

ПОКАЗАТЕЛИ МОДУЛИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ НА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОНОВ ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА МОЗГА

© А. В. Ахмадеев, Л. Б. Калимуллина

*Кафедра морфологии и физиологии человека и животных Башкирского государственного университета, Уфа;
электронный адрес: mpha@ufanet.ru*

Исследована ультраструктура перикарионов нейронов дорсомедиального ядра миндалевидного комплекса мозга у самцов крыс и у самок на различных стадиях эстрального цикла. Выявлены основные функциональные состояния, характеристики которых отражают явления гормонзависимой функциональной реверсии, предопределяемой колебаниями уровней половых стероидов.

Ключевые слова: зоны полового диморфизма, дорсомедиальное ядро миндалевидного комплекса мозга, половые стероиды.

Принятые сокращения: ЗПД — зоны полового диморфизма, МК — миндалевидный комплекс мозга, Med — дорсомедиальное ядро МК, ЭЦ — эстральный цикл, ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть, ER α — эстрогенный рецептор α -типа, ER β — эстрогенный рецептор β -типа, AR — андрогенный рецептор, ПС — половые стероиды.

Дорсомедиальное ядро (Med) находится в заднем отделе МК и входит в состав его древней части — палеоамигдалы (Акмаев, Калимуллина, 1993; Ахмадеев, Калимуллина, 2004). В формировании Med в онтогенезе и его функционировании во взрослом организме большую роль играют ПС. Морфогенетическое действие андрогена в периоде половой дифференциации мозга (ПДМ) приводит к формированию в нем полового диморфизма (Акмаев, Калимуллина, 1993). При этом активность ароматазной и редуказной систем ферментов, участвующих в ПДМ, сохраняется в постнатальном периоде, предопределяя метаболические перестройки в нем ПС (Shinoda et al., 1994).

Во взрослом организме нервные клетки Med испытывают активизирующее (модулирующее) влияние ПС. Колебание уровней ПС происходит в динамике ЭЦ, а также имеет суточную и сезонную динамику как в женском, так и в мужском организме (Tetel et al., 2004). Известно, что колебания уровней ПС в ЭЦ приводят к изменению размера ядер нейронов Med у крыс обоего пола (Акмаев, Калимуллина, 1982; Калимуллина, 1989; Cooke et al., 2003) и сопровождаются сдвигами в ^3H -эстрдиолсвязывающей активности (Asribekova, Kalimullina, 1989) и изменениями уровня экспрессии ER α , ER β и AR (Isgor et al., 2002; Tetel et al., 2004). Указанные данные свидетельствуют о значении ПС в регуляции активности нейронов этого ядра, вовлеченного в состав функциональных систем мозга, участвующих в обработке обонятельной информации, организации полового и социального поведения, регуляции деятельности репродуктивных центров гипоталамуса (Акмаев, Калимуллина, 1993; Shughrue et al., 2002; Cooke et al., 2003; Cushing et al., 2004).

Цитоархитектоника, нейронная организация Med и цитологические характеристики составляющих его нервных клеток приведены ранее (Калимуллина и др., 2000). Исследование структурно-функциональных характеристик «светлых» и «темных» клеток Med в динамике ЭЦ показало, что они меняются в зависимости от концентраций ПС и между ними существуют взаимные перестройки (Ахмадеев, Калимуллина, 2004). Анализ ультраструктуры нейронов Med на отдельных стадиях ЭЦ (Ахмадеев, Калимуллина, 2004; Akhmadeev, 2005) позволил дифференцировать такие функциональные состояния нейронов Med, как «умеренная активность», «повышенная активность» и «покой», однако интерпретация состояния «темных» клеток вызывала затруднения. Поэтому основной задачей настоящей работы явилось исследование ультраструктурной организации перикарионов нейронов Med у самцов и самок крыс на фоне колебания уровней ПС с целью выявления всего спектра функциональных состояний нейронов и подсчет их представительства у самцов и на различных стадиях ЭЦ у самок крыс.

Материал и методика

Материал для электронно-микроскопического исследования был взят у 12 крыс (по 3 самки на стадиях эструса, метэструса и диэструса, а также 3 самца). Стадии ЭЦ определяли по цитологической картине влагалищных мазков. Кусочки ткани, содержащие Med, извлекали из головного мозга под контролем микроскопа с помощью специального устройства, описанного в патенте РФ № 1679246. Материал фиксировали погружением в охлажденный 2.5%-ный

раствор глутаральдегида на фосфатном буфере (рН 7.4) и постфиксировали в 2%-ном растворе OsO₄, обезвоживали в этаноле и заливали в Эпон-812. Срезы готовили на ультратоме LKB III, контрастировали цитратом свинца (Reynolds, 1963) и анализировали в электронном микроскопе JEM 200 EX (75 кВ). Морфометрию ядрышка и его компонентов осуществляли на фотографиях при увеличении 28 000 ×. Статистическую обработку полученных данных проводили при использовании программы Statistica 5.5.

Результаты

Анализ ультраструктуры нейронов позволил выделить ряд состояний, характеристика которых приводится ниже.

Состояние «покоя» отражает режим спокойного функционирования нейронов. Для них характерно наличие светлого, богатого эухроматином клеточного ядра с расположенным в его центральных зонах компактным ядрышком. Эухроматин представлен равномерно распределенными тонкими нитчатыми структурами. Перинуклеарное пространство узкое (50 нм). В кариоплазме выявляются отдельные мелкие гранулы — интерхроматиновые (20 нм) и перихроматиновые (от 40 до 60 нм). Ядрышко имеет четкие контуры, в нем выявляются крупные светлые фибриллярные центры. Небольшие глыбки конденсированного хроматина располагаются равномерно в различных зонах кариоплазмы (хромоцентрах), около ядрышка и под внутренней ядерной мембраной.

В цитоплазме представлены узкие каналцы ГЭС, небольшие скопления полисом и умеренное количество митохондрий округлой или овальной формы с поперечно расположенными кристами. Матрикс митохондрий обладает умеренной осмиофилией. Комплекс Гольджи представлен стопками уплощенных цистерн, имеющих различную протяженность, располагается в перинуклеарной зоне. К боковым поверхностям цистерн прилежат незначительное количество микропузырьков и отдельные вакуоли. Вблизи от комплекса Гольджи или около плазматической мембраны можно найти отдельные везикулы с плотным центром, диаметр которых варьирует от 60 до 275 нм. В цитоплазме клеток выявляются первичные лизосомы и отдельные липофусциновые гранулы.

