені на дві серії, у кожній з яких забір біоматеріалу здійснювався о 14.00 год і о 02.00 год. Обрані терміни проведення експерименту зумовлені різною функціональною активністю ШЗ у вказані часові періоди доби.

Тварини першої серії (інтактні) перебували 7 діб за умов стандартного світлового режиму (світло з 08.00 до 20.00 год, освітленість люмінесцентними лампами на рівні кліток 500 лк). Щури другої серії перебували за умов цілодобового постійного освітлення (моделювання гіпофункції шишкоподібної залози) впродовж 7 діб. На восьмий день експерименту о 14.00 год і 02.00 год здійснювали виведення тварин з експерименту шляхом одномоментної декапітації під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг внутрішньоочеревинно).

Для електронно-мікроскопічного дослідження нейронів СОЯ гіпоталамуса забір матеріалу проводили згідно з загальноприйнятими правилами. Для дослідження з головного мозку щурів, у місці виходу зорових нервів, вирізали тонку, суцільну пластинку товщиною 1,0-1,5 мм, яка охоплювала супраоптичні ядра. Цю пластинку фіксували в 2,5% розчині глютаральдегіду, який готували на фосфатному буфері Міллонга з активною реакцією середовища рН 7,2-7,4. Фіксований ма-

теріал переносили у буферний розчин і промивали впродовж 20-30 хв. Після цього впродовж 60 хв здійснювали постфіксацію матеріалу, використовуючи для цього 1% розчин чотириокису осмію на буфері Міллонга. Далі проводили дегідратацію матеріалу в спиртах і ацетоні та заливали в суміші епоксидних смол відповідно до загальноприйнятої методики. Дослідження в нічний період доби проводили при слабкому (2 лк) червоному світлі, яке практично не впливає на біосинтез мелатоніну ШЗ. Комісією з біоетичної експертизи ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет" встановлено, що всі етапи експерименту проведено з дотриманням основних вимог Гельсінської декларації та вимог Ради Європи щодо прав людини та біомедицини (1977), положень ВООЗ, Міжнародного кодексу медичної етики (1983) та законів України (протокол № 22 від 28 листопада 2007р.).

Результати дослідження та їх обговорення.

Субмікроскопічні дослідження СОЯ гіпоталамуса інтактних тварин о 14.00 год показали, що більшість нейросекреторних клітин (НСК) округло-овальної форми з поодинокими інвагінаціями та ядра неправильної форми з неглибокими інвагінаціями каріолеми. Каріоплазма містить грудочки хроматину та щільне осміофільне ядереце. Нейроплазма займає невеликий об'єм, у ній щільно упаковані з невеликим просвітом каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, де спостерігається багато рибосом та полісом, а також невелика кількість рівномірно розподілених гранул. Біля комплексу Гольджі утворюються секреторні гранули різних розмірів. Невеликі зі щільним матриксом мітохондрії містять не багато крист. Деякі з них знаходяться в енергетично напруженому стані, здатні гіпертрофуватися та частково втрачати кристи або й гинути. Проте даний процес фізіологічний і в нормі характеризується циклічним перебігом. У нейроплазмі таких НСК незначна кількість гормональних гранул, розсіяних по цитоплазмі. Вказана субмікроскопічна організація НСК віддзеркалює невисоку функціональну активність (рис. 1).

Дослідження ультраструктурної організації СОЯ гіпоталамуса в інтактних тварин о 02.00 год показали, що для НСК характерні ядра, каріолема яких значно нерівна, має глибокі інвагінації, що збільшує площу взаємодії ядра і цитоплазми. Розміри ядра, ядереця та щільність органел у клітинах дещо більші ніж у денний проміжок часу. У каріоплазмі переважає еухроматин, помітні лише невеликі грудочки гетерохроматину.

