

ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГИСТОГЕНЕЗА И ПРОБЛЕМА ПЛАСТИЧНОСТИ ЦНС

ФГОУ ВПО Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова

Нейрогенез происходит в течение всей жизни. Этот процесс служит основой обеспечения пластической функции мозга и регулируется многими факторами, например, увеличенной физической активностью и стрессом [8].

Решение вопроса о путях физиологической регенерации, т. е. пополнения утраченных в процессе активного функционирования нейросекреторных клеток (НСК), представляет интерес не только для нейроэндокринологии, но и для понимания такого явления, как изменение пластичности нервной ткани в филогенезе позвоночных. Исследования на половозрелых особях травяной лягушки (*Rana temporaria* L.) с применением методов свето- и электронно-микроскопической H^3 -тимидиновой радиоавтографии подтвердили наличие камбия в многорядной эпендимной выстилке дорсальной стенки преоптической бухты (ПБ) [4–6].

Известно, что нейрогенез во взрослом мозге проходит следующие основные фазы: асимметричное деление нейральных стволовых клеток с различной функцией дочерних клеток; пролиферация (размножение) образующихся новых клеток; дифференцировка клеток в определенный фенотип (нейрон, олигодендроцит, астроцит); и, наконец, миграция зрелых клеток, в частности в субвентрикулярную зону [8].

Цель и задачи исследования. Для анализа возможных причин и способов физиологической регенерации популяции НСК в преоптическом ядре (ПЯ) у половозрелых особей травяной лягушки была поставлена задача изучить ультраструктурную организацию различно дифференцированных НСК, а также малодифференцированных клеток эпендимной выстилки преоптической бухты (ПБ) и субэпендимной зоны травяной лягушки. Объектом исследования служили половозрелые особи в количестве 14 штук, из которых у 3 вентральная часть гипоталамической области ПБ была подготовлена для электронно-микроскопического исследования по стандартным методикам [1].

Матричные клетки. При электронно-микроскопическом изучении многорядной эпендимной выстилки дорсальной стенки ПБ выявлены отдельные клетки с повышенной плотностью ядра и цитоплазмы, которые располагаются в первом и втором рядах эпендимы ПБ. Эти клетки образуют компактные скопления – «гнезда». При изучении серийных ультратонких срезов обнаружено изменение формы их тел от округло-овальной до вытянутой с отростком, ориентированным в направлении от стенки желудочка в ткани мозга. Повышенная плотность кариоплазмы клеток обусловлена плотной упаковкой хроматина, иногда имеющего вид нитевидных и глыбчатых образований. Особенно характерны для ядер этих клеток массивные скопления хроматина у ядерной мембраны, вследствие чего они имеют более четкие контуры ядер по сравнению с прочими клетками эпендимы. Не во всех ядрах этих клеток удается выявить ядрышко (рис. 1).

Цитоплазма характеризуется большим количеством свободных рибосом. В ней могут обнаруживаться единичные, слабо развитые мелкие цистерны ЭПС, редкие митохондрии с плотным матриксом и первичные лизосомы. Среди этих клеток можно выделить темные и светлые, хотя все они, как правило, имеют повышенную плотность ядра и цитоплазмы и крайне скудное количество последней (т. е. высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение) (рис. 2). Исходя из литературных данных о том, что эта часть эпендимной выстилки дорсальной стенки ПБ у низших позвоночных – рыб [3] и амфибий [4, 5] является матричной зоной, описанные нами клеточные элементы рассматриваем как матричные. Далее происходит пролиферация матричных клеток, сосредоточенных в многорядной эпендиме ПБ, образование индифферентных клеток, их выселение и резервирование. Индифферентные клетки (ИК) периодически дифференцируются в НСК, нейроны и глиальные клетки.

