

*Josif Milin**

MORFOFUNKCIONALNA SVOJSTVA PEPTIDERGIČNE AKTIVNOSTI PINEALOCITA U STRESU

I z v o d

Proučavan je peptidergični reaktivan odgovor pinealocita na kratkotrajno i dugotrajno stresogeno dejstvo.

Kratkotrajni stres (injekcija fiziološkog rastvora). Sagledavanjem funkcije pinealne žlezde proučavanjem palete strukturnih promena funkcionalno pobuđenih pinealocita, proizilazi da pojava „mrkih” i „sjajnih” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti predočava da je reaktivni odgovor pinealne žlezde sadržan u oslobađanju prethodno uskladištenih i trenutno proizvedenih peptidnih činilaca, dok pojava „sjajnih” ćelija endimne-nalik aktivnosti pokazuje da je stvaranje profila u kojim se uskladištavaju novosintetisani peptidni činioci sastavni deo njenog odgovora. Vrhunac reaktivnog odgovora pinealocita ustanovljen je u 20. min, a njegovo smanjenje u 45. min, povratkom funkcionalno pobuđenih pinealocita u stanje mirujuće aktivnosti.

Dugotrajni stres (fizička imobilizacija). Pojava „sjajnih” ćelija neuroendokrine-nalik i endimne-nalik aktivnosti predočava visoku peptidergičnu aktivnost funkcionalno pobuđenih pinealocita. Međutim, pojava degenerativnih ćelija ukazuje da dugotrajna endimno-nalik aktivnost ćeli-

* Prof. dr Josif Milin, Medicinski fakultet, 81000 Podgorica.

ja preti njihovim nepovratnim regresivnim promjenama. Sažetim razmatranjem dobijenih nalaza proizilazi da pinealna žlezda reaguje na stresogeno dejstvo postojanom povećanom peptidergičnom aktivnosti funkcionalno pobuđenih pinealocita.

MORPHOFUNCTIONAL PROPERTIES OF PINEALOCYTE PEPTIDERGIC ACTIVITY IN STRESS

Abstract

The peptidergic reactive response of pinealocytes to short-lasting and long-lasting stress inducement was studied. *Short-lasting stress (saline injection)*. Extrapolating from the array or functionally animated pinealocytes to the pineal gland function, the occurrence of „dusk” cells and „bright” cells with neuroendocrine-like activity implied that pineal gland met a short-lasting stress inducement by discharging its previously stored and currently produced peptidergic compound/s; while the occurrence of „bright” cells with ependymal-like activity indicated that the generation of the profiles storing newly synthesized peptidergic compound/s was an integral part of this response. The reactive response seemed to culminate in 20 min. and cease within 45 min. with the return of the functionally animated cells to the state of resting activity. *Long-lasting stress (immobilization)*. The occurrence of „bright” cells with neuroendocrine-like and ependymal-like activity evinced an increased stimulated peptidergic activity of functionally animated pinealocytes. However, the appearance of degenerative cells indicated that protracted ependymal-like activity threatened by an irreversible injury. In summ, it came out that pineal gland responded to stress inducement with an increased peptidergic activity of functionally animated pinealocytes.

UVOD

Pinealna žlezda sisara je senzoneuroendokrini struktura velikog mozga, koja svoju višeznačajnu regulatornu ulogu ispoljava u kontroli, koordinaciji i integraciji homeostaznih procesa i pomažanja u adaptaciji organizma na prirodne i/ili socijalne, fiziološke ili stresogene, mikroambijentalne promene (Axelrod, 1974; Miline, 1980, Milin, 1985, Reiter, 1988). Ona biološki sat – regulator diurnalnog i anualnog ritma homeostaze i ponašanja (Hoffman, 1985); trankvilizantni i anksiolitički organ (Romijn, 1978; Data i King, 1980) i onkostatski i onkomodulatorni organ (Blask et

al., 1981). Njeno dejstvo se ispoljava u histofiziologiji gonada (Reiter i Vaughan, 1991, Cagnacci i Volpe, 1996), imunog odgovora (Maestroni et al. 1987) i termoregulaciji (Kavaliers, 1982). Pošto organičava proces starenja, smatra se „fontanom mladosti” (Reiter, 1992, Milin 1996). Konačno, ona je mesto duše (Descartes).

Fiziologija pinealne žlezde, odnosno njeno regulatorno dejstvo, određeno je indolima i peptidnim činiocima koje proizvode pinealociti, verovatno jedinstvena neuroendokrina populacija (Vollrath, 1981). Među prvim funkcionalno najdestveniji je melatonin, čiji se uticaj u fiziološkim uslovima življenja ispoljava u diurnalnom i anualnom ritmu njegove sinteze i sekrecije (Hoffman, 1985). Međutim, melatonin se ne može smatrati pinealnoj žlezdi svojstvenim činiocem, pošto se stvara u retini (Cardinali and Rosner, 1971), tankom crevu (Bubenik et al., 1977) i Harderevoj žlezdi glodara (Bubenik et al., 1976). Pinealni peptidni činioci jesu moždani (Bujs i Pevet, 1980, Moller, 1997) i hipofizni peptidni hormoni (Pevet, 1986) koje pinealociti prihvataju, kao i oni koje pinealociti sintetišu. Iako je postojanje pinealnih peptidnih činilaca ustavovljeno fiziološkim proučavanjima (Milcu et al., 1963; Benson i Ebels, 1981), nije izolovan ni jedan peptidni činilac svojstven pinealnoj žlezdi. Peptidni činioci/peptidni hormoni, koje pinealociti prihvataju, verovatno ispoljavaju modulatno dejstvo na indolergičnu i/ili peptidergičnu aktivnost pinealocita (Ebels et al., 1975). Postojanje pinealnih peptidnih činilaca najbolje se očituje u nalazima da melatonin, dat u farmakološkim dozama, ne nadomešta efekte pinealektomije (Vollrath, 1981). Ukoliko je pinealna žlezde zaista sazdana od jedinstvene neuroendokrine ćelijske populacije, proizilazi da verovatno svaki pinealocit stvara dve hemijski različite vrste aktivnih činilaca – indole i peptide. Nepoznavanje peptidnog činioca/peptidnih činilaca svojstvenih pinealnoj žlezdi, ograničava domete proučavanje njene fiziologije, tako da ova spoznaja uveliko proističe iz funkcionalnih tumačenja strukturne dinamike pinealocita, koja ipak pruža samo neposredan, relativno ograničen uvid u njihovu peptidergičnu aktivnost. Naredno izlaganje jeste sumarno razmatranje peptidergične aktivnosti funkcionalno pobuđenih pinealocita u kratkotrajnom i dugotrajnom stresu.

MATERIJAL I METODE

Korišteni su Wistar pacovi muškog pola, stari 3-4 meseca, držani u kontrolisanim laboratorijskim uslovima življenja sa režimom svetlost:tama od 14:10 h. i slobodnim pristutom hrani i vodi. Svaka ogleđna grupa sastojala se od 4-6 životinja.

Slobodno pokretljive životinje su žrtvovane uporedo sa životinjama ogleđnih grupa.

Životinje u kratkotrajnom stresu. Životinje su uvedene u stres intrape-ritonealnom injekcijom 2 ml fiziološkog rastvora, bez obzira na njihovu telesnu težinu. Nakon vraćanja u kavez (po dve životinje) one su ostavljene na miru do žrtvovanja u 5, 20. i 45. min, nakon injekcije fiziološkog rastvora. Eksperiment je trajao 3 h u svetlosnoj fazi.

Životinje u dugotrajnom stresu. Životinje su imobilisane tokom 18 h. Eksperiment je počeo u svetlosnoj fazi, trajao je tokom tamne faze, a okončan je u svetlosnoj fazi.

Elektronska mikroskopija

Nakon dekapitacije otvorena je lobanja i izvršena je disekcija pinealne žlezde. Usledila je njena prefiksacija u 2, 5% glutaraldehyde/0. 1 M cacodylate puferu pH 7. 4 (2 h.), fiksacija u 2 % osmium tetroxide/0. 1 M cacodylate puferu pH 7. 4 (2 h.), kalupljenje u Epon 812 i kontrastiranje sa uranil acetatom i olovnim citratom. Rezovi su proučavani posredstvom Zeiss 109 elektronskog mikroskopa.

