

УДК 612.822.5.599.323.4

ЦИТОЛОГИЯ

Ю. И. СЕНЧИК

## К ВОПРОСУ О ПРОИСХОЖДЕНИИ ЛИПИДНЫХ КАПЕЛЬ В НЕЙРОСЕКРЕТОРНЫХ КЛЕТКАХ

*(Представлено академиком Е. М. Крепом 19 XI 1971)*

В нейросекреторных клетках супраоптического ядра белых мышей, получавших в течение длительного времени вместо питьевой воды 5% раствор поваренной соли, было отмечено прогрессивное увеличение числа и размеров липидных капель (л.к.) (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>). Вблизи поверхности таких л.к. канальцы гранулярной эндоплазматической сети располагались, как правило, концентрическими рядами. Определенных структурных связей л.к. с другими органоидами не было выявлено. Представляет интерес выяснить причины появления и генез л.к. в нейросекреторных клетках в условиях хронической дегидратации животных.

Цель настоящего исследования проследить за изменениями в ультраструктуре организации л.к. и прилежащих к ним канальцев гранулярной эндоплазматической сети нейросекреторных клеток супраоптического ядра белых мышей в условиях дегидратации. Изучено 17 взрослых самцов линии CC 57 Whit. Подопытные животные (14 шт.) получали вместо питьевой воды 5% раствор поваренной соли и подсушенный овес, сухари. У контрольных животных диета состояла из воды, овса, моркови. Животных декапитировали по два на срок в 10—11 час. утра через три дня, начиная с 3 по 18 сутки опыта, а также на 32 и 34 сутки. Кусочек мозга, содержащий супраоптическое ядро, помещали в 6,5% забуференный раствор глутаральдегида на 3 часа, затем на 2 часа в 1% раствор осмиевой кислоты по Колфилду. После обезжизивания в ацетоне материал заключали в эпох. Препараты исследовали в фазовоконтрастном, обычном световом и электронном JEM-7 микроскопах.

При исследовании в фазовоконтрастном микроскопе эпоновых срезов мозга контрольных животных л.к. выявляются редко. На 3 и 6 сутки опыта с солевой нагрузкой единичные л.к. обнаружены в различных участках цитоплазмы нейросекреторных клеток. На более поздние сроки дегидратации животных большинство нейросекреторных клеток имеет по несколько л.к. (до 13 штук на срезе клеток), которые часто образуют гроздевидные скопления. Эпоновые срезы толщиной в 1  $\mu$  после обработки их ортоксидолом с последующей окраской 1% раствором толлуидинового синего исследовали в обычном световом микроскопе. На таких срезах в нейросекреторных клетках на месте л.к. выявляются оптически пустые вакуоли. У интактных животных они очень редки, в то время как у подопытных мышей подобные вакуоли встречаются почти в каждой клетке по нескольку штук.

При электронномикроскопическом исследовании одновременно с л.к. на ранние сроки опыта выявляется большое число мелких, около 3000 А, осмиофильных телец, имеющих различное строение, однако преобладают те из них, в которых содержится мелкозернистый и мембранный материал. Одни из этих телец связаны с мембранами эндоплазматической сети и сходны с липидными капельками, другие напоминают измененные митохондрии или лизосомы (рис. 1а, в). Впервые четко удастся идентифицировать л.к., когда они имеют уже довольно значительные размеры, около

1  $\mu$  в диаметре. В ходе опыта диаметры большинства л.к. варьируют в пределах 1—2  $\mu$ . Однако, если в начале эксперимента вместе с л.к. такого размера встречаются и единичные л.к., достигающие в диаметре 4  $\mu$ , то в конце эксперимента отдельные л.к. имеют максимальный диаметр 10  $\mu$ .

По ультраструктурной организации и по взаимоотношениям с канальцами эндоплазматической сети условно выделены л.к. четырех видов, между которыми имеются переходные формы.

Л.к. 1-го вида имеют округлую форму и состоят из плотных скоплений различной степени осмиофильности зернышек, между которыми выявляются кольцеобразно расположенные нитевидные полоски менее электронноплотного материала (рис. 1а). К относительно гладкой поверхности л.к. прилежат расширенные канальцы эндоплазматической сети. Их мембраны и рибосомы, как правило, имеют большую осмиофильность, чем мембраны и рибосомы в других участках цитоплазмы. Интересно отметить, что мембраны канальцев эндоплазматической сети, непосредственно примыкающие к л.к., местами утрачивают обычное для них трехслойное строение и имеют только один осмиофильный слой (рис. 1б). В просвете таких канальцев нередко наблюдаются плотные скопления мелкозернистого материала (рис. 1 и 2 см. вклейку к стр. 1463).