У нейроплазмі більшості НСК є довгі кана-

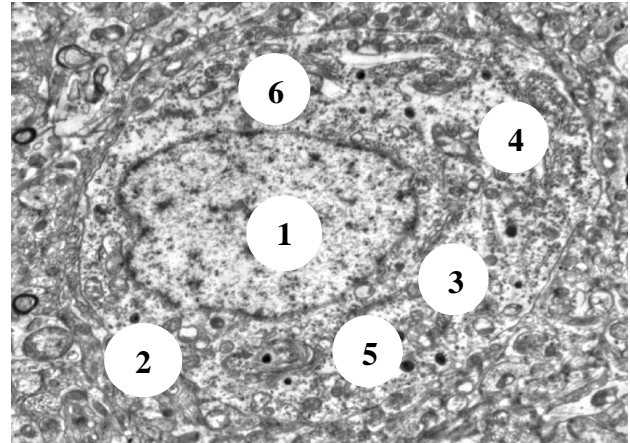


Рис. 1. Ультраструктура нейросекреторної клітини СОЯ гіпоталамуса інтактної тварини о 14.00 год: 1 – неправильної форми ядро з інвагінаціями; 2 – електроннощільна нейроплазма; 3 – каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму; 4 – комплекс Гольджі; 5 – секреторні гранули; 6 – мітохондрії з невеликою кількістю крист. Зб. x10000

льці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму з вузьким просвітом, а на мембранах органели розташовані рибосоми. Диктіосоми комплексу Гольджі лежать парануклеарно, вони невеликі і мають неширокі цистерни, де формуються нейрорегуляторні гранули. В окремих полях зору за невеликого збільшення електронного мікроскопа спостерігається розташування невеликих осміофільних нейросекреторних гранул навколо комплексу Гольджі і в аксоні, що відходить від цієї клітини. Така картина вказує на активний функціональний стан клітин СОЯ (рис. 2).

У тварин, які перебували впродовж семи діб за умов світлової стимуляції, ультраструктурна організація СОЯ гіпоталамуса о 14.00 год віддзер-

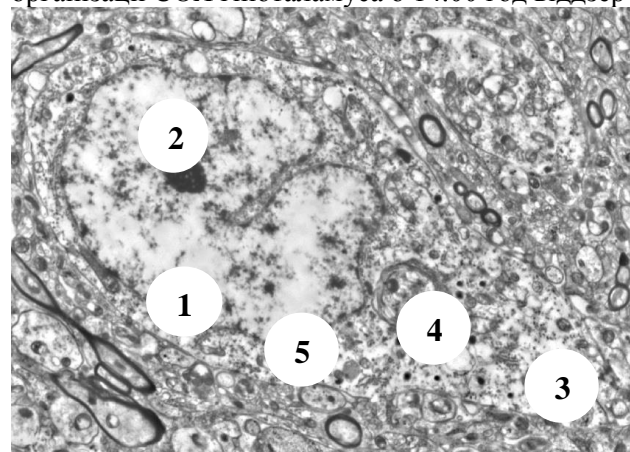


Рис. 2. Субмікроскопічний стан нейрона СОЯ гіпоталамуса щура о 02.00 год за умов стандартного освітлення: 1 – неправильної форми електроннощільне ядро з інвагінаціями; 2 – велике ядереце; 3 – нейроплазма; 4 – секреторні гранули біля комплексу Гольджі; 5 – мітохондрії. Зб. x10000

калилася наявністю світлих НСК з набряковими явищами, що містять крупні ядра округлої форми, маленькі ядерця та інвагінацію каріолеми. У їх каріоплазмі здебільшого виявляється еухроматин та наявні ділянки гетерохроматину. У нейроплазмі нейронів СОЯ встановлені деструктивні зміни органел. Фрагментація і розширення каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулуму та цистерн комплексу Гольджі, майже повна відсутність пухирців. Руйнування мітохондрій супроводжується утворенням вакуолей, помітне локальне просвітлення гіалоплазми. У таких НСК вміст гормональних гранул незначний і свідчить про виснаження структурної одиниці (рис. 3).

