

УДК 616-003.282+616.43:591.4+59.082
© Бессалова Е.Ю., 2012

ЦИТОЛОГИЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРА ТРАБЕКУЛЯРНОЙ ЧАСТИ АДЕНОГИПОФИЗА БЕЛЫХ КРЫС И ЕЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ВВЕДЕНИИ КСЕНОГЕННОЙ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

Бессалова Е.Ю.

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского»

Бессалова Е.Ю. Цитология и ультраструктура трабекулярной части аденогипофиза белых крыс и ее регуляторные эффекты при введении ксеногенной спинномозговой жидкости // Украинський морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 26-28.

Изучена цитология аденогипофиза и уровень периферических гормонов у белых крыс при введении СМЖ. Выявлена онтогенетическая динамика структуры гипофиза в норме в зависимости от пола и репродуктивного статуса. СМЖ, при ее парентеральном введении, вызывает различные структурные изменения гипофиза в зависимости от пола крыс, кратности и сроков ее введения: стимулирующее действие у зрелых особей и ингибирующий эффект – у незрелых. Выявлены ультраструктурные признаки стимуляции соматотропоцитов при введении СМЖ в антенатальном периоде, гонадотропоцитов и тиреотропоцитов – при введении СМЖ после рождения, лактотропоцитов – у зрелых самок. Выявлен рост уровня Т4, снижение – тестостерона и эстрадиола в крови.

Ключевые слова: спинномозговая жидкость, гипофиз, гормоны, крысы.

Бессалова Е.Ю. Цитология і ультраструктура трабекулярної частини аденогіпофізу білих щурів та її регуляторні ефекти при введенні ксеногенної спинномозкової рідини // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 26-28.

Вивчена цитологія аденогіпофізу і рівень периферичних гормонів у білих щурів при введенні СМР. Встановлена онтогенетична динаміка структури гіпофізу в нормі залежно від статі та репродуктивного стану. СМР, при її парентеральному введенні, викликає різні структурні зміни гіпофізу залежно від статі щурів, кратності та термінів її введення: стимулююча дія у зрілих тварин і гальмівний ефект – у незрілих. Виявлені ультраструктурні ознаки стимуляції соматотропоцитів при введенні СМР в антенатальний період, гонадотропоцитів і тиреотропоцитів – при введенні СМР після народження, лактотропоцитів – у зрілих самок. Виявлено зростання рівня Т4, зниження – тестостерону і естрадіолу крові.

Ключові слова: спинномозкова рідина, гіпофіз, гормони, білі щури.

Bessalova Ye.Yu. White rats' adenohypophysis' ultrastructure, cytology and regulation after injection of cerebrospinal fluid // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 26-28.

An article describes cytology of adenohypophysis and peripheral hormones level in white rats – normal and after injection of CSF. At normal the ontogenetic dynamics of rats' hypophysis structure depends on gender and reproductive status. Injection of CSF causes the various structural changes of hypophysis depending on the gender of rats, rate and terms of its introduction: stimulant effect for mature rats and inhibiting effect – at immature. We've revealed the ultrastructural signs of somatotropocites stimulation after injection of CSF in an antenatal period, gonadotropocites and tireotropocites –after birth, laktotropocites – for mature females. We've revealed growth of T4 level, decline of testosterone and estradiol level in blood.

Key words: cerebrospinal fluid, hypophysis, hormones, white rats.

Введение. Спинномозговая жидкость (СМЖ) как гуморальная среда обеспечивает нормальное функционирование мозга и организма в целом за счет содержания большого количества физиологически активных веществ. Установлено, что СМЖ характеризуется широким спектром биологических эффектов применительно к другим системам организма, как в норме, так и при парентеральном ее введении в качестве ксеногенного биопрепарата [1, 2]. Гипофиз, являясь производным двух принципиально разных зачатков – эпителиального и нейрального, служит прямой точкой приложения двух жидких сред – ликворной и гемолимфатической. Передняя доля гипофиза представляет интерес с точки зрения звена, передающего сигналы центральной регуляции на периферические эндокринные железы. Данные о структуре клеток и уровне периферических гормонов (как результата реализации его регуляторных эффектов) позволили дать функциональную характеристику этому звену регуляции функций в условиях введения СМЖ.