Состояние «умеренной активности» характеризуется появлением в ядрах признаков транскрипционной активности, увеличением и разрыхлением ядрышка. Ядрышко смещается к ядерной мембране, на его поверхности появляются неровности, формируемые гранулами. В ядрышке увеличивается число малого размера фибриллярных центров, обрамленных зоной выраженной осмиофилии — плотным фибриллярным компонентом. Количество краевого хроматина под внутренней ядерной мембраной снижается. Перинуклеарное пространство местами расширяется и переходит в расширенные каналцы ГЭС. Число ядерных пор увеличивается. Поверхность клеточного ядра становится волнистой. В кариоплазме появляются небольшие очаговые скопления интерхроматиновых гранул. Они различаются по величине занимаемой площади. Выявляются пучки перихроматиновых фибрилл, они либо имеют вид параллельно расположенных фибрилл, либо их концы расходятся веерообразно.

При этом ядро остается светлым, в то время как цитоплазма за счет увеличения числа каналцев ГЭС, нарастания числа прикрепленных и свободных рибосом, полисом, гипертрофии и гиперплазии темных митохондрий становится умеренно электронно-плотной. Длина митохондрий увеличивается, между митохондриями формируются контакты. Определяются изменение ориентации крист и их неравномерное расположение. Умеренная гипертрофия комплекса Гольджи проявляется расширением просвета цистерн и увеличением числа транспортных пузырьков, а также появлением мелких и крупных осмиофильных гранул секрета. В цитоплазме определяется увеличенное число первичных лизосом. Выявляемые везикулы с плотным центром имеют размер от 60 до 275 нм.

Состояние «повышенной активности» характеризуется содержанием большого количества гранулярного материала в кариоплазме. Но в зонах, свободных от гранулярного материала, кариоплазма остается светлой, т. е. проницаемой для электронов. В этих светлых участках удается видеть отдельные фибриллы, характерные для эухроматина. Гранулярный материал в кариоплазме представлен скоплениями интерхроматиновых гранул, которые формируют очаги в различных ее зонах. Около очагов краевого гетерохроматина присутствуют перихроматиновые гранулы. Ядро и ядрышко увеличены в размерах. В ядрышке, которое располагается эксцентрично, выявляются небольших размеров фибриллярные центры с плотным фибриллярным компонентом. Перинуклеарное пространство в отдельных участках расширяется, размеры ядерных пор увеличиваются. Формируются складки ядерной мембраны, в участки инвагинаций поверхности ядра проникают язычки цитоплазмы.

В перинуклеарной зоне цитоплазмы определяется «пояс» из митохондрий, количество и размеры которых увеличены. Митохондрии имеют темный матрикс, число крист увеличено, между митохондриями выявляются контакты. Наблюдается очаговое расширение каналцев ГЭС, которые преобразуются в цистерны. Просвет расширенных каналцев ГЭС свободен от содержимого. Число прикрепленных рибосом на поверхности их мембран уменьшается, а число свободных рибосом и полисом в цитоплазме возрастает. Полисомы в цитоплазме распределены неравномерно. Заметна гипертрофия комплекса Гольджи (можно видеть несколько его комплексов с расширенными цистернами, хорошо развитым вакуолярным компонентом и множеством транспортных пузырьков). Определяется появление мультивезикулярных, а также мультиламинарных телец. Везикулы с плотным центром находятся около комплекса Гольджи или около плазматической мембраны в субповерхностных зонах, их количество увеличивается по сравнению со стадией «умеренной активности».

Состояние «пика активности или напряжения» характеризуется высокой электронной плотностью увеличенного в размерах ядра, в котором определяется не только большое количество гранулярного материала, но и присутствует осмиофильная мелкозернистая субстанция.

Ядрышко рыхлое, увеличенное в размерах, с хорошо различимым гранулярным компонентом, большим числом фибриллярных центров, имеющих плотный фибриллярный компонент. В осмиофильной кариоплазме определяются как в центральных, так и краевых зонах большие по занимаемой площади скопления интерхроматиновых

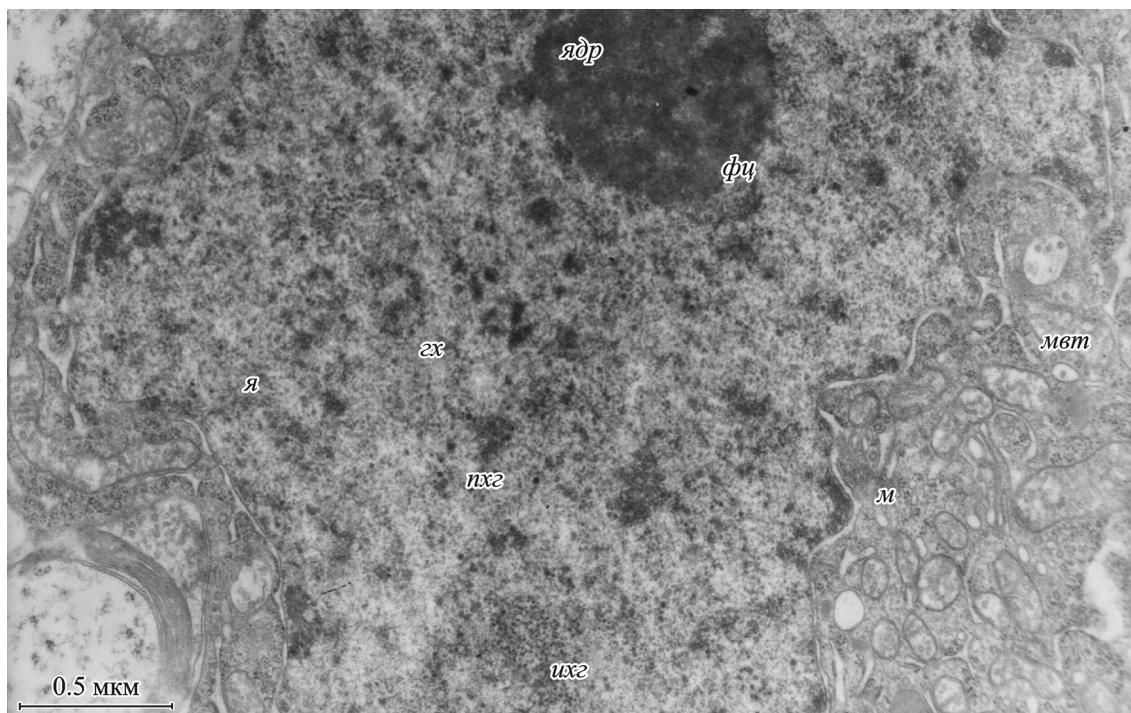


Рис. 1. Ультраструктура нейрона Med в состоянии «пика активности».