REZULTATI

Pinealociti se smatraju jedinstvenom ćelijskom populacijom (nasuprot prisustvu pojedinih peptidergičnih ćelija difuznog neuroendokrinog sistema – Moller 1997), ali nedoslednost njihovog naziva ponekad dovodi do zabune, prvenstveno prilikom razmatranja njihove morfofiziologije. Oni su ranije uobičajeno nazivani bilo glavne ćelije ili ćelije populacije I. Razlike u njihovoj strukturalnoj organizaciji iznedrile su naziv svetli i tamni pinealociti (Arstila, 1967; Vollrath, 1981). Nejasnoći je doprinela i upotreba naziva tamni pinealociti za glija ćelije, takođe nazivane i ćelije populacije II. Stoga, opredelili smo sa za naziv pinealociti za ćelije bazalne/mirujuće aktivnosti u kontrolisanim uslovima boravka životinje, dok su funkcionalno pobuđene ćelije nazvane „mrke” i „sjajne” ćelije (Milin et al., 1984). Na osnovu većeg broja Golgi aparata aktivnog izgleda i od njih proisteklih svetlih vezikula, raspoznavale su se „sjajne” ćelije neuroendokrine-nalik aktivnosti (NA); a na osnovu naočito razvijenog polja polizoma-granularnog retikuluma i od njegovih cisterni proisteklih prosekretornih granula, raspoznavale su se „sjajne” ćelije epindimne-nalik aktivnosti (EA) (Collin, 1981; Pevet, 1983, Milin et al., 1984).

Slobodno pokretljive životinje

Žlezdani parenhim sačinjavali su brojni pinealociti stabilne aktivnosti i malobrojne „sjajne” ćelije. Pinealociti su odavali osnovna strukturalna

obeležja peptidergične aktivnosti: citoplazmu elektronski svetle gustine, nukleus lako razruđenog oboda u celosti sazdanog od euhromatina, neravnomerno rasejane polizome, mestimično okupljenje rasčešljanje cisterne granuliranog retikuluma, pojedine prosekretorne granule, jedan do dva mala Golgi aparata, oskudne mitohondrije ortodoksnog ili energisanog izgleda i neujednačeno prisustvo struktura tradicionalno nazvanih lipidne kapi (slika 1) (za detalje zainteresovani čitalac se upućuje na klasičnu literaturu – Wolf, 1965; Arstilla, 1967). „Sjajne” ćelije su odavale osnovna obeležja ćelija NA (slika 2).

Životinje u kratkotrajnom stresu

5. minut

Inicijalni reaktivni odgovor pinealne žlezde odlikovalo je delimično funkcionalno pobuđivanje pinealocitnog mnoštva, prepoznatljivo u pojavi „mrkih” i „sjajnih” ćelija.

„Mrke” ćelije prepoznavane su po elektronski gušćoj citoplazmi, većim ili manjim brojem nabubrelih mitohondrija, obično odsustnim granuliranim retikulumom, malim Golgi aparatom oskudnih vrećica i lipidnim kapima koje su odašiljali svoj sadržaj u međućelijski propstor (slika 3). Odašiljanje sadržaja lipidnih kapi bilo je praćeno i mestimičnom pojavom membranskih tela u međućelijskom prostoru (detaljnije – Milin et al., 1984; 1992). Ove ćelije su ocenjene kao funkcionalno pobuđeni pinealociti koji oslobađanjem sadržaja lipidnih kapi stvaraju peptidergičnu frakciju reaktivnog odgovora pinealne žlezde.

„Sjajne” ćelije, približno istog procenta javljanja (Milin, 1999), odlikovale su se uobičajenim strukturnim obeležjima stimulisane peptidergične aktivnosti raspoznatljive po elektronski svetloj citoplazmi, brojnijim mitohondrijama, Golgi aparatima visoke aktivnosti od čijih su se cisterni pupljenjem izdvajale svetle vezikule, i proširenim poljima polizoma protkanih rasčešljanim cisternama granuliranog retikuluma iz kojih su proistica le prosekretorne granule ispunjene sitnozrnastim sadržajem (peptidergične prirode – Pevet 1986). Blizak odnos svetlih vezikula i prosekretornih granula ukazivao je na njihovo sjedinjavanje (slika 4). Pojedine ćelije su davale kraće produžetke ispunjene svetlim vezikulama, pseudofolikularno združene sa sličnim produžecima susednih ćelija (slika 5). Ove ćelije su smatrane ćelijama NA, prevashodno zaposlene u održavanju stvaranja peptidergične frakcije već uspostavljene reaktivne sekrecije pinealne žlezde.

Osim „sjajnih” ćelija NA, u približno istom odnosu, bile su prisutne i ćelije EA uobičajene strukturne organizacije (Milin et al., 1999). Njihovo posebno obeležje bilo je „autohtono” stvaranje lipidnih kapi – prepoznatljivo u pojavi homogene, razlivene mase unutar polja polizoma koja se

uobičajava u lipidne kapi polimorfnog izgleda ili nazubljenog oboda, različite elektronske gustine (slika 6).

20. minut

Prisustvo „mrkih” ćelija se smanjilo. „Sjajne” ćelije su odavale svoja uobičajena strukturna svojstva, dok su ćelije EA bile uveliko zaokupljene stvaranjem lipidnih kapi bilo „autohtonim” procesom ili procesom „lipidizacije” prosekretornih granula. Poslednji proces podrazumevao je u metamorfozu sitnozrnastog sadržaja prosekretorne granule u homogenizovani sadržaj lipidnih kapi (slika 7). Pošto je stvaranje lipidnih kapi bilo naočito povezano sa peptidergičnom aktivnosti pinealocita, proizilazi da profili uobičajeno nazivani lipidne kapi sadrže peptidne činioce, a ne lipide. Izostanak jasno vidljivih znaka odašiljanja sadržaja novonastalih lipidnih kapi u međućelijski prostor, pokazuje da stvaranje novih lipidnih kapi nije u funkciji podrške obezbeđivanja peptidergične frakcije sekreta pinealne žlezde. Sudeći na osnovu procenta javljanja funkcionalno pobuđenih pinealocita, ovaj period je procenjen kao vreme krešćenda reaktivnog odgovora pinealne žlezde.

45. minut

Izostalo je prisustvo „mrkih” ćelija, dok se pojava „sjajnih” ćelija osetno smanjila (Milin et al., 1999). Stoga, može se smatrati da se „sjajne” ćelije smanjenjem svoje aktivnosti vraćaju u stanje bazalne/smirene aktivnosti, ponovo postajući mnoštvo pinealocita.

