

УДК 612.822:612.826.4

Э. С. ГУЛЯНЦ, Л. П. СИЗЯКИНА, Н. М. ГОРОХОВА,
Т. Г. ЛИТВИНЕНКО, Т. М. ЗИНИНА

ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА НЕЙРОСЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТОК ГИПОТАЛАМУСА

Сообщение II. Гистоэнзимология энергетического обмена

Моделировали активацию и угнетение реакции гипоталамо-нейрогипофизарной нейросекреторной системы (ГНС) у крыс путем дегидратации и водной нагрузки и изучали ее ферментную характеристику. Высказывается предположение, что секреторные функции нейросекреторных клеток реализуются энергией гликолиза и пентозофосфатного шунта, а проводниковые свойства нейроцитов—посредством окисления в цикле трикарбоновых кислот. Морфофункциональная уникальность ГНС обусловлена своеобразием энергетического метаболизма ее микроструктур, обеспечивающего ее двойственное функционирование.

Функциональная значимость гипоталамо-нейрогипофизарной нейросекреторной системы (ГНС) обуславливает ее своеобразный метаболический режим. Высокий уровень активности ферментных систем, в частности дегидрогеназ, обеспечивает энергетические потребности ГНС, необходимые для реализации секреторных потенциалов нейроцитов и генерации ими потенциала действия, т. е. условий двойственного функционирования в качестве нейро-железистых и нейро-проводниковых структур. Нейроциты ГНС обладают энзимной констелляцией основных дегидрогеназ, которым принадлежит ключевое значение в различных звеньях окислительного фосфорилирования [11, 13, 16]. Изучение ферментов окислительного метаболизма вносит существенный вклад в оценку функционального состояния ГНС и может служить надежным критерием для суждения об его изменениях [2, 13]. Между тем энергоемкость ГНС по результатам ферментно-гистохимического анализа до настоящего времени изучена крайне недостаточно, результаты часто трудно сопоставимы вследствие использования разных объектов, отдельных звеньев ГНС, способов оценки результатов реакции. Это особенно касается измененных параметров функционирования ГНС. Имеющиеся работы посвящены преимущественно исследованию ферментной характеристики при становлении нейросекреторной системы в фило- и онтогенезе [1, 4—7, 10, 17]. При этом вопрос о преобладании различных путей окислительного метаболизма до сих пор не нашел согласованного решения. Задача настоящего сооб-

щения состоит в количественном гистоэнзиматическом изучении реакции микроструктур различных звеньев ГННС в условиях ее функциональной активации, угнетения и у интактных крыс.

Эксперименты выполнены на 100 половозрелых крысах-самцах весом 180—200 г, разделенных на три группы. Животных первой группы содержали на стандартном рационе вивария, второй—на безводном рационе в течение 6 суток. Животные третьей группы ежедневно получали водопроводную воду в объеме 10% от веса тела. Мозг (гипоталамус и гипофиз) фиксировали в 10% нейтральном формалине, формолкальциевой смеси, жидкостях Карнуа, Буэна, 96° спирте. Определение активности ферментов энергетического обмена: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глутаматдегидрогеназы (ГДГ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), альфа-глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ) производили в нефиксированных срезах, изготовленных в криостате методами Гесса, Скарпелли, Нахласа, Култас. Нейросекрет выявляли альдегидфуксином по Гомори в модификации В. Ф. Майоровой и Гомори-Габу, общий белок по Даниелли, РНК по Браше, фосфолипиды по Беккеру. Количественную оценку активности ферментов энергетического обмена в нейроцитах супраоптического (СОЯ), паравентрикулярного (ПВЯ) ядер и в задней доле гипофиза производили на цифровом интегрирующем кадровом цитофотометре при длине волны 540 нм, площади сканирующего зонда 0,9 мк², кадре сканирования 121 мк² и выражали в условных единицах. Статистическую обработку цифровых результатов проводили с использованием критерия Стьюдента*.

