

Zawartość żelaza w różnych typach oligodendroglu w obszarze ciała modzelowatego i torebki wewnętrznej mózgowia szczurów

AGATA WAWRZYNIAK-GACEK, JAROSŁAW PAWELEC*, REGINA CYBULSKA

Zakład Histologii i Embriologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin

*Pracownia Mikroskopii Elektronowej Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Wawrzyniak-Gacek A., Pawelec J., Cybulska R.

Iron content in various types of oligodendroglia in the corpus callosum and capsula interna of rat brains

Summary

The aim of the study was to trace the content and location of iron in three types of oligodendrocytes in the corpus callosum and capsula interna of the brains of thirty-day old Wistar rats. The evaluation was achieved by Leo Omega 912 AB electron microscope, using the spectroscopy method of mapping iron ESI (Electron Spectroscopic Imaging). A variety within the iron content of the three different types of examined cells was indicated. The greatest accumulation of iron displayed dark oligodendrocytes, lesser - medium and the least - light oligodendrocytes. The paper discussed the relation between cytoplasm density and iron content in the studied types of oligodendroglia.

Keywords: oligodendrocytes, iron, corpus callosum

Oligodendrocyty stanowią jeden z typów gleju, który obecny jest w istocie białej i szarej ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Komórki te towarzyszą włóknom nerwowym, neuronom i naczyniom krwionośnym włosowatym (28). Glej ten wykazuje heterogenność przejawiającą się zróżnicowaniem gęstości ich cytoplazmy, co pozwoliło na wyróżnienie oligodendrocytów o jasnej, średniej i ciemnej cytoplazmie (20). Dotychczasowe badania wykazały, że komórki te mają zdolność gromadzenia żelaza niezbędnego, między innymi, w procesie mielinizacji, oraz utrzymania homeostazy tego pierwiastka w OUN ssaków (5, 7, 8, 10, 18). Wykazano, że niedobór żelaza u gryzoni powoduje hypomielinizację (15), a u dzieci niedorozwój słuchu (23). W wyniku zaburzenia homeostazy tego pierwiastka pojawia się w mózgowiu zależny od żelaza stres oksydacyjny, będący przyczyną chorób układu nerwowego, między innymi choroby Alzheimera, nieźborności (Friedreich's ataxia) i stwardnienia rozsianego (6, 9, 15, 19, 27). Żelazo jest również niezbędne do syntezy neurotransmiterów, w szczególności dopaminy, której niedobór występuje w chorobie Parkinsona (13), oraz syntezy serotoniny i noradrenaliny (3, 29).

Badania nad lokalizacją tego pierwiastka, dotychczas prowadzone histochemicznie, pozwoliły na stwierdzenie jego obecności w tych komórkach bez zróżnicowania na 3 ich rodzaje (5, 7, 8, 10, 18). Celem niniejszych badań jest próba oceny lokalizacji i zawartości żelaza w trzech typach oligodendrocytów