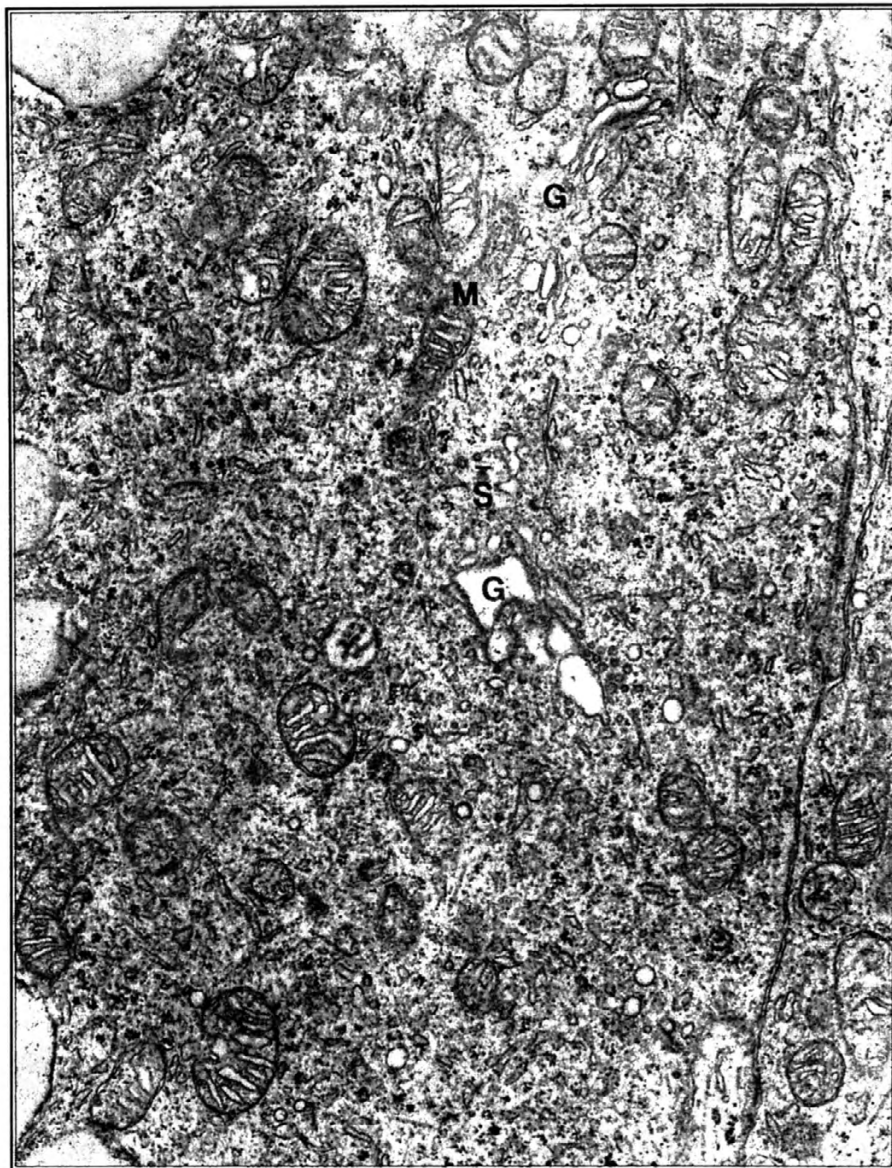
Životinje u dugotrajnom stresu

Reaktivni odgovor pinealne žlezde odlikovale su brojnije „sjajne” ćelije, u poređenju sa kratkotrajnim stresom, kao i pojedinačne ćelije nalik „mrkim” ćelijama zahvaćene degeneracijom (detaljnije – Milin et al., 1996). Strukturna svojstva „sjajnih” ćelija NA, uveliko nalik istim ćelijama životinja u kratkotrajnom stresu, predočavala je njihov visoki udeo u obezbeđivanju reaktivnog sekretornog odgovora pinealne žlezde. Većina ćelije EA pokazivala je uobičajena strukturna svojstva, naočito raspoznatljiva u nagomilanim lipidnim kapima (slika 8). Međutim, u pojedinim ćelijama, unutar polja polizoma, bila je svojstvena pojava velikih membranskih profila flokulentnog ili sitnozrnastog sadržaja. Njihov nastanak bio je proizvod izdvajanja/ograničavanja nastajuće mase od strane novostvarajuće membrane (slika 9). Dalji rast ovih profila uslovljavao je njihovo sjedinjenje sa okolnim lipidnim kapima (slika 10). Veliki membranski profili zapaženi su i u pojedinim „sjajnim” ćelijama EA.

Ćelije zahvaćene degeneracijom imale su citoplazmu visoke elektronske gustine i brojne nabubrele mitohondrije. Prisustvo kratkih cisterni granularanog retikuluma naglašenog zjapa ukazivalo je na njihovu pripadnost „sjajnim” ćelijama EA (slika 11).



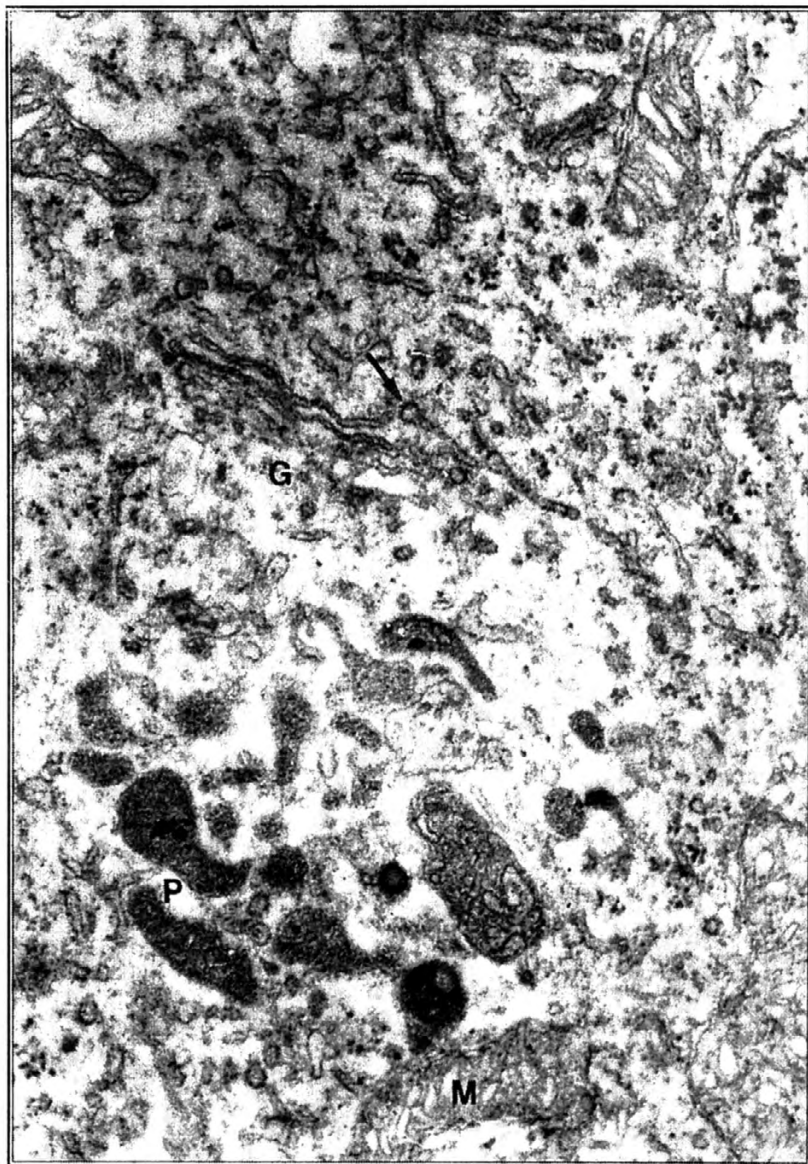
Slika 1. Slobodno pokretljiva životinja. Pinealocit. Zapaziti neravnomerno ra-sejane polizome. Cisterne granuliranog retikuluma (CG), Golgi aparat (G), lokalno nakupljene lipidne kapi (L), mitohondrije (M). 17.500x.



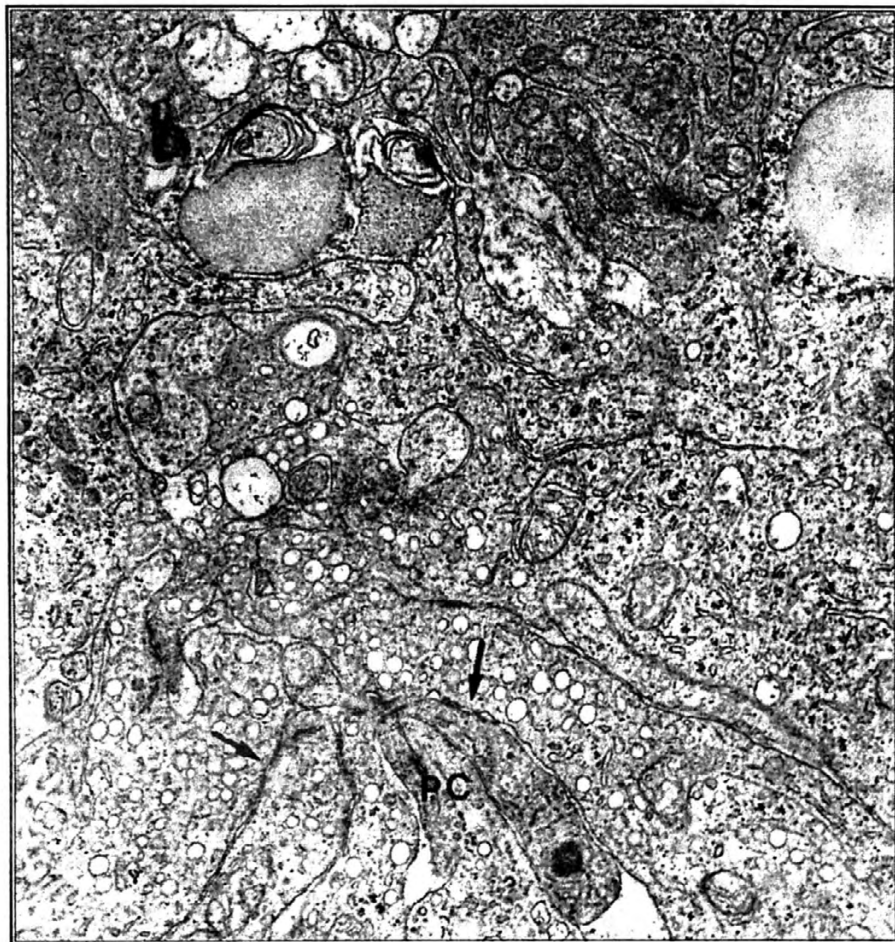
Slika 2. Slobodno pokretljiva životinja. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Zapaziti više Golgi aparata (G) aktivnog izgleda od kojih potiču svetle vezikule (strelica). Mitohondrije (M). 17.500x.



