

ФИЗИОЛОГИЯ

Шаменко В. А.

МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ СУПРАОПТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРЕРЫВИСТОЙ ГИПОКСИИ

Ассистент, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье

THE MORPHO-HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF NEURONS OF SUPRAOPTIC NUCLEUS OF THE RAT HYPOTHALAMUS UNDER INTERMITTENT HYPOXIA

Shamenko Vadim, assistant of Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye

АННОТАЦИЯ

Исследованы особенности морфогистохимической организации нейронов супраоптического ядра гипоталамуса у крыс в норме и при действии прерывистой гипоксии, которую моделировали в барокамере 6-часовым пребыванием животных на высоте 6000 м на протяжении 15 дней. Морфометрический и гистохимический анализ нейронов проводили после окраски гистологических срезов мозга на РНК. Установлено, что гипоксия приводит к умеренным дистрофическим изменениям в нейронах в виде набухания клеток и отёку цитоплазмы, пикнозу ядра, конденсации хроматина и снижением концентрации РНК. Полученные изменения морфогистохимической организации нейронов свидетельствовали о формировании дизрегуляторной патологии в супраоптическом ядре.

ABSTRACT

The features of the morpho-histochemical organization of neurons of supraoptic nucleus of the hypothalamus in rats under normal conditions and under the influence of intermittent hypoxia. Hypoxia was simulated in a pressure chamber: animals stayed at an altitude of 6000 m 6 hours daily for 15 days. Morphometric and histochemical analysis of neurons was performed after RNA staining of histological sections of brain. It is established that hypoxia leads to mild dystrophic changes in the neurons that manifests as cell swelling and edema of the cytoplasm, nucleus pyknosis, chromatin condensation and a decrease of RNA concentration. The resulting changes in the morpho-histochemical organization of neurons evidenced about formation of deregulatory pathology in the supraoptic nucleus.

Ключевые слова: гипоталамус; супраоптическое ядро; гипоксия.

Keywords: hypothalamus; supraoptic nucleus; hypoxia.

Одним из важных звеньев нейроэндокринной системы гипоталамуса являются супраоптические ядра (СОЯ), нейроны которых синтезируют вазопрессин и окситоцин, транспортируют их в нейрогипофиз и далее в кровотоки [10, 13]. Вазопрессин СОЯ участвует не только в регуляции водно-солевого обмена, но и участвует в обеспечении нейроэндокринного ответа на различные виды стресса – иммобилизационный, травматический, эмоциональный, болевой, гипоксический, метаболический и стрессы иной этиологии [3, 7, 10, 13]. Одним из наиболее распространенных патологических воздействий на организм является действие гипоксии, в том числе как внешнего фактора. В то же время, многодневное влияние дозированной экзогенной гипоксии приводит к активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, как у животных, так и у человека, и сопровождается изменением функциональной активности гипоталамических пептидергических нейронов [1, 2, 8]. При этом режим интервальных гипоксических воздействий повышает адаптивные свойства организма и приводят к повышению его устойчивости ко многим патогенным факторам среды: острой гипоксии, гипоксией, токсического действия высокого давления кислорода, гипокинезии, воздействия высокой температуры и глубокого охлаждения, ионизирующего излучения, физической нагрузки [4, 14]. Между тем, вопрос участия вазопресинергической системы гипоталамуса в центральных механизмах адаптации к гипоксической гипоксии рассматривается лишь в единичных работах [1, 2, 9] и, по данным фундаментального исследования L.Xi и T.V.Serebrovskaya [14], практически не изучено.

Целью настоящего исследования было установить особенности морфогистохимической организации нейронов СОЯ у крыс в норме и при действии

прерывистой гипоксии.