Л.к. 2-го вида, в отличие от л.к. 1-го вида, имеют более неровную складчатую поверхность (рис. 1в). Впутьри некоторых каплей обнаружены целевидные электроннопрозрачные участки, содержащие узкие осмиофильные полоски мелкозернистого материала, напоминающие мембраны эндоплазматической сети. При анализе серийных срезов таких л.к. установлено, что некоторые целевидные участки соответствуют полостям, четко отграниченным от «основного» вещества л.к. Мембраны канальцев непосредственно окружающие л.к., местами настолько сближаются друг с другом что образуют сильно осмиофильные комплексы. Характерно, что вблизи неровной поверхности л.к. и среди разволокненных скоплений таких мембран наблюдаются более мелкие липидные капельки, не имеющие четких границ. Здесь же расположены обрывки парных мембран, напоминающие кристы митохондрий. Л.к. 2-го вида, сливаясь друг с другом, нередко образуют плотные конгломераты.

Л.к. 3-го вида, в отличие от л.к. 2-го вида, имеют более ровную поверхность и менее электронноплотное основное вещество капли, в котором, как правило, не наблюдается обрывков мембран и полосок слабоосмиофильного материала (рис. 2а). Однако у некоторых из них выявляется интенсивноосмиофильная, относительно узкая прерывистая периферическая зона. Канальцы эндоплазматической сети, располагающиеся вокруг этого вида каплей, по строению в основном не отличаются от канальцев в других отделах клетки.

Л.к. 4-го вида местами имеют неровную складчатую поверхность (рис. 2б). В отличие от л.к. 3-го вида, осмиофильный материал в них расположен приблизительно равномерно и только на периферии капли выявлен узкий ободок из более осмиофильного материала. Местами между периферической зоной л.к. и канальцами эндоплазматической сети наблюдаются очень светлые участки гиалоплазмы, полностью лишенные какого-либо электронноплотного вещества. Нередко в капле встречаются вакуоли с электроннопрозрачным содержимым. Иногда вблизи поверхности л.к. можно обнаружить измененные канальцы эндоплазматической сети. Возможно, что л.к. этого вида отражают начальные этапы процесса их частичного расплавления.

Л.к. описанных выше видов обнаружены в нейросекреторных клетках во все сроки опыта, однако, л.к. 1-го вида и л.к. 2-го вида наиболее часто встречаются в начале, а л.к. 3-го и 4-го видов в конце эксперимента. Данный факт позволяет предположить, что изменения в строении л.к. в процессе опыта, по-видимому, отражают различные этапы «созревания» л.к. (рис. 3). На рис. 3 показана взаимосвязь л.к. с некоторыми органоидами.

Образование л.к. в ранние сроки опыта, возможно, происходит из продуктов, которые получаются при повреждении различных структур клетки (<sup>3-6</sup>), в том числе и канальцев гранулярной эндоплазматической сети вместе с их содержимым. Часть поврежденных структур клетки непосредственно связана с осмиофильными тельцами. Одни из них сходны по строению с измененными митохондриями, количество которых в различных частях перикариона в опыте значительно выше, чем в контроле (<sup>7</sup>).

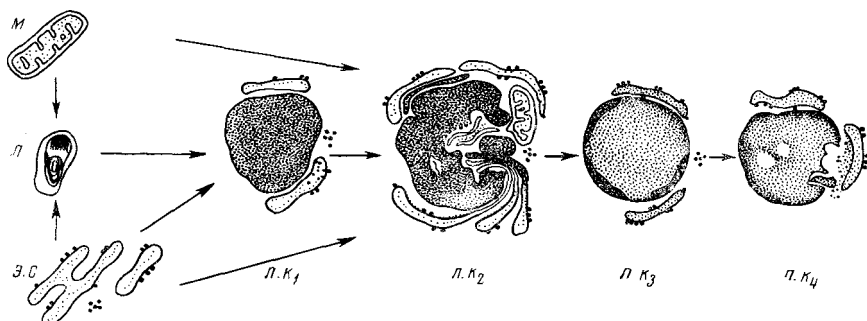


Рис. 3. Схема, иллюстрирующая возможные пути образования (созревания) и начала частичного растворения л.к. м — митохондрия, э.с — гранулярная эндоплазматическая сеть, л — лизосома, л.к.<sub>1</sub>, л.к.<sub>2</sub>, л.к.<sub>3</sub>, л.к.<sub>4</sub> — липидные капли четырех видов