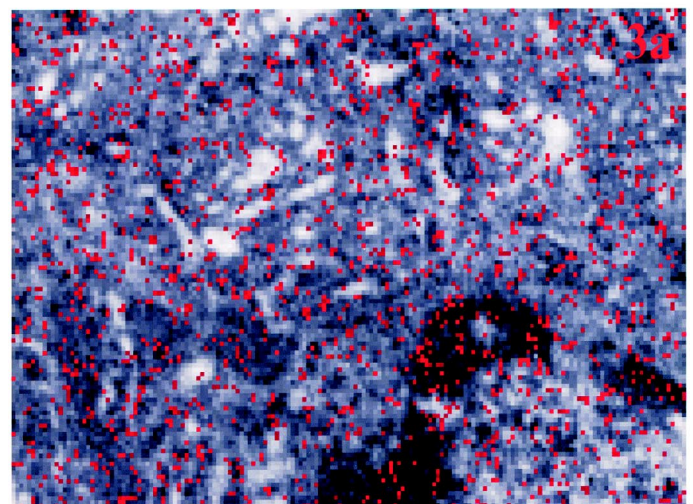
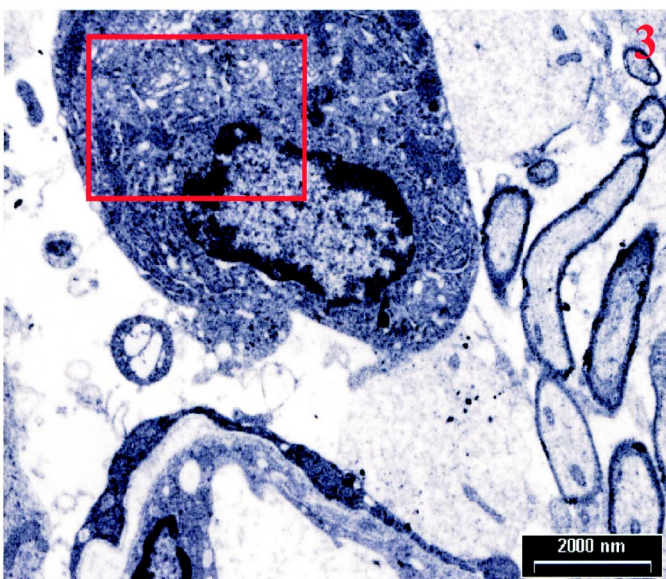
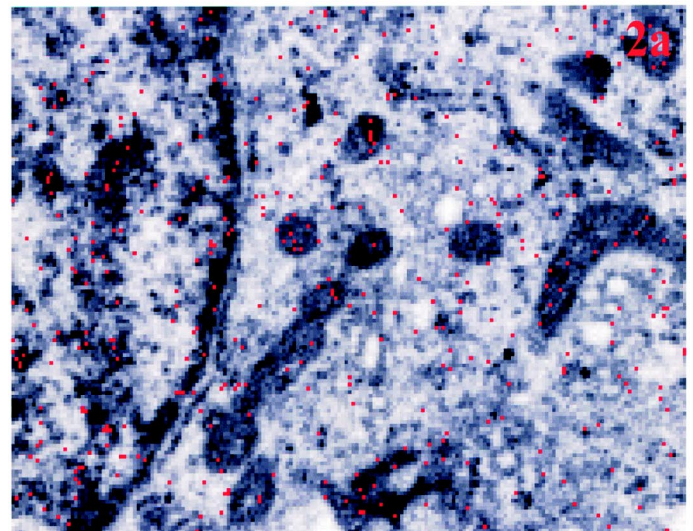
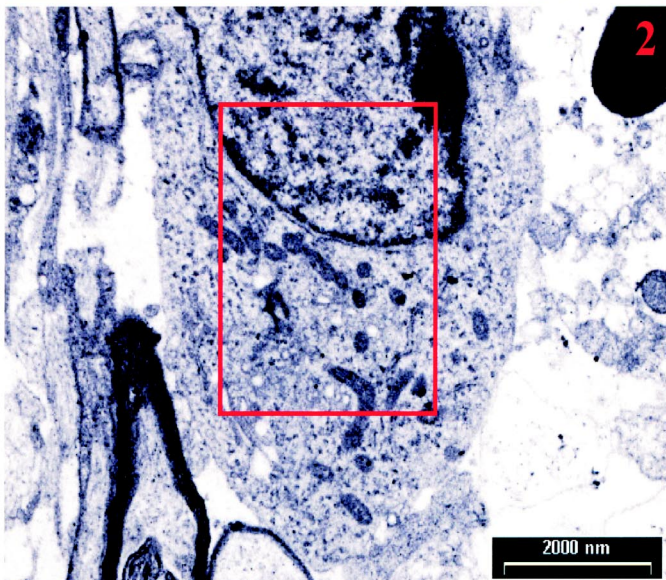
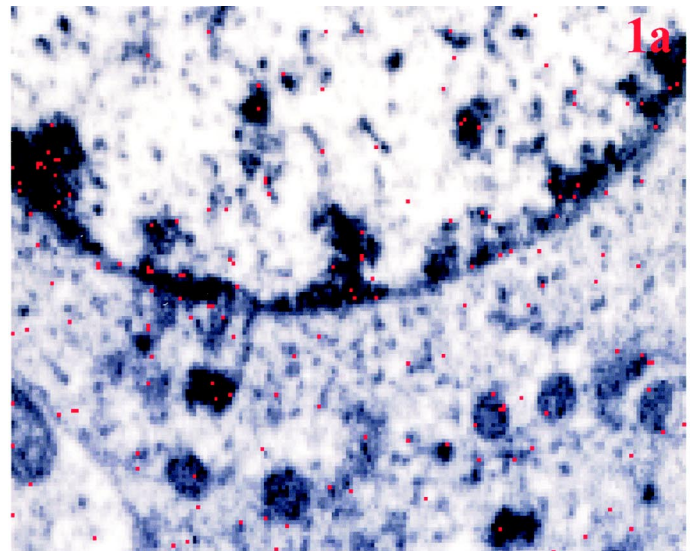
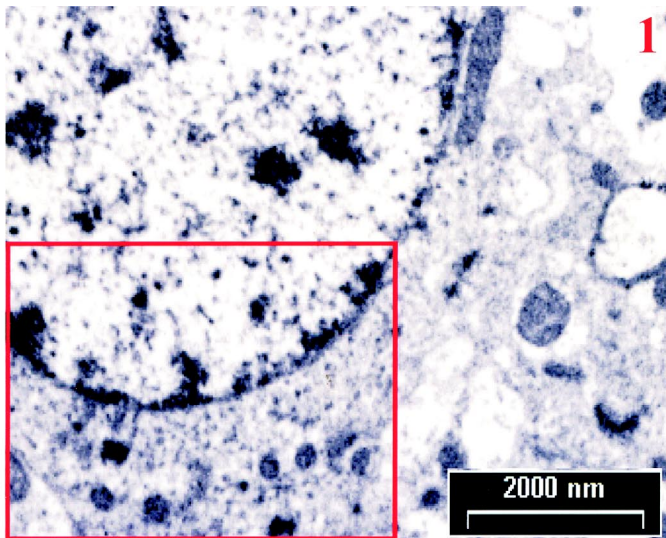
w dwóch obszarach mocno zmielinizowanych, tj. w ciele modzelowatym (*corpus callosum*) i torebce wewnętrznej (*capsula interna*) mózgowia szczura. Zmierzają także do określenia związku pomiędzy zawartością żelaza a gęstością cytoplazmy.