я — ядро, ядр — ядрышко, фу — фибриллярные центры, ихг — интерхроматиновые гранулы, эх — гетерохроматин, пхг — перихроматиновые гранулы, м — митохондрии, мвт — мультивезикулярные тельца.

гранул, для которых в отличие от остального гранулярного материала, представленного в ядре, характерны выраженная осмиофилия и четкость контуров. Интерхроматиновые гранулы располагаются рыхло и имеют диаметр 20—25 нм. Количество перихроматиновых гранул увеличено.

В центральных зонах кариоплазмы выявляются различные по величине и плотности участки гетерохроматина, около которых находятся перихроматиновые гранулы, количество которых может достигать от 3 до 6. Перинуклеарное пространство равномерно расширено, размеры ядерных пор увеличены. Поверхность ядра складчатая (рис. 1).

Канальцы ГЭС расширены, на поверхности ее мембран число прикрепленных рибосом снижено, между цистернами лежат скопления полисом. Комплекс Гольджи достигает высокого уровня развития: определяются 3—4 комплекса с хорошо развитым мембранным компонентом. Локализуется он в перинуклеарной зоне, около него определяется формирование секреторных везикул. Много гипертрофированных митохондрий, среди которых могут быть и со светлым матриксом. Определяется тесный контакт митохондрий с цитомембранами — ГЭС, комплекса Гольджи, наружной ядерной мембраной. Могут быть выявлены и явления блеббинга ядерной мембраны в мембраны комплекса Гольджи. Часто встречаются мультивезикулярные и мультиламинарные тельца.

Структурная организация нейронов указывает на высокую интенсивность протекающих в них транскрипционных процессов. Осмиофилия кариоплазмы, возможно, свидетельствует об увеличении содержания в клеточном ядре белков, принимающих участие в транспорте создаваемых РНК в цитоплазму и включающихся в процессы конденсации хроматина. Число хромоцентров возраста-

ет. В таких клетках, вероятно, происходят усиленно и процессы внутриклеточной регенерации, на что указывает появление мультиламинарных телец.

Состояние «снижения активности по первому типу» сопровождалось увеличением содержания гетерохроматина как в краевых, так и в центральных зонах ядра. При этом интерхроматиновые гранулы или не выявлялись, или их количество резко уменьшалось. Размер фибриллярных центров в ядрышке увеличивался, а их количество уменьшалось. Кариоплазма сохраняла осмиофилию за счет мелкозернистой и пылевидной субстанций. Плотное, уменьшенное в размерах ядрышко располагается в таких нейронах эксцентрично, имея контакт с хорошо выраженным краевым хроматином. Перихроматиновые гранулы около него или не выявляются, или единичны. Перинуклеарное пространство равномерно расширено. На поверхности ядра встречаются складки (рис. 2).

Цитоплазма, прилегающая к ядру, содержит полисомы, светлые митохондрии и липофусциновые гранулы. Комплекс Гольджи имеет вакуолярный компонент, просвет вакуолей свободен от содержимого. Канальцы ГЭС расширены, на поверхности ее мембран определяются редкие рибосомы. Митохондрии многочисленны, размер некоторых из них увеличен. Везикулы с плотным центром немногочисленны.

Данные нейроны, имеющие плотное ядрышко и увеличенные количества конденсированного хроматина в кариоплазме, могут быть расценены как завершившие транскрипционные процессы. Однако обилие полисом в цитоплазме показывает, что в них активно происходят процессы трансляции. Снижение активности по охарактеризованному варианту следует, очевидно, за стадией напряжения.

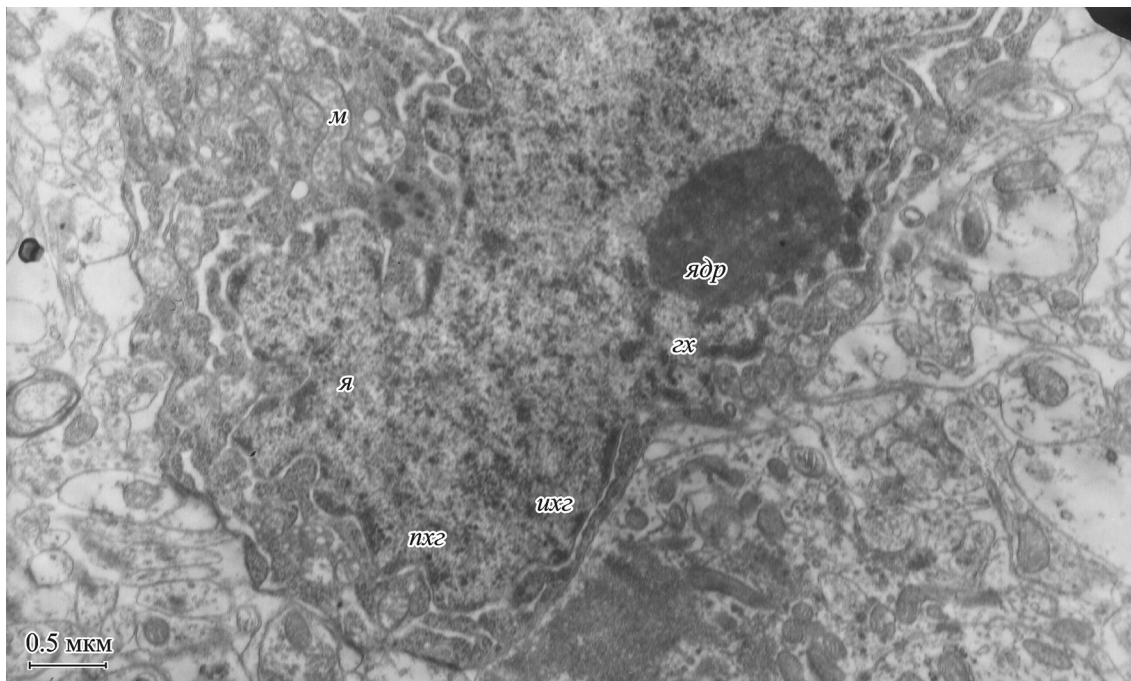


Рис. 2. Нейрон в состоянии «снижения активности по первому типу».

Обозначения те же, что и на рис. 1.

Снижение активности по второму типу определяется в других нейронах, которые носят характер переходных (светлое ядро и темная цитоплазма), в них определяется увеличенное в размерах ретикулярное ядрышко (рис. 3). В составе ядрышка выявляются 5—6 крупных фибриллярных центров и несколько мелких (рис. 4). Плотный фибриллярный компонент в них не определяется. Содержание гранулярного компонента в ядрышке снижено. Кариоплазма таких нейронов менее осмиофильна, чем в темных, которые описаны выше. Но

она имеет место и обусловлена наличием пылевидной субстанции, равномерно заполняющей клеточное ядро. Содержание краевого хроматина снижено, а гетерохроматин в центральных зонах ядра носит характер рыхло расположенных осмиофильных скоплений, около которых определяются перихроматиновые гранулы (рис. 4).

