

**О.Я.Жураківська
В.А.Левицький**

Івано-Франківський
національний медичний
університет

УДК 591.481.2+591.3

СТАНОВЛЕННЯ НЕЙРО-ГЛІО-КАПІЛЯРНИХ СПІВВІДНОШЕНЬ ЗАДНЬОЇ ЧАСТКИ ГІПОФІЗУ НА ЕТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ПЕРІОДУ ОНТОГЕНЕЗУ

Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи “Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу” (номер держреєстрації 0109U001106).

Ключові слова: нейро-гіпофіз, гранули нейро-секрету, гемомікроциркуляторне русло, онтогенез.

Резюме. Онтогенезу гіпофізу присвячено ряд робіт, проте питання, на якій стадії онтогенезу починає функціонувати гіпоталамо-нейрогіпофізарна система, є досить дискусійним і потребує подальшого вивчення. Тому нашою метою стало дослідження закономірностей становлення нейро-гліо-капілярних співвідношень задньої частки гіпофізу на етапах постнатального онтогенезу. Матеріалом для дослідження служили шматочки нейрогіпофізу 40 білих безпородних щурів-самців у віці: новонароджені, 7, 45 та 90 днів після народження. При заборі матеріалу для електронномікроскопічного дослідження дотримано загальноприйнятих правил швидкості висікання та атравматичності. Дослідження ультраструктури нейрогіпофізу білих безпородних щурів показало, що за перший тиждень їх життя відбувається збільшення кількості аксо-васальних синапсів та нейросекреторних гранул, серед яких спостерігається зональність розміщення їх різних типів, що свідчить про завершення становлення нейросекреторних структур. Субмікроскопічна будова синусоїдних капілярів у даний термін вказує на їх високу функціональну активність, зокрема, на підвищений трансендотеліальний транспорт. Таким чином, проведене нами дослідження дозволяє зробити висновок, що вже упродовж першого тижня життя у структурі нейрогіпофізу щурів відбуваються суттєві якісні і кількісні зміни, які свідчать про завершення становлення його нейросекреторних утворень і на пізніших етапах постнатального розвитку вони тільки вдосконалюються.

Морфологія. – 2009. – Т. III, № 3. – С. 50-54.

© О.Я.Жураківська, В.А.Левицький, 2009

Надійшла: 25.08.2009

Прийнята: 27.09.2009

Zhurahivska O.Ja., Levitskij V.A. Formation of neuro-glio-capillary relation in neurohypophysis on different stages of postnatal period of ontogenesis.

Summary. Although the row of works is devoted to ontogenesis of hypophysis, a question on what stage of ontogenesis hypothalamic-neurohypophysal system starts its functions is rather controversial and needs subsequent study. Therefore, our purpose was to research the patterns of becoming neuro-glio-capillary correlations of the posterior lobe of hypophysis on the stages of postnatal ontogenesis. The material for research were the pieces of neurohypophysis of 40 white purebred rats of males in age: new-born, 7, 45 and 90 days after birth. At the fence of material for electron microscopic research the generally accepted rules of speed of carving are observed and not traumatic. The research of ultrastructure of neurohypophysis of white rats showed that on the first week of their life the amount of axon-vessel synapses and neurosecretory granules had increased, among which a zonality of situation of different types of them is observed, that testifies to completion of neurosecretory structures formation. Submicroscopic structure of sinus capillaries in this term specifies on their high functional activity, in particular, about an enhanceable transendothelial transport. Thus, our research allows to draw a conclusion, that already during the first week of life in the structure of neurohypophysis of rats substantial high-quality and quantitative changes take place, which testify to completion of becoming of its neurosecretory structures and on later stages of postnatal development they are only perfected.

Key words: neurohypophysis, neurosecretory granules, microcirculation, ontogenesis.