Материал и методы:

Исследование проведено на 20 половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 220-250 г. Прерывистую гипоксию моделировали ежедневным 6-часовым пребыванием крыс в вентилируемой барокамере с постепенным повышением высоты с 1000 м до 6000 м с 1-го по 6-й дни эксперимента (по 1000 м в день), и последующим пребыванием на высоте 6000 м ($pO_2=9,8\%$) до 15-го дня исследований. Мозг контрольных (интактных) и экспериментальных животных извлекали после одномоментной декапитации, фиксировали в жидкости Карнуа и после стандартной гистологической обработки заливали в парафин. Серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 7 мкм депарафинировали, регидрировали и в течение 48 часов окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону для определения содержания нуклеиновых кислот, преимущественно РНК [5]. Изображение, получаемое на микроскопе Axioskop (Zeiss, Германия) с помощью видеокамеры COHU-4922 (COHU Inc., США) вводили в компьютерную систему цифрового анализа изображения VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Германия) и оцифровывали по денситометрической шкале с 256 градациями серого цвета. В интерактивном режиме создавали маски для нейронов и их ядер, на основании которых в автоматическом режиме с помощью пакета прикладных

программ VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Германия) проводился анализ изображения. Анализировали не менее 100 клеток в каждой серии исследований, для которых определяли морфометрические параметры нейронов – площадь и эквивалентный диаметр клеток, их ядер, ядрышек и цитоплазмы, а также денситометрические характеристики – оптическая плотность (в условных единицах оптической плотности – Еоп) ядер, ядрышек и цитоплазмы клеток, которые были обусловлены уровнем накопления РНК. Экспериментальные данные обрабатывали пакетом прикладных и статистических программ VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Германия). Для оценки достоверности различий в группах применяли t-критерий Стьюдента.

Результаты:

Нейроны СОЯ у интактных животных относятся к крупноклеточным нейронам гипоталамуса, наряду с нейронами паравентрикулярного ядра, и характеризовались чёткими контурами цитоплазматической и ядерной мембраны (рис. 1А). Ядра клеток содержали мелкие зёрна хроматина, диффузно распределённого по нуклеоплазме и чётко дифференцированное ядрышко. Цитоплазма нейронов составляла $61,4\pm 0,8\%$ от площади перикариона нейронов, а ядро занимало $38,6\pm 0,8\%$ площади клетки и отличалось на $12,8\%$ более высокой концентрацией РНК, по сравнению с цитоплазмой (табл. 1).