В многорядном эпендимном пласте дорсальной стенки ПБ, т. е. там же, где и матричные клетки, обнаруживаются и упомянутые выше **индифферентные клетки** (ИК), хотя обычно они диффузно распределены в субэпендимной зоне на уровне мелкоклеточной части преоптического ядра. Электронно-микроскопически ИК характеризуются овальной или округлой формой, а их ядра имеют неровные очертания (рис. 3). Хроматин располагается рыхло, образуя скопления вблизи кариолеммы. Перинуклеарное пространство слегка расширено. С наружной стороны ядра вблизи ядерных пор находятся скопления полисом. Иногда видны переходы наружной оболочки ядра непосредственно в мембраны канальцев гранулярной ЭПС. Количество этих канальцев невелико, они представлены короткими фрагментами и почти не содержат рибосом на своей поверхности. Наличие большого количества свободных рибосом и полисом в цитоплазме ИК является одним из характерных признаков этих клеток. Элементы комплекса Гольджи развиты слабо и выявляются в виде округлых гладких пузырьков. Вследствие этого еще одна характерная черта ИК – отсутствие в цитоплазме секреторных гранул. Немногочисленны и митохондрии, имеющие округлую или слегка овальную форму и матрикс невысокой электронной плотности. Кроме того, в цитоплазме ИК выявляются единичные нейротрубочки и первичные лизосомы, но отростки у этих клеток отсутствуют. Можно допустить, что именно ИК в дальнейшем могут дифференцироваться в глиальные, нервные или нейросекреторные клетки преоптического ядра.

В ходе исследования обнаруживались **малодифференцированные** НСК, которые располагаются преимущественно субэпендимно, хотя встречались также во втором или третьем ряду эпендимной выстилки ПБ. Большей частью это клетки округлой формы с несколько более широким ободком цитоплазмы по сравнению с ИК. На их принадлежность к НСК указывает светооптическое выявление ПАФ-положительного материала (нейросекрета) в цитоплазме и отростках. Ядра малодифференцированных НСК имеют округлую или овальную форму и еще более рыхлое, чем у ИК распределение хроматина. При электронно-микроскопическом исследовании поверхность этих клеток, как правило, ровная. Хроматин в ядре распределен диффузно, но может образовывать более плотные зернистые скопления в центре и прерывистые – вблизи ядерной

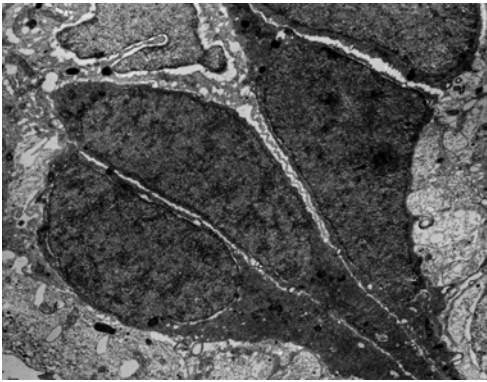


Рис. 1. Группа темных матричных клеток («гнездо») в многорядной эпендимной выстилке дорсальной стенки ПБ. Ув. 5000×

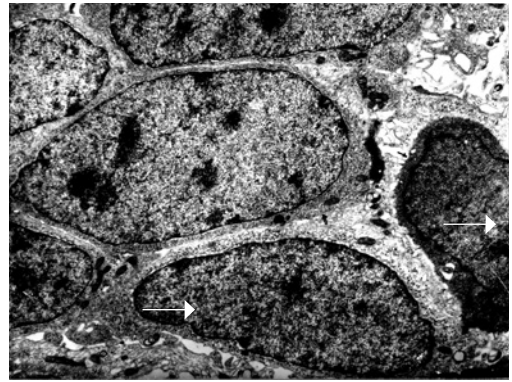


Рис. 2. Темная и светлая матричные клетки (стрелки) в многорядной эпендимной выстилке дорсальной стенки ПБ. Ув. 6000×