Вступ

Гіпоталамо-гіпофізарна система є вищим вегетативним центром, який має велике значення в підтримці оптимального рівня обміну речовин і енергії, регуляції температурного балансу, забезпеченні функції ендокринної, серцево-судинної,

дихальної, травної, сечової систем, а також у регуляції артеріального тиску, сну, забезпеченні стану бадьорості, апетиту. Онтогенезу гіпофізу присвячено ряд робіт (Gasse H., Meyer W., 1995; Makarenko I.G. et al. 2005; Vankelecom H., 2007), проте питання на якій стадії онтогенезу починає

функціонувати гіпоталамо-нейрогіпофізарна система є досить дискусійним і потребує подальшого вивчення. Тому, нашою метою стало дослідження закономірностей становлення нейро-гліо-капілярних співвідношень задньої частки гіпофізу на етапах постнатального онтогенезу.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження служили шматочки нейрогіпофізу 40 білих безпородних щурів самців у віці: новонароджені, 7, 45 та 90 днів після народження. При заборі матеріалу для електронномікроскопічного дослідження дотримано загальноприйнятих правил швидкості висікання та атравматичності. Шматочки нейрогіпофізу $1 \times 1 \times 1$ мм 2 години фіксували в 2% розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері з pH 7,4. В подальшому матеріал відмивали у 0,1 М фосфатному буфері з pH 7,4, з наступною дегідратацією в етиловому спирті зростаючих концентрацій. Шматочки досліджуваної тканини послідовно просочували у сумішах епоксидних смол з абсолютним ацетоном у різних співвідношеннях (по 1 годині в кожній), після чого заливали чистою епоксидною смолою і полімеризували при температурі $+56^{\circ}\text{C}$ протягом доби. Отримані на ультрамікромі Tesla BS-490 А, зрізи монтували на мідні бленди, діаметром 1 мм, і контрастували 2% розчином ураніл-ацетату на 70° спирті і сумішшю Рейнольдса. Вивчення матеріалу проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 6000 до 30000 разів. Напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, фарбували 1% розчином метиленової синьки і вивчали під бінокулярним мікроскопом МБР-3.

Результати та їх обговорення

На ультраструктурному рівні нейрогіпофіз статевозрілих 90-денних щурів представлений безмієліновими нервовими волокнами, пітуїцитами та їх відростками, а також фібробластами, які розміщуються за ходом гемокапілярів.

Безмієлінові нервові волокна – це терміналі аксонів нейросекреторних клітин гіпоталамусу. Їх світла аксоплазма містить нейрофібрили, округлої і овальної форми мітохондрії з чітко вираженими поперечно орієнтованими кристами, нейросекреторні гранули (НГ), невелику кількість синаптичних пухирців та вільних рибосом. Нейросекреторні гранули мають матрикс різної електроннооптичної щільності від помірно до високої, чітко виражену мембрану та підмембранний світлий обідок (рис.1). Серед них можна виділити 4 типи: 1-й тип (молоді) – мають матрикс високої електронно-оптичної щільності, мембрану з відсутнім підмембранним світлим обідком; 2-й тип (зрілі) – характеризуються матриксом помірно електронно-оптичної щільності та вузьким підмембранним обідком, 3-й тип (дифундуючі) – мають невелику серцевину помірно

електронно-оптичної щільності та широкий підмембранний обідок, 4-й (залишкові) – у більшості випадків утворені тільки однією мембраною і ще називаються «empty vesicles» - пусті гранули (Владимиров С.В., Алтухова В.И., 1983). Такі різновиди НГ вказують на послідовні стадії синтезу та виведення гормональних речовин із клітин. В сусідніх аксонах кількість НГ і синаптичних пухирців є різною. Існують аксони, в яких НГ відсутні, а наявні тільки синаптичні пухирці, і навпаки. На нашу думку, це пов'язано з різними рівнями проведеного зрізу.

Серед пітуїцитів можна виділити три типи та перехідні форми між ними. Пітуїцити першого типу – це крупні клітини, в центрі яких знаходиться світле ядро (рис.1), оточене цитоплазмою, яка займає 2/3 клітини. Комплекс Гольджі та гранулярна ендоплазматична сітка розвинені слабо, мітохондрії є поодинокими. Пітуїцити другого типу – менші від попередніх клітин, мають багаточисленні відростки. Їх ядро помірно електроннооптичної щільності, оточене невеликим шаром цитоплазми, в якій виявляється добре розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, на поверхні цистерн якої розташовуються рибосоми. Характерною особливістю таких клітин є наявність в їх цитоплазмі 2-4 ліпідних капель різної форми і величини. Пітуїцити третього типу є ідентичними клітинам мікроглії. Їх цитоплазма має високу електронно-оптичну щільність, темні ядра та малочислені клітинні органели. Треба відмітити, що пітуїцити своїми тілами і відростками оточують терміналі нейросекреторних клітин.