Slika 3. Životinja u kratkotrajnom stresu. 5. min. „Mrka” ćelija. Izbacivanje sadržaja lipidnih kapi (L) u međucelijski prostor (I). Lipidna kap (L). 19. 500x. Prosekretorne granule (P) i prosekretorna granula zahvaćena „lipidizacijom”. Membranka tela (T). 23.500x.



Slika 4. Životinja u kratkotrajnom stresu. 5. min. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Aktivni Golgi aparati (G) – pupljenje vrećica u svetle vezikule (S). Prosekretorne granule (P). Bliskost svetlih vezikula (strelica) ukazuje na njihovo sjedinjenje sa prosekretornim granulama. 32.000x.



Slika 5. Životinja u kratkotrajnom stresu. 5. min. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Okludentnim vezama (strelica) pseudofolikularno združeni produžeci ćelija (PC) preplavljeni svetlim vezikulama. 21.500x.

RASPRAVA

Preovladavanje pinealocita uobičajene peptidgergične strukturne organizacije u slobodno pokretljivim životinjama, predočavalo je bazalnu/mirujuću aktivnost pinealne žlezde u kontrolisanim fiziološkim uslovima življenja. Nalaz „sjasnih” ćelija obeležja NA može se prihvatiti kao pokazatelj visoke reaktivne osetljivosti pinealne žlezde na sve okolnosti koje uznemiravaju životinju (trenutno, na događanja u laboratoriji vezana za ogled).

Odgovor pinealne žlezde na kratkotrajan stresogeni atak odlikovalo je funkcionalno pobuđivanje dela pinealocitnog mnoštva, prepoznatljivo u pojavi „mrkih” i „sjajnih” ćelija, koja ukazuje na najmanje dve fiziološke okolnosti. Prvu, da se odašiljanjem uskladištenih peptidnih činilaca iz lipidnih kapi obezbeđuje peptidgergična frakcija sekreta pinealne žlezde, dok se ona održava stvaranjem novih peptidnih činilaca sadržanim u svetlim vezikulama. Drugu, da novostvorene lipidne kapi ne podržavaju stvaranje peptidgergične frakcije sekreta pinealne žlezde. Odsustvo odašiljanja sadržaja novostvorenih lipidnih kapi ohrabruje stanovište da se njihovim nagomilavanjem obnavlja neuroendokrini potencijal funkcionalno pobuđenih pinealocita. Interesantno, nasuprot povećane peptidgergične aktivnosti, indolgergična ativnost pinealocita se smanjila (Joshi et al., 1986). Fiziološki značaj ove disharmonije peptidgergičnog-indolgergičnog reaktivnog odgovora pinealocita je zagonetan, tim pre što ona ukazuje da su pinealni peptidni činoci, a ne melatonin, glavni medijatori aktivnosti pinealne žlezde u njenom suprotstavljanju kratkotrajnom stresu.

Morfunkcionalno sagledavanje strukturne organizacije „sjajnih” ćelija ukazuje da njihov reaktivni peptidgergični odgovor počiva na operativnosti najmanje dva elaborativna puta poretka: Golgi aparat → svetle vezikule (neuroendokrini-nalik put) i granulirani retikulum → prosekretorne granule → lipidne kapi (ependimni-nalik put). Proizvod prvog puta su svetle vezikule, a drugog prosekretorne granule/lipidne kapi. Sudeći na osnovu strukturnog obrta „sjajnih” ćelija, oba puta su svojstveni istoj ćeliji, s tim da operativnost jednog od njih određuje njenu trenutnu aktivnost. Stoga proizilazi da neuroendokrini-nalik put omogućava relativnu postojanost peptidgergične sekretorne aktivnosti pinealne žlezde, dok ependimni-nalik put, stvaranjem lipidnih kapi omogućava obnovu sadržaja peptidnih činilaca funkcionalno pobuđenih pinealocita. Poslednji put privlači posebnu pažnju, s obzirom na dva načina nastanka lipidnih kapi – „autohtonim” uobličavanjem i „lipidizacijom” prosekretornih granula. „Autohtono” uobličavanje lipidne kapi, koje preovladava, podrazumeva pojavu elektronski homogene razliveno mase unutar polja polizoma, koja potom poprima ustaljeni oblik lipidne kapi. Međutim, nastajuće lipidne kapi nazubljenog oboda ukazuju da je njihova pojava i mogući rezultat masivnog sjedinjenja vezikula granuliranog retikuluma.

„Lipidizacija” podrazumeva metamorfozu sitnozrnastog sadržaja prosekretornih granula u homogeni sadržaj lipidne kapi (Milin, 1982). Metabolički supstrat ovog procesa nije poznat, te bez obzira na poslednje, dobijeni rezultati nedvosmisleno pokazuju da je stvaranje lipidnih kapi proizvod peptidergične aktivnosti pinealocita. Stoga se strukture koje se tradicionalno nazivaju lipidne kapi ne smatraju stožerima lipida, već profilima u kojim su uskladišteni pinealni peptidni činioci. Više od ovog, postojanje „autohtonog” načina stvaranja lipidnih kapi ukazuje da sjedinjenje svetlih vezikula i prosekretornih granula (čime se mešaju produkti Golgi aparata i granuliranog retikuluma), nije okolnost koja uslovljava nastanak novih lipidnih kapi. Međutim, ovaj nalaz ukazuje da lipidne kapi nastale procesom „lipidizacije” sadrže produkte obostrano nastale u granuliranom retikulumu i Golgi aparatu, dok „autohtono” nastale lipidne kapi sadrže samo produkte stvorene u granuliranom retikulumu, ili stvorene od polizoma. Prihvatanjem ovog tumačenja moglo bi se razumeti postojanje lipidnih kapi različite elektronske gustine. Smatra se da „lipidizaciju” prosekretornih granula verovatno pokreće narušena ravnoteža stvaranja i sekrecije novostvorenih peptidnih činilaca, čime se uskladištava višak stvorenih činilaca (Milin, 1982). Pretpostavka je da se ovim u ravnoteži održava sinteza-sekrecija-uskladištavanje novonastajućih pinealocitnih peptidnih činilaca, čime se obezbeđuje sekretorni odgovor pinealne žlezde i omogućava neuroendokrini oporavak funkcionalno pobuđenih pinealocita. Nagli prestanak stimulacije aktivnosti pinealne žlezde, raspoznatljiv u autofagiji prosekretornih granula ili njihovom preobražaju u lipofuscin (Milin, 1973), pokazuje da pinealociti raspolažu i sa mehanizmom kontrolisanog/ograničenog uskladištavanja peptidnih činilaca.