Цель работы: охарактеризовать цитофизиологию гипофиза крыс и уровень гормонов в норме и при экспериментальном введении СМЖ.

Материал и методы. СМЖ получали у лактирующих коров прижизненно субокципитальной пункцией и сохраняли в жидком азоте. Исследование проведено на 210 белых крысах (90 самцах, и 120 самках). Ликвор вводили в/м из расчета разовой дозы 2 мл/кг массы тела. Инъекции делали однократно незрелым самцам и самкам в антенатальном периоде

(3-я неделя), в 1-е, 10-е и 30-е сутки жизни. Зрелым самкам однократно на 90-е сутки, многократно на 90-120-е сутки через день, однократно беременным самкам, а также самкам и самцам крыс в возрасте 90 суток раз в неделю в течение 3-х месяцев. Исследованы ранние и отдаленные эффекты. Сроки забоя крыс указаны в таблицах, при выведении из эксперимента в каждой серии было по 6 особей. Крысам контрольной группы вводили 0,9% NaCl. С целью уменьшения числа крыс, объединены группы контроля для первых трех сроков инъекций незрелым крысам и для однократного и многократного введения половозрелым самкам с соблюдением возраста, пола и репродуктивного статуса, что не оказало влияния на результаты. Крыс забивали методом декапитации под эфирным наркозом в соответствии с принципами биоэтики. Выделяли гипофиз, исследовали его гистологическое строение на парафиновых и полугонких срезах, ультраструктуру – с использованием электронной микроскопии [3]. Уровень гормонов в сыворотке (Т4, Т3, тестостерон, прогестерон, эстрадиол) определяли методом ИФА до и после месячного интенсивного курса введения СМЖ. Использовали статистические методы, достоверность отличий определяли на основании t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. *Контрольная группа* (табл. 1, 2). В трабекулярной части аденогипофиза у незрелых крыс клетки образуют подобие фолликулярных структур, у зрелых – располагаются в виде тяжей. В периоды физиологической нагрузки преобладают хромофильные клетки; у рас-

тущих крыс их количество составляет 57,9-67,7%; хромофобы доминируют у самцов в 90 суток (54,6%) и у нерожавших самок в 180 (59,4%), у крыс обоих полов – в 270 суток, спаривание меняет это соотношение (количество хромофилов растет до 51,1-67,2%). Среди хромофильных аденоцитов доминирующей клеточной популяцией являются ацидофильные клетки, максимальное их количество зафиксировано в возрасте 60 суток у самцов (60,3%) и в период лактации у самок (57,3%). Базофильные аденоциты уступают ацидофильным клеткам в коли-

чественном отношении, их содержание у самок стабильно в возрастном аспекте (7,5-12,4%), но зависимо от репродуктивного статуса (у рожавших самок – 12,6%, что выше, чем у нерожавших, $p \leq 0,05$), у незрелых самцов содержание базофильных клеток невелико (7,3-13,1%), в 90-180 суток оно растет (16,3-17,7%), в 270 суток – снижается (7,4%). При ультраструктурном исследовании четко различимы основные типы аденотропоцитов и выявлена высокая секреторная активность соматотропоцитов и гонадотропоцитов в период роста и созревания.