Materiał i metody

Do badań przeznaczono 5 samców szczurów Wistar 30-dniowych, u których w narkozie przy użyciu ketaminy (30 mg/kg m.c.) dokonano perfuzji dosercowej, najpierw 0,9% roztworem NaCl, po czym kontynuowano perfuzję roztworem 1% paraformaldehydu i 1% aldehydu glutarowego w 0,1 M buforze fosforanowy o pH 7,4. Następnie z mózgowia szczurów pobrano próbki obszaru ciała modzelowatego i torebki wewnętrznej, które utrwalano w 2,5% roztworze aldehydu glutarowego w 0,1 M buforze fosforanowy o pH 7,4. Utrwalone próbki przygotowano wg standardowej metody Sato (25) do obserwacji w mikroskopie elektronowym Leo Omega 912 AB. Uzyskane obrazy stanowiły podstawę do mapowania żelaza metodą ESI (Electron Spectroscopic Imaging) (16). Obrazy w formacie 512 × 512 pixeli służyły jako podkład rejestrowania żelaza w wysokim kontraście (High Contrast Image) przy użyciu filtra energii w widmie elektronów nieelastycznie rozproszonych o dE 250 eV i w widmie dla żelaza (Fe) o dE 719 eV zgodnie z procedurą opisaną przez Reimera (22).

Wyniki i omówienie

Ciało modzelowate i torebka wewnętrzna to obszary mózgowia zaliczane do istoty białej, których głównymi strukturami są włókna nerwowe, naczynia krwio-



Ryc. 1. Elektronogram oligodendrocytu o jasnej cytoplazmie z obszaru ciała modzelowatego (*corpus callosum*)

Ryc. 2. Elektronogram oligodendrocytu o średniej cytoplazmie z obszaru torebki wewnętrznej (*capsula interna*)

Ryc. 3. Elektronogram oligodendrocytu o ciemnej cytoplazmie z obszaru ciała modzelowatego (*corpus callosum*)

Ryc. 1a. Fragment oligodendrocytu o jasnej cytoplazmie (obszar zaznaczony prostokątem na ryc. 1), czerwone punkty (pixele) ilustrują lokalizację i zawartość żelaza

Ryc. 2a. Fragment oligodendrocytu o średniej cytoplazmie (obszar zaznaczony prostokątem na ryc. 2), czerwone punkty (pixele) ilustrują lokalizację i zawartość żelaza