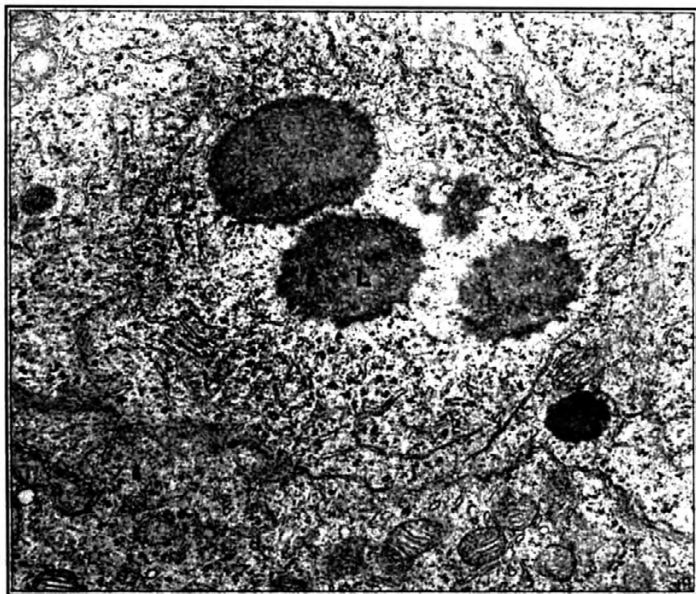
Proširenje polja polizoma u „sjajnim” ćelijama NA i retka pojava Golgi aparata u „sjajnim” ćelijama EA, ukazuje da se prve mogu morfofunkcionalno preobraziti u druge. U sadašnjem trenutku veoma je teško sagledati da li bi to mogao biti uobičajena morfofunkcionalna evolucija „sjajnih” ćelija, ili samo alternativna epizoda, uslovljena uplivom različitih pinealotropnih regulativnih sistema.

Smanjenje prisustva funkcionalno pobuđenih ćelija ukazuje da se obostranim jenjavanjem NA i EA, one ponovo vraćaju u stanje bazalne/smirene aktivnosti. Stoga, konačan ishod njihovog reaktivnog odgovora na kratkotrajni stres jeste uskladištavanje nove količine peptidnih činilaca, kao zamene za onu količinu koja je obezbedila peptidergičnu frakciju početnog odgovora pinealne žlezde na stresogeni atak.

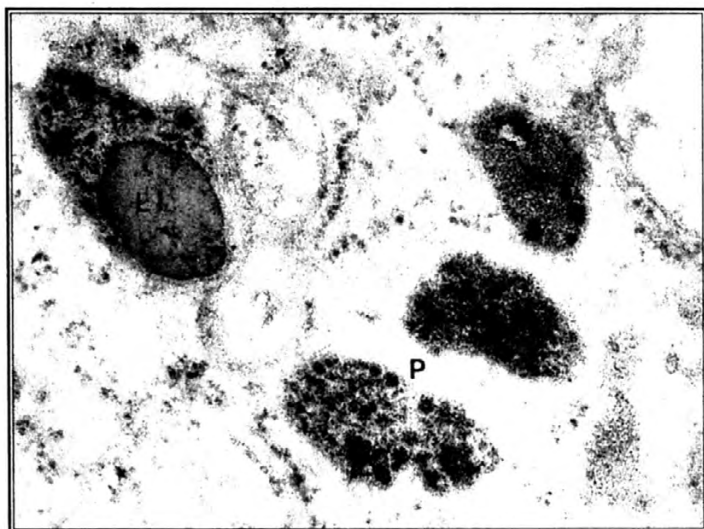
U životinja izloženih dugotrajnom stresu ustanovljeno je značajno veće prisustvo „sjajnih” ćelija, ali i odsustvo „mrkih” ćelija (Milin et al., 1996). Posebno obeležje „sjajnih” ćelija beše stvaranje velikih membranskih profila ispunjenih flokulentnim sadržajem, koji su dostizali velike razmere u ćelijama EA. U sadašnjem trenutku teško je odgovoriti na pitanje da li masa

ovih profila sadrži neki od peptidnih činilaca, ili pre, jedinjenja intermedijernog metabolizma. Ukoliko je prva pretpostavka tačna, onda se ovi profili mogu razumeti kao alternativni oblici prosekretornih granula koji odašilju svoj sadržaj u okolni međucelijski prostor. Istovremeno, veliki membranski profili se ne mogu smatrati autofagičnim vakuolama, pošto izostaje pojava lizozoma. Konačno, nalaz velikih profila u ćelijama NA podržava mogućnost njihovog morfofunkcionalnog preobražaja u ćelije EA. Preovladavanje „sjajnih” ćelija NA ukazuje da se u dugotrajnom stresu smanjuje sekretorna aktivnost pinealocita, verovatno usled uspostavljanja novog, reaktivnog stabilnog stanja. Sa druge strane, nalaz ćelija zaokupljenih degeneracijom, koje verovatno pripadaju ćelijama EA, ukazuje da dugotrajnije stimulisna EA preči njihovom nepovratnom oštećenju. Pošto je indolergična aktivnost svojstvena citoplazmi pinealocita (Reiter, 1984), promene strukturne organizacije pinealocita ne pruža uvid u stanje sinteze/sekrecije melatonina.

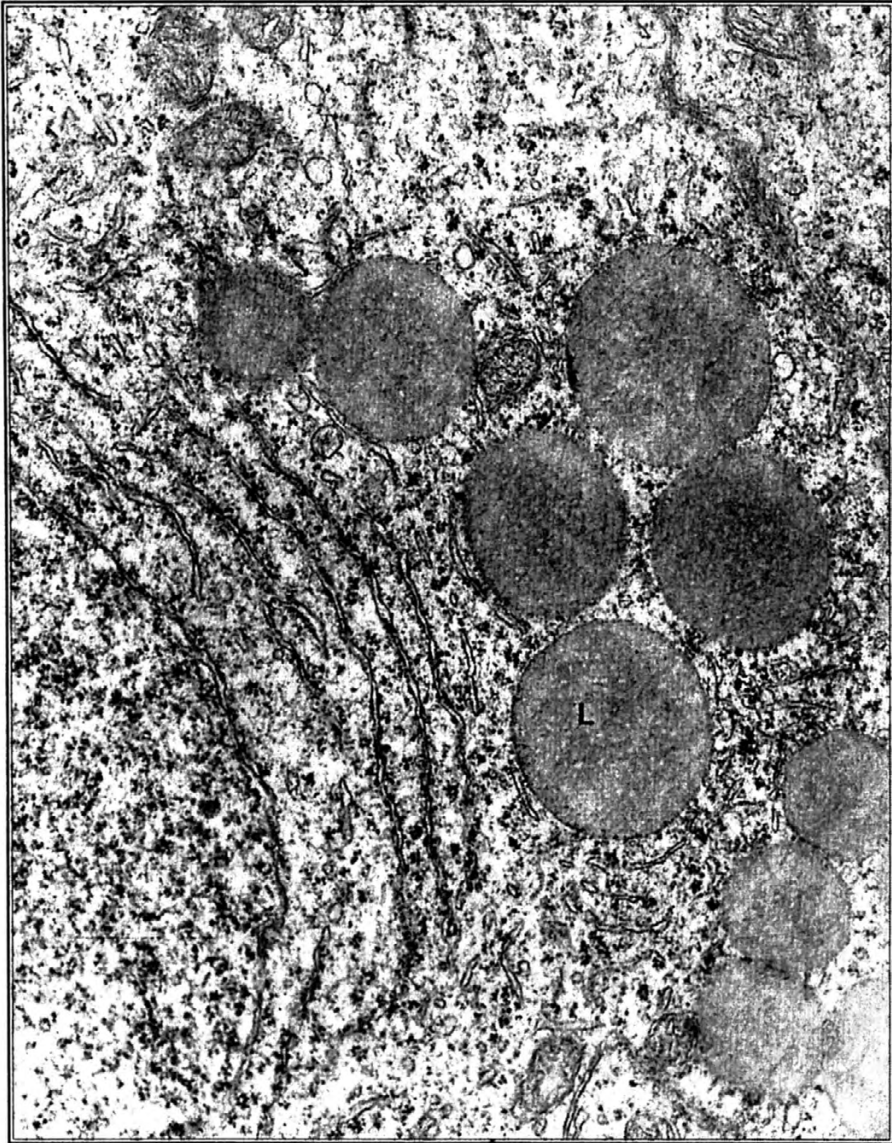
Stres je prevashodno određen povećanim regulativnim uplivom kateholaminskog i POMC sistema (Axelrod i Reisine, 1984; Konakchieva et al., 1997; Kvetnansky et al., 1987), tako da se nameće pitanje njihovog udela i u funkcionalnom pobuđivanju pinealocita. Nalaz da noradrenalin povećava prostranstvo granuliranog retikuluma i Golgi aparata (Pevet, 1983; Karasek et al., 1991) i uslovljava pojavu produžetaka pinealocita preplavljenih svetlim vezikulama (Piekut i Knigge 1978; Steinberg et al., 1981), odnosno da uvodi „sjajne” ćelije u stanje NA, ukazuje da je on variabla koja uspostavlja, održava i okončava pinealocitni odgovor na kratkotrajni stresogeni atak (Milin et al., 1994). Sa druge strane, nalaz da analozi ACTH stimulišu uopštenu peptidergičnu aktivnost pinealocita (Schotman et al., 1981), kao i da farmakološke doze ACTH stimulišu aktivnost „sjajnih” ćelija EA (Milin et al., 1992), ukazuje i na udeo POMC sistema u uspostavljanju stres reaktivnog odgovora pinealne žlezde. Ukoliko se inhibitorno dejstvo ACTH na noradrenergične neurone (Illes, 1982) odnosi i na pinealofugarne noradrenergične neurone, može se prihvatiti mogućnost da stres reaktivan izliv ACTH ispoljava svoj pinealotropni učinak i inhibicijom uticaja noradrenalina na funkcionalno pobuđene pinealocite. Pošto se odnos pinealociti:funkcionalno pobuđene ćelije ne menja nakon injekcije ACTH, proizilazi da stres reaktivna izliv ACTH (koji doseže svoj vrhunac u 5 min., 1982; Milin et al., 1993) deluje samo na aktivnost funkcionalno pobuđenih ćelija. Više od ovog, osetnije povećanje reaktivne sekrecije ACTH u pinealektomisanih životinja, ukazuje da ACTH stimulatивно delujući na pinealnu žlezdu ujedno smanjuje/ograničava i sopstvenu sekreciju. Konačno, nalaz da injekcija naloksona (blokatora receptora opiatnih peptida) narušava tok stres reaktivnog odgovora pinealocita (Milin et al., 1986), samo je dalja potvrda uticaja POMC sistema na uspostavljanje stres reaktivnog odgovora pinealne žlezde.