Таблица 1. Структура аденогипофиза при введении СМЖ незрелым крысам

Группа	Возраст	Содержание различных типов клеток, %				ацидофилов/ базофилов	хромофобы/ хромофилов
		Ацидофилов	Базофилов	Хромофобы	Хромофилов		
САМКИ							
Контроль	30	46,5±3,9	12,4±2,8	41,1±5,2	58,9±5,2	3,75	0,71
	60	49,8±3,0	8,1±0,8	42,1±3,0	57,9±3,0	6,15	0,73
	90	47,5±3,4	11,4±1,7	41,1±4,6	58,9±4,6	4,17	0,70
	180	33,1±2,8	7,5±0,9	59,4±2,4	40,6±2,4	4,41	1,46
Опыт в/у	30	56,3±3,0	9,6±1,5	34,1±2,6	65,9±2,6	5,86	0,52
	180	32,6±1,7	10,8±1,6	56,6±2,2	43,4±2,2	3,02	1,30
Опыт 1 сут	30	33,2±2,3*	16,2±2,1	50,6±2,3	49,4±2,3	2,05	1,02
	180	46,8±2,6*	14,8±2,6*	38,4±2,9**	61,6±2,9**	3,16	0,63
Опыт 10 сут	30	56,4±1,4	5,7±0,7	37,9±1,7	62,1±1,7	9,89	0,61
	180	49,3±1,9**	9,6±1,5	41,1±2,5**	58,9±2,5**	5,13	0,70
Опыт 30 сут	60	38,8±2,0*	14,8±2,0*	46,5±2,7	56,3±2,7	2,62	0,83
	90	41,2±2,8	8,8±0,9	50,0±3,5	50,3±3,5	4,68	0,99
	180	54,2±1,6**	9,7±1,7	36,2±1,2***	63,9±1,2***	5,59	0,57
САМЦЫ							
Контроль	30	44,9±3,2	13,1±1,4	42,1±3,2	57,9±3,2	3,43	0,73
	60	60,3±2,4	7,3±0,8	32,4±2,4	67,7±2,4	8,26	0,48
	90	29,2±2,0	16,3±1,1	54,6±1,6	45,4±1,6	1,79	1,20
	180	33,4±2,6	17,7±1,7	48,9±2,5	51,1±2,5	1,89	0,96
Опыт в/у	30	51,9±3,8	10,0±1,6	38,2±3,3	61,8±3,3	5,19	0,62
	180	40,2±2,6	11,2±1,5*	48,6±3,4	51,4±3,4	3,59	0,95
Опыт 1 сут	30	35,5±2,2	6,2±0,5**	58,4±1,8**	41,7±1,8**	5,73	1,40
	180	33,5±1,2	9,9±1,3*	56,6±1,8	43,4±1,8	3,38	1,30
Опыт 10 сут	30	38,8±1,2	9,4±1,3	51,9±2,4	48,2±2,4	4,13	1,08
	180	55,4±3,6**	9,5±1,0**	35,1±3,9*	64,9±3,9*	5,83	0,54
Опыт 30 сут	60	51,5±2,8	12,7±2,1	35,8±3,2	64,2±3,2	4,06	0,56
	90	53,4±1,8***	7,5±0,5***	39,1±2,1**	60,9±2,1**	7,12	0,64
	180	50,0±3,3*	11,0±1,4*	39,0±3,2	61,0±3,2	4,55	0,64

Примечания для таблиц 1, 2: * отличия контроля и опыта $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; в/у- внутриутробное введение, К- контроль, О- опыт.

Таблица 2. Структура аденогипофиза при введении СМЖ зрелым крысам

Возраст	Группа	Содержание различных типов клеток, %				ацидофилов/ базофилов	хромофобы/ хромофилов
		Ацидофилов	Базофилов	Хромофобы	Хромофилов		
ОДНОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ СМЖ В ВОЗРАСТЕ 90 СУТОК							
180	К♀	42,8±1,1	12,6±1,1	44,6±1,1	55,4±1,1	3,40	0,81
	О♀	50,8±3,1	9,7±0,7	39,6±3,4	60,5±3,4	5,24	0,65
МНОГОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ СМЖ ЧЕРЕЗ ДЕНЬ В 90-120 СУТОК							
180	К♀	42,8±1,1	12,6±1,1	44,6±1,1	55,4±1,1	3,40	0,81
	О♀	30,1±1,7**	15,1±1,2	54,9±1,1***	45,1±1,1***	1,99	1,22
ОДНОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ СМЖ НА 3-ей НЕДЕЛЕ БЕРЕМЕННОСТИ							
180	К♀	57,3±1,5	9,9±0,9	32,8±1,2	67,2±1,2	5,79	0,49
	О♀	37,6±2,9**	9,4±1,7	52,9±2,7***	47,1±2,7***	4,00	1,12
МНОГОКРАТНОЕ ВВЕДЕНИЕ СМЖ, РАЗ В НЕДЕЛЮ В 90-180 СУТОК							
270	К♀	28,3±4,1	10,8±1,8	60,9±3,2	39,1±3,2	2,62	1,56
	О♀	35,1±3,0	14,2±2,1	50,8±3,2	49,2±3,2	2,47	1,03
	К♂	34,4±2,2	7,4±1,2	58,2±3,1	41,8±3,1	4,65	1,39
	О♂	37,2±2,1	19,6±4,1*	43,2±3,6*	56,8±3,6*	1,90	0,76