Перинуклеарное пространство расширено в отдельных участках до 150 нм. В этих зонах определяются увеличенные в размерах ядерные поры, число их не увеличено. В просвете перинуклеарного пространства

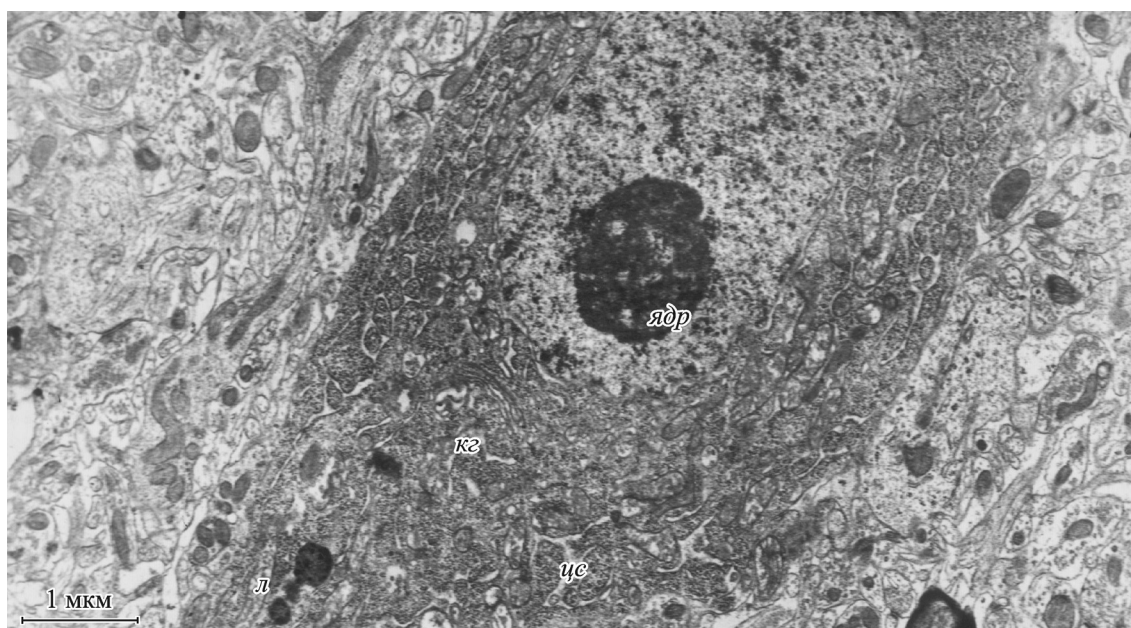


Рис. 3. Нейрон в состоянии «снижения активности по второму типу».

кг — комплекс Гольджи, л — лизосомы, цс — цитоплазматическая сеть; остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

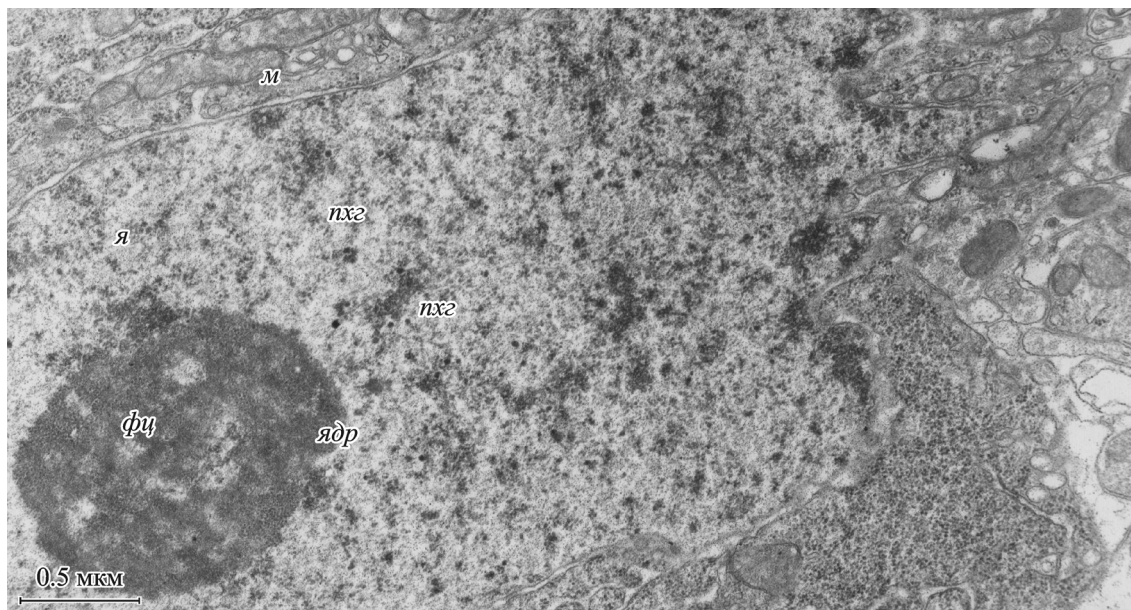


Рис. 4. Нейрон, показанный на рис. 3, при большем увеличении.
Обозначения те же, что и на рис. 1.

определяется пылевидная осмиофильная субстанция, в прилежащих зонах цитоплазмы много полисом и свободных рибосом. Внутри таких зон лежат митохондрии с темным матриксом и плохо различимыми кристами. В матриксе могут встречаться небольшие очаги просветления. Мембраны митохондрий — как наружная, так и внутренняя — хорошо структурированы. В наружных, субповерхностных, зонах цитоплазмы определяются длинные узкие каналцы ГЭС с редкими рибосомами. Местами каналцы расширяются, в прослойках цитоплазмы, прилежащих к каналцам, видны группы окаймленных пузырьков. Просвет каналцев свободен от содержимого. Цистерны комплекса Гольджи расширены, определяется формирование вакуолей. Вблизи от комплекса Гольджи определяются везикулы с плотным центром.

Эти нейроны, вероятно, отражают снижение функциональной активности тех из них, которые не прошли стадии «напряжения», а образовались из нейронов в состоянии «умеренной» или «повышенной» активности. Это, вероятно, отражает тот факт, что нейроны Med могут работать с различной функциональной нагрузкой. Возможно, подобные нейроны могут быть обозначены как снижающие свою функциональную активность путем ускоренной реверсии.

