УДК 611.814.3:599.323.4:001.8
© Пикалюк В.С., Бессалова Е.Ю., 2011

ВОЗМОЖНОСТИ МАКРО-МИКРО-АНАТОМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ГИПОФИЗОВ БЕЛЫХ КРЫС

Пикалюк В.С., Бессалова Е.Ю.

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

Пикалюк В.С., Бессалова Е.Ю. Возможности макро-микро-анатомических методов в исследовании гипофизов белых крыс // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 200-202.

Проведен анализ возможностей использования различных морфологических методик для исследования гипофизов крыс на органном и тканевом уровнях организации с учетом их информативности. Показано, что макро-микро-анатомические методы незаменимы в исследовании структуры гипофиза, наряду с другими методами световой и электронной микроскопии.

Ключевые слова: гипофиз, анатомия, методы, белые крысы.

Пикалюк В.С., Бессалова Є.Ю. Можливості макро-мікро-анатомічніх методівв дослідженні гіпофізів білих щурів // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 200-202.

Проведений аналіз можливостей використання різних морфологічних методик для дослідження гіпофізів білих щурів на органному і тканинному рівнях організації з врахуванням їх інформативності. Макро-мікро-анатомічні методи незамінні в дослідженні структури гіпофіза, поряд з іншими методиками світлової та електронної мікроскопії.

Ключові слова: гіпофіз, анатомія, методи, білі щури.

Pikalyuk V.S. Bessalova Ye.Yu. Macro-micro-anatomic methodspossibilities ofwhiterats' hypophysis research // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 200-202.

The analysis of different morphological methods for rats' hypophysis researchon the organ and tissue levels are described in the article. It is set that macro-micro-anatomic methods are irreplaceable in research of hypophysisstructure, as otherhistochemical and electronic microscopy methods.

Key words: hypophysis, anatomy, methods, white rats.

Введение. Гипофиз, как производное двух зачатков – эпителиального и нейрального, является связующим звеном нервной и гуморальной регуляции, а также центральным органом нейро-иммуно-эндокринной регуляторной системы организма[1]. Исследование гипофиза лабораторных грызунов представляет большой интерес для медико-биологических наук. Крысы – универсальные лабораторные животные, показатели нормы у которых широко изучены и стандартизированы; это одна из самых многочисленных и процветающих групп плацентарных млекопитающих, отличаются высоким темпом репродукции, частой сменой генераций, что удобно для изучения возрастной динамики морфологических показателей и физиологических процессов. Крысы – полиэстричные млекопитающие, с эстральным циклом длительностью 4-5 дней, состоящим из четко дифференцированных стадий, в связи с чем, крысы являются основным объектом, используемым для стандартизации гормонов и экспериментов по изучению эндокринных желез[2, 3], что обусловливает актуальность данной работы.

В настоящее время широко используются преимущественно иммуногистохимические и электронно-микроскопические методы исследования гипофиза. Однако, на наш взгляд, исследование структуры гипофиза на органном и гистотопографическом уровнях с использованием классических и новых методик, наряду с методами, изучающими тонкую структуру органа, также высоко информативно и целесообразно.

Цель: на основании собственных исследований проанализировать информативность различных морфологических методик для изучения структуры гипофизов крыс на органном и тканевом уровнях организации.

Научные результаты и их анализ. У половозрелых крыс идентификация гипофиза не сложна, при работе с крысятами целесообразно следовать рекомендациям, разработанным для выделения эндокринных органов у мелких грызунов [4].Для открытия доступа к гипофизу вскрывают черепную коробку, отделяя крышу мозга от его основания, лопаточкой выделяют головной мозг. При этом обрываются черепно-мозговые нервы и воронка гипофиза, связывающая его с гипоталамической областью, гипофиз остается в полости турецкого седла, поскольку закреплен отростком твердой мозговой оболочки. После пересечения листков durae matris encephali по бокам гипофизарной ямки, гипофиз осторожно извлекают лопаточкой с тупыми краями, избегая отделения аденогипофиза от нейрогипофиза.

При исследовании структуры гипофизов подопытных животных даже на органном уровне часто выявляется выраженный эффект экспериментального воздействия[3, 5]. Поэтому целесообразно последовательное использование полного спектра морфологических методов для изучения гипофиза на всех уровнях организации.