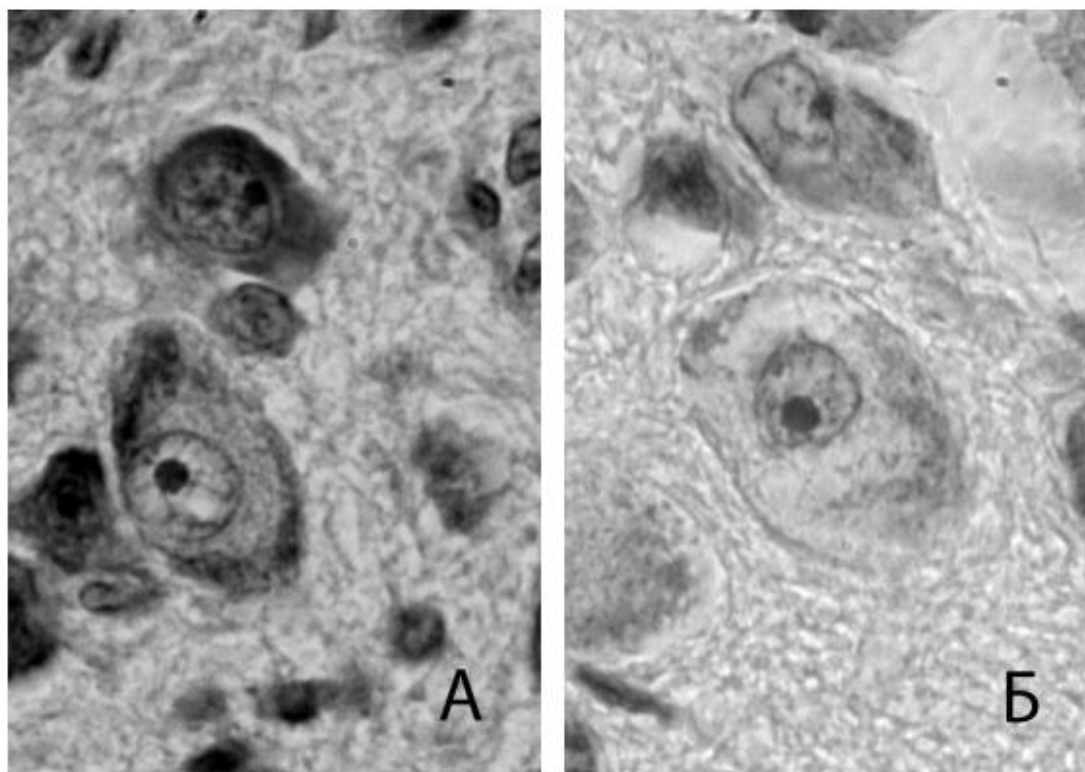


Рисунок 1. Нейроны супраоптического ядра гипоталамуса в норме (А) и после действия прерывистой гипоксии (Б). Объектив 100х.

Таблица 1

Морфогистохимические характеристики нейронов СОЯ (M±m)

Параметры нейронов	Контроль, (n=122)		Гипоксические тренировки, (n=119)	
	Площадь, мкм ²	Концентрация РНК, Еоп	Площадь, мкм ²	Концентрация РНК, Еоп
Перикарион	176,70±4,27	-	195,52±5,54 *	-
Цитоплазма	110,53±3,79	0,188±0,008	140,24±5,19 *	0,059±0,003 *
Ядро	66,17±1,09	0,211±0,007	55,27±1,08 *	0,091±0,003 *
Ядрышко	2,52±0,23	0,772±0,011	4,92±0,10 *	0,153±0,003 *

Примечание: * - достоверность отличий по сравнению с контролем ($p < 0,01$).

Ядрышко нейронов СОЯ занимало $1,6 \pm 0,2$ % площади клетки и характеризовалось наиболее высокой концентрацией РНК. По периферии нейронов СОЯ располагались глиальные клетки, которые характеризовались значительно меньшими размерами ядер, не содержали ядрышек, и имели слабо окрашенную цитоплазму.

Действие прерывистой гипоксии приводило к изменению гистологической структуры нейронов СОЯ. В клетках отмечался разной степени выраженности пикноз ядра, которое уменьшалось в размерах, характеризовалось неровными фесточатыми контурами и содержало глыбки хроматина с признаками конденсации. В результате площадь ядра снижалась на 16,5 % по сравнению с контролем, а концентрация в нём РНК – на 57,2 %. При этом на фоне увеличения площади ядрышек нейронов в 2,34 раза концентрация РНК в них снижалась в 5 раз. Цитоплазма нейронов бледно окрашивалась, что обусловлено распадом базофильного вещества и свидетельствовала о резком уменьшении содержания протеинов цитоплазмы и РНК, концентрация которой снижалась в 3,2 раза (рис. 1.Б, табл. 1). Распространенный протеолиз белков сопровождался набуханием клеток с увеличением площади цитоплазмы нейронов на 26,9 %. В целом, прерывистая гипоксия приводила к хроматолическим изменениям и протеолизу белков в цитоплазме, и сопровождалось набуханием клеток с увеличением площади цитоплазмы нейронов на 26,9 % и к увеличению площади перикариона клеток на 10,7 %.