При изучении ультраструктуры нейронов на различных стадиях ЭЦ мы не встретили у самок крыс ни одной клетки с признаками повреждения (пикноморфных нейронов). Это позволяет предполагать, что нейроны способны возвращаться в исходное состояние, для того чтобы вновь активизироваться в следующую фазу ЭЦ.

Состояние «возврата к исходному состоянию» и ю». Характерной особенностью этих нейронов являются картины сегрегации компонентов ядрышка, проявляющиеся в их разобщении. Эти явления указывают на блокаду синтеза РНК в ядрышке. Содержание перихроматиновых гранул может быть различным. Ширина перинуклеарного пространства уменьшается (60 нм). Поверхность ядра может сохранять складки, однако в язы-

ках цитоплазмы, которые «проникают» в ядро, отмечается уменьшение плотности расположения полисом. Нейроны, снижающие свою функциональную активность, вновь приобретают характер светлых клеток. В клеточном ядре определяются умеренные скопления краевого хроматина, эухроматин представлен нежными фибриллярными структурами.

Снижается и число митохондрий, которые равномерно распределяются по цитоплазме. Они имеют округлую или овальную форму, небольшие размеры, четкие мембраны, умеренной осмиофилии матриксы. Канальцы ГЭС узкие, просвет свободен от содержимого. Они располагаются в различных зонах цитоплазмы, некоторые из них находятся в контакте с митохондриями. Комплекс Гольджи представлен различными по протяженности стопками уплощенных цистерн, около которых определяется небольшое число микропузырьков. В цитоплазме обнаруживаются отдельные мультивезикулярные тельца. Лизосомы единичны и несут характер гранул накопления или липофусциновых телец. В отдельных зонах цитоплазмы выявляются окаймленные пузырьки и везикулы с плотным центром.

На основании проведенного исследования мы выделили следующие функциональные состояния нейронов Med у самок крыс: 1) «покой», 2) «умеренная активность», 3) «повышенная активность», 4) «пик активности или напряжение», 5) «снижение активности по первому типу», 6) «снижение активности по второму типу», 7) «возврат к исходному состоянию». На различных стадиях ЭЦ можно найти все перечисленные разновидности, но количество нейронов того или иного состояния различается в зависимости от стадии ЭЦ (табл. 1). Из данных табл. 1 видно, что на стадии эструса преобладают нейроны в состояниях «повышенной активности» и «пика активности» (соответственно 40 и 26 %), при этом общая доля этих нейронов составляет 66 %. На стадии метэструса самая большая доля нейронов (30 %) находится в состоянии «снижения активности по первому типу».

Т а б л и ц а 1
Процентное соотношение функциональных состояний нейронов в дорсомедиальном ядре МК в динамике ЭЦ у самок и самцов крыс

Состояние нейронов	Самки на различных стадиях ЭЦ			Самцы
	мет-эструс	диэструс	эструс	
1. Покой	2	18		3
2. Умеренная активность	10	21	21	16
3. Повышенная активность	20	18	40	35
4. Пик активности, напряжение	25	20	26	22
5. Снижение активности по первому типу	30	16	10	17
6. Снижение активности по второму типу	7	2	3	3
7. Возврат к исходному состоянию	6	5		3
8. Пикноморфный нейрон				1

Примечание. За 100 % взято общее количество просчитанных нейронов.

Анализ ультраструктурных характеристик нейронов Med у самцов крыс позволил идентифицировать нейроны всех основных функциональных состояний, которые описаны выше у самок крыс. Однако только у самцов в составе изучаемого ядра мы нашли единичные пикноморфные нейроны, находящиеся в состоянии дегенерации и, вероятно, гибнущие путем апоптоза.

Наиболее информативными при морфометрии ультраструктуры нейронов Med, находящихся в различных

функциональных состояниях, оказались количественные характеристики ядрышка (табл. 2).

Обобщающая схема, отражающая различные состояния нейронов Med, представлена на рис. 5.

Обсуждение

Дорсомедиальное ядро МК является ЗПД, формирование которой происходит под организующим влиянием андрогена, а функционирование во взрослом организме — при активизирующем воздействии ПС. Однако вопрос о том, как проявляется модулирующее влияние ПС на уровне ультраструктуры нейронов Med и зависят ли формируемые функциональные состояния нейронов от уровней циркулирующих в крови ПС, до настоящего времени не изучен. В своих исследованиях мы опирались на работы представителей научной школы Поленова (1993), обобщенных в обзорной статье Гарлова (2002), конкретизирующей функциональные перестройки неросекреторных клеток в свете проблем пластичности тканей.

Половые гормоны быстро проникают в цитоплазму и взаимодействуют с локализованными в цитоплазме и(или) ядре рецепторными белками, выполняющими функцию факторов транскрипции, непосредственно регулирующих активность промоторов компетентных генов (Kousteni et al., 2003; Смирнов, 2005). К настоящему времени клонированы два рецептора эстрогенов (ER α и ER β), которые могут экспрессироваться совместно в одной клетке или раздельно с преобладанием той или иной изоформы. Показано, что они сосуществуют в МК (McEwen, Alves, 1999; Бабичев, 2005). При гиперэкспрессии ER β небольшая его часть может локализоваться в плазматической мембране и обеспечивать проведение быстрых негеномных эффектов эстрогенов. При этом некоторые такие эффекты могут быть противоположными эффектам, реализуемым с участием мембранного ER α (Razandi et al., 2003).

Т а б л и ц а 2

Морфометрические характеристики ядрышка при различных функциональных состояниях нейронов Med