Введение СМЖ незрелым крысам (табл. 1). Как у самцов, так и у самок выявлен минимальный эффект введения СМЖ в антенатальном периоде; при введении СМЖ в 1-е сутки зафиксировано снижение со-

держания хромофильных клеток в раннем периоде (на 16,1-28,1%, $p \leq 0,05$); при введении СМЖ на 10-е и 30-е сутки – прирост числа хромофильных клеток (на 19,0-57,3%, $p \leq 0,05-0,001$) за счет ацидофилов (на 49,0-66,0%, $p \leq 0,05-0,01$) в отдаленном периоде наблюдения. Отличия эффектов СМЖ у самцов и самок следующие: при введении СМЖ в 1-е сутки жизни – снижение числа базофильных аденоцитов у самцов (на 44,2-52,5%, $p \leq 0,05-0,01$), но увеличение – у самок (на 30,9-95,6%, $p \leq 0,05$); отсутствие отдаленного эффекта действия СМЖ у самцов и персистенция ювенильной структуры гипофиза у самок; при введении СМЖ на 10-е сутки – снижение содержания базофилов у самцов (на 28,1-46,4%, $p \leq 0,01$) без значимой динамики данного показателя у самок.

Ультрамикроскопическое исследование выявило признаки стимуляции гонадотропоцитов и тиреотропоцитов – инвагинации ядер, множество ядерных пор и ядрышек, прилежащих к кариолемме, рибосом, расширение эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, светлый матрикс митохондрий, вакуолизация цитоплазмы. Встречаются тиреотропоциты и гонадотропоциты с крупными вакуолями, находящиеся в стадии формирования клеток тиреоидэктомии и кастрации. При введении СМЖ антенатально, выявлены признаки стимуляции соматотропоцитов, что объясняет высокие темпы роста крысят этой группы.

Введение СМЖ после наступления полового созревания (табл. 2). Однократное введение СМЖ зрелым самкам не вызывает изменений клеточного состава передней доли гипофиза, многократное введение коротким интенсивным курсом и однократное, но в период беременности, приводит к снижению процентного содержания хромофилов (на 18,6-30,0%, $p \leq 0,01$) за счет ацидофилов (на 29,9-34,3%, $p \leq 0,01-0,001$) в отдаленном периоде наблюдения. Это указывает на истощение клеточной популяции ацидофилов при значительной функциональной нагрузке – сочетании интенсивного введения СМЖ, беременности, родов и лактации. Однократное введение СМЖ при условии последующего спаривания или курсовое ее введение, но без спаривания самок, не вызывает подобных изменений, напротив, стимулирует аденогипофиз, несколько увеличивая число хромофилов (на 9,1-26,1%) за счет прироста базофильных и ацидофильных клеток (18,7-31,0%). У зрелых самцов курсовые инъекции СМЖ вызывают стимуляцию аденогипофиза, препятствуя возрастным изменениям (прирост хромофилов на 35,8%, $p \leq 0,05$). При многократном введении СМЖ самкам выявлены признаки активации соматотропоцитов и базофилов, появляются лактотропоциты, отсутствующие в контроле. При введении СМЖ в период беременности и взятии материала в период лактации, лактотропоциты многочисленны, активны. Это свидетельствует о пролактинстимулирующем действии СМЖ на гипофиз зрелых самок.

