

Ультраструктурные изменения в нейронах аркуатного ядра гипоталамуса и нервных терминалях срединного возвышения нейрогипофиза крыс при длительном введении агониста дофамина бромкриптина

И. И. Дроздович

Бромкриптин, агонист дофамина — один из фармакологических препаратов, применяющихся в эндокринологии для лечения заболеваний, связанных с недостаточной активностью дофаминергической системы гипоталамуса [8, 9]. Биогенные амины, выполняющие медиаторные, модуляторные и гормональные функции, могут изменять секрецию и транспорт гипоталамических либеринов [19], а также оказывать непосредственное влияние на аденогипофизарный гормонопоез [7]. Аркуатное ядро (АЯ) является в гипоталамусе основным источником дофамина [15], который высвобождается в порталный кровоток в наружной зоне срединного возвышения (НЗСВ), где определяется его наиболее высокая концентрация [16]. Однако механизм действия бромкриптина на структуры гипоталамуса мало изучен. Сведений об изменении субмикроскопической организации АЯ и НЗСВ при введении этого препарата нет. Известно только, что однократное введение бромкриптина вызывает у крыс угнетение функциональной активности части нейронов АЯ [12, 13], непродолжительное — снижает в НЗСВ накопление ДОФА [6, 14], а также содержание дофамина и норадреналина [4, 10].

В настоящей работе представлены результаты изучения ультраструктурных изменений, происходящих в нейронах АЯ и нервных терминалях НЗСВ у крыс при длительном введении бромкриптина.

Методика

Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар. Бромкриптин (парлодел; фирма «Sandoz», Швейцария) вводили через зонд пяти крысам (5 мг/кг) 2 раза в сутки в течение 10 сут. Контролем служили животные (4 крысы), получавшие физиологический раствор. Для электронно-микроскопического исследования кусочки нервной ткани из области АЯ и СВ фиксировали в растворе 1 %-ного формальдегида и 2,5 %-ного глютаральдегида на какодильном буфере (0,1 моль/л), а затем в 1 %-ном растворе четырехоксида осмия. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM-100 С.

Размеры секреторных гранул и агранулярных везикул в нервных терминалях НЗСВ определяли на негативах, снятых при увеличении 20 000. В каждой группе проанализировано более 3 000 структур.

Результаты и их обсуждение

Электронно-микроскопические исследования показали, что при введении бромкриптина в АЯ значительно увеличивается число пикноморфных клеток, составляющих у некоторых животных до 40 % общего числа. Они более многочисленны в ростральной части и по периферии ядра. Степень деструкции этих нейронов неодинакова: в одних хорошо выражены контуры ядра и органеллы цитоплазмы, а в других эти структуры не дифференцируются из-за высокой электронной плотности.

К популяции нейронов с низкой функциональной активностью относятся также светлые клетки, в которых наблюдается редукция комплекса Гольджи и шероховатого эндоплазматического ретикулума. Ядра светлых клеток с низким содержанием хроматина. Ядрышко небольших размеров и идентифицируется значительно реже, чем у контрольных животных. В кариоплазме определяются включения

в виде пучка тонких филаментов. В цитоплазме одни митохондрии сохраняют свою обычную структуру, а другие резко набухают. Обращает на себя внимание усиленная вакуолизация светлых нейронов, в которых вакуоли занимают значительную часть цитоплазмы (рис. 1, а). Однако, несмотря на выраженные признаки снижения функциональной активности, в перинуклеарной зоне могут обнаруживаться