Функциональное состояние	Диаметр ядрышка (в мкм) у самцов	Диаметр ядрышка (в мкм) у самок	Число фибриллярных центров у самок			Размеры фибриллярных центров у самок, нм	
			всего	крупных	мелких	крупных	мелких
1. Покой	1.15 ± 0.05	1.08 ± 0.05	6.2 ± 0.4	3.2 ± 0.4	3.0 ± 0.4	355.0 ± 13.0	93.4 ± 2.1
2. Умеренная активность	1.55 ± 0.09 ^a	1.46 ± 0.09 ^a	12.4 ± 0.2 ^b	4.8 ± 0.4	7.6 ± 0.4 ^b	158.4 ± 10.9 ^b	42.4 ± 3.4 ^b
3. Повышенная активность	1.95 ± 0.02 ^a	1.84 ± 0.02 ^a	17.6 ± 0.5 ^b	3.6 ± 0.4	14.0 ± 0.6 ^b	162.0 ± 5.8	35.6 ± 3.1
4. Напряжение, пик активности	1.76 ± 0.09	1.65 ± 0.09	24.8 ± 0.9 ^b	3.8 ± 0.4	21.0 ± 0.9 ^b	280.0 ± 14.1 ^b	41.8 ± 3.3
5. Снижение активности по первому типу	1.39 ± 0.07 ^b	1.31 ± 0.64 ^a	15.6 ± 0.4 ^b	4.6 ± 0.2	11.0 ± 0.5 ^b	690.0 ± 78.1 ^a	34.6 ± 1.9 ^b
6. Снижение активности по второму типу	1.48 ± 0.04	1.40 ± 0.03	12.2 ± 0.4 ^a	6.2 ± 0.4 ^b	6.4 ± 0.7 ^b	504.0 ± 35.6	39.0 ± 3.3
7. Возврат к исходному состоянию, покою	1.11 ± 0.07 ^a	1.05 ± 0.06 ^a	8.00 ± 0.32	4.4 ± 0.2 ^b	3.6 ± 0.5 ^b	256.0 ± 16.3 ^a	138.0 ± 5.8 ^b

^a—^bЗначимо по сравнению с предшествующей стадией (^aпри $P < 0.01$, ^bпри $P < 0.001$, ^bпри $P < 0.05$).

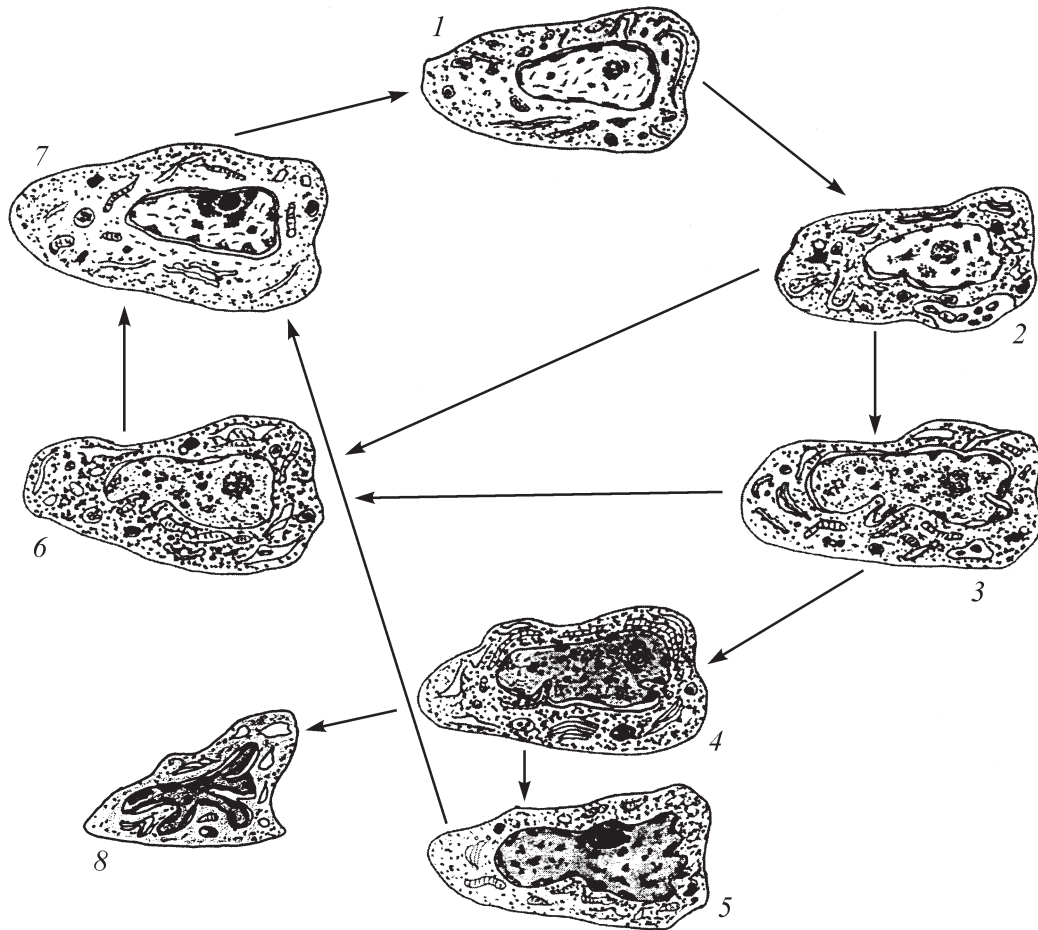


Рис. 5. Схема, иллюстрирующая структурно-функциональные характеристики нейронов дорсомедиального ядра миндалевидного комплекса мозга.

1 — состояние «покоя», 2 — состояние «умеренной активности», 3 — состояние «повышенной активности», 4 — состояние «пика активности или напряжения», 5 — состояние «снижения активности по первому типу», 6 — состояние «снижения активности по второму типу», 7 — состояние «возврата к исходному состоянию», 8 — дегенерация нейрона. Стрелками показаны предполагаемые пути перестроек нейронов.

Главная разница между $ER\alpha$ и $ER\beta$ — это их различная способность регулировать транскрипцию через AP-1-чувствительный элемент (Бабичев, 2005). Так, при взаимодействии $ER\alpha$ с AP-1 17- β -эстрадиол активизирует транскрипцию, однако в случае связи $ER\beta$ с AP-1 17- β -эстрадиол не в состоянии активизировать транскрипцию (Бабичев, 2005). Следует отметить, что способность ER взаимодействовать с тирозинкиназой Src и активизировать эту тирозинкиназу может быть использована изоформой В рецепторов прогестерона (PRB) для проведения сигнала прогестиннов в клетку. С применением иммунопреципитации показано, что 5—6 % ER и PRB в клетке формируют комплексы. Также показано, что эстрогены вызывают экспрессию рецепторов прогестерона в некоторых ядрах гипоталамуса и МК (Moffatt et al., 1998).

Можно предполагать, что высокие уровни половых стероидов могут изменять состояния ядерного матрикса, с учетом того что биосинтез РНК происходит в непосредственной связи с ним (Jackson et al., 1985), а также способствовать амплификации рДНК, позволяющей объяснить быстрое нарастание числа рибосом в цитоплазме (Бельков, 1982). Все это обеспечивает интенсивный синтез белка в клетке, идущего на создание пула цитозольных рецепторов, веществ, обладающих свойствами сек-

ретов — нейропептидов, а также определяющих включение нейронов Med в состав функциональных систем, участвующих в обеспечении поведенческих реакций.