Полученные данные демонстрируют, что 15-дневный цикл прерывистой гипоксии приводит к умеренным дистрофическим изменениям в нейронах

СОЯ. Известно, что одним из основных нейрогормонов СОЯ является вазопрессин [10, 13], который играет важное значение в активации гипофизарно-адреноренальной системы в ответ на стресс [6, 7, 11, 12]. Вместе с тем, характер выявленных изменений морфофункционального состояния СОЯ в ответ на прерывистую гипоксию не предполагает усиления синтеза данного нейрогормона на фоне существенного уменьшения концентрации РНК в нейронах. Очевидно, что возможными причинами подобной реакции крупноклеточных нейронов СОЯ по нашему мнению может быть преимущественное вовлечение вазопрессина СОЯ в регуляцию артериального давления и водно-солевого обмена, направленные на формирование гипертензивной реакции и гиперволемии в ответ на стресс. Однако, применяемый нами режим гипоксических воздействий оказывает адаптивное влияние на организм и приводит к снижению высоких цифр артериального давления у гипертензивных крыс линии SHR и пациентов с артериальной гипертензией [6, 14]. В этой связи можно предположить, что прерывистая гипоксия, которая приводит к гипертрофии мелкоклеточных гипоталамических нейронов, синтезирующих кортикотропин-рилизинг гормон [4, 8], иначе действует на вазопрессинергические нейроны СОЯ, приводя к формированию дизрегуляторной патологии в функционировании данной структуры.

Выводы:

Прерывистая гипоксия приводит к дистрофическим изменениям в нейронах супраоптического ядра гипоталамуса, пикнозу ядер нейроцитов, гипергидратации цитоплазмы и снижению в клетках концентрации РНК.

Список литературы

1. Абрамов А.В. 1998. Влияние интервальных гипоксических тренировок на функциональное состояние пептидергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса и нейронов ствола мозга крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова*. 84 (3): 173-181.
2. Абрамов А.В., Колесник Ю.М. 1992. Влияние гипоксии на функциональное состояние нейросекреторной системы гипоталамуса крыс // *Физиолог. журн. им. И. М. Сеченова*. 78 (7): 21-27.
3. Акмаев И.Г., Гриневиц В.В. 2003. *Нейроиммуноэндокринология гипоталамуса*. М.: Медицина: 168 с.
4. Караш Ю.М., Стрелков Р.Б., Чижов Ф.Я. 1988. *Нормобарическая гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации*. М.: Медицина: 352 с.
5. Пирс Э. 1962. *Гистохимия*. М.: Изд-во ин. лит.: 962 с.
6. Calabrò R.S., Italiano D., Ferrara D., Mondello S., Conti-Nibali V., Salviera C., Bramanti P. 2012. The hypothalamic-neurohypophyseal system: current and future treatment of vasopressin and oxytocin related disorders. *Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discov.* 6 (3): 235-250.
7. Charmandari E., Tsigos C., Chrousos G. 2005. Endocrinology of the stress response. *Ann. Rev. Physiol.* 67: 259-284.
8. Kolesnik Y.M., Kadzharyan E.V., Abramov A.V. 2014. Effect of Intermittent Hypoxia Trainings on the Functional State of Corticotropin releasing hormone- and β -Endorphin-Synthesizing Neurons of the Rat Paraventricular Nucleus of Hypothalamus. *Intern. J. Physiol. and Pathophysiology.* 5 (3): 1-7.
9. Lin A.M.Y. 2009. Hypoxic preconditioning protects against oxidative injury in the central nervous system. *Intermittent Hypoxia: From molecular mechanisms to clinical applications*. Nova Sci. Publ. Inc. N.-Y.: 313-328.
10. Silverman A.-J., Zimmerman E.A. 1983. Magnocellular neurosecretory system. *Ann. Rev. Neurosci.* 6: 357-380.
11. Stoop R. 2012. Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron.* 4; 76 (1): 142-159.
12. Stratakis C.A., Chrousos G.P. 1995. Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.* 29; 771: 1-18.
13. Swanson L.W., Sawchenko P.E. 1983. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Ann. Rev. Neurosci.* 6: 269-324.
14. Xi L., Serebrovskaya T.V. 2009. *Intermittent Hypoxia: From molecular mechanisms to clinical applications*. Nova Sci. Publ. Inc. N.-Y.: 615 p.