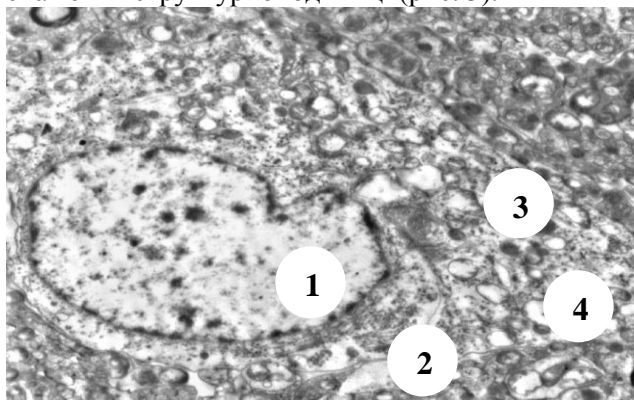


Рис. 3. Субмікроскопічна організація нейронів СОЯ гіпоталамуса щурів о 14.00 год за умов постійного освітлення: 1 – інвагінації каріолеми світлого нейрона; 2 – розширені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму; 3 – деструкція комплексу Гольджі; 4 – вакуолізовані структури. Зб. $\times 14000$

За умов 24-годинного освітлення впродовж 7-ми діб субмікроскопічно в СОЯ гіпоталамуса о 02.00 год встановлені темні НСК, що мають пікнотично змінені ядра з нерівними контурами зменшеними ядерцями, погано вираженими ядерними порами. Нейроплазма підвищеної електронної щільності, нечітко контуруються мембранні органели. Виявлено осередкове розширення каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулуму та цистерн комплексу Гольджі з утворенням вакуолеподібних структур. Частина мітохондрій вакуолізувались, інші мають світлий матрикс і редуковані кристи, гранули гормону поодинокі (рис. 4).

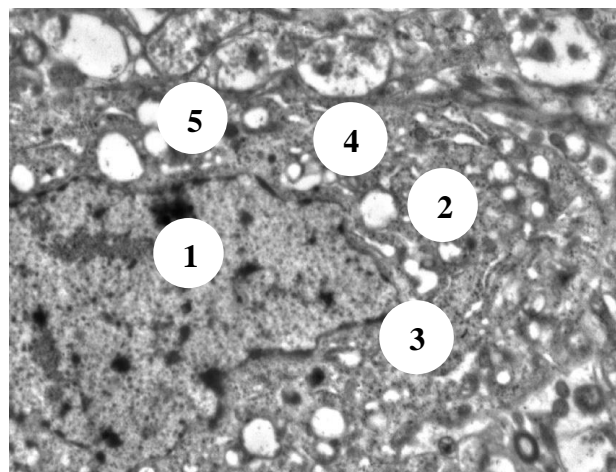


Рис. 4. Ультраструктурна організація нейросекреторних клітин СОЯ гіпоталамуса щура о 02.00 год під дією світлової стимуляції: 1 – еухроматинове ядро темного нейрона; 2 – електроннощільна гіалоплазма; 3 – деструкція комплексу Гольджі; 4 – розширені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму; 5 – вакуолізовані структури. Зб. $\times 16000$

Описаний вище ультраструктурний стан свідчить про зниження функціональної активності структур з елементами набряку та деструкції.

Таким чином, виявлені субмікроскопічні зміни нейронів СОЯ гіпоталамуса можна розглядати як розвиток десинхронозу, внаслідок зниження продукції гормону МТ ШЗ.

Висновок. Ультрамікроскопічна організація клітин супраоптичних ядер переднього гіпоталамуса щурів за стандартного режиму освітлення свідчить про зниження функціональної активності нервових клітин у світловий та її зростання – у темновий період доби. Світловий стрес призводить до істотного десинхронозу та циркадіанного пригнічення активності нейроцитів впродовж періоду спостереження. За моделювання гіпофункції шишкоподібної залози патологічні зміни компонентів досліджуваних структур більш виражені о 02.00 год.