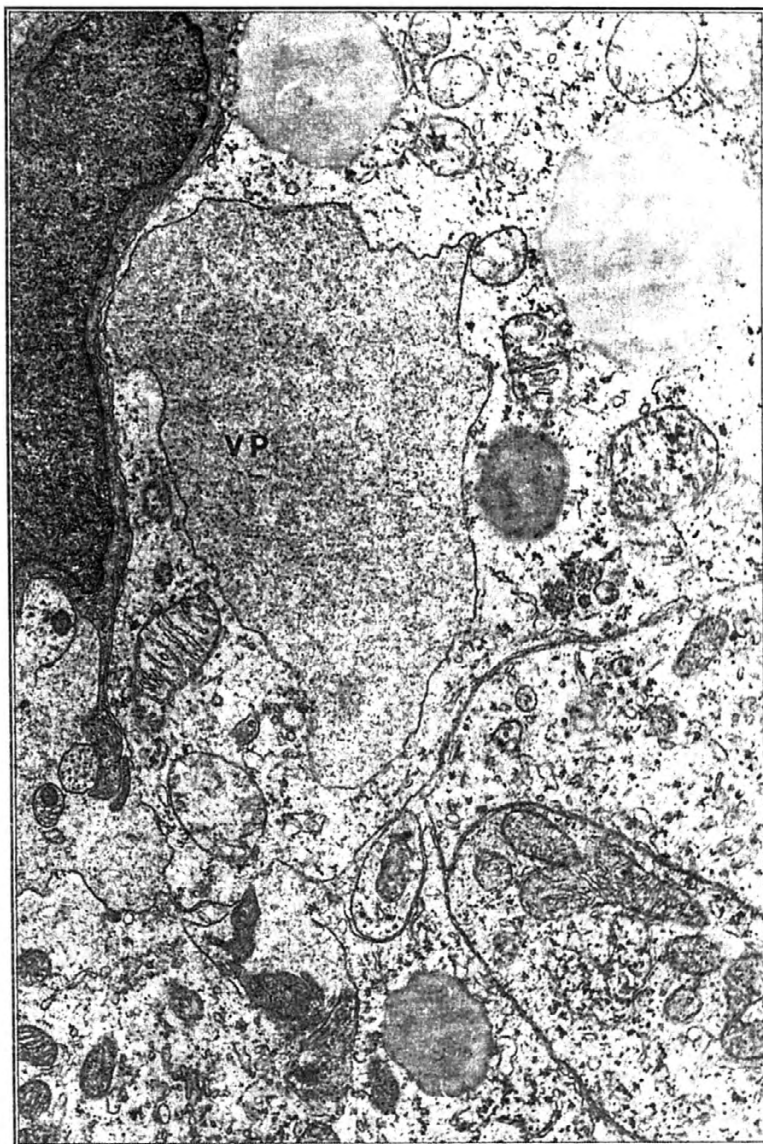
Slika 6. Životinja u kratkotrajnom stresu. 5. min. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Pojava novih lipidnih kapi (L) unutar krateru nalik okupljenih polizoma. Zapaziti nazubljeni obod lipidnih kapi. 17.500x.



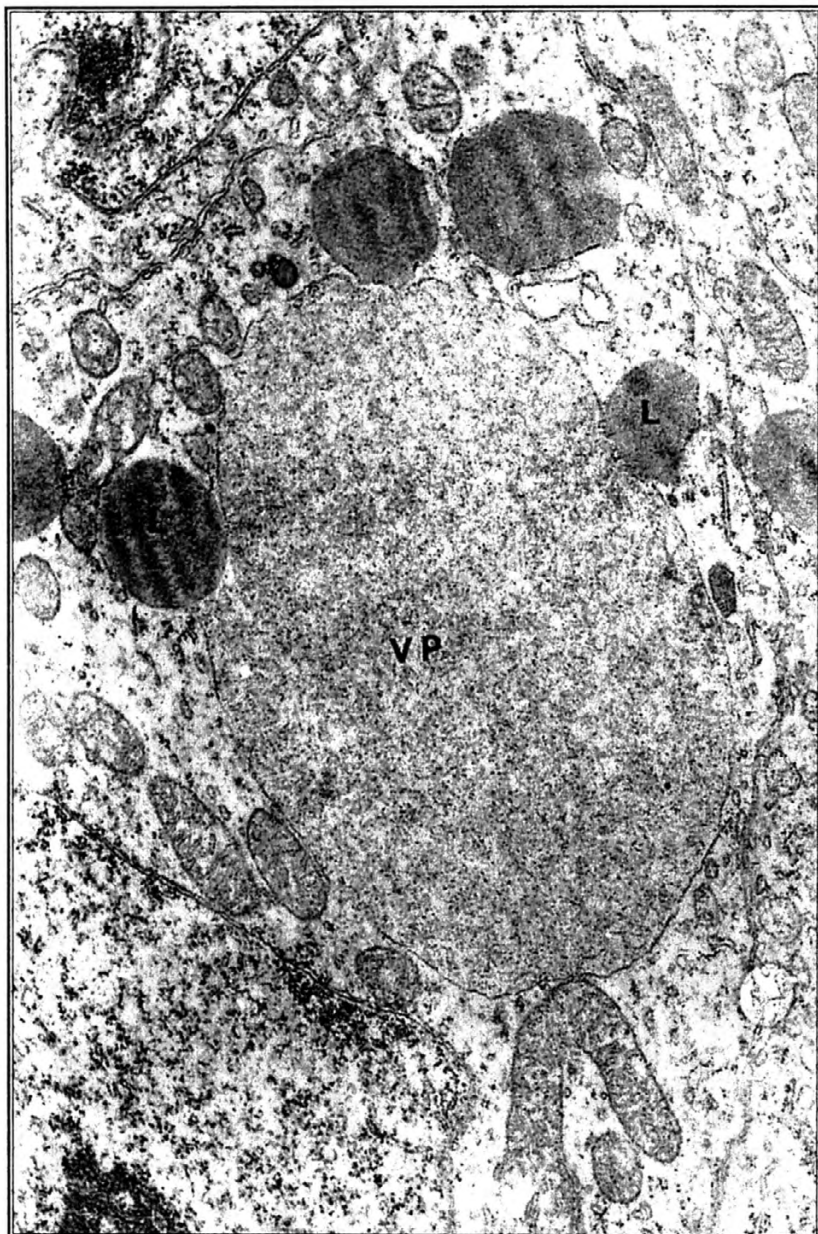
Slika 7. Životinja u kratkotrajnom stresu. 15. min. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Prosekretorne granule (P) i njihova „lipidizacija” (LI). 28.500x.