Ryc. 3a. Fragment oligodendrocytu o ciemnej cytoplazmie (obszar zaznaczony prostokątem na ryc. 3), czerwone punkty (pixele) ilustrują lokalizację i zawartość żelaza

nośne oraz komórki glejowe. Badania skrawków na poziomie mikroskopu elektronowego pozwoliły na obserwację 3 typów oligodendrocytów o jasnej, średniej i ciemnej cytoplazmie (ryc. 1-3). Wszystkie typy badanych komórek wykazywały lokalizację w obydwu obszarach zarówno przy włóknach nerwowych, jak i naczyniach krwionośnych. W obydwu obszarach mózgowia szczurów obserwowano głównie komórki o średniej i ciemnej cytoplazmie, natomiast najmniej liczną populację stanowiły komórki o jasnej cytoplazmie, co pozostaje w zgodności z badaniami innych autorów (20) oraz wcześniejszymi wynikami badań własnych (28). W wyniku zastosowania metody spektroskopowej (ESI) stwierdzono, iż wszystkie obserwowane komórki zawierały żelazo. Największe nagromadzenie tego pierwiastka wykazywały oligodendrocyty o ciemnej, mniejsze o średniej i najmniejsze o jasnej cytoplazmie (ryc. 1a, 2a, 3a). Żelazo rozmieszczone było w jądrze komórkowym przy otoczce jądrowej i w chromatynie, obecne było w cytoplazmie oraz w mitochondriach, ergastoplazmie i aparacie Golgiego.

Żelazo stanowi integralny składnik reduktazy rybonukleotydowej i enzymów zaangażowanych w syntezę DNA, cytochromu C i oksydazy cytochromu C, jest niezbędne dla enzymów syntetyzujących serotoninę, dopaminę i noradrenalinę oraz bierze udział w biosyntezie lipidów i białek mieliny (2, 3, 8, 11, 12, 14). Wewnątrzkomórkowa lokalizacja żelaza w obrębie jądra i cytoplazmy, zaobserwowana w niniejszych badaniach, wydaje się pozostawać w związku z funkcją, jaka została przypisana temu pierwiastkowi przez innych autorów. Źródłem żelaza dla badanych komórek glejowych i utrzymania jego homeostazy w mózgowiu są dwa białka – transferyna (1, 21, 26) i ferrytyna (24). Ferrytyna jako białko wiążące żelazo posiada dwa łańcuchy: ciężki łańcuch – H, włączony w szybkie zużycie tego pierwiastka, oraz formę L – związaną z jego dłuższym składowaniem (7, 17). Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują, że najwięcej żelaza wykazywały oligodendrocyty o ciemnej, a najmniej – o jasnej cytoplazmie. Można przypuszczać, że jego zawartość jest jednym z czynników warunkujących różną gęstość cytoplazmy badanych trzech typów komórek glejowych lub też poszczególne typy zaangażowane są w różny metabolizm tego pierwiastka. U szczurów proces mielinizacji rozpoczyna się około połowy życia prenatalnego i postępuje do około 1 miesiąca po urodzeniu (4). Oligodendrocyty o jasnej cytoplazmie zawierały najmniej żelaza i stanowiły najmniej liczną populację w badanych obszarach 30-dniowych zwierząt. Możliwe, że komórki te są najbardziej aktywne w procesie mielinizacji, a następnie transformują w oligodendrocyty o średniej i ciemnej cytoplazmie.

Niniejsze badania mają charakter pilotowy i stanowią podstawę dla kontynuacji prac ze zwierzętami w różnych przedziałach wiekowych oraz innych obszarach OUN o różnym stopniu mielinizacji.

