

# Морфология шишковидной железы мышей с задержкой полового созревания

*Герасимов А.В.<sup>1</sup>, Логвинов С.В.<sup>1</sup>, Костюченко В.П.<sup>1</sup>, Кравченко Л.Б.<sup>2</sup>*

## Morphology of the pineal gland of forest mice with the delay of sexual ripening

*Gerasimov A.V., Logvinov S.V., Kostyuchenko V.P., Kravchenko L.B.*

<sup>1</sup> *Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск*

<sup>2</sup> *Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск*

© Герасимов А.В., Логвинов С.В., Костюченко В.П., Кравченко Л.Б.

На основании анализа морфометрических данных выявлены особенности функционального состояния шишковидной железы у мышей с задержкой полового созревания. Сделан вывод о вовлеченности пинеалцитов в регуляцию воспроизводства.

**Ключевые слова:** шишковидная железа, морфометрия, ультраструктура, замедленное половое созревание.

On the basis the analysis of morphometric data are revealed the special features of the functional state of pineal gland in mice with the delay of sexual ripening. Is made conclusion about the involvement of pinealocytes into the regulation of reproduction.

**Key words:** pineal gland, morphometry, ultrastructure, the retarded sexual ripening.

УДК 591.481.3:599.323.43

### Введение

Шишковидная железа вырабатывает широкий спектр гормонов, в том числе мелатонин и антигонадотропный пептид, оказывающих влияние на скорость полового созревания. Мелатонин угнетает секреторную активность гонадолиберинпродуцирующих гипоталамических нейроэндокринных клеток. Антигонадотропный гормон подавляет активность гонадотропных эндокриноцитов гипофиза. У детей с опухолями, разрушающими шишковидную железу, часто развивается преждевременное половое созревание [3].

Затормаживание половой зрелости является естественным для потомства мышей красно-серой полевки, рожденного во второй половине лета [2]. Функциональное состояние шишковидной железы у них остается не изученным. В настоящее время морфологическими маркерами функциональной активности органа рассматривают карิโอметрические показатели пинеалцитов, изменения удельного объема и ультраструктуры органелл, секреторных везикул, синаптиче-

ских лент, сферул, нейрожелезистых синапсов [1, 4, 7].

Цель работы — оценить по кардио- и ультраструктурометрическим критериям функциональное состояние шишковидной железы у мышей с задержкой полового созревания.

### Материал и методы

У 2-месячных самцов красно-серой полевки (5 особей), рожденных в конце июля и содержавшихся в виварии в условиях естественного режима освещения, после декапитации извлекали шишковидную железу. Контролем служили половозрелые самцы красной полевки (5 животных) того же возраста. Материал фиксировали в смеси 4%-го параформальдегида и 2,5%-го глутаральдегида на какодилатном буфере концентрацией 0,1 моль (рН 7,4), постфиксировали в 1%-м растворе OsO<sub>4</sub> и после дегидратации заключали в смесь смол эпон-аралдит. Срезы готовили на ультратоме Ultratom III (LKB, Швеция). Полутонкие срезы окрашивали азуром II, изучали в световом микроскопе Primo Star (Carl Zeiss, Германия) с цифровой фотока-

мерой G-10 (Canon, Япония) и программным обеспечением Axio Vision (Carl Zeiss, Германия). Площадь ядра и диаметр ядрышек пинеалоцитов измеряли в пяти срезах, взятых от каждого животного. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, исследовали в электронном микроскопе JEM-100 CX II (JEOL, Япония), удельный объем оргanelл в цитоплазме пинеалоцитов определяли с помощью сетки Автандилова в 10 полях ультратонких срезов железы каждого животного при конечном увеличении 25 000.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 6.0. Для каждого показателя определяли среднее арифметическое значение  $M$  и ошибку среднего  $m$ . Оценку значимости различий средних величин оценивали с применением  $t$ -критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Кариометрический анализ показал, что у мышей с заторможенным половым созреванием светлые пинеалоциты имеют более крупное ядро с глубокими и многочисленными складками. Диаметр и количество ядрышек, удельный объем митохондрий и комплекса Гольджи также проявляют значимые различия с половозрелыми особями (таблица).