Кровопостачання нейрогіпофізу здійснюється капілярами вісцерального типу (рис. 1). Їх просвіт обмежується ендотеліоцитами, цитоплазма яких місцями витончується і люменальна та базальна частини плазмолемми зливаються між собою. В цих місцях розташовуються фенестри. Між сусідніми фенестрами розміщуються ділянки цитоплазми з окремими органелами і мікропіноцитозними пухирцями. Під ендотелієм знаходиться помірно електронно-оптичної щільності базальна мембрана, ззовні від якої розміщуються перичити. Характерною особливістю капілярів нейрогіпофізу є наявність навколо них перикапілярних просторів, в яких розташовуються контакти аксонів нейросекреторних клітин і капілярів – аксовазальні синапси. Останні побудовані з пресинаптичної мембрани, утвореної аксолемою на внутрішній поверхні якої розміщуються синаптичні пухирці, НГ в різних співвідношеннях, та базальною мембраною капіляра.

У новонароджених щурят основна маса нейрогіпофізу представлена пітуїцитами, серед яких переважають клітини першого типу, які своїми відростками безпосередньо контактують з синусоїдними капілярами та огортають терміналі нейросекреторних клітин.

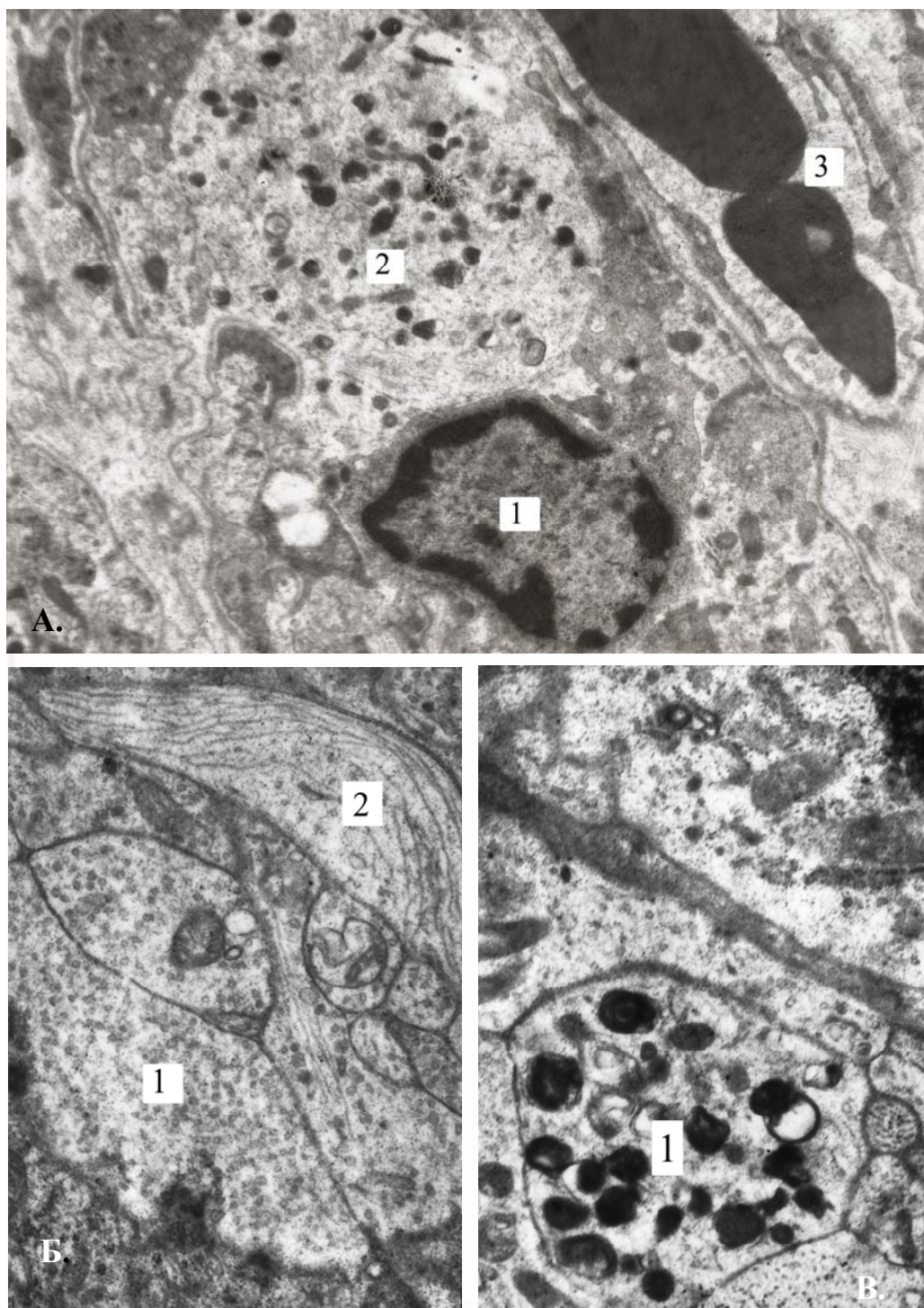


Рис. 1. Субмікроскопічна організація задньої частки гіпофізу щурів-самців. А. (статевозрілих), $\times 6400$. 1 – ядро пітуїцита; 2 – термінальний відділ аксона з нейросекреторними гранулами; 3 – еритроцити в просвіті синусоїдного капіляра. Б. (1-денних), $\times 16000$. 1 – світлі пухирці типу синаптичних в терміналях аксонів нейросекреторних клітин; 2 – нейрофібрили в терміналях аксонів нейросекреторних клітин. В. (7-денних), $\times 16000$. 1 – термінальний відділ аксона з нейросекреторними гранулами.

Аксовазальні синапси зустрічаються рідко в порівнянні з статевозрілими щурами. В терміналях аксонів нейросекреторних клітин виявляються чисельні світлі пухирці типу синаптичних (рис. 2), які рівномірно розташовуються по всій аксоплазмі, темні дрібні мітохондрії з