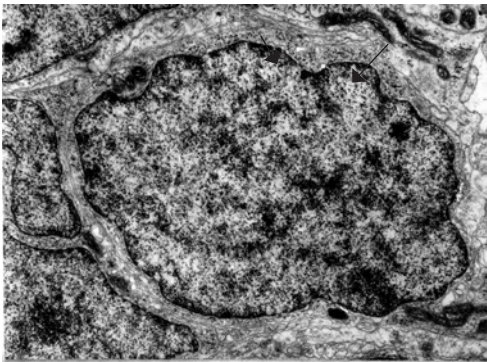


Рис. 3. Индифферентная клетка в глубине эпендимной выстилки дорсальной стенки ПБ. Вблизи ядерных пор видны скопления полисом (стрелка). Ув. 8000×

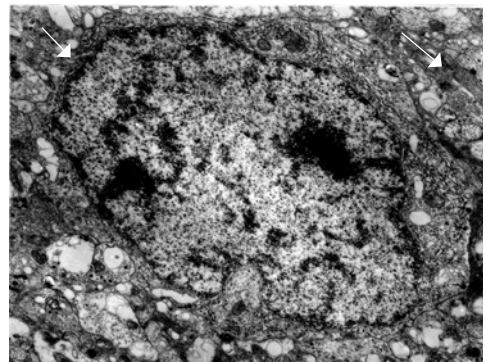


Рис. 4. Мало дифференцированная («молодая») пептидергическая НСК из первого ряда субэпендимной зоны ПБ, (стрелка) нейросекреторные гранулы. Ув. 5000×

мембраны. Иногда видны ядерные поры. Ядрышки определяются не всегда. Перинуклеарное пространство более расширено, чем в ИК. В цитоплазме мало дифференцированных НСК, как и в ИК, много свободных рибосом и полисом. Узкие и преимущественно короткие каналцы гранулярной ЭПС немногочисленны, диффузно распределены в цитоплазме. Слабо развиты элементы комплекса Гольджи, но в нем уже есть не только мелкие пузырьки, но и цистерны. Митохондрии встречаются редко, имеют овальную форму и умеренно плотный матрикс (рис. 4). Кроме того, наблюдаются единичные лизосомы, а в начальном сегменте отростка – нейротрубочки. Главной отличительной чертой этих НСК от других клеток субэпендимной зоны и эпендимной выстилки ПБ является наличие в их цитоплазме единичных нейросекреторных гранул (диаметром около 100 нм). Это типичные элементарные нейросекреторные гранулы с электронно-прозрачным центральным веществом и светлым ободком – гало.

Малодифференцированные НСК, несмотря на сходство своей морфологии, неоднородны по степени своей дифференцированности, и, следовательно, по своей функциональной активности, а именно – по выработке нейросекрета. Среди малодифференцированных НСК имеются клетки, отличающиеся от ИК лишь наличием единичных нейросекреторных гранул. Как правило, молодые НСК со все более усложняющейся структурной организацией обнаруживаются ближе к зрелым дифференцированным НСК, располагающимся на некотором расстоянии от просвета 3-го желудочка.

Повышенная митотическая активность матричных клеток в дорсальной стенке ПБ и выселение ИК в область вентральной части ПЯ отмечалась нами в конце мая и начале июня, как и выявление в ПЯ пикноморфных НСК в эти же периоды жизни амфибий. Эти факты наводят на мысль о возможной причинной зависимости между дегенерацией НСК и пролиферацией матричных элементов эпендимы ПБ. Кроме того, в следующий за размножением период жизни лягушек нейрогормоны ПЯ продолжают поддерживать гомеостаз и, видимо, могут в большей степени оказывать метаболические эффекты, связанные, в частности, с повышенной двигательной активностью лягушек [2]. Усиленная деятельность ПЯ, по-видимому, требует восстановления как клеточных структур НСК путем внутриклеточной регенерации, так и путём восстановления клеточного состава ПЯ в целом путем его физиологической регенерации. В пользу последнего утверждения свидетельствуют данные нашего электронно-микроскопического исследования о наличии в дорсальной стенке ПБ половозрелых амфибий большого количества камбиальных матричных клеток, превращающихся в индифферентные клетки, которые затем дифференцируются в молодые НСК. Таким образом, в преоптическом ядре амфибий пластичность проявляется как на уровне клеток, так и на уровне ПЯ в целом в виде его физиологической регенерации путем обновления клеточного состава ядра.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Миронов А. А., Комиссарчик Я. Ю., Миронов В. А.* Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. СПб.: Наука, 1994.
2. *Поленов А. Л.* Эволюция гипоталамо-гипофизарного нейроэндокринного комплекса // Эволюционная физиология. Л., 1983. Ч. 2. С. 53–109.
3. *Kirsche W.* Uber postembrional Matrixzonen in Gehirn verscheidener Vertebraten und deren. Beziehung zur Hirnbauplanlehre // Z. microsc.-anat. Forsch. 1967. Bd.77. Hf 3/4. S. 313–406.
4. *Polenov A. L., Chetverukhin V. K., Yakovleva I. V.* The role of the ependyma of the recessus praeopticus in formation and the physiological regeneration of the Nucleus praeopticus in lower vertebrates // Z. mikroskop.-anat. Forsh. 1972. Bd. 85. Hf.4. S. 513–532.
5. *Четверухин В. К.* К вопросу о роли эпендимы преоптической бухты в формировании и физиологической регенерации преоптического ядра у амфибий // Материалы 1-й Всесоюзной конференции по нейроэндокринологии. Л., 1974. С. 186–189.