Анализ распределения основных дегидрогеназ в микроструктурах ГННС обнаруживает выраженное преобладание активности Г-6-ФДГ в СОЯ ($35,3 \pm 0,4$) и в несколько меньшей степени в ПВЯ ($33,2 \pm 1,0$). Распределению фермента свойственна гетерогенность, связанная, очевидно, с различными фазами секреторного цикла нейроцитов (рис. 1, а). В нейрогипофизе активность фермента маркируется гранулами диформазана, сосредоточенными в цитоплазме питуцитов и аксоплазме нервных терминалей ($7,1 \pm 0,8$). Указанный феномен отражает преобладающее значение пентозного шунта в окислительно-восстановительном метаболизме нейросекреторных клеток и находится в соответствии со значительным количеством РНК в нейроцитах. Интенсивность процессов белкового синтеза в ГННС документируется выраженной реакцией на суммарный белок в перикарионах и отростках клеток, а также высокой активностью ГДГ (СОЯ— $30,9 \pm 0,7$, ПВЯ— $32,3 \pm 0,9$, нейрогипофиз— $12,0 \pm 0,8$). Распределению этого энзима в нейроцитах свойственно отчетливое преобладание активности перикарионов над нейропилем (рис. 1, б), что отражает их возможную эффекторную функцию [12]. Аналогичной топикой обладает и ЛДГ. Выраженная

* Количественные исследования проведены на базе ЦПАЛ Института морфологии человека АМН СССР.

крупная гранулярность продукта реакции отмечена и в нейрочитах СОЯ ($14,2 \pm 0,5$) и ПВЯ ($18,2 \pm 0,5$, рис. 1, в). В нейрогипофизе активность выявляется в основном вокруг стенок сосудов и в цитоплазме питуицитов ($19,5 \pm 0,8$). Высокая активность ЛДГ сопоставима с результатами исследования [15] и свидетельствует о значимости анаэробных



Рис. 1. Активность ферментных систем у intactных крыс. а—СОЯ. Г-6-ФДГ. Ок. 10, об. 40; б—СОЯ. ГДГ. Ок. 10, об. 20; в—ПВЯ. ЛДГ. Ок. 10, об. 20.

процессов утилизации глюкозы для перикарионов нейросекреторных клеток. Одновременно установлена незначительно выраженная активность СДГ в цитоплазме нейрочитов секреторных ядер, указывающая на низкий уровень активности дыхательных ферментов лимоннокислого цикла [18]. В то же время на поверхности нейрочитов обнаружена высокая плотность осадка диформаза (СОЯ— $28,9 \pm 0,7$, ПВЯ— $40,4 \pm 1,1$), что документирует высокую энергоемкость аксо-соматических контактов, характерных для эфферентных элементов [3]. В нейрогипофизе гранулы диформаза равномерно рассеяны по всей доле ($16,8 \pm 0,7$). Активность α -ГФДГ отличается относительно низким уровнем как в перикарионах, так и в нейропиле; градиент активности фермента несколько выше в ПВЯ (СОЯ— $13,3 \pm 0,5$, ПВЯ— $19,3 \pm 0,7$), умеренное содержание фермента свойственно и задней доле гипофиза ($11,9 \pm 0,7$), его распределение отличают мозаичность и тенденция к образованию мелких очаговых скоплений. Установленная невысокая активность α -ГФДГ совпадает с умеренным содержанием фосфолипидов в ГННС.

При анализе метаболизма микроструктур ГННС в условиях ее активации, вызванной дегидратацией, выявлено значительное нарастание градиента активности Г-6-ФДГ преимущественно в СОЯ (рис. 2, а), в меньшей степени в ПВЯ ($50,1 \pm 1,0$ и $39,9 \pm 1,7$ соответственно). Исчезает гетерогенность распределения фермента в нейрочитах, в нейропиле возникают очаговые скопления гранул диформаза и их укрупнение, что отражает усиление транспорта и выведение нейрогормонов, а также вовлечение начальных отделов аксоплазмы в секреторнообразова-

ние для компенсации возросшей потребности в нейрогормонах. В нейрогипофизе возрастает концентрация гранул вокруг сосудов ($17,0 \pm 0,9$). Высокий уровень протеосинтеза документируется высокой актив-



Рис. 2. Активность ферментных систем у дегидрированных крыс. а—СОЯ. Г-6-ФДГ. Ок. 10, об. 40; б—СОЯ. ГДГ. Ок. 10, об. 40; в—ПВЯ. ЛДГ. Ок. 10, об. 20.