чітко диференційованими поперечно орієнтованими кристами і нейропротофібрили, що стверджується і іншими авторами (Приймак Э.Х., 1974; Kozdera A., 1994; Ordian N.E. et al. 2000). Тоді як С.В.Владимиров і В.И.Алтухова (1983) виявляли нейросекреторні гранули в терміналях

аксонів нейрогіпофізу уже у 26-тижневих людських ембріонів. В ендотеліюцитах капілярів спостерігається добре розвинений комплекс Гольджі, гранулярна ендоплазматична сітка та мітохондрії мають невеликі розміри і електроннощільний матрикс. Периферійна частина їх цитоплазми потовщена, з поодинокими фенестрами, містить велику кількість мікропіноцитозних пухирців. Базальна мембрана слабо диференціюється. Подекуди наявний перикапілярний простір.

У 7-денних тварин у нейрогіпофізі значно збільшується кількість та площа аксо-васальних синапсів. У терміналях аксонів нейросекреторних клітин зустрічаються нейросекреторні гранули всіх чотирьох типів (рис. 3), крім того відмічається певна їх зональна локалізація. Так, біля аксолеми розташовуються пухирці типу синаптичних, за ними третього, а в центрі аксона переважають НГ другого та першого типів. На відміну від статевозрілих щурів за чисельністю переважають НГ першого і другого типів, що свідчить про перевагу процесів синтезу гормональних речовин над їх виведенням. Серед клітин глії на даному етапі збільшується кількість пітуїцитів другого типу, зменшується площа контакту пітуїцитів першого типу з синусоїдними капілярами.

Перикапілярний простір розширюється, чим забезпечується кращий контакт між нейросекреторними терміналами та капілярами. В ендотеліюцитах останніх відмічається стоншення їх периферійної зони, збільшується кількість фенестр. Чітко диференціюється трьохшарова базальна мембрана, значно розширюється просвіт капілярів.