Перспективи подальших досліджень. У даному напрямку дадуть змогу глибше пізнати механізми формування циркадіанних ритмів головного мозку вищих ссавців та місце і роль супраоптичних ядер гіпоталамуса, шишкоподібної залози в забезпеченні циркадіанного періодизму.

Список використаної літератури

1. Разыграев А.В. Пути циркадного контроля продукции гонадотропинрилизинг гормона / А.В. Разыграев, А.В. Керкешко, А.В. Арутюнян // Ж. акушерства и жен. болезней. – 2011. – Т. 60, № 2. – С. 88-98.
2. Чибисов С.М. Биоритмы и космос: мониторинг космобиосферных связей / С.М. Чибисов, Г.С. Катинас, М.В. Разульская. – М.: Монография, 2013. – 442 с.
3. Halmos T. Physiological and pathophysiological role of the circadian clock system / T. Halmos, I. Suba / Orv. Hetil. – 2012. – Vol. 153(35). – P. 1370-1379.
4. Circadian endocrine rhythms: the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and its actions / N.C. Nicolaidis, E. Charmandari, G.P. Chrousos, T. Kino / Acad. Sci. – 2014. – Vol. 1318. – P. 71-80.
- 5.

Circadian clock control of endocrine factors / K.L. Gamble, R. Berry, S.J. Frank, M.E. Young / Nat. Rev. Endocrinol. – 2014. – Vol. 10(8). – P. 466-475. 6. Phase relationships between core body temperature, melatonin, and sleep are associated with depression severity: Further evidence for circadian misalignment in non-seasonal depression / B.P. Hasler, D.J. Buysse, D.J. Kupfer, A. Germain // Psychiatry Research. – 2010. – Vol. 178. – P. 205-207. 7. Пішак В.П. Молекулярно-генетичні механізми часової організації фізіологічних функцій у ссавців / В.П. Пішак, Р.С. Булик, К.В. Власова // Бук. мед. вісн. – 2014. – Т. 18, № 1(69) – С. 172-177. 8. Wood S. Clocks for all seasons: unwinding the roles and mechanisms of circadian and interval timers in the hypothalamus and pituitary / S. Wood, A. Loudon / J. Endocrinol. – 2014. – Vol. 222(2). – P. 39-59.

УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СУПРАОПТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС В УСЛОВИЯХ ГИПЕРИЛЛЮМИНИЗАЦИИ

Резюме. Исследована ультрамикроскопическая организация нейросекреторных клеток супраоптических ядер переднего гипоталамуса крыс. При стандартном режиме освещения (12.00С:12.00Т) ультраструктура нейронов свидетельствует о снижении их функциональной активности в дневной период и повышается – в ночной период суток. Световой стресс (24.00С:00Т) вызывает существенный десинхроноз и деструктивные изменения компонентов клеток исследуемых структур, которые более выражены в 02.00 ч.

Ключевые слова: супраоптические ядра гипоталамуса, постоянное освещение, электронная микроскопия.

ULTRAMICROSCOPIC ORGANIZATION OF SUPRAOPTIC HYPOTHALAMUS NUCLEUS OF RATS UNDER CONDITIONS OF HYPERILLUMINIZATION

Abstract. Ultramicroscopic organization of neurosecretory cells of supraoptic nuclei of the anterior hypothalamus of rats has been examined. Under the standard light regimen (12.00С:12.00Т) the ultrastructure of neurons is indicative of decrease of their functional activity during the light period of day, and increase – during the dark period of day. Light stress (24.00С:00Т) results in considerable desynchronization and causes destructive changes of the components of the examined structures which become more pronounced at 2 a.m. due to inhibition of the pineal gland activity.

Key words: supraoptic nuclei of the hypothalamus, continuous light, electron microscopy.

Higher State Educational Establishment of Ukraine
“Bukovinian State Medical University” (Chernivtsi)

Надійшла 12.10.2015 р.

Рецензент – проф. Черно В.С. (Миколаїв)