С помощью достижений молекулярной биологии удалось изучить некоторые стороны структуризации транскрипционных процессов в клетках. Общеизвестно, что синтезируемая в ядре гетерогенная ядерная РНК выявляется в виде перихроматиновых фибрилл. Малые ядерные РНК, участвующие в сплайсинге гетерогенной ядерной рибонуклеиновой кислоты, выявляются как интерхроматиновые гранулы. Также полагают, что перихроматиновые гранулы представляют собой комплексы информационной рибонуклеиновой кислоты — информоферы (Ченцов, 2004). Все указанные структуры были обнаружены нами как проявление экспрессии генов в клеточных ядрах нейронов Med. Их выраженность стала основанием для суждения о функциональной активности нейронов. Особое внимание мы уделили изучению качественных и количественных характеристик ядрышка, так как известно, что оно раньше других компонентов ядра реагирует на активизирующее влияние ПС созданием рибосомной РНК (Мейнуоринг, 1979), а также, согласно последним данным, может являться местом локализации $ER\alpha$ (Solakidi et al., 2005). Следует отметить также, что выявившаяся в ядрышке сегрегация его компонентов, от-

ражающая блокада синтеза РНК в ядрышке (Ченцов, 2004), способствовала распознаванию нейронов, возвращающихся к своему исходному состоянию после функциональной активности. Можно полагать, что сегрегация компонентов ядрышка приводила к появлению в клеточном ядре и цитоплазме ядрышкоподобных телец, выявленных в нейросекреторных клетках при снижении их активности (Красновская, 1984).

Следует отметить и осмиофилию кариоплазмы темных нейронов. Вероятно, она связана с накоплением в ядре большого количества белков, поступающих в него из цитоплазмы, которые играют роль регуляторов процессов транскрипции. В настоящее время выявлено много таких групп белковых молекул — коактиваторы, ко-репрессоры, коинтеграторы и т. д. (Кулинский, Колесниченко, 2005).

Исследование структуры темных нейронов выявило гипертрофию и гиперплазию многих органоидов, но особенно она была выражена в митохондриях. Этот факт можно объяснить наличием в них рецепторов стероидных гормонов, в частности ER β (Solakidi et al., 2005). С их участием в митохондриях обеспечивается увеличение синтеза ферментов дыхательной цепи за счет усиления экспрессии митохондриальных генов, а также митохондриогенез. ПС способны оказывать влияние и на мембраны клетки, вызывая их пролиферацию, а также влиять на процессы трансляции через ключевые активаторы — две протеинкиназы и фактор инициации трансляции 4E (Кулинский, Колесниченко, 2005).

Процентное соотношение функциональных состояний нейронов Med на различных стадиях ЭЦ (табл. 1) выявило преобладание нейронов в состоянии «повышенной активности» на стадии эструса, которая наступает вслед за пиковыми концентрациями эстрогенов и выбросом ЛГ (Бабичев, 1986). Это согласуется с данными, выявившими увеличение размеров клеточных ядер нейронов Med и нарастание уровней связывания ^3H -эстрадиола на стадии эструса (Asribekova, Kalimullina, 1989; Johansen et al., 2004). Также показано, что на этой стадии ЭЦ интенсивность включения ^3H -уридина в нейроны Med (Ахмадеев, Калимуллина, 2004) достоверно выше, чем на стадиях метэструса и диэструса. Уместно отметить также, что выявлена положительная корреляция между уровнями 17 β -эстрадиола и экспрессией ER α , который способен активизировать транскрипцию (Isgor et al., 2002).

На стадии метэструса, для которой характерны низкие уровни эстрадиола, преобладают нейроны в состоянии «снижения активности по первому типу» (табл. 1). Показателем снижения активности нейронов было увеличение содержания в ядре конденсированного хроматина. Его количество увеличивалось как в краевых зонах (под внутренней ядерной мембраной), так и в центральных участках кариоплазмы. Процесс конденсации хроматина, по-видимому, инициировался увеличением уровня прогестерона. Показано, что пик уровня прогестерона в динамике ЭЦ наступает позднее, чем эстрадиола (Бабичев, 1986). Повышение уровня прогестерона положительно коррелирует с интенсивностью экспрессии ER β -типа, которые снижают транскрипционную активность (Isgor et al., 2002; Смирнов, 2005). По-видимому, динамика гормональных сдвигов, имеющая место в ЭЦ, формирует блокирующий транскрипцию механизм за счет экспрессии ER β . Возможно, у самцов подобный механизм может осуществляться метаболитами тестостерона, образование которых происходит в МК при участии

ароматазных и редуктазных ферментных комплексов (Акмаев, Калимуллина, 1993).

В нейронах Med постоянно обнаруживались везикулы с плотным центром, количество которых возрастало на стадии «повышенной активности». На основании сведений, имеющихся о нейросекреторных клетках, можно полагать, что в составе указанных везикул могли находиться моноамины (50—110 нм), пептиды (80—120 нм) и нанопептиды — аргинин-вазопрессин и окситоцин (130—300 нм) (Поленов, 1993; Гарлов, 2002). Это подтверждается сведениями литературы о влиянии половых стероидов на экспрессию аргинин-вазопрессина в нейронах медиального ядра МК, окситоцина, пептидов — нейропептидов К и Р, препроэнкефалина, холецистокинина и дофамина (Чепурнов, Чепурнова, 1985; Sinckak et al., 2000; Dominguez et al., 2001).

Полученные результаты указывают на наличие функциональной гормонзависимой реверсии в структурно-функциональной организации нейронов Med, происходящей под влиянием ПС. Впервые термин «функциональная реверсия» для характеристики пластических перестроек нейросекреторных клеток введен Гарловым (2002). Мы посчитали его адекватным и для обозначения всей совокупности структурно-функциональных перестроек, происходящих в популяции нейронов Med, предопределяемых изменяющимися уровнями ПС.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта президента РФ (МК-1643.2005.4).