ностью ГДГ (рис. 2, б) и обладает следующими количественными параметрами: СОЯ— $37,9 \pm 0,9$, ПВЯ— $36,8 \pm 0,9$, нейрогипофиз— $18,2 \pm 0,4$, а его топка принципиально однотипна с распределением Г-6-ФДГ. Редукция суммарного белка в нейросекреторных клетках может быть результатом усиленной эвакуации нейрогормонов [8]. Форма и размеры гранул диформазана при реакции на ЛДГ остаются без изменений при возрастании градиента активности в структурах СОЯ ($45,5 \pm 1,7$), ПВЯ ($38,6 \pm 2,0$, рис. 2, в) и нейрогипофиза ($30,9 \pm 0,8$). Возрастание активности ЛДГ свидетельствует о значительной интоксикации анаэробных процессов, необходимых для обеспечения возросших синтетических потребностей секреторных нейроцитов. Анализ распределения СДГ в нейросекреторных ядрах показал возрастание активности преимущественно в локусах межнейрональных и аксо-соматических контактов с сохранением поверхностной локализации продукта ферментной реакции (СОЯ— $50,6 \pm 1,0$; ПВЯ— $55,7 \pm 0,6$). Нарастание градиента активности отмечено и в нейрогипофизе ($33,3 \pm 0,5$). Указанный феномен может быть связан с усилением потока, афферентной импульсации, связанной с дегидратацией. В перикарионах нейросекреторных нейроцитов регистрируются лишь немногочисленные мелкие гранулы формазана, указывающие на низкую активность СДГ.

Отмечено возрастание активности α -ГФДГ в СОЯ ($34,7 \pm 0,2$) и ПВЯ ($22,8 \pm 1,5$) при неизменности топки по сравнению с интактными животными. Мозаичность и очаговость распределения ГФДГ, свойственные нейрогипофизу интактных крыс, сменяются равномерным распределением активности фермента по всей территории задней доли ($16,7 \pm 0,6$). Возрастание числа Беккер-позитивных нейроцитов и по-

вышение интенсивности реакции в задней доле гипофиза свидетельствуют об усилении синтеза фосфолипидов в ГННС и согласуются с результатами Кгооп [14].

Таким образом, дегидратация сопровождается возрастанием градиента активности рассмотренных дегидрогеназ с преобладанием пентозо-фосфатного пути утилизации энергии с соответствующим ему ферментным профилем. Обнаруженный прирост активности преимущественно в СОЯ связан с ведущей ролью этого ядра в процессах осморегуляции.

При исследовании распределения Г-6-ФДГ в микроструктурах ГННС гидрированных животных наибольшее падение активности отмечено в нейронах СОЯ ($20,1 \pm 0,6$, рис. 3, а), в меньшей степени в



Рис. 3. Активность ферментных систем у гидрированных крыс. а—СОЯ. Г-6-ФДГ. Ок. 10, об. 40; б—СОЯ. ГДГ. Ок. 10, об. 20; в—ПВЯ. ЛДГ. Ок. 10, об. 20.