6. *Chetverukhin V. K.* Role of praeoptic recess ependyma in the formation and physiologic regeneration of the Nucleus praeopticus in amphibians. Neurosecretion and Neuroendocrine Activity: Evolution, Structure, Function / Ed by W. Bargmann, A. Okshe et al. Berlin, Heidelberg, New York, 1978. P. 145–151.
7. *Онищенко Л. С.* Исследование функциональной морфологии преоптического ядра лягушки (*Rana temporaria* L.) в связи с его физиологической регенерацией: Автореф. дис... канд. биол. наук. Л., 1984.
8. *Гомазков О. А.* Старение мозга и нейротрофическая терапия. М.: Икар, 2011.

Петрова Е. С., Исаева Е. Н., Коржевский Д. Э.

ХОЛИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ В СУСПЕНЗИОННЫХ ТРАНСПЛАНТАТАХ ЭМБРИОНАЛЬНОГО СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ, РАЗВИВАЮЩИХСЯ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОМ НЕРВЕ ВЗРОСЛЫХ ЖИВОТНЫХ

*Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (заведующий – д. м. н. Д. Э. Коржевский) Отдела общей и частной морфологии
ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины»
СЗО РАМН, Санкт-Петербург, e-mail: iemtmorphol@yandex.ru*

Для стимуляции регенерации периферических нервных проводников в последние полтора десятилетия в экспериментах на лабораторных животных активно разрабатываются экспериментальные подходы, в которых используются различные стволовые клетки (СК): мезенхимные СК, нейральные стволовые/прогениторные клетки, СК из волосяных фолликулов и другие [см. обзоры: 4,6,8]. С помощью морфометрических, физиологических и электрофизиологических методов установлено, что клеточная терапия может способствовать росту нервных волокон. При этом, несмотря на значительное число публикаций по данной тематике, судьба пересаживаемых стволовых клеток и клеток-предшественников до конца не ясна. Имеются данные, что нейральные стволовые/прогениторные клетки после введения в поврежденный нерв или кондуит, соединяющий проксимальный и дистальный сегменты перерезанного нерва, выживают и дифференцируются в нейроны [5, 7, 8]. При этом практически отсутствуют работы, в которых изучается медиаторная принадлежность таких нейронов. На эту тему имеются лишь единичные исследования [7]. Тем не менее изучение цитогенеза используемых в качестве терапии клеток поможет выявить молекулярные механизмы их влияния на регенерацию нервных волокон.

Цель работы – выяснить возможность дифференцировки холинергических нейронов в суспензионных трансплантатах эмбрионального спинного мозга крысы после пересадки в поврежденный нерв.

Работа выполнена на крысах Вистар ($n = 10$). Содержание животных и все эксперименты осуществляли с учетом правил проведения работ с использованием экспериментальных животных. Седалищные нервы крыс-реципиентов повреждали путем