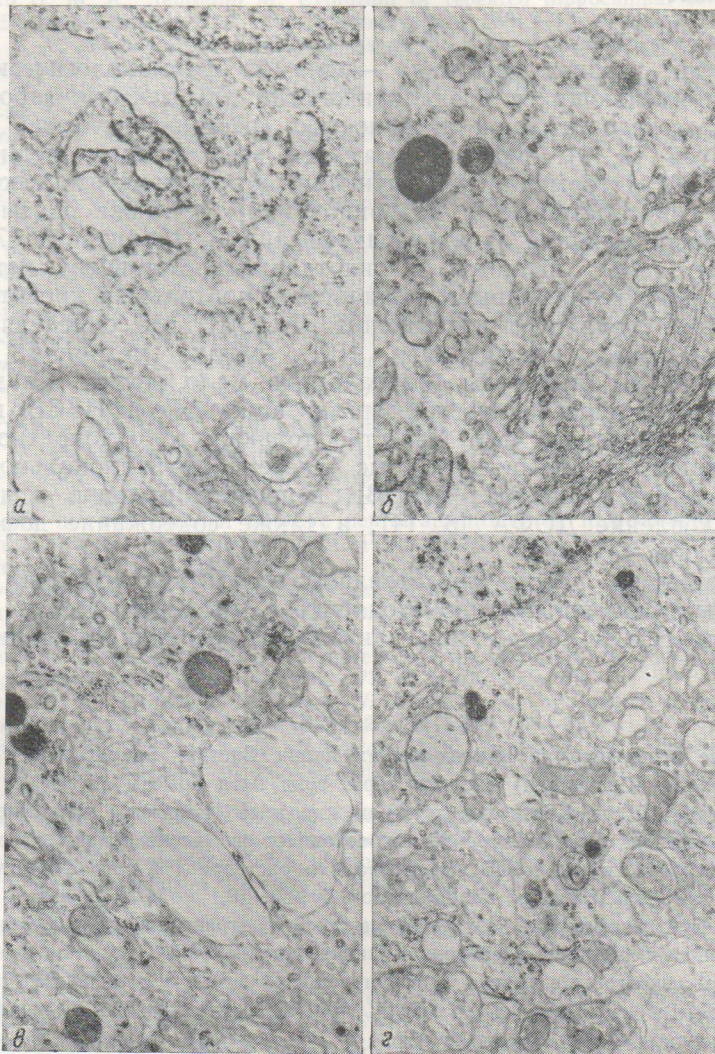


Рис. 1. Фрагменты (а — г) нейронов аркуатного ядра получавшей бромкриптин крысы. $\times 17\ 000$. Описание см. в тексте.

секреторные гранулы. Следует отметить, что снижение функциональной активности нейрона сопровождается деструктивными изменениями синапсов, расположенных на его поверхности. В одних синапсах уменьшается число структурных элементов, а в других их нет совсем и поэтому синапсы выглядят оптически пустыми.

Наряду с описанными в АЯ встречаются нейроны, состояние оргanelл которых свидетельствует об их высокой функциональной активности. Ядра их — набухшие, с извилистыми контурами, наружный листок ядерной мембраны местами глубоко выдается в цитоплазму. Шероховатый эндоплазматический ретикулум занимает значительный объем цитоплазмы и представлен довольно многочисленными

параллельно цистернами. Е преимуществен лекс Гольджи кул, в его ст гранул (рис. 1 ны секреторны центрально р отделено от о У подопытных лее крупные

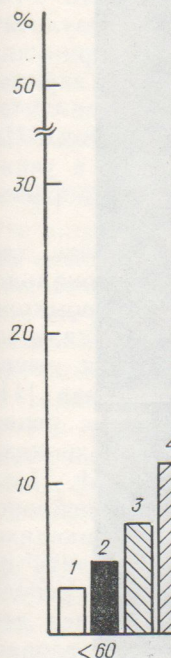


Рис. 2. Гистограмма нервных терминалов. 1 и 2 — гранулы, 3 — звездочки отмечены

жена эксцент нению с конт плазме опреде тивезикулярны ными гранула ретикулуме н ливаются ау тельца окруж кого ретикулу шими вакуол дающееся яв в этих нейрон

Морфолог криптина в н нул (контрол стовренности п везикул (28,4 сопровождается их популяций дит за счет п

митохондрии
бухают. Обра-
х нейронов, в
азмы (рис. 1,
ения функцио-
бнаруживаться