Однако, в отличие от некоторых исследователей (<sup>8, 9</sup>), мы не выявили прямого перехода митохондрий в л.к., хотя иногда вблизи поверхности этих капель можно было обнаружить обрывки мембран, напоминающие кристы митохондрий. Другие осмиофильные тельца тесно связаны с канальцами эндоплазматической сети и нередко встречаются вблизи поверхности л.к. По своему строению они сходны с лизосомами. Вполне возможно, что лизосомы принимают непосредственное участие в образовании л.к. Их ферменты растворяют центральный слой мембраны, представленный, как известно, липидами, в результате этого происходит слипание оставшихся осмиофильных слоев в одну электронноплотную полосу, которая, так же как и растворенные липиды, включается в состав л.к. Интересно отметить, что характерный для лизосом фермент — кислая фосфатаза был обнаружен в л.к. (<sup>10</sup>). Увеличение размеров л.к. происходит, по-видимому, как за счет включения поврежденных мембран эндоплазматической сети и их компонентов, так и за счет слияния между собой мелких л.к. Наличие внутри капли полостей с обрывками мембран указывает на то, что этот процесс слияния в различных частях л.к. идет не одновременно. Формирование л.к., по-видимому, может продолжаться довольно длительное время, поскольку ее периферическая зона на поздние сроки опыта все еще имеет участки с повышенной осмиофильностью. Как нам кажется, эти участки соответствуют тем местам в л.к., в которых произошло более позднее включение поврежденных мембран эндоплазматической сети, и поэтому их осмиофильность и, следовательно, химический состав отличается от химического состава остальной части л.к.

Связать появление л.к. с различной степенью функциональной активности довольно сложно, поскольку известно, что количество л.к. в железистых и glandularных клетках даже у интактных животных может быть очень значительным (<sup>4, 11-13</sup>). В экспериментальных условиях накопление л.к. наблюдается в железистых клетках при подавлении их секреторной активности (<sup>15-17</sup>). Интересно отметить, что увеличение числа л.к. в нейросекреторных клетках во втором и третьем периодах (<sup>18</sup>) опыта идет одновременно с возрастанием в них количества секреторных гранул, что указывает на замедление, по сравнению с синтезом, выведения секреторного продукта из этих клеток. По-видимому, к концу опыта происходит сниже-

ние интенсивности энергетических затрат клетки, что также может привести к накоплению л.к. Как установлено, л.к. в конце эксперимента имеют меньшую осmioфильность и, возможно, отличаются по химическому составу и генезу от л.к., возникающих на ранние сроки опыта вследствие деструктивных процессов в нейросекреторных клетках.

Институт эволюционной физиологии и биохимии  
им. И. М. Сеченова  
Академии наук СССР  
Ленинград

Поступило  
19 XI 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> F. Stutinsky, A. Porte et al., *Zs. Zellforsch.*, **75**, 250 (1966). <sup>2</sup> J. I. Senchik, A. L. Polenov, *Zs. Zellforsch.*, **100**, 118 (1969). <sup>3</sup> I. E. Vaughn, P. L. Hinds, R. S. Skoff, *J. Compar. Neurology*, **140**, 2 (1970). <sup>4</sup> A. Bigmami, H. I. Ralston, *Brain Res.*, **13**, 444 (1969). <sup>5</sup> A. Oksche, M. Vaupel-von Harnack, *Zs. Zellforsch.*, **59**, 582 (1969). <sup>6</sup> I. Bartok, Sz. Viragh, *Zs. Zellforsch.*, **68**, 741 (1965). <sup>7</sup> Ю. И. Сенчик, *Тр. Ленингр. общ. анат., гистол. и эмбриол.*, **1**, 147 (1969). <sup>8</sup> E. R. Berger, *J. Cell. Biol.*, **27**, 11a (1965). <sup>9</sup> R. Winkler, *Zs. Zellforsch.*, **79**, 507 (1967). <sup>10</sup> K. Suzuki, A. B. Johnson et al., *Acta neuropathol.*, **11**, 2, 122 (1968). <sup>11</sup> K. Kurosuni, T. Matsuzawa, S. Shibasaki, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **1**, 433 (1961). <sup>12</sup> О. А. Данилова, *ДАН*, **154**, № 5, 1185 (1964). <sup>13</sup> О. А. Данилова, *Бюлл. exper. биол. и мед.*, **8**, 114 (1964). <sup>14</sup> W. Arnold, *Zs. Zellforsch.*, **106**, 523 (1970). <sup>15</sup> B. Weisblum, L. Herman, P. F. Fitzgerald, *J. Cell Biol.*, **12**, 343 (1962). <sup>16</sup> L. H. Hermodsson, *The Ultrastructure of Exocrine Pancrease Cells as Related to Secretory Activity*, Uppsala, Sweden, 1965. <sup>17</sup> R. Smith, M. Farquhar, *J. Cell Biol.*, **31**, 319 (1966). <sup>18</sup> И. А. Охонская, *Тр. Ленингр. общ. анат., гистол. и эмбриол.*, **1**, 116 (1969).