ПВЯ ($24,0 \pm 0,3$). Обнаруженное ранее преобладание активности фермента в перикарионах по сравнению с нейропилем сохраняется. В нейрогипофизе наряду с уменьшением числа гранул диформаза регистрируется тенденция к очаговости и мозаичности распределения гранул ($3,4 \pm 0,5$). Значительная редукция активности ГДГ отмечена в СОЯ ($16,1 \pm 0,4$, рис. 3, б) и ПВЯ ($21,3 \pm 0,6$), что сочетается с отчетливой гетерогенностью в содержании энзима, следствием этого служит различная градация активности нейроцитов: от слабой до значительной. Содержание ГДГ в нейрогипофизе маркируется лишь единичными гранулами ($4,8 \pm 0,4$). Активность существенно снижается в СОЯ ($7,6 \pm 0,5$) и ПВЯ ($8,4 \pm 0,8$, рис. 3, в). В большинстве нейронов осадок представлен мельчайшими пылевидными гранулами голубого оттенка, в нейрогипофизе он практически отсутствует. В нейрогипофизе гранулы ферментного осадка прослеживаются в цитоплазме питуицитов и по периферии сосудов капиллярного типа ($6,9 \pm 0,6$). Для СДГ свойственно сохранение топики, характера осадка диформаза, соотношения активности в системе нейронит-нейропил; снижается лишь ко-

личественная характеристика фермента: СОЯ— $19,9 \pm 0,7$, ПВЯ— $20,6 \pm 0,7$. Градиент активности фермента в нейрогипофизе снижен по сравнению с интактными и дегидрированными животными ($9,3 \pm 0,5$). Наиболее отчетливо падение активности α -ГФДГ выражено в нейронах СОЯ ($11,7 \pm 0,5$), в меньшей степени в ПВЯ ($16,5 \pm 1,1$). Перикарионы многих нейроцитов свободны от ферментного осадка. Топике фермента в нейрогипофизе свойственна мозаичность распределения ($6,6 \pm 0,5$). Количественные взаимоотношения ферментной активности отражены на рис. 4.

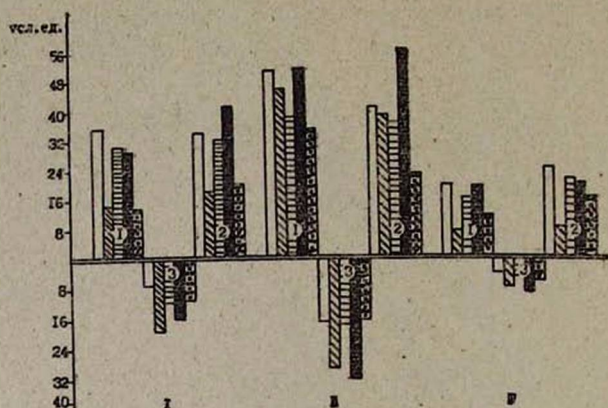


Рис. 4. Количественная характеристика ферментной активности гипоталамо-нейрогипофизарной нейросекреторной системы. Условные обозначения: I—интактные, II—дегидрированные, III—гидрированные животные. 1—супраоптическое, 2—паравентрикулярное ядро, 3—нейрогипофиз. □ Г-6ДГ ▨ ЛДГ ▤ ГДГ ■ СДД ▩ ГФДГ.

Обнаруженное при гидратации снижение секреторной способности ГНС, заключающееся в редукции РНК, суммарного белка, застое нейросекреторного материала согласуется с угнетением активности дегидрогеназ основных звеньев энергетического обмена нейросекреторных клеток. Наиболее значимыми указанные сдвиги были в СОЯ; снижение активности в ПВЯ, хотя и отчетливо выражено, происходит в меньшей степени. Следует отметить гетерогенность распределения ферментов в перикарионах нейроцитов, свойственную интактным животным и исчезающую при дегидратационном стрессе. В характеристике ферментного узора почти всех изученных дегидрогеназ сохраняется преобладание активности в нейронах над нейропилем. В нейрогипофизе локализация дегидрогеназ у гидрированных животных тождественна их топике интактных крыс, однако со значительным снижением градиента активности (рис. 5).