Сдвиги карио- и ультраструктурометрических показателей пинеалоцитов у 2-месячных мышей с задержкой полового созревания ( $M \pm m$ )

Показатель	Половозрелые самцы (контроль)	Самцы с задержкой полового созревания
$S_{я}$ , мкм <sup>2</sup>	34,4 ± 1,1	38,9 ± 1,3**
$d_{як}$ , мкм	1,59 ± 0,04	1,72 ± 0,05*
$V_{Мх}$ , %	5,86 ± 0,24	8,38 ± 0,36***
$V_{ГЭС}$ , %	3,36 ± 0,16	1,93 ± 0,09***
$V_{КГ}$ , %	3,48 ± 0,15	6,67 ± 0,32***

Примечание.  $S_{я}$  — площадь ядра;  $d_{як}$  — диаметр ядрышек;  $V_{Мх}$  — удельный объем митохондрий в цитоплазме;  $V_{ГЭС}$  — гранулярной эндоплазматической сети;  $V_{КГ}$  — комплекса Гольджи; \* — значимые различия с контролем при  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$ .

Удельный объем комплекса Гольджи в пинеалоцитах мышей с заторможенной половой зрелостью в 2 раза ( $p < 0,001$ ) превышает аналогичный показатель у половозрелых самцов (таблица). Диктиосомы удалены от ядра. Их окружают везикулы Гольджи и митохондрии (рис. 1).

У половозрелых мышей в шишковидной железе около ядра пинеалоцитов чаще обнаруживаются комплексы цистерн гранулярной эндоплазматической сети, цитоплазматический матрикс более электронноплотный, в перикарионах и отростках выявляется большее число полисом. Удельный объем гранулярной эндоплазматической сети в 1,7 раза ( $p < 0,001$ ) превышает величину данного показателя у мышей с заторможенной половой зрелостью. Синаптические сферулы немногочисленны (рис. 2).

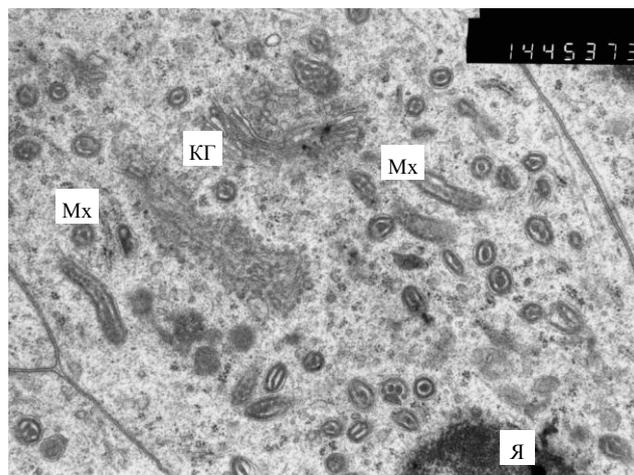


Рис. 1. Удаленный от ядра (Я) комплекс Гольджи (КГ), окруженный «тигroidными» митохондриями (Мх) в пинеалоците шишковидной железы мыши с задержкой полового созревания. Ув. 14 000

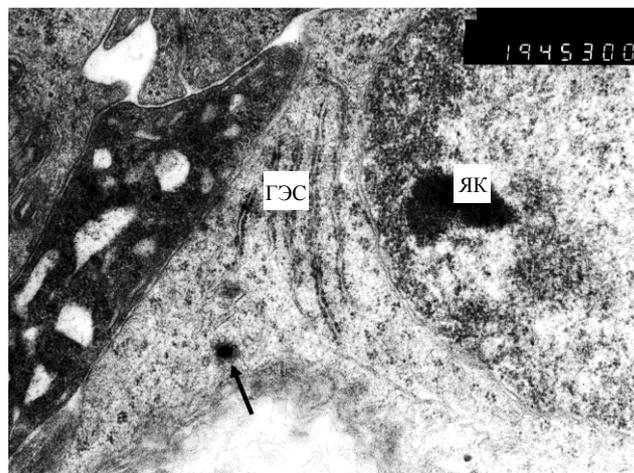


Рис. 2. Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГЭС) около ядра (ЯК — ядрышко) и синаптическая сферула (стрелка) в пинеалоците половозрелой мыши. Ув. 19 000

У мышей с заторможенной половой зрелостью синаптические сферулы и ленты формируют комплексы. Нейрожелезистые синапсы крупные, содержат

круглые светлые и малые везикулы с плотной сердцевиной. В отростках пинеалоцитов обнаруживаются секреторные везикулы (рис. 3).