Помимо описания гипофиза белых крыс визуально и при помощи лупы информативны следующие органометрические методы исследования: измерение абсолютной массы на торсионных весах (мг);вычисление относительной массы по формуле: $Мотн = Мабс/Мжив \times 100\%$, где $М_{отн}$ – относительная масса (%),$М_{абс}$ – абсолютная масса (г),$М_{жив}$ – масса животного (г);вычисление индекса воздействия экспериментальных условий I (при значении I>1 – индекс стимуляции, при значении I<1 – угнетения) по формуле: $I = Мо / Мк$,где Мо – средняя величина массы гипофиза в опыте (мг),Мк –в контроле (мг); определение длины, ширины и высоты гипофиза при помощи штангенциркуля (мм);вычисление объема методом исследования объема вытесненной жидкости или по формуле расчёта объема эллипсовидных органов [6]: $V = \pi ABC/6$, где V – объем ($мм^3$),A – длина (мм),B – ширина (мм), C – высота (мм);вычисление удельного веса по формуле: $Руд = Мабс/V$,где $Р_{уд}$ – удельный вес ($мг/мм^3$),),$М_{абс}$ – абсолютная масса (мг), V – объем ($мм^3$). Удобно пользоваться терминами, соответствующими анатомическому положению гипофиза в полости черепа: гипофиз расположен максимальным (поперечным) размером фронтально, соответствующим длине гипофиза как физического тела; средний (передне-задний) размер его (ширина) рас-

положен сагиттально, меньший (высота) - вертикально.

При органометрическом исследовании гипофизов белых крыс различного возраста и пола нами выявлен ряд особенностей. У молодых животных с массой тела менее 160-200 грамм органометрические исследования гипофиза сопровождаются большой погрешности вычислений, поэтому исследование нативных органов целесообразно лишь у половозрелых крыс. Гипофиз самок преобладает по массе и размерам, по сравнению с гипофизом самцов. Размерно-весовые показатели гипофиза самок связаны с репродуктивным статусом: масса, размеры и объем гипофизов самок, имевших приплод, не зависимо от сроков отъема крысят, превосходят показатели нерожавших самок. Наибольший поперечный размер гипофиза является стабильным показателем, а наименьший, вертикальный размер, напротив, - лабильным, именно этот параметр, как правило, обусловливает отличия объема органа у крыс различных групп в зависимости от пола, репродуктивного статуса и экспериментальных воздействий. Гипофизарно-мозговой индекс является более чувствительным, чем относительная масса гипофиза. Динамика удельного веса гипофиза крыс, как правило, минимальна.

Многочисленные методы световой микроскопии при исследовании гипофиза также дают существенную информацию о структуре железы. После заливки гипофизов в парафин по стандартной методике и изготовления максимальных парафиновых срезов органа используют обзорные методы окраски и гистометрические методы. На микрофотографиях максимальных парафиновых срезов, сделанных с помощью системы компьютерного анализа микроскопических изображений с увеличением в 40 раз, удобно проводить биометрические исследования на тканевом уровне. План-схема биометрического исследования гипофиза с учетом его специфических особенностей может быть следующей: определение длины (мкм), ширины (мкм), площади максимального среза гипофиза (мкм^2), средней толщины промежуточной доли (мкм), а также абсолютных и относительных площадей его долей (%).

Намаксимальных поперечных парафиновых срезах гипофизов, аденогипофиз значительно преобладает над нейрогипофизом, покрывая его с трех сторон. Промежуточная доля гипофиза крыс развита, она плотно прилежит к нейрогипофизу, повторяя его контуры, ее толщина на поперечном срезе неоднородна, она увеличивается на периферии органа и истончается к центральной его части. Наши исследования показали, что при исследовании нативных гипофизов отличия размеров гипофиза крыс могут быть выражены, в первую очередь, за счет высоты и объема. То есть, исследование нативного органа имеет большое преимущество по сравнению с плоскостным исследованием в связи с возможностью адекватного объемного анализа, что делает актуальными цифровые методы объемной реконструкции. Важно учесть, однако, что гистологическая проводка, приводящая к обезвоживанию, изменяет линейные параметры. Среди планиметрических методик максимально информативно исследование динамики соотношения площади долей гипофиза, отражающейего анатомическую перестройку.