параллельно ориентированными канальцами либо расширенными цистернами. В цитоплазме много рибосом и полисом, митохондрии преимущественно небольших размеров с плотным матриксом. Комплекс Гольджи гипертрофирован и содержит большое число микровезикул, в его структурах происходит интенсивный синтез секреторных гранул (рис. 1, б). Следует отметить, что для нейронов АЯ характерны секреторные гранулы, преимущественно диаметром 60—100 нм с центрально расположенным электроноплотным веществом, которое отделено от ограничивающей мембраны узким светлым промежутком. У подопытных животных в зоне комплекса Гольджи появляются и более крупные гранулы, в которых осмиофильная субстанция располо-

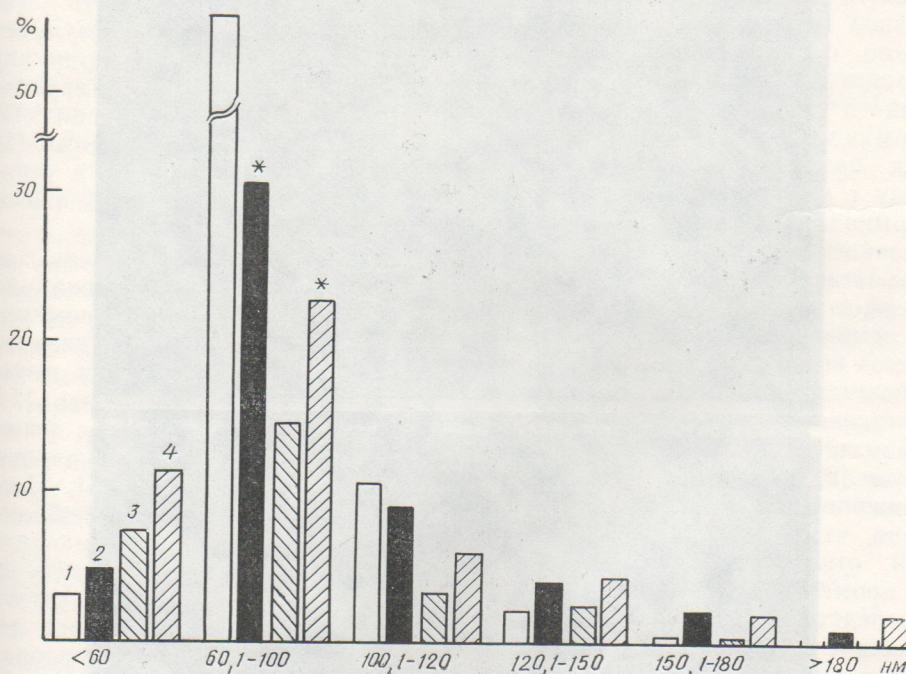


Рис. 2. Гистограмма распределения размеров гранул и везикул по их диаметрам в нервных терминалях наружной зоны срединного возвышения мозга крысы: 1 и 2 — гранулы, 3 и 4 — везикулы у контрольных и получавших бромкриптин крыс соответственно. Звездочкой отмечена достоверность изменений по отношению к контролю.

жена эксцентрично (рис. 1, в). Число секреторных гранул, по сравнению с контролем, значительно возрастает. Но вместе с тем в цитоплазме определяется повышенное число лизосом, аутофагосом и мультивезикулярных телец, контактирующих друг с другом и с секреторными гранулами и митохондриями (рис. 1, г). В эндоплазматическом ретикулуме наблюдается формирование ламеллярных структур, усиливаются аутолитические процессы. Отдельные ядрышкоподобные тельца окружены дегранулированными фрагментами эндоплазматического ретикулума, имеющими вид двухконтурных мембран, и небольшими вакуолями. Увеличение числа секреторных гранул, сопровождающееся явлениями кринофагии, свидетельствует о торможении в этих нейронах процессов выведения.