Митохондрии в пинеалоцитах 2-месячных мышей часто «тигроидного» типа с плотным матриксом и широкими продольно ориентированными кристами. Вместе с тем у половозрелых особей нередко встречаются и обычные митохондрии с матриксом умеренной электронной плотности и поперечными короткими кристами. Нейрожелезистые синапсы вблизи пинеалоцитов у них менее крупные, пресинаптическая часть заполнена пузырьками с плотным содержимым (рис. 4).

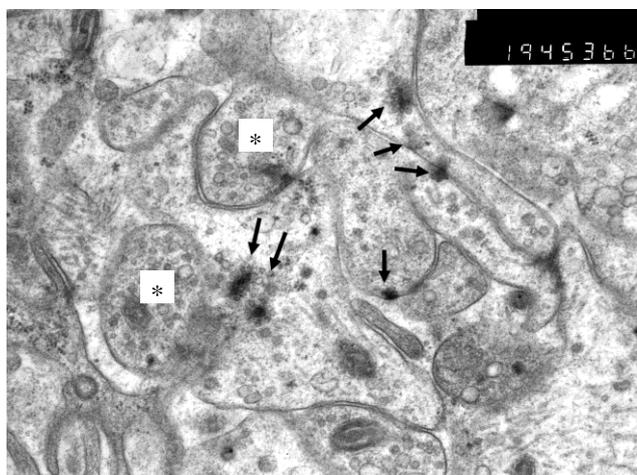


Рис. 3. Синаптические ленты и сферулы (стрелки), секреторные везикулы в отростках пинеалоцитов и нейрожелезистые синапсы (\*) у мыши с задержкой полового созревания. Ув. 19 000

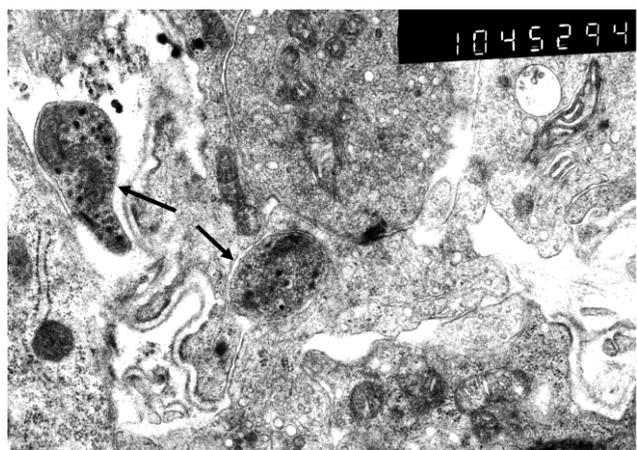


Рис. 4. Нейрожелезистые синапсы (стрелки) вблизи отростков пинеалоцитов, «тигроидные» и обычные митохондрии у половозрелой мыши. Ув. 15 000

Анализируя выявленные различия, необходимо отметить, что шишковидная железа является транс-

дуктором, превращающим нервные сигналы восприятия света в эндокринные [6]. Ультраструктура синаптических лент, сферул и нейрожелезистых синапсов с адренергическими пузырьками у половозрелых мышей свидетельствует о депонировании нейромедиаторов и угнетении функциональной активности пинеалоцитов, тогда как у мышей с заторможенным половым созреванием — о выделении нейромедиаторов и активизации деятельности железы [8, 9].

Увеличение числа клеток с просветленным цитоплазматическим матриксом, ядрышек, ядер, их складчатости, обусловленное активизацией транскрипционных процессов и ядерно-цитоплазматического обмена, удаленность от ядра зоны комплекса Гольджи, возрастание его удельного объема, митохондрий, числа везикул Гольджи, скопление митохондрий вблизи диктиосом также отражают сдвиг функционального состояния железы в сторону усиления активности. «Тигроидный» тип митохондрий, характерный для молодых мышей [5], соответствует состоянию заторможенности полового созревания.

У половозрелых мышей того же возраста, наоборот, часто обнаруживаемые явления комплексования цистерн гранулярной эндоплазматической сети в пинеалоцитах с плотным цитоплазматическим матриксом и множеством полисом (ранее называемых темными функционально неактивными клетками) свидетельствуют об угнетении деятельности шишковидной железы. Наличие наряду с «тигроидными» обычных митохондрий — о более высокой структурно-функциональной зрелости железы. Можно предположить, что мыши с заторможенной половой зрелостью, имеющие «тигроидные» митохондрии, не способны ускорить метаболизм и приступить к размножению в текущем году.

