

Узлова Е.В., Зиматкин С.М.

Региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы в мозге крысы

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. АТФ-синтаза использует энергию, созданную протонным электрохимическим градиентом, для фосфорилирования АДФ в АТФ и отличается чрезвычайно высоким коэффициентом полезного действия. Кроме того, АТФ-синтаза участвует в формировании структуры крист митохондрий и является одним из маркеров их энергетической активности.

Цель исследования – выяснить региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы в мозге крысы.

Материалы и методы. Для исследования использован материал от 5 беспородных белых крыс-самцов массой 220-250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария на полноценном рационе. Соблюдались все требования гуманного отношения к животным. Проводилась стандартная быстрая декапитация крыс в утренние часы, извлекали головной мозг и шейный отдел спинного мозга. Головной мозг делили на части фронтальными разрезами. Фиксация проводилась в цинк-этанол-формальдегиде при +4°C в течение 20 часов, образцы обезжизивали, просветляли и заключали в парафин. Серийные срезы изготавливали с использованием микротомы Leica 2125 RTS (Германия) и монтировали на заранее подготовленные стекла. Один срез серии окрашивали по методу Ниссля для идентификации структур мозга, другой – иммуногистохимически для выявления АТФ-синтазы. Применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-ATP5A antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 14748) в оптимальном разведении 1:2400, экспозиция 20 ч, при +4°C во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436). Изучение препаратов, микрофотографирование и цитофотометрию проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Полученные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью программы Statistica 6.0 для Windows.

Результаты. Иммуноокрашивание АТФ-синтазы выявлено в цитоплазме нервных клеток и нейропиле всех отделов мозга. Ядра нейронов, при этом, остаются неокрашенными – это соответствует приня-

тым представлениям о расположении митохондрий в цитоплазме тел нейронов и их отростков. В обонятельной луковице отмечается низкая интенсивность иммуноокрашивания; исключения составляют крупные митральные клетки. В пириформной коре наибольшая интенсивность окрашивания отмечена в пирамидном слое, нейроны которого крупные и плотно расположены. В гиппокампе интенсивное окрашивание характерно для нейронов пирамидного слоя, особенно поля СА3, и зернистого слоя зубчатой извилины. В структурах неокортекса – например, во фронтальной коре – минимальное окрашивание наблюдается в I слое. В нейронах II и III слоев содержание АТФ-синтазы ниже, чем в нейронах глубоких слоев. Значительное иммуноокрашивание обнаружено в ядрах таламуса, среди которых паравентрикулярное, медиальное габенулярное и латеральное габенулярное ядра. В нейронах гипоталамуса также отмечается достаточно сильное иммуноокрашивание. В коре мозжечка наибольшее содержание АТФ-синтазы наблюдается в зернистых нейронах, несколько меньшее – в клетках Пуркинье. Высокое содержание АТФ-синтазы имеют структуры ствола – как нейроны ядер, так и осевые цилиндры миелиновых волокон проводящих путей. Наибольшее содержание АТФ-синтазы обнаружено в мотонейронах спинного мозга. Вставочные нейроны задних рогов окрашены менее интенсивно. В белом веществе окрашиваются отростки нейронов, а миелиновая оболочка вокруг них остается неокрашенной. Эпендимоциты, выстилающие желудочки мозга, центральный канал и покрывающие сосудистые сплетения характеризуются интенсивным иммуноокрашиванием.

Вывод. АТФ-синтаза локализована в цитоплазме нейронов и эпендимоцитов, характеризуется гетерогенным распределением в структурах головного и спинного мозга крысы. При этом наибольшее содержание АТФ-синтазы обнаружено преимущественно в крупных, ганглиозных нейронах: пирамидных нейронах гиппокампа, внутреннем пирамидном слое неокортекса и, особенно, мотонейронах спинного мозга. Следовательно, именно эти нейроны имеют наибольший энергетический потенциал, необходимый для выполнения ими функций.