Piśmiennictwo

1. Aisen P.: The transferrin receptor and the release of iron from transferrin. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1994, 356, 31-40.
2. Beal M. F.: Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Biochim. Biophys. Acta* 1998, 1366, 211-223.
3. Beard J. L., Connor J. R., Jones B. C.: Iron in the brain. *Nutr. Rev.* 1993, 51, 157-170.
4. Bjatmar C.: Oligodendroglial sheath in developing rat ventral funiculus and corpus callosum. *J. Neurosci.* 1996, 2, 85-88.
5. Connor J. R., Menzies S. L., St Martin S. M., Mufson E. J.: Cellular distribution of transferrin, ferritin and iron in normal and aged human brains. *J. Neurosci. Res.* 1990, 27, 595-611.
6. Connor J. R., Menzies S. L., St. Martin S. M., Mufson E. J.: A histochemical study of iron, transferrin and ferritin in Alzheimer's diseased brains. *J. Neurosci. Res.* 1992, 31, 75-83.
7. Connor J. R., Menzies S. L.: Cellular management of iron in the brain. *J. Neurol. Sci.* 1995, 134, 33-44.
8. Connor J. R., Menzies S. L.: Relationship of iron to oligodendrocytes and myelination. *Glia* 1996, 17, 83-93.
9. Drayer B., Burger P., Hurwitz B., Dawson D., Cain J.: Reduced signal intensity on mr images of thalamus and putamen in multiple sclerosis: Increased iron content? *A. M. J. Roentgenol.* 1987, 149, 357-363.
10. Erb G. L., Osterbur D. L., Le Vine S. M.: The distribution of iron in the brain: a phylogenetic analysis using iron histochemistry. *Brain Res.* 1996, 1-2, 120-128.
11. Gould R. M., Freund C. M., Palmer F., Finstein D. L.: Messenger RNA's located in myelin sheath assembly sites. *J. Neurochem.* 2000, 75, 1834-1844.
12. Hardy R. J., Lazzarini R. A., Colman D. R., Friedrich V. L.: Cytoplasmic and nuclear localization of myelin basic proteins reveals heterogeneity among oligodendrocytes. *J. Neurosci. Res.* 1996, 2, 246-257.
13. Jellinger K. A.: The role of iron in neurodegeneration: Prospects for pharmacotherapy of Parkinson's disease. *Drugs Aging* 1999, 14, 115-140.
14. Knapp P. E.: Proteolipid protein: Is it more than just a structural component of myelin? *Dev. Neurosci.* 1996, 18, 297-308.
15. Larkin E. C., Rao A.: Importance of fetal and neonatal iron: Adequacy for normal development of central nervous system. *Brain, Behaviour and Iron in the infant Diet.* Springer Verlag New York 1999, 43-63.
16. Leapman R. D.: Detecting single atoms of calcium and iron in biological structures by electron energy-loss spectrum-imaging *J. Microscopy* 2003, 210, 1-5.
17. Leeden R. W., Chakraborty G.: Cytokines, signal transduction and inflammatory demyelination: review and hypothesis. *Neurochem. Res.* 1998, 23, 277-289.
18. Le Vine S. M., Macklin W. B.: Iron-enriched oligodendrocytes: A reexamination of their spatial distribution *J. Neurosci. Res.* 1990, 26, 508-512.
19. Meneghini R.: Iron homeostasis, oxidative stress and DNA damage. *Free Radical Biology Medicine* 1997, 23, 783-792.
20. Mori S., Leblond C. P.: Electron microscopic identification of three classes of oligodendrocytes and a preliminary study of their proliferative activity in the corpus callosum of young rats. *J. Comp. Neurol.* 1970, 139, 1-30.
21. Moss T., Morgan E. H.: Transferrin and transferrin receptor function in brain barrier systems. *Cell Mol. Neurobiol.* 2000, 1, 77-95.
22. Reimer L.: Transmission electron microscopy. *Physics of image formation and microanalysis.* Springer Series in Optical Sciences. Berlin, Heidelberg, New York 1997, 36, 452-454.
23. Roncagliolo M., Garrido M., Walter T., Peirano P., Lozoff B.: Evidence of altered central nervous system development in infants with iron deficiency anemia at 6 mo: Delayed maturation of auditory brainstem responses. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998, 68, 683-690.
24. Roskams A. J. I., Connor J. R.: Iron, transferrin and ferritin in the rat brain during development and aging. *J. Neurochem.* 1994, 63, 709-716.
25. Sato T.: A modified method for lead staining of thin sections. *J. Electronmicroscopy.* 1968, 17, 158-159.
26. Taylor E. M., Morgan E. H.: Developmental changes in transferrin and iron uptake by the brain in the rat. *Dev. Brain Res.* 1990, 55, 35-42.
27. Thomson K. J., Shoham S., Connor J. R.: Iron and neurodegenerative disorders. *Brain Res.* 2001, 55, 155-164.
28. Wawrzyniak-Gacek A.: Location of various types of oligodendroglia and iron contained in it within the area of corpus callosum and capsula interna. *Annales UMCS* 2003, LVIII, 1-14.
29. Youdim M. B. H.: Neuropharmacological and neurobiochemical aspects of iron deficiency, [w:] Dobbing J. (wyd.): *Brain behavior and iron in the infant diet.* Springer-Verlag London 1990, 8, 83-106.