Результаты исследования уровня гормонов крови сочетаются с вышеуказанными изменениями структуры гипофиза как центрального звена эндокринной системы и характеризуют эффекты СМЖ как активной физиологической среды, богатой гормонами и регуляторными БАВ. Зафиксирован статистически значимый прирост Т4 у самцов и самок (на 216,1%, $p \leq 0,05$ и 55,2%, $p \leq 0,001$, соответственно). Динамика уровня половых гормонов следующая: снижение уровня тестостерона на 21,0% и уровня эстрадиола на 19,3%. При введении СМЖ лактирующих коров мы зафиксировали гипогонадный, пролактоподоб-

ный и гипертиреоидный эффекты: модель функционального состояния донора у реципиентов.

Выводы. Установлена онтогенетическая динамика структуры гипофиза в норме в зависимости от пола и репродуктивного статуса. В периоды физиологической нагрузки преобладают хромофильные хромофобы доминируют у самцов с возраста 90 суток, у нерожавших самок – со 180. Среди хромофилов доминируют ацидофилы. Содержание базофилов у самок зависимо от репродуктивного статуса, у самцов – от возраста.

СМЖ, при парентеральном введении крысам до наступления полового созревания, вызывает различные структурные изменения гипофиза в зависимости от сроков ее введения и пола крыс. Выявлен минимальный эффект ее антенатального введения; введение в 1-е сутки вызывает снижение содержания хромофилов в раннем периоде; на 10-е и 30-е сутки – прирост их числа за счет ацидофилов в отдаленном периоде. Отличия эффектов СМЖ у самцов и самок: при введении СМЖ в 1-е сутки – снижение числа базофилов у самцов, но увеличение – у самок; отсутствие отдаленного эффекта у самцов и персистенция ювенильной структуры гипофиза у самок; при введении СМЖ на 10-е сутки – снижение содержания базофилов у самцов без динамики их у самок. Антенатальное введение СМЖ стимулирует функцию соматотропоцитов, введении СМЖ после рождения – гонадо- и тиреотропоцитов, вплоть до начальных стадий формирования клеток тиреоидэктомии и клеток кастрации.

Эффекты СМЖ у зрелых крыс зависят от пола и кратности введения. Многократное введение СМЖ интенсивным курсом и однократное, но в период беременности вызывает истощение популяции ацидофилов. Однократное или курсовое введение СМЖ, но без последующего спаривания самок, напротив, стимулирует аденогипофиз, увеличивая число хромофилов. У самцов курсовые инъекции СМЖ вызывают стимуляцию аденогипофиза, препятствуя возрастным изменениям. При многократном введении СМЖ самкам выявлены признаки активации соматотропоцитов и базофильных популяций клеток, появляются лактотропоциты, отсутствующие в контроле. При введении СМЖ в период беременности и лактации, лактотропоциты многочисленны, активны, что указывает на пролактинстимулирующее действие СМЖ.

При исследовании уровня гормонов зафиксирован гипогонадный, пролактоподобный и гипертиреоидный эффекты СМЖ лактирующих коров: модель функционального состояния донора у реципиентов.

Перспективность: исследование уровня видоспецифических гормонов гипофиза в сыворотке крови при введении СМЖ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ликвор как гуморальная среда организма / [Пикалюк В.С., Бессалова Е.Ю., Ткач В.В. (мл) и др.]. – Симферополь, ИТ «АРИАЛ», 2010. – 192 с.
2. Бессалова Е.Ю. Морфофункціональні зміни яєчників савців при парентеральному введенні ксеногенної спинномозкової рідини: Автореф. Дис... канд. мед. Наук / Е.Ю. Бессалова. – Симферополь, 2006. – 20 с.
3. Гордиенко В.М. Ультраструктура желез эндокринной системы / В.М. Гордиенко, В.Г. Козырицкий. — К.: Здоров'я, 1978. — 287 с.

Надійшла 05.03.2012 р.

Рецензент: проф. В.І.Лузін