Несмотря на существенное снижение уровня окислительно-восстановительных процессов в ГНС при гидратации, ведущим путем окисления в цитоплазме нейросекреторных клеток является пентозо-фосфатный шунт. Таким образом, преобладающим путем окисления глюко-

зы в метаболизме ГННС в условиях физиологического функционирования, активации и угнетения является прежде всего пентозо-фосфатный путь, в несколько меньшей степени—анаэробный путь и менее значим цикл трикарбоновых кислот. Такой вывод согласуется с большинством из имеющихся сведений и основан на однозначных ре-

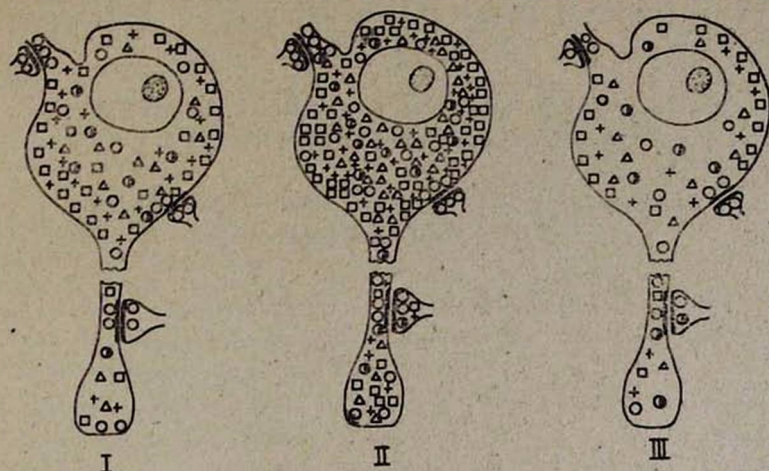


Рис. 5. Схема распределения ферментной активности дегидрогеназ у интактных (I), дегидрированных (II) и гидрированных (III) крыс. Условные обозначения активности ферментов: + ЛДГ, ○ СДГ, □ Г-6-ДГ, ● ГФДГ.

зультатах низкой активности СДГ в нейронах и глиальных элементах гипоталамуса. Между тем, установившееся в литературе мнение [9] относительно преобладания гликолитического и шунтового обмена глюкозы по сравнению с лимоннокислым циклом в ГННС считают маловероятным, поскольку выявляемая относительно низкая активность СДГ служит отражением эволюционно закрепленной эффективности и экономичности дыхательного обмена с возрастанием сопряженности дыхания и фосфорилирования. Своеобразие локализации ферментного осадка СДГ на поверхности нейроцитов ГННС и низкая активность этого фермента в перикарионах нейросекреторных клеток устраняют кажущееся несоответствие его функциональной значимости. Нам представляется, что особенности метаболизма микроструктур ГННС могут быть поняты с учетом их уникального двойственного функционирования. При этом секреторные функции нейроцитов реализуются посредством возрастания активности ферментов пентозо-фосфатного шунта и гликолитического пути Эмбдена-Мейергофа, что сближает особенности метаболического режима ГННС и эндокринных желез. Проводниковые функции осуществляются посредством возрастания активности лимоннокислого цикла с локализацией их в зоне аксо-соматических контактов и других синаптических образований. Значимость различных звеньев окислительного обмена сохраняется при измененных уровнях функционирования ГННС, что отражает сопряжен-

ность двойственных функций нейроцитов и может служить показателем функционального состояния ГННС.

Центральная научно-исследовательская лаборатория
Ростовского медицинского института

Поступила 7/1 1978 г.