У 45-денних щурів ультраструктура нейрогіпофізу набуває рис, характерних для статевозрілих тварин.

Висновок

Таким чином, проведене нами дослідження дозволяє зробити висновок, що уже у продовж першого тижня життя у структурі нейрогіпофізу щурів відбуваються суттєві якісні і кількісні зміни, які свідчать про завершення становлення його нейросекреторних утворень і на пізніших етапах постнатального розвитку вони тільки вдосконалюються.

Перспективи подальших розробок пов'язані з дослідженням закономірностей становлення нейро-гліо-капілярних співвідношень різних відділів проміжного мозку на етапах постнатального онтогенезу.

Літературні джерела

Владимиров С. В. Созревание гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы человека в пренатальном онтогенезе. Светооптическое и электронномикроскопическое исследование / С. В. Владимиров, В. И. Алтухова // Онтогенез. – 1983. – Т. 14, № 5. – С. 510-517.

Приймак Э. Х. Ультраструктура гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы в раннем постнатальном онтогенезе / Э. Х. Приймак // Гормональные факторы индивидуального развития. – М.: Наука, 1974. – С. 72-84.

Gasse H. Immunohistochemical demonstration of adenohypophyseal hormones during postnatal ontogenesis in the gray short-tailed opossum, *monodelphis domestica* (marsupialia) / H. Gasse, W. Meyer // Eur. J. Morphol. – 1995. – № 4. – P. 373-380.

Kozdera A. Postnatal development of hormonal

relations in the hypothalamo-hypophyseal axis in bulls / A. Kozdera // Vet. med. (Praha). – 1994. – № 4. – P. 205-210.

Makarenko I. G. Axonal projections from the hypothalamus to the pituitary intermediate lobe in rats during ontogenesis / I. G. Makarenko, M. V. Ugrumov, A. Calas // Brain Res. Dev. – 2005. – Vol. 155, № 2. – P. 117-126.

Ordian N. E. Changes in the hormonal function of the hypophysis-adrenal system by administration of cortisol in 'fixed' phases of the postnatal ontogenesis in rats / N. E. Ordian, S. G. Pivina, V. V. Rakitskaia et al. // Ross. fiziol. zh. im I.M. Sechenova. – 2000. – № 12. – P. 1638-1643.

Vankelecom H. Stem cells in the postnatal pituitary? / H. Vankelecom // Neuroendocrinology. – 2007. – Vol. 85, № 2. – P. 110-130.

Жураковская О.Я., Левицкий В.А. Становление нейро-глюо-капиллярных соотношений задней доли гипофиза на этапах постнатального периода онтогенеза.

Резюме. Онтогенезу гипофиза посвящен ряд работ, однако вопрос, на какой стадии онтогенеза начинает функционировать гипоталамо-нейрогипофизарная система, остается достаточно дискуссионным и нуждается в последующем изучении. Поэтому нашей целью стало исследование закономерностей становления нейро-глюо-капиллярных соотношений задней доли гипофиза на этапах постнатального онтогенеза. Материалом для исследования служили кусочки нейрогипофиза 40 белых беспородных крыс-самцов в возрасте: новорожденные, 7, 45 и 90 дней после рождения. При заборе материала для электронномикроскопического исследования соблюдены общепринятые правила скорости высекания и атравма-

тичности. Исследование ультраструктуры нейрогипофиза белых беспородных крыс показало, что в первую неделю их жизни происходит увеличение количества аксо-вазальных синапсов и нейросекреторных гранул, среди которых наблюдается зональность размещения их разных типов, что свидетельствует о завершении становления нейросекреторных структур. Субмикроскопическое строение синусоидных капилляров в данный срок указывает на их высокую функциональную активность, в частности, на повышенный трансэндотелиальный транспорт. Таким образом, проведенное нами исследование позволяет сделать вывод, что уже на протяжении первой недели жизни в структуре нейрогипофиза крыс происходят существенные качественные и количественные изменения, которые свидетельствуют о завершении становления его нейросекреторных образований и на более поздних этапах постнатального развития они только совершенствуются.

Ключевые слова: нейрогипофиз, гранулы нейросекрета, гемомикроциркуляторное русло, онтогенез.