вшей
Эксперименталь-
функциональ-
изменениями
них синапсах
их нет совсем
состояние ор-
нкционной
рами, наруж-
и в цитоплаз-
ет значитель-
гочисленными

Морфологический анализ НЗСВ показал, что при введении бромкриптина в нервных терминалях уменьшается число секреторных гранул (контроль — $71,6 \pm 2,2 \%$, опыт — $51,5 \pm 2,9 \%$; различие достоверности при уровне значимости $P < 0,001$) и увеличивается число везикул ($28,4 \pm 2,2$ и $48,5 \pm 2,9 \%$ соответственно; $P < 0,001$), что сопровождается значительными сдвигами в соотношении различных их популяций (рис. 2). Снижение числа секреторных гранул происходит за счет популяции диаметром 60—100 нм, которая, согласно сов-

ременным представлениям, включает моноамины. Выведение гранул этого диаметра в отдельных нервных терминалях происходит с различной интенсивностью. Так, наблюдаются контакты секреторных гранул высокой и низкой электронной плотности с аксолеммой или непосредственно внутренним листком базальной мембраны. При этом в аксоплазме многочисленные микропузырьки распределены диффузно

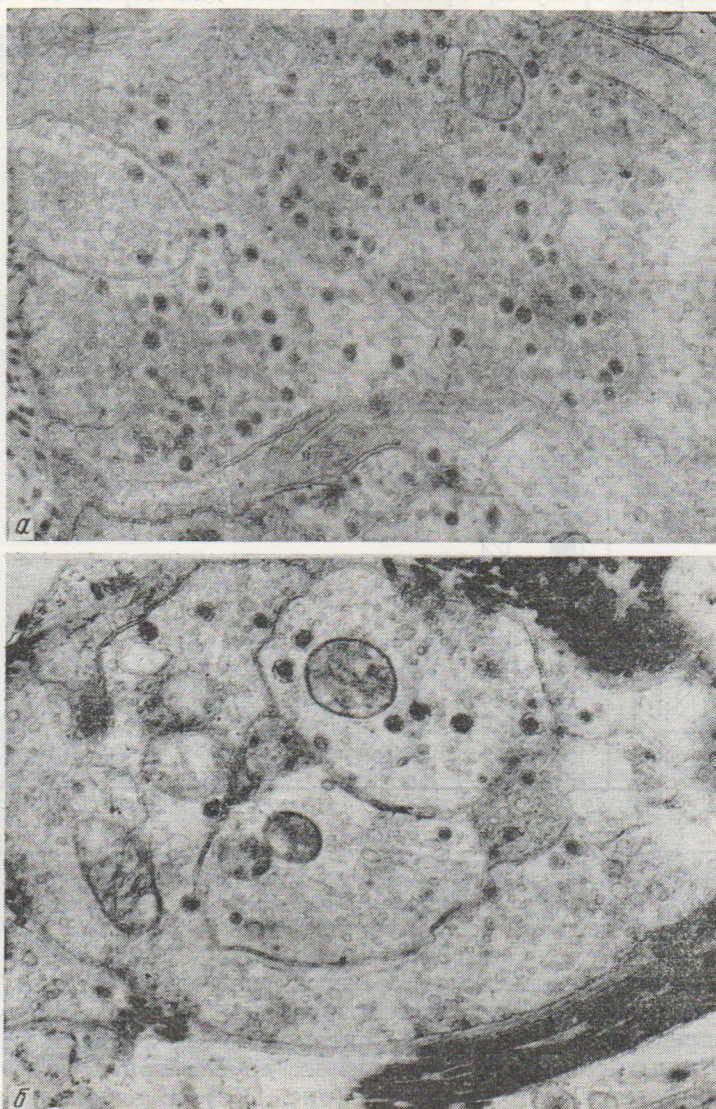


Рис. 3. Наружная зона срединного возвышения контрольной (а) и получавшей бромкриптин (б) крысы. $\times 10\,000$.