Է. Ս. ԳՈՒԼՅԱՆՅ, Լ. Պ. ՍԻԶՅԱԿԻՆԱ, Ն. Ս. ԳՈՐՈՔԽՈՎԱ, Տ. Գ. ԼԻՏՎԻՆԵՆԿՈ,
Տ. Մ. ԶԻՆԻՆԱ

ՀԻՊՈԹԱԼԱՄՈՒՍԻ ՆՅԱՐԴԱՀՅՈՒԹԱԶԱՏԱԿԱՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Հաղորդագրություն 2. Էներգետիկական փոխանակության հյուսվածաէնզիմոլոգիան

Առնետների մոտ մոդելավորել են հիպոթալամո-նյարդահիպոֆիզային նյարդահյուսվածական համակարգի ռեակցիայի ակտիվացում և ընկճում՝ ջրազրկման և ջրային բեռնվածության հղանակով, ուսումնասիրել են նրա ֆերմենտային բնորոշումը (տրվել է քանակական և որակական գնահատական լակտատդեհիդրոգենազայի, սուկցինատդեհիդրոգենազայի, գլուտամատդեհիդրոգենազայի, ալֆագլիցերոֆոսֆատդեհիդրոգենազայի և գլյուկոզո-6-ֆոսֆատդեհիդրոգենազայի ակտիվությանը):

Ենթադրվում է, որ նյարդահյուսվածական բջիջների հյուսվածական ֆունկցիաները իրականացվում են գլիկոլիզի և պենտոզֆոսֆատային շղթայի էներգիայով, իսկ նեյրոցիտների հաղորդչական հատկությունները՝ տրիկարբոնային թթուների ցիկլում օքսիդացման միջոցով: Հիպոթալամո-նյարդահիպոֆիզային նյարդահյուսվածական համակարգի մորֆոֆունկցիոնալ եզակիությունը պայմանավորված է նրա միկրոկառուցվածքների էներգետիկական նյութափոխանակության յուրօրինակությամբ, որը ապահովում է նրա երկակի գործածումը:

E. S. GOOLYANTS, L. P. SIZYAKINA, N. M. GOROKHOVA,
T. G. LITVINENKO, T. M. ZININA

MAIN CHARACTERISTICS OF NEUROSECRETORY CELLS OF HYPOTHALAMUS

Report II: Histoenzymology of power exchange

Activation and depression of reaction of hypothalamo-neurohypophyseal neurosecretory system were modelled by dehydration and water load in rats. The ferment characteristic of the reaction was studied. It is supposed, that neurosecretory cells are realized by the power of glycolysis and pentosephosphate shunt, while the conductive characteristics of neurocytes by oxidation in the cycle of tricarboxylic acids.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гордиенко В. М., Дроздович И. И. Физиол. журн., 1972, т. 18, 5, стр. 621.
2. Дроздович И. И. Автореф. канд. дисс. Киев, 1973.
3. Поляков Г. И. О принципах нейронной организации мозга. М., 1965.
4. Португалов В. В., Пигарева З. Д., Буснюк М. М. и др. В кн.: III Всес. конф. по биохимии нервной системы. Ереван, 1963, стр. 297.
5. Фиделина О. В. Арх. анат., 1967, т. 58, 12, стр. 89.
6. Фиделина О. В. Цитология, 1968, т. 10, 5, стр. 593.
7. Фиделина О. В. Арх. анат., 1969, т. 56, 2, стр. 29.
8. Чекунов А. С. Цитология, 1966, т. 8, 4, стр. 541.
9. Шарашидзе Л. К., Хучуа А. В., Чхарташвили Н. С. Сообщ. АН ГССР, 1974, т. 74, 3, стр. 709.
10. Шиблер Т. Г., Турауф П. Р. Цитология, 1969, т. 11, 7, стр. 838.
11. Bara D., Skalleczka J. Kiserl. orvostud., 1969, 19, 3, 321.
12. Friede R. L. J. Neurochem., 1961, 6, 190.
13. Hanefeld F. Acta neuropathol., 1968, 10, 1, 91.
14. Kroon D. B. Z. Zellforsch., 1963, 61, 317.
15. Norström A. et al. Exp. Neurol., 1972, 37, 3, 502.
16. Pilgrim Ch. Histochemie, 1967, 10, 1, 44.
17. Robinson N. J. Neurochem., 1972, 19, 6, 1577.
18. Shimplzu N. et al. J. Comp. Neurol., 1957, 108, 1, 1.