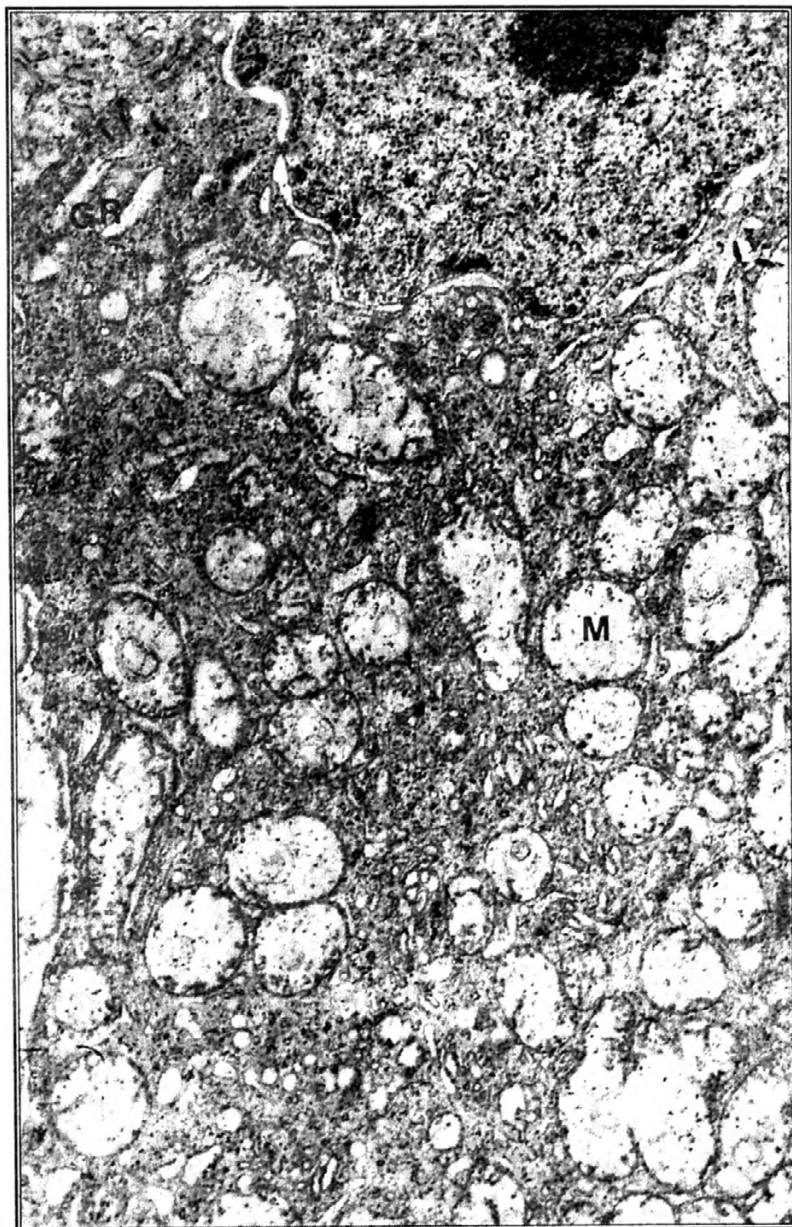
Slika 8. Životinja u kratkotrajnom stresu. 15. min. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Gomila novonastalih lipidnih kapi (L) unutar polja polizoma. 26.500x.



Slika 9. Životinja u dugotrajnom stresu. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Nastajući veliki membranski profil (VP). 10.300x.



Slika 10. Životinja u dugotrajnom stresu. „Sjajna” ćelija neuroendokrine-nalik aktivnosti. Veliki membranski profil (VP) u bliskoj vezi sa lipidnim kapima (L). 13.400x.



Slika 11. Životinja u dugotrajnom stresu. Čelija zahvaćena degeneracijom. Nabubrele mitohondrije (M). Cisterne granuliranog retikuluma (GR). 13.400x.

LITERATURA

- ARSTILA A. U. (1967) Electron microscopic studies on the structure and histochemistry of the pineal gland of the rat. *Neuroendocrin. Suppl.* 2: 1-101.
- AXELROD J. (1974) The pineal organ: a neurochemical transducer. *Science*, 184: 1341-1348.
- AXELROD J., REISINE T. D. (1984) Stress hormones: Their interaction and regulation. *Science* 224: 452-459.
- BENSON I. (1981) Other pineal peptides and related substances – Physiological implications for reproductive biology. In: *The pineal gland*, vol 2 (ed. Reiter R. J.) pp. 165-187. CRC Press, Boca Raton.
- BLASKO D. E., WILSON S. T., LEMUS-WILSON A. M. (1994) The oncostatic and oncomodulatory role of the pineal and melatonin. *Advances in Pineal Research*, 7: 235-241.
- BUBENIK G. A., BROWN G. M., GROTA L. J. (1976) Immunochemical localization of melatonin in the rat Harderian gland. *J. Histochem. Cytochem* 24: 1173-1180.
- BUBENIK G. A., BROWN G. M., GROTA L. J. (1977) Immunochemical localization of melatonin in the rat digestive system. *Experientia* 33: 663-667.
- BUIJS R. M., PEVET P. (1980) Vasopressin and oxytocin containing fibres in the pineal gland and subcommissural organ of the rat. *Cell Tiss. Res.* 205: 11-15.
- CAGNACCI A., VOLPE M. (1996) Influence of melatonin and photoperiod on animal and human reproduction. *J. Endocrinol. Invest.* 19: 382-411.
- CARDINALI D. P., ROSNER J. M. (1971) Retinal localization of the hydroxyindole-O-methyl transferase (HIOMT) in the rat. *Endocrinol.* 89: 301-306.
- CARDINALI D. P., VACAS M. I., ROSENSTEIN R., LOWENSTEIN P. R., GONZALES SOLVEYRA C., ROMEO H. E. and KELLER SARWIENTO M. I. (1986) The pineal gland as a multi-effector organ. In *Advances in Pineal Research* (eds. Reiter R. J. and Karasek M.), pp. 129-138. John Libbey, London.
- COLLIN J. P. (1981) New data and vistas on the mechanisms of secretion of proteins and indoles in the mammalian pinealocyte and its phylogenetic precursors: the pinealin hypothesis and preliminary comments on membrane traffic. In: *The Pineal Organ*. (eds. A. Oksche, P. Pevet). pp. 187-210. Amsterdam: Elsevier/Nort-Holland.
- COTO-MONTES A., MASSON-PEVET M., PEVET P. and MOLLER M. (1994) The presence of opiodergic pinealocytes in the pineal gland of the European hamster (*Cricetus cricetus*) An immunocytochemical study. *Cell Tiss. Res.* 278, 483-491.
- DATA P. C., KING M. G. (1980) Melatonin: effects on brain and behavior. *Neurosci. Bihev. Rev.* 4: 451-459, 1980.
- EBADY M., HEXUM T. D., PEIFFER R. F. and GOVITRAPONG P. (1989) Pineal and retinal peptides and their receptors. *Pin. Res. Rev.* 7, 1-156.