либо образуют «активные» зоны около плазматической мембраны (рис. 3, а), что свидетельствует об активном выведении содержимого гранул в порталный кровоток. Иногда секреторные гранулы определяются и за пределами базальной мембраны, а осмиофильный материал располагается в межклеточных щелях. Чаше, чем у контрольных животных, встречаются характерные для дофаминергических терминалей микротрубочки, вакуоли и митохондрии. Последние несколько вакуолизированы, наблюдаются контакты их друг с другом, а также с отдельными гранулами и везикулами. Вместе с тем при введении бромкриптина появляются светлые гипертрофированные терминали с единичными секреторными гранулами и немногочисленными микро-

пузырьками, которые, веро-
налях митох-
крист, что св-
тохондрий.

Число гр-
хотя несколько
чительно ув-

(рис. 4, а)

У кролика

материал

то высе-

электрон-

нижения

материал

и также

морфоло-

The ultra-

иона, вы-

омогий

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

иона

ние гранул
идит с раз-
торных гра-
и или непо-
При этом
и диффузно

пузырьками, отделенные от базальной мембраны ножками таницитов, которые, вероятно, тормозят выведение. В располагающихся в терминалах митохондриях происходят дезориентация и частичный лизис крист, что свидетельствует о низкой функциональной активности митохондрий.

Число гранул диаметром 100—150 нм существенно не изменяется, хотя несколько увеличивается число везикул этого же диаметра. Значительно увеличивается число гранул и, особенно, везикул диаметром

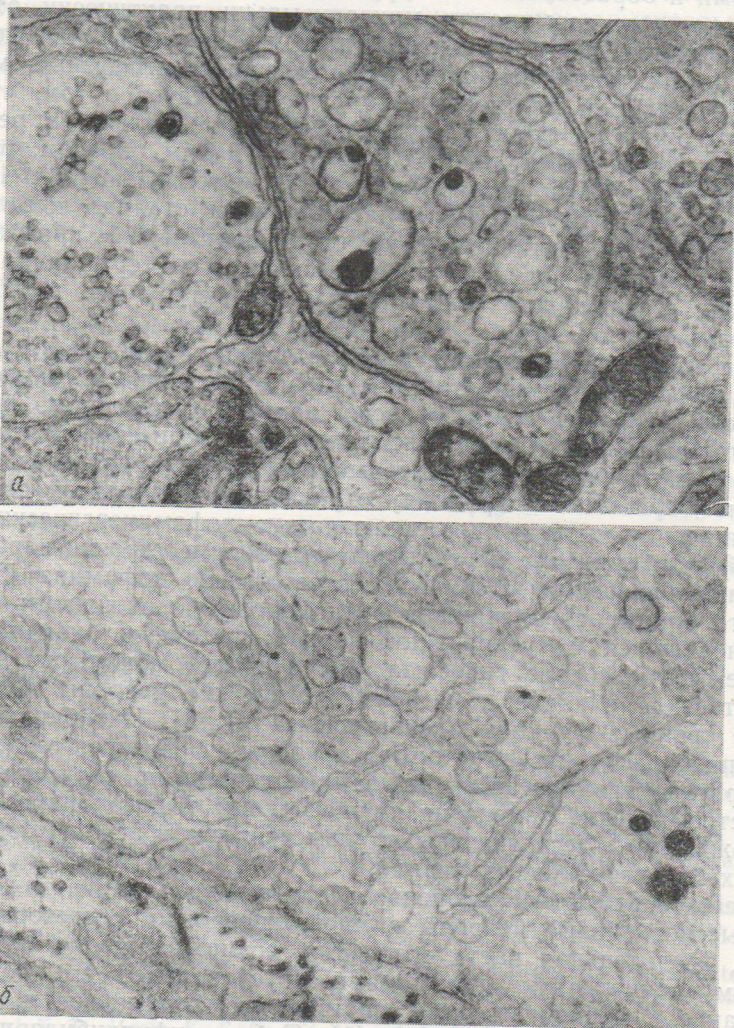


Рис. 4. Нервные терминалы в наружной зоне срединного возвышения получавшей бромкриптин крысы. Терминалы содержат крупные гранулы с эксцентрично расположенным осmioфильным центром (а) либо крупные везикулы (б). $\times 38\ 000$.

