

ЭФФЕКТЫ КСЕНОГЕННОЙ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ НА СТРУКТУРУ ГИПОФИЗОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЕЕ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА

Бессалова Е.Ю.

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

Введение. Ликворологическое направление школы крымских морфологов показало, что спинномозговая жидкость (СМЖ) как гуморальная среда не только определяет важные нейрофункциональные параметры, но и характеризуется широким спектром биологических эффектов применительно к другим системам организма [1].

Гипофиз является центральным органом единой нейро-иммуно-эндокринной регуляторной системы организма. Являясь производным эпителиального и нейрального зачатков, гипофиз служит прямой точкой приложения ликворной и гемолимфатической гуморальной систем. Ксеногенная СМЖ при парентеральном введении может проявить себя с позиций, представляющих практический интерес. Внутриутробный период и первые недели жизни крыс являются «критическими» периодами онтогенеза и характеризуются высокой пластичностью регуляторных систем и проницаемостью гематотканевых барьеров, в частности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [2]. Ранее было установлено, что однократное введение СМЖ ювенильным крысам приводит к структурным изменениям нейроэндокринных органов, задержке сроков полового созревания и темпов прироста массы тела, изменению половой циклики, стойкому снижению плодовитости самок [2, 3].

Цель настоящей работы выявить макро-микро-анатомические характеристики гипофиза как ведущего интегративного звена нейроэндокринной системы в условиях экспериментального введения СМЖ на ранних этапах онтогенеза, что ранее не разрабатывалось.

Материал и методы исследования. СМЖ получали у лактирующих коров прижизненно методом субкципитальной пункции и сохраняли в жидком азоте. СМЖ вводили внутривенно в дозе 2 мл/кг массы тела самцам и самкам белых крыс: а) в антенатальном периоде, на 3-й неделе развития; б) в период новорожденности, в 1-е сутки; в) в период молочного вскармливания, 10-е сутки; г) в период самостоятельного питания и начала полового созревания, 30-е сутки. Крыс выводили из эксперимента поэтапно в возрасте 30 суток (крыс, которым СМЖ вводили в 30 суток, забивали в возрасте 60 и 90 суток) и 180 суток, чтобы выявить первичный и отдаленный эффекты введения СМЖ и установить динамику структурных изменений гипофизов. В качестве контроля для крыс первых трех экспериментальных серий, использовали одну

группу крыс, которым вводили раствор NaCl в перинатальном периоде трехкратно: внутриутробно, в первые сутки жизни и на 10-е сутки. В качестве контроля для двух - и трех - месячных крыс использовали группу крыс, которым вводили раствор NaCl в 30 суток. Уменьшение численности особей контрольной группы целесообразно с точки зрения биоэтики, позволило провести эксперимент с максимальным соблюдением стандартов условий содержания. В опыте задействовано 156 крыс (по 78 особей каждого пола, по 24 контрольных и 54 подопытных самцов и самок). При выведении из эксперимента, на каждом этапе во всех группах было по 6 крыс.

Крыс забивали методом декапитации после наркотизации эфиром. Извлекали гипофиз, готовили максимальные поперечные парафиновые срезы органа. Морфометрические исследования выполнены с помощью системы компьютерного анализа микроскопических изображений (световой микроскоп OLIMPUS CX-31 и цифровая камера OLIMPUS C5050Z). Проводили гистометрические исследования линейных и плоскостных параметров микрофотографий гипофизов, сделанных при увеличении в 40 раз. Использовали статистические методы исследования. Достоверность отличий определяли на основании t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их анализ. При *внутриутробном* введении СМЖ самкам белых крыс происходит значительная стойкая задержка темпов роста гипофиза, статистически значимая в возрасте шести месяцев, при этом не происходит изменения соотношения передней и задней долей, но выявлено значительное увеличение площади промежуточной доли, фиксируемое в возрасте 30 и 180 суток жизни (табл. 1). При введении СМЖ самкам белых крыс *после рождения*, напротив, в подопытных группах площадь максимальных срезов гипофизов больше, значительный прирост тканей зафиксирован также в шестимесячном возрасте. При введении СМЖ на 30-е сутки жизни площадь максимального среза достоверно больше в возрасте 60-ти суток, в последующем изменения недостоверны. При введении СМЖ *постнатально* происходит различное изменение соотношения долей гипофизов крыс. У однодневных крысят СМЖ вызывает относительное увеличение площади аденогипофиза, уменьшение площади нейрогипофиза к 30-м суткам жизни и увеличение площади промежуточной доли к возрасту 180 суток. У десятидневных крысят СМЖ вызы-

вает относительное увеличение площади нейрогипофиза при уменьшении площади аденогипофиза в 30 суток, площадь промежуточной доли в этой группе не отличается от контроля. Введе-

ние СМЖ в возрасте 30 суток уже не затрагивает соотношения передней и задней долей, вызывает лишь увеличение относительной площади промежуточной доли (табл. 1).