- EBELS E. I., CITHAREL A., MOSZKOWSKA A. (1975) Separation of pineal extract by gel filtration III. Sheep pineal factors acting either on the hypothalamus or on the anterior hypophysis of mice and rat in „in vitro” experiments. *J. Neural Transm.* 36: 281-294.
- HELLRIEGEL E. T. and D’MELLO A. P. (1997) The effect of acute, chronic and chronic intermittent stress on the central noradrenergic system. *Pharm. Biochem. Behav.* 57, 207-214.
- HOFFMAN K. (1985) Interaction between photoperiod, pineal and seasonal adaptation in mammals. In: *The pineal organ. Current state of pineal research* (eds. Mess B., Ruzsas, P., Tima L., Pevet P.) pp. 211-227, Budapest: Akademiai Kiado.
- ILLES P. (1982) The mechanism of action of opiates in regulating noradrenalin release. In: *Regulatory peptides. From molecular biology to function* (eds. Costa E. and Trabucchi M.) pp 347-352. Raven Press, New York.
- JOSHI N. B., TROIANI M. E., MILIN J., NURNBURGER F., REITER R. J. (1986) Adrenal-mediated depression of N-acetyltransferase activity and melatonin levels in the rat pineal gland. *Life Sci.* 38: 1573-1580.
- KARASEK M., SWIETOSLAWSKI J., MAREK K., KUNERT-RADEK J. (1991) Influence of norepinephrine on the ultrastructure of the rat pinealocytes: a quantitative in vitro study. *Neuroendocr. Lett.* 12: 11-16.
- KAVALIERS M. (1982) Pineal mediation of the thermoregulatory and behavioral activating effects of β -endorphine. *Peptides* 3: 697-685.
- KONAKCHIEVA R., MITEV Y., ALMEIDA O. F., PATCHEV V. K. (1997) Chronic melatonin treatment and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the rat: attenuation of the secretory response to stress and effects on hypothalamic neuropeptide content and release. *Biol. Cell* 89: 587-596.
- KVTENANSKY R., TILDERS F. J. H., ZOEST I. D., DOBRAKOVOVA M., BERKENBOSCH F., CULMAN J., ZEMAN P., SMELOK P. G. (1987) Sympathoadrenal activity facilitates beta-endorphin and ACTH-MSH secretion but does not potentiate ACTH secretion during immobilization stress. *Neuroendocrin.* 45: 318-324.
- LINTON E. A., TILDERS F. J. H., HODGKINSON S., BERKENBOSCH F., VERMES I. AND LOWRY P. J.: (1985) Stress-induced secretion of antisera to ovine corticotropin-releasing factor and vasopressin. *Endocrin.* 116, 966-970.
- MAESTRONI G. J. M., CONTI A., PIERPAOLI W. (1987) Role of the pineal gland in immunity: II. Melatonin enhances the antibody response via an opiate mechanism *Clin. exp. Immunol.* 68: 384-391.
- MILCU S. M., NANU L., MARCEAU-PETRESCU R., MILCU St. -M. (1963) Precedeu de obtinere a unui preparat opoterapic de glanda pineala. *Brevet OSIM nr 63: 948-957.*
- MILIN J. (1973) Pinealna žlezda u laktaciji. Magistarska teza. Novi Sad.
- MILIN J. (1982) Ultrastructural characteristics of proteinergic synthesis in the pineal gland. In *Hormonally active brain peptides.* (eds. McKerns K. W., Pantić V.), pp. 245-266. Plenum Press, New York.

- MILIN J., MARTINOVIĆ J., DEMAJO M. (1984) Morphodynamic response of the pineal gland to initial stress attack. *Arch. Anat. microscop.* 72: 159-180.
- MILIN J. (1985) Stress, deo života. *Med. Preg.* 7-8: 325-332.
- MILIN J. (1996) Stress-reactive response of the pineal gland of senile rats. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke.* 91: 37-50.
- MILIN J., BAKIĆ V., ĐORĐEVIĆ Z. (1999) The part of ACTH in the rat pinealocyte response. *Neurosci. u štampi.*
- MILIN J., DEMAJO M., MILIN R. (1989) Characteristics of a prompt morphodynamic response of the pineal gland to an acute ACTH injection. *Z. mikrosk. Anat. Forsch* 103: 720-733.
- MILIN J., DEMAJO M., TODOROVIĆ V. (1996) Rat pinealocyte reactive response to a long-term stress inducement. *Neurosci.* 73: 845-854.
- MILIN J., DJAKOVIĆ-ŠVAJČER K., DEMAJO M. (1993) Rat pineal gland suppresses the injection stress-reactive ACTH outflow. *Hormone and Metab. Res.* 3: 149-151.
- MILIN J., DJAKOVIĆ-ŠVAJČER K., VUZEVSKI V. D., MILIN R. (1992) Morphodynamic response of the rat light pinealocyte to an injection act. Implication of b-adrenoreceptors. *Histol. Histopath.* 7: 29-38.
- MILIN J., MARTINOVIĆ J., DEMAJO M. (1984) Morphodynamic response of the pineal gland to initial stress attack. *Arch. d'Anat. micros.* 73: 159-180.
- MILIN J., MARTINOVIĆ J., DEMAJO M., BANIĆ B., MILIN R. (1986) Pineal gland and opioid peptides might be intervening variables in initial stress-induced prolactin surge. In: *Neuroendocrine correlates of stress* (eds. McKerns K. W., Pantić V.) pp. 191-216. Plenum Press, New York.
- MILIN R. (1980) The role of the pineal gland in stress. *J. Neural Trans.* 47: 191-220.
- MOLLER M. (1997) Peptidergic cells in the mammalian pineal gland. Morphological indication for a paracrine regulation of the pinealocyte. *Biol. Cell* 89: 561-567.
- MOLLER M., VAN DEURS B. and WESTERGAARD E. E. (1978) Vascular permeability to proteins and peptides in the mouse pineal gland. *Cell Tiss. Res* 195, 1-15.
- PEVET P. (1983) Anatomy of the pineal gland of mammals. In *The Pineal Gland* (ed. Reikn R.), pp. 1-76. Elsevier Biomedical. New York.
- PEVET P. (1986) The different classes of pineal peptides: origin and probable physiological role during development. In *The Pineal Gland During Development: From Fetus to Adult* (eds. Gupta C., Reiter R. J.), pp. 234-247. Croom Helm, London.
- PIEKUT D. T., KNIGGE K. M. (1978) Primary cultures of dispersed cells of rat pineal gland. I. Fine structures and indole metabolism. *Cell Tiss. Res.* 188: 285-297.
- REITER R. J. (1984) Pineal Indoles: Production, Secretion and Action. In: *Neuroendocrine Perspectives* (eds. Muller E. E., MacLeod R. M.). pp. 345-377. North-Holland, Amsterdam.
- REITER R. J. (1986) The pineal gland: an important link to the environmental. *NIPS*, 1: 202-205.

- REITER R. J. (1988) Pineal response to stress: Implication for reproductive physiology. In: *Biorhythms and Stress in the Physiopathology of Reproduction* (eds. Pancheri P., Zichella L.), pp. 215-226. Hemisphere Pub. New York.
- REITER R. J. (1992) The aging pineal gland and its physiological consequences. *BioEssays* 14: 169-174.
- REITER R. J., VAUGHAN M. K. (1991) Dynamic organization of endocrine networks. The neuroendocrine-reproductive axis and the pineal gland as examples. *N. Y. Acad. Sci.* 618: 11-27.
- ROMIJN H. J. (1978) The pineal, a tranquillizing organ. *Life Sci.* 23: 2257-2274.
- SCHOTMAN, P., ALLAART J., GISPEN W. H. (1981) Pineal protein synthesis highly sensitive to ACTH-like neuropeptides. *Brain Res.* 219: 121-135.
- SCHRODER H., REUSS S., STEHLE J. AND VOLLRATH L. (1988) Intra-arterially administration vesopressin inhibits nocturnal pineal melatonin synthesis in the rat. *Comp. Biochem. Physiol* 89, 651-653.
- SEGIE J., CAMBELL L., BROWN G. M. and GROTA L. J. (1985) Melatonin and N-acetylserotonin stress responses: Effects of type of stimulation and housing conditions. *J. Pineal Res.* 2, 39-51.
- SOUZA E. B., LOON G. L. (1982) Stress-induced inhibition of the plasma corticosterone response to a subsequent stress in rats. *Endocrin.* 110, 23-33.
- STEINBERG V., ROME V., WATANABE I., PARR J. (1981) Effect of norepinephrine and dibutyladenosine 3', 5'-cyclic monophosphate on the ultrastructure of pineal cells in monolayer culture. *Cell Tiss. Res.* 216: 181-191.
- VOLLRATH L. (1981) *The pineal organ.* Springer, Berlin.
- WOLF D. E. (1965) The epiphyseal cell: an electron-microscopic study of its intercellular relationship and intracellular morphology in the pineal body of the albino rat. *Prog. Brain. Res.* 10: 335-386.