В экспериментальной морфологии общая динамика структурных изменений гипофизов адекватно отражается на обзорных гистологических срезах, выявляя общие патологические процессы, направленность биохимических сдвигов и специфические изменения тканей и клеток органа, четко указывая направление дальнейших исследований на клеточном и субклеточном уровнях организации, что существенно повышает научную ценность результатов.

Среди обзорных гистологических методик с использованием нескольких красителей при окраске аденогипофиза, особое внимание традиционно уделяют методам окраски, химизм которых связан с дифференцированным окрашиванием различных структур в зависимости от их кислотно-основных свойств. Для исследования гистологии клеток гипофиза, удобно использовать в сравнении окраску гематоксилином и эозином классическим способом и по А.И. Брусиловскому (АВНхЕ)[7, 8]. Метод А.И. Брусиловского подразумевает использование гематоксилина и эозина в обратной последовательности. В классической методике гематоксилин используется как первый краситель, он соединяется с кислотами и кислой частью амфотерных соединений, а эозин как второй краситель соединяется с основаниями и оставшейся частью амфотерных соединений. В методе А.И. Брусиловского, когда эозин используется как первый краситель, а гематоксилин как второй, происходит зеркально противоположный процесс, амфотерные соединения большей частью реагируют с кислым красителем, а оставшаяся их часть – с основным. Эозин красит структурные белки, интенсивность окраски зависит от соотношения катионов и анионов, на что, в конечном итоге влияет накопление или потеря амфотерных соединений. Использование обеих методик облегчает задачу исследования химии клеток и межклеточного вещества. При окраске серийных срезов классическим способом и АВ НхЕ видна динамика структур за счет важнейших белков, являющихся амфотерными соединениями. Эти два метода удачно дополняют друг друга в общем понимании функционирования клетки как целостной системы: кислотно-основные границы при использовании классической методики могут не соответствовать границам между структурами, в процессе созревания клеток содержание ДНК и амфотерных белков значительно меняется, данный способ позволяет четко дифференцировать эти биохимические процессы. Метод АВ НхЕ удобен для исследования аденогипофиза, где гистохимические процессы обеспечивают клеткам различных типов наличие базофильных, оксифильных или хромофобных тинкториальных свойств.

Выводы: Гипофиз половозрелых белых крыс доступен макрометрическому и гистотопографическому исследованию. Динамика анатомических параметров является первичным ориентиром в интерпретации результатов морфологического исследования, гистотопографическое планиметрическое исследование и анализ гистологических срезов органа с использованием обзорных окрасок дает существенную информацию о направлении структурных изменений и является незаменимым для дальнейшей оценки изменений клеточных и субклеточных структур. Пренебрежение исследованием морфологии гипофиза на органном и тканевом уровнях исследования может привести к фрагментарности и существенно затруднить интерпретацию полученных результатов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гриневич В.В. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем/ Гриневич В.В., Акмаев И.Г., Волкова О.В. – СПб.: Simposium, 2004. –159 с.

2. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (лабораторные животные) / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков. – СПб.: Лань, 2001. – С. 159.
3. Бессалова Є.Ю. Морфологічні зміни органів нейроендокринної системи самок ссавців при парентеральному введенні ксеногенної спинномозкової рідини / Є.Ю. Бессалова // Науковий вісник Ужгородського університету. Серия «медицина». – 2008. – Вип. 33. – С. 10-13.
4. Каширина Н.К. Методика выделения и идентификации органов эндокринной секреции у мышей/Н.К. Каширина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1987. – Т. 3, № 5. – С. 630-631.
5. Фомина К.А. Органометрические показатели гипофиза после двухмесячного воздействия спиртовой настойки эхинацеи/ К.А. Фомина // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 2 – С. 323-326.
6. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
7. Брусиловский А.И., Бессалова Е.Ю., Королев В.А. Реверсивный принцип использования гистологических красителей для анализа амфотерных соединений / А.И. Брусиловский, Е.Ю. Бессалова, В.А. Королев // Материалы IX Международного конгресса Международной ассоциации морфологов. Морфология. – 2008. – Т. 133, №. 2 – С. 21.
8. Arkadiy I Brusilovskiy. AB H&E And Reproductive System / Arkadiy I Brusilovskiy, Vitaliy A. Korolev, Yevgeniya Yu. Bessalova.// New philosophy in histotechnology. Special publication for annual meeting of California society for histotechnology, 2007. – P. 7.