более 150 нм. Следует отметить, что в контроле практически отсутствуют секреторные гранулы диаметром более 180 нм, тогда как в опыте они составляют 0,9 % и по своей ультраструктурной организации отличаются от таковых в контроле. Это — набухшие гранулы с мелкозернистым содержимым и нечетко выраженной ограничивающей мембраной. Терминалы, содержащие такие гранулы, вероятно, являются пептидергическими. Кроме того, при введении бромкриптина определяются нервные терминалы с крупными гранулами диаметром до 200 нм и более, в которых электроноплотное ядро расположено эксцентрично. Последнее иногда непосредственно контактирует с ограничи-

вающей мембраной (рис. 4, а). Диаметр такого осмиофильного центра коррелирует с диаметром гранулы. Появление аналогичных по структуре, но меньших по размеру гранул отмечено и в нейронах АЯ. Гранулы такого типа в НЗСВ при ультрацитохимической реакции у интактных животных идентифицируются как адренергические [17] и могут содержать дофамин [3]. Наблюдаются контакты гранул с внутренним листком базальной мембраны порталных капилляров. На последний особенно многочисленны терминалы, заполненные крупными везикулами и образовавшимися при их слиянии вакуолями (рис. 4, б).

В некоторых терминалах микропузырьки практически отсутствуют, наблюдается лизис ограничивающих мембран и распад отдельных гранул, на их месте остается неоформленный диффузный материал низкой электронной плотности. Это свидетельствует о том, что выведение содержимого гранул осуществляется не только в результате экзоцитоза, но и молекулярной дисперсии. Таким образом, гранулярный и везикулярный компоненты в значительной части нервных терминалей в НЗСВ находятся на различных стадиях выведения из них биологически активных веществ в порталный кровоток. Наряду с описанными появляются оптически пустые терминалы, а также терминалы, содержащие ламеллярные структуры и полиморфные включения.

Итак, результаты проведенного исследования показали, что длительное введение бромкриптина вызывает снижение функциональной активности нейронов АЯ. Согласно данным литературы, бромкриптин — агонист D-2-рецепторов, локализующихся пресинаптически и являющихся ауторецепторами, которые регулируют биосинтез и высвобождение дофамина по принципу отрицательной обратной связи [11]. Бромкриптин активирует пресинаптические дофаминергические рецепторы [8], что приводит к угнетению активности тирозингидроксилазы, снижению образования ДОФА и соответственно дофамина [5]. Показано, что бромкриптин снижает функциональную активность нейронов АЯ, относящихся к туберо-гипофизарной системе и оканчивающихся в промежуточной доле гипофиза [9], а также может оказывать непосредственное влияние и на пептидергические нейроны АЯ, регулирующие тропные функции аденогипофиза [1, 6]. Ингибирующее действие препарата на некоторые нейроны, вероятно, опосредовано и экстрагипоталамическими моноаминергическими структурами, так как дистрофические изменения, происходящие в цитоплазме нейронов, сопровождаются деструктивными изменениями располагающихся на их телах синаптических окончаний.

Вместе с тем в АЯ, особенно в его вентральной части, определяются высокоактивные нейроны с многочисленными секреторными гранулами, значительная часть последних, возможно, является морфологическим эквивалентом дофамина и обуславливает его повышенное содержание в медиобазальном гипоталамусе, отмеченное и при однократном введении бромкриптина [1]. Туберо-инфундибулярные дофаминергические нейроны, для которых характерна низкая ауторецепторная активность [5], реализуют свое влияние на аденогипофиз через СВ. В НЗСВ при длительном введении бромкриптина содержание дофамина снижается, о чем свидетельствует уменьшение числа секреторных гранул и появление оптически пустых терминалей. Это снижение частично обусловлено усилением в НЗСВ обмена дофамина [4, 10], что на ультраструктурном уровне подтверждается увеличением числа везикул. Показано, что бромкриптин, введенный здоровым людям, вызывает в плазме крови снижение концентрации дофамина [18]. Уменьшение дофамина в терминальном отделе нейрона, а также в периферической крови, по-видимому, обуславливает усиление его синтеза в перикарионе. Так как бромкриптин обладает способностью имитировать эффект дофамина и значительно замедляет его кругооборот в теле нейронов [2, 4, 8], выведение из нейронов вновь синтезированных гранул тормозится.