Список литературы

- Акмаев И. Г., Калимуллина Л. Б. 1982. Миндалевидный комплекс гонадэктомированных крыс, реакция нейронов кортикомедиального отдела. Арх. анат. гистол. эмбриол. 83 : 48—59.
- Акмаев И. Г., Калимуллина Л. Б. 1993. Миндалевидный комплекс мозга: функциональная морфология и нейроэндокринология. М.: Наука. 272 с.
- Ахмадеев А. В., Калимуллина Л. Б. 2004. Темные и светлые клетки миндалевидного комплекса в динамике эстрального цикла. Цитология 46 (1) : 45—49.
- Бабичев В. Н. 1986. Рецепторы половых гормонов в гипоталамусе и их значение в регуляции циклической деятельности яичников. В кн.: Физиология гормональной регуляции. Л.: Наука. 70—102.
- Бабичев В. Н. 2005. Нейроэндокринный эффект половых стероидов. Успехи физиол. наук. 36 : 54—67.
- Бельков В. В. 1982. Амплификация генов в прокариотных и эукариотных системах. Генетика. 18 : 529—543.
- Гарлов П. Е. 2002. Морфофункциональная основа пластичности нейросекреторных клеток. Цитология. 44 (8) : 747—767.
- Калимуллина Л. Б. 1989. Реакция нейронов миндалевидного комплекса в динамике эстрального цикла. Пробл. эндокринолог. 6 : 60—64.
- Калимуллина Л. Б., Ахмадеев А. В., Минабаева З. Р., Нагаева Д. В. 2000. Цитологические характеристики «темных» и «светлых» клеток миндалевидного комплекса мозга. Цитология. 42 (4) : 343—349.
- Красновская И. А. 1984. Реакция некоторых нейросекреторных центров гипоталамуса крысы при охлаждении и введении тиролиберина. Пробл. эндокринолог. 30 : 52—55.
- Кулинский В. Н., Колесниченко Л. С. 2005. Молекулярные механизмы действия гормонов. II. Киназные системы. Системы с внутриклеточными рецепторами. Трансактивация СТС. Биохимия. 70 : 476—492.
- Мейнуринг У. 1979. Механизмы действия андрогенов. М.: Мир. 224 с.

- Поленов А. Л. 1993. Морфофункциональная организация нейросекреторных клеток гипоталамуса. В кн.: Нейроэндокринология. СПб.: Наука. 31—70.
- Смирнов А. Н. 2005. Мембранная локализация ядерных рецепторов: парадокс с важными последствиями. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 91 : 31—45.
- Ченцов Ю. С. 2004. Введение в клеточную биологию. М.: Академкнига.
- Чепурнов С. А., Чепурнова Н. Е. 1985. Нейропептиды и миндалина. М.: Изд-во МГУ. 128 с.
- Akhmadeev A. V. 2005. Amygdala: indexes of hormone-dependent reversion in neuroendocrine neurons. J. Eur. Acad. Natural History. 1 : 31.
- Asribekova M. K., Kalimullina L. B. 1989. Structural-functional organization of the brain amigdaloïd complex in the dynamics of the estrous cycle. Bull. Exp. Biol. Med. 107 : 748—750.
- Cooke B., Breedlove S., Jordan C. 2003. Both estrogen receptors and androgen receptors contribute to testosterone-induced changes in the morphology of the medial amygdala and sexual arousal in male rats. Hormones and Behavior. 43 : 336—346.
- Cushing B., Razzoli M., Murphy A., Epperson P., Le W., Hofman G. 2004. Intraspecific variation in estrogen receptor alpha and the expression of male sociosexual behavior in two populations of prairie voles. Brain Res. 1016 : 247—254.
- Dominguez I., Rido I., Hull E. 2001. Regulation by the medial amygdala of copulation and medial preoptic dopamine release. J. Neurosci. 21 : 349—355.
- Isgor C., Huang G., Akil H., Watson S. 2002. Correlation of estrogen beta-receptor messenger RNA with endogenous levels of plasma estradiol and progesterone in the female rat hypothalamus, the bed nucleus of stria terminalis and the medial amygdala. Brain Res. Mol. Brain Res. 106 : 30—41.
- Jackson D. A., Cook P. R. 1985. Transcription occurs at a nucleoskeleton. EMBO J. 4 : 919—925.
- Johansen J., Jordan C., Breedlove S. 2004. Steroid hormone masculinization of neural structure in rats: a tale of two nuclei. Physiology and Behavior. 83 : 271—277.
- Kousteni S., Han L., Chen J. et al. 2003. Hormone-mediated regulation of common transcription factors accounts for the bone-protective effects of sex steroids. J. Clin. Invest. 111 : 1651—1664.
- McEwen B., Alves S. 1999. Estrogen action in the central nervous system. Endocrinol. Rev. 20 : 279—307.
- Moffatt C. A., Rissman E. F., Shupnik M. et al. 1998. Induction of progesterin receptors by estradiol in the forebrain of estrogen receptor- α gene-disrupted mice. J. Neurosci. 18 : 9556—9563.
- Razandi M., Redram A., Greene G. et al. 2003. Cell membrane and nuclear estrogen receptor (Ers) originate from a single transcript: studies of ER α and ER β expressed in Chinese hamster ovary cell. Mol. Endocrinol. 13 : 307—319.
- Reynolds E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electropaque stain in the electron microscopy. J. Cell Biol. 17 : 208—212.
- Shinoda K., Nagano M., Osako Y. 1994. Neuronal aromatase expression in preoptic, striatal and amygdaloïd regions during late prenatal and postnatal development in the rat. J. Comp. Neurol. 343 : 113—129.
- Shughrue P., Dellovade T., Merchenthaler I. 2002. Estrogen modulates oxytocin gene expression in regions of the rat supraoptic and paraventricular nuclei that contain estrogen receptor- β . Progr. Brain Res. 139 : 15—29.
- Sinchak K., Eckersell C., Quezara V., Norell A., Micevych P. 2000. Preproencephalin mRNA levels are regulated by acute stress and estrogen stimulation. Physiology and Behavior. 69 : 425—432.
- Solakidi S., Psarra A.-M. G., Sekeris C. E. 2005. Differential subcellular distribution of estrogen receptors: localization of ER α in the nucleoli and ER β in the mitochondria of human osteosarcoma SaOS-2 and hepatocarcinoma HepG2 cell lines. Biochim. biophys. acta. 1745 : 382—392.
- Tetel J., Todd C. U., Brett Y., Bittman E. L. 2004. Photoperiodic regulation of androgen receptor and steroid receptor coactivator-1 in Siberian hamster brain. Mol. Brain Res. 131 : 79—87.

Поступила 23 I 2006

INDEXES OF MODULATING INFLUENCE OF GONADAL HORMONES ON
ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF NEURONS
OF AMYGDALA'S DORSOMEDIAL NUCLEUS

A. V. Akhmadeev, L. B. Kalimullina

Chair of Morphology and Physiology of Human and Animals, Bashkirian State University, Ufa;
e-mail: mpha@ufanet.ru

The ultrastructure of neuron's perikaryons in Amygdala's dorsomedial nucleus of male and female rats at different stages of estrous cycle was investigated. The main functional stages were described. The characteristics obtained reflected the phenomenon of hormone-dependent functional reversion determined by changes in concentrations of sex steroids in blood.

Key words: Amygdala's dorsomedial nucleus, ultrastructure, sex steroids.