Надійшла 12.09.2011 р.
Рецензент: проф. С.А.Кащенко

УДК 611.61.018: 531.5:613.693
© Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечипоренко Г.В., Кривенцов М.А., 2011

УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРЕНХИМЫ ПОЧКИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОГО ИЛИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДОВ КОРРЕКЦИИ

Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечипоренко Г.В., Кривенцов М.А.

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

Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечипоренко Г.В., Кривенцов М.А. Ультрамикроскопические изменения паренхимы почки под воздействием гипергравитации в условиях применения физического или фармакологического методов коррекции // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 202-205.

В эксперименте исследованы ультраструктурные изменения клеток паренхимы почки крыс при воздействии гипергравитации на протяжении 10 и 30 дней на фоне применения физического или фармакологического метода защиты. По результатам ультраструктурного анализа выявлено, что клетки паренхимы почки претерпевают значительные изменения в виде дистрофии клеток, нарушения энергетического метаболизма и трофических процессов. На ультрамикроскопическом уровне выявлено корригирующее действие глутаргина при 10-кратном воздействии перегрузок.

Ключевые слова: гипергравитация, почка, ультраструктура.

Пикалюк В.С., Волковец Д.В., Нечіпоренко Г.В., Крівенцов М.А. Ультрамікроскопічні зміни паренхіми нирки при дії гіпергравітації за умов застосування фізичного та фармакологічного методів корекції // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 202-205.

В експерименті досліджено ультраструктурні зміни клітин паренхіми нирки щурів при дії гіпергравітації протягом 10 та 30 діб за умов застосування фізичного або фармакологічного метода корекції. За результатами ультраструктурного аналізу виявлено, що клітини паренхіми нирки значно змінюються при дії гіпергравітації, характеризуючись дистрофією клітин, порушеннями енергетичного метаболізму та трофічних процесів. На ультрамікроскопічному рівні виявлено коригуючу дію глутаргіну при 10-кратній дії перевантажень.

Ключові слова: гіпергравітація, нирка, ультраструктура.

Pikalyuk V.S., Volkovets D.V., Nechiporenko G.V., Kriventsov M.A. Ultrastructural changes in rat's kidney under influence of the hypergravity factor with physical and pharmaceutical correction methods // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 202-205.

The aim of this experimental work is to investigate ultrastructural changes in rat's kidney under the influence of the hypergravity factor for 10 or 30 days with physical and pharmaceutical correction method. Results of the ultrastructural analysis have shown significant changes of the kidney cells. Changes were characterized as dystrophy, disturbances of the energetic metabolism and trophy processes. There was shown, that glutargin has a modest correction action under 10-day influence of the hypergravity factor.

Key words: hypergravity, kidney, ultrastructure.

На всех этапах фило-онтогенеза организм находится под воздействием фактора гравитации (силы тяжести), который неразрывно связан с процессом развития и дифференцировки всех клеточных систем организма [2, 5, 6]. Учитывая постоянство влияния данного фактора, живые организмы и многоклеточные системы в чрезвычайно высокой степени адаптировались к его действию, выработав специфические механизмы, проявляющиеся повседневно, например, в механизмах венозного оттока против силы гравитации. Вместе с тем, организм является крайне не приспособленным к изменению гравитационного компонента, поскольку, с определенной степенью уверенности, можно утверждать, что сила притяжения является константной величиной на протяжении всей истории существования жизни на Земле. С одной стороны недостаточность приспособительных механизмов в отношении фактора гипергравитации, а с другой стороны - все возрастающая частота воздействия данного фактора на организм человека, ставят перед исследователями задачу определения последствий негативного воздействия перегрузок на различные органы и системы, а также поиска и экспериментального апробирования различных методов защиты от данного воздействия. Учитывая бурно развивающуюся не только военную, но и гражданскую авиацию и коммерческую космонавтику, остро возникает вопрос воздействия неблагоприятных факторов, связанных с полетом, на организм нетренированных лиц, включая детей, подростков и лиц пожилого возраста.