Появление бромкриптина введением бромкриптина вызывает снижение интенсивности секреторных гранул, тропных к соответствующим функциям.

Учитывая, что бромкриптин является агонистом D-2-рецепторов, локализующихся пресинаптически и являющихся ауторецепторами, которые регулируют биосинтез и высвобождение дофамина по принципу отрицательной обратной связи [11].

ULTRASTRUCTURE OF THE HYPOTHALAMUS OF RAT NEUROENDOCRINE ADMINISTRATION

I. I. Drozdovitch

The ultrastructure of the external zone of the hypothalamus in the presence of bromocriptine antagonists is studied. The catecholamine content is indicated by the morphological changes in the hypothalamus via the hypothalamic releasing system.

Institute of Endocrinology, Ministry of Public Health

1. Бабичев В. В. Влияние бромкриптина на функцию гипофиза. — 1983.
2. Валуева Г. Г. Влияние бромкриптина на функцию гипофиза. — 1986. — № 4.
3. Журавлева Л. В. Влияние бромкриптина на функцию гипофиза. — 1983.
4. Corrodi H., et al. Dopamine neurons: evidence from the arcuate nucleus. — 1978.
5. Demarest K. L., et al. Dopamine neurons: evidence from the arcuate nucleus. — 1978.
6. Demarest K. L., et al. Dopamine neurons: evidence from the arcuate nucleus. — 1978.
7. Gundersen H. J. G. The glomerular number and size in the rat kidney. — 1976.
8. Fuxe K., et al. Dopamine neurons: evidence from the arcuate nucleus. — 1978.
9. Hokfelt T., et al. Dopamine neurons: evidence from the arcuate nucleus. — 1978.
10. Kehr W. Dopamine neurons: evidence from the arcuate nucleus. — 1978.
12. Lookingland G. W. Dopamine neurons: evidence from the arcuate nucleus. — 1978.

льного центра
ных по струк-
онах АЯ. Гра-
реакции у ин-
еские [17] и
гранул с внут-
пилляров. На
ные крупными
и (рис. 4, б).
ски отсутству-
пад отдельный
материал
ом, что выве-
в результате
вом, грануляр-
асти нервных
выведения из
кровоток. На-
нали, а также
полиморфные

вали, что дли-
функциональной
ры, бромкрип-
тически и яв-
нтез и высво-
ой связи [11].
ические рецеп-
гидроксилазы,
ина [5]. Пока-
ность нейронов
канчивающихся
оказывать не-
ы АЯ, регули-
бирующее дей-
опосредовано
уктурами, так
азме нейронов,
агающихся на
асти, определя-
еторными гра-
ется морфоло-
о повышенное
е и при одно-
улярные дофа-
кая ауторецеп-
огипофиз через
на содержание
е числа секре-
ей. Это сниже-
дофамина [4,
а увеличением
здоровым лю-
дофамина [18].
она, а также
усиление его
г способностью
г его кругобо-
вновь синтези-

Появление оптически пустых терминалей в НЗСВ при длительном введении бромкриптина может быть обусловлено как предшествующим интенсивным выведением, так и торможением поступления секреторных гранул. Поскольку бромкриптин вызывает снижение некоторых тропных функций гипофиза [2], такие терминали могут появляться в результате уменьшения содержания в этой области соответствующих рилизинг-факторов.