Таблица 1. Динамика морфометрических показателей максимального среза гипофизов самок крыс при парентеральном введении СМЖ

Группа крыс, сроки введения СМЖ	Возраст, сут	Гистометрические показатели			
		Общая площадь, мкм ²	Относительная площадь долей, %		
			аденогипофиза	нейрогипофиза	промежуточной доли
Контроль	30	1085737±27627	66,4±0,7	29,1±0,7	4,5±0,5
	60	1666089±52661	76,8±2,4	19,8±2,7	3,4±0,3
	90	2903494±126931	82,9±1,7	15,6±1,3	1,5±0,5
	180	3054598±45867	87,3±1,1	11,4±1,1	1,3±0,1
Опыт, внутриутробно	30	1047885±60396	65,4±1,9	26,8±1,7	7,8±0,4**
	180	2130062±226390*	84,4±1,2	13,1±1,2	2,5±0,2**
Опыт, 1 сут	30	1129859±18519	70,7±1,5*	26,3±0,8*	3,1±1,0
	180	3624526±148458*	86,8±0,5	9,5±0,3	3,7±0,5**
Опыт, 10 сут	30	1188669±27570*	61,9±1,6*	34,6±1,4*	3,4±0,4
	180	4161034±178154**	85,6±3,2	12,8±3,2	1,6±0,1
Опыт, 30 сут	60	2748492±161297**	82,6±1,4	15,1±1,2	2,4±0,5
	90	2848747±73956	81,7±0,7	14,6±0,4	3,7±0,4*
	180	3281635±151201	76,9±5,1	17,2±4,5	5,9±0,7**

Примечание к таблицам 1 и 2: отличия между контрольной и подопытной группами достоверны при * - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001.

Таким образом, при введении СМЖ ювенильным самкам, на органном уровне исследования выявляются преимущественно стойкие, отдаленные эффекты СМЖ, что указывает на сложный путь ее воздействия, затрагивающий многие регуляторные механизмы развивающегося мозга, обладающего высокой пластичностью и рецептивностью в перинатальный период онтогенеза. При введении СМЖ крысам, достигшим возраста одного месяца, напротив, выявлен обратимый ранний эффект прироста тканей гипофиза. Инъекция ликвора в возрасте 10 суток вызывает прирост площади максимального среза гипофиза уже на 30-е сутки, в отличие от инъекции в первые сутки жизни, что может быть связано с возрастными особенностями проницаемости ГЭБ и с временным фактором воздействия СМЖ. Динамика соотношения долей гипофиза самок, вызванная введением ксеногеноликовора, по-видимому, связана с процессами перинатального органогенеза мозга, а также репродуктивной системы и ее регуляторных центров, что согласуется с результатами предыдущих исследований [2, 3].

При исследовании гипофиза *самцов* установлены изменения, общий характер и направленность которых в целом аналогичны результатам опытов с самками, однако имеют свои особенности. При *внутриутробном* введении СМЖ самцам, уже на 30-е сутки жизни размеры гипофиза и относительная площадь промежуточной доли уменьшены по сравнению с контролем, на 180-е сутки отличия площади максимального среза незначительны, но резко увеличена относительная площадь промежуточной доли, что вызывает относительное уменьшение площади аденогипофиза, без динамики ее абсолютной

площади. Ликвор, введенный *после рождения*, оказывает ростостимулирующее действие на гипофиз самцов, увеличивая площадь его максимального среза. При введении СМЖ в 1-е и 10 сутки жизни отличия достоверны в 30 и 180 суток, то есть, выявлены и ранние и отдаленные эффекты. При введении СМЖ самцам на 30-е сутки жизни выявлен лишь ранний эффект, как и в опытах с самками. Введение СМЖ неполовозрелым самцам крыс также увеличивает относительную площадь промежуточной доли, не зависимо от сроков проведения инъекций (табл. 2).

Выводы. СМЖ, при парентеральном введении вызывает различные структурные изменения гипофизов белых крыс в зависимости от сроков ее введения и пола животных. СМЖ при *внутриутробном* введении оказывает ингибирующее действие на гипофиз, а при *постнатальном* введении вызывает, напротив, ростостимулирующий эффект. Обратимые эффекты СМЖ на гипофиз выявлены при введении ее самцам и самкам в возрасте 30 суток и при *внутриутробном* введении самкам крыс. Стойкие эффекты характерны для инъекций, сделанных в перинатальном периоде самкам и в *постнатальном* периоде самцам. Действие СМЖ на гипофиз не имеет выраженных половых особенностей и односторонне у самцов и самок белых крыс. Изменения плоскостного соотношения долей гипофизов крыс касаются преимущественно промежуточной доли. Отдаленный эффект действия СМЖ вне зависимости от пола животных и сроков ее введения – это статистически значимая стимуляция роста промежуточной доли. У самцов первичные и отдаленные эффекты СМЖ проявляются увеличением ее относительной площади, за исключением обратимого уменьше-

ния ее при внутриутробном введении СМЖ. У самок первичное действие СМЖ вызывает дифференцированный прирост тканей гипофиза в зависимости от сроков проведения инъекций:

при внутриутробном введении – увеличение промежуточной доли, при введении в 1 сутки жизни – увеличение аденогипофиза, при введении на 10 сутки – нейрогипофиза.