В настоящее время известно несколько механизмов регуляции активности шишковидной железы и производства [3]. Наиболее универсальный механизм связан с мелатонином, выработка которого пинеалоцитами усиливается при укорочении светлого времени суток. Укорочение времени воздействия света в течение суток на сетчатку, активизация пейсмерных нейронов супрахиазматических ядер (ретиногипоталамическая проекция), «пресимпатических» нейронов паравентрикулярных ядер, автономных нейронов спинного мозга (паравентрикуломедуллярная проекция) и симпатических верхних шейных ганглиев способствует активизации секреции мелатонина, по-

давяющего, в свою очередь, выработку гонадолиберина, стимулирующую гонадотропных эндокриноцитов и репродуктивную активность.

Другой механизм угнетения функции гонад связан со способностью шишковидной железы продуцировать антигонадотропный гормон, который подавляет активность гонадотропных эндокриноцитов гипофиза и воспроизводство. Проведенные исследования позволяют предполагать, что этот механизм задействован у мышей с заторможенной скоростью полового созревания, поскольку в пинеалоцитах обнаружены секреторные везикулы, с плотным содержимым которых, по данным литературы, связывают локализацию данного гормона [9].

### Заключение

Таким образом, проведенные морфологические исследования показали, что у мышей, родившихся во второй половине лета и проявляющих задержку половой зрелости, обнаруживается сдвиг в сторону активизации функционального состояния шишковидной железы. Полученные результаты объясняют фотозависимые механизмы регуляции воспроизводства, значимость такого фактора внешней среды, как фотопериод.

### Литература

1. Герасимов А.В., Логвинов С.В., Костюченко В.П. Морфологические изменения в эпифизе у крыс при длитель-

ном освещении ярким светом // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2010. Т. 150, № 7. С. 97—99.

2. Кравченко Л.Б., Москвитина Н.С. Поведенческие и физиологические особенности трех видов лесных полевок (*Clethrionomus, Rodentia, Cricetidae*) в связи с пространственной структурой их популяции // Зоолог. журн. 2008. Т. 87, № 12. С. 1509—1517.
3. Логвинов С.В., Герасимов А.В. Циркадианная система и адаптация. Морфофункциональные и радиобиологические аспекты. Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2007. 200 с.
4. Логвинов С.В., Герасимов А.В., Костюченко В.П. Ультраструктура пинеалоцитов у крыс при воздействии света и радиации // Морфология. 2004. Т. 125, № 1. С. 71—75.
5. Allen J.D., DiDio L.J.A., Gentry E.R., Ohtani O. The aged rat pineal gland as revealed in SEM and TEM // Age. 1982. V. 5. P. 119—126.
6. Goldman B.D. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement // J. Biol. Rhythms. 2001. V. 16, № 4. P. 283—301.
7. Karasek M., Zielinska A., Marek K. et al. Ultrastructure of pinealocytes in mice implanted with Colon 38 adenocarcinoma // Neuro Endocrinol. Lett. 2003. V. 24, № 3—4. P. 269—273.
8. McNulty J.A., Prechel M.M., van de Kar L.D., Fox L.M. Effects of isoproterenol on synaptic ribbons in pinealocytes of the rat and C57BL/6J mouse // J. Pineal Res. 1989. V. 7, № 3. P. 305—311.
9. Vollrath L. Functional anatomy of the human pineal gland // The pineal research / ed. R. Reiter. N. Y.: Raven Press, 1984. P. 285—322.

Поступила в редакцию 09.02.2012 г.

Утверждена к печати 30.05.2012 г.

### Сведения об авторах

**А.В. Герасимов** — д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

**С.В. Логвинов** — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

**В.П. Костюченко** — канд. мед. наук, ассистент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

**Л.Б. Кравченко** — канд. биол. наук, доцент кафедры зоологии позвоночных и экологии Биологического института НИ ТГУ (г. Томск).

### Для корреспонденции

**Герасимов Александр Владимирович**, тел.: 8 (382-2) 55-60-32, 8-913-105-4853; e-mail: A\_Gerasimov@sibmail.com