Учитывая ингибирующее влияние длительного введения бромкриптина на гипоталамо-гипофизарную систему у интактных животных, полученные результаты могут служить экспериментальным обоснованием использования препарата для коррекции ряда тропных функций при некоторых эндокринных заболеваниях.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN ARCUATE NUCLEUS NEURONS OF THE HYPOTHALAMUS AND NEURAL TERMINALS IN MEDIAN EMINENCE OF RAT NEUROHYPOPHYSIS UNDER PROLONGED BROMOCRIPTINE ADMINISTRATION AS A DOPHAMINE ANTAGONIST

I. I. Drozdovich

The ultrastructural organization in arcuate nucleus neurons and nervous terminals in the external zone of median eminence is studied under prolonged bromocriptine, a dopamine antagonist, administration (in a dose of 5 mg/kg for 10 days). Results of the studies are presented. Bromocriptine is shown to decrease the functional activity in the arcuate nucleus and to inhibit the release of neurohormones formed from its neurons. The catecholamine content in the external zone of median eminence gets lower, which is indicated by a decrease in the number of secretory granules which may be regarded as a morphologic dopamine equivalent. It is suggested that the inhibiting action of bromocriptine under its prolonged use on the tropic function of the hypophysis is mediated via the hypothalamus and median eminence by altering the secretion of monoamines and some releasing factors into the portal system of adenohypophysis.

Institute of Endocrinology and Metabolism,
Ministry of Public Health, Ukrainian SSR, Kiev

1. Бабичев В. Н., Сиднева Л. Н., Старкова Н. Т. Участие нейромедиаторных систем мозга в действии парлодела на секрецию пролактина и лютеинизирующего гормона гипофизом крыс // Пробл. эндокринологии.— 1984.—30, № 2.— С. 48—52.
2. Валуева Г. В., Славнов В. Н., Тронько Н. Д. и др. Особенности действия парлодела на некоторые эндокринные функции организма // Фармакология и токсикология.— 1986.— № 4.— С. 54—57.
3. Журавлева З. Н., Буданцев А. Ю. Электронно-микроскопическое исследование моноаминергических терминалей в хвостатом ядре головного мозга крыс // Цитология.— 1983.—25, № 10.— С. 1132—1136.
4. Corrodi H., Fuxe K., Hokfelt T. et al. Effect of ergot drugs on central catecholamine neurons: evidence for a stimulation of central dopamine neurons // J. Pharm. Pharmacol.— 1973.—25, N 3.— P. 409—412.
5. Demarest K. T., Moore K. E. Comparison of dopamine synthesis regulation in terminals of nigrostriatal, mesolimbic, tuberoinfundibular and tuberohypophyseal neurons // J. Neural Transm.— 1979.—46, N 2.— P. 263—277.
6. Demarest K. T., Moore K. E. Sexual differences in sensitivity of tuberoinfundibular dopamine neurons to activation of prolactin // Neuroendocrinology.— 1981.—33, N 2.— P. 230—234.
7. Gudelsky G., Simonovic M., Metzger H. Y. Dopaminergic and serotonergic control of neuroendocrine function // Neuroreceptors health and disease.— Basel etc., 1984.— P. 85—102.
8. Fuxe K., Fredholm B. B., Ögren S. O. et al. Pharmacological and biochemical evidence for dopamine agonist effect of bromocriptine // Acta endocrinol.— 1978.—216, suppl.— P. 27—56.
9. Hokfelt B. Dopaminergic transmission and dopamine agonist // Ibid.— P. 9—12.
10. Hokfelt T., Fuxe K. On the morphology and the neuroendocrine role of the hypothalamic catecholamine neurons // Brain-Endocrine interaction median eminence: Structure and function: Int. Symp., Munich, 1971, Karger.— Basel, 1972.— P. 181—223.
11. Kehr W. Dopamine receptors // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.— 1981.—362, N 10.— P. 1301—1302.
12. Lookingland K. J., Farach J. M., Lovell K. L. et al. Differential regulation on tuberohypophysial dopaminergic neurons terminating in the intermediate lobe and in the