Таблица 2. Динамика морфометрических показатели максимального среза гипофизов самцов крыс при парентеральном введении СМЖ

Группа крыс, сроки введения СМЖ	Возраст, сут	Гистометрические показатели			
		Общая площадь, мкм ²	Относительная площадь долей, %		
			аденогипофиза	нейрогипофиза	промежуточной доли
Контроль	30	737823±30602	69,7±1,6	26,2±1,3	4,1±0,4
	60	896564±15362	75,7±1,2	22,6±1,2	1,8±0,1
	90	1391025±128723	75,2±3,6	22,3±3,2	2,5±0,5
	180	2470523±135456	73,6±1,7	24,2±1,6	2,2±0,2
Опыт, внутриутробно	30	603653±29848*	62,9±4,0	34,8±4,0	2,3±0,5*
	180	2571057±172427	65,7±1,7*	27,0±1,4	7,3±0,4***
Опыт, 1 сут	30	965465±24669**	65,5±1,7	28,6±1,4	5,9±0,5*
	180	3660929±364313*	70,1±5,4	23,9±5,4	6,0±0,9**
Опыт, 10 сут	30	875990±8315**	66,0±0,9	27,9±0,7	6,1±0,3*
	180	3620813±333867*	71,8±2,7	22,6±2,6	5,6±0,7**
Опыт, 30 сут	60	1088116±39961**	77,7±1,4	19,4±1,2	2,9±0,4*
	90	1757590±61845	74,4±0,5	20,6±0,5	5,0±0,2**
	180	2910033±168001	72,0±2,5	23,8±2,3	4,2±0,7*

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. Морфофункциональні зміни яєчників ссавців при парентеральному введенні ксеногенної спинномозкової рідини. Автореф. дис... канд. мед. наук / Е.Ю. Бессалова.- Симферополь, 2006.- 20 с.
3. Бессалова Е.Ю. Морфологічні зміни органів нейроендокринної системи самок ссавців при парентеральному введенні ксеногенної спинномозкової рідини / Е.Ю. Бессалова // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «медицина». – 2008. – Вип. 33. – С. 10-13.

Бессалова Е.Ю. Эффекты ксеногенной спинномозговой жидкости на структуру гипофизов белых крыс при ее парентеральном введении на ранних этапах онтогенеза // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 5. – С. 14-16.

Ксеногенная СМЖ, при парентеральном введении крысам, вызывает различные структурные изменения гипофизов: при внутриутробном введении оказывает ингибирующее действие на гипофиз, а при постнатальном введении вызывает, напротив, ростостимулирующий эффект. Инъекции СМЖ вызывают дифференцированный прирост тканей различных долей гипофиза в зависимости от сроков проведения инъекций и пола крыс. Данный эффект связан с наличием в СМЖ большого количества биологически активных веществ и высокой пластичностью структур мозга в ранние периоды онтогенеза.

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

Бессалова Е.Ю. Ефекти ксеногенної спинномозкової рідини на структуру гіпофізів білих шурів при її парентеральному введенні на ранніх етапах онтогенезу // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 5. – С. 14-16.

Ксеногенна СМР, при парентеральному введенні шурам, викликає різні структурні зміни гіпофізів: при антенатальному введенні пригнічує зростання гіпофізу, а при постнатальному введенні викликає протилежний ефект. Ін'єкції СМР викликають диференційований приріст тканин часток гіпофіза залежно від термінів проведення ін'єкцій і статі піддослідних шурів. Даний ефект пов'язаний з великою кількістю біологічно активних речовин в складі СМР і високою пластичністю мозку ювенільних тварин.

Ключові слова: спинномозкова рідина, гіпофіз, морфологія, шури.

Bessalova Ye.Yu. White rats' hypophysis' structure after injection of xenogenic cerebrospinal fluid on the early stages of development // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 5. – С. 14-16.

The article is devoted to studying of the structural changes of rats' hypophyses after parenteral injection of xenogenic cerebrospinal fluid: in antenatal period CSF preparation caused inhibiting effects on growth, and in the newborn period caused opposite effect. The injections of CSF caused the increase of different hypophysis' part's growth that is depended on the terms and sex of experimental rats. It is associated with the presence of biological active substances in CSF and high brain plasticity in early periods of ontogenesis.

Keywords: cerebrospinal fluid, hypophysis, morphology, white rats.

Надійшла 28.06.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін