

УДК 611.814.3:599.323.4:001.8

© Бессалова Е.Ю., Большакова О.В., 2011

МЕТОДЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ОКРАСКИ АДЕНОГИПОФИЗА ГРЫЗУНОВ**Бессалова Е.Ю., Большакова О.В.***Крымский государственный медицинский университет им С.И. Георгиевского***Бессалова Е.Ю., Большакова О.В.** Методы гистологической окраски аденогипофиза грызунов // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 5-6.

Проведен анализ различных методик гистологической окраски для исследования аденогипофиза лабораторных грызунов на тканевом уровне организации с учетом их информативности. Светооптические методы с использованием сложных обзорных гистологических окрасок незаменимы в исследовании структуры гипофиза, наряду с гистохимическими методиками и методами электронной микроскопии.

Ключевые слова: гипофиз, гистология, методы, белые крысы.**Бессалова Е.Ю., Большакова О.В.** Методи гістологічного забарвлення аденогіпофіза гризунів // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 5-6.

Проведений аналіз різних методик гістологічного забарвлення для дослідження аденогіпофіза лабораторних гризунів на тканинному рівні організації з врахуванням їх інформативності. Світлооптичні методи з використанням складних оглядових гістологічних забарвлень незамінні в дослідженні структури гіпофіза, поряд з гістохімічними методиками і методами електронної мікроскопії.

Ключові слова: гіпофіз, гістологія, методи, білі щури.**Bessalova Ye.Yu., Bolshakova O.V.** Methods of rodent's adenohypophysis histological coloring // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, №4. – С. 5-6.

The analysis of different methods of the histological colorings for laboratory rodent's adenohypophysis research on the tissue levels are described in the article. It is set that histological methods with use the difficult survey colorings are irreplaceable in research of hypophysis structure, along as histochemistry and electronic microscopy methods.

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

Гипофиз как центральная эндокринная железа, производное эпителиального и нейрального эмбриональных зачатков, является связующим звеном нервной и гуморальной регуляции. Гистологическое исследование гипофиза лабораторных грызунов востребовано в морфологии. Лабораторные крысы и мыши - это животные, морфологические и физиологические показатели нормы у которых широко изучены и стандартизированы; это полиэстричные млекопитающие с высоким темпом репродукции. Крысы и мыши являются основным объектом при стандартизации половых гормонов и экспериментов по изучению эндокринной функции половых желез. Данные параметры обуславливают актуальность исследования гипофизов лабораторных грызунов. По мнению авторов, светооптическое исследование аденогипофиза, наряду широко используемыми иммуногистохимическими и электронномикроскопическими методами, высокоинформативно и является важным этапом в морфологических исследованиях.

Цель: проанализировать различные методы гистологической окраски исследования аденогипофиза грызунов на тканевом уровне с учетом их информативности.

Материалы и методы. Исследование возможностей сложных обзорных гистологических окрасок проведено на гипофизах белых крыс и мышей (по 10 особей каждого вида). У крыс идентификация гипофиза не сложна, идентификацию и извлечение гипофиза мышей проводили по методике Кашириной Н.К. [4]. Для открытия доступа к гипофизу вскрывали черепную коробку, отрезая острыми ножницами крышу мозга от его основания, лопаточкой выделяли головной мозг. При этом обрываются черепно-мозговые нервы и воронка гипофиза, связывающая его с гипоталамической областью, а гипофиз остается на основании черепа, поскольку закреплен отроком твердой мозговой оболочки в полости турецкого седла. После пересечения листков *durae matris encerephali* латерально от гипофиза по бокам гипофи-

зарной ямки, гипофиз извлекали при помощи лопаточки с тупыми краями. Гипофизы заливали в парафин по общей методике, окрашивали следующими способами: азаном по Гейденгайну, по Маллори, по Массону, реактивом Шиффа-оранж G (ШИК) по Мак-Манусу-Хочкису, паральдегид-фуксином по Гомори-Габу, свинцовым гематоксилином по Макконейлу, (АВ НхЕ) по А.И. Брусилловскому [5, 6].

Научные результаты и их анализ. Исследование тканевой структуры гипофиза грызунов различных групп в норме и при экспериментальном воздействии несет существенную информацию о развитии общих патологических процессов в тканях железы, состоянии внутриорганного сосудистого русла. Результаты доступных методов светооптического исследования являются дополнением к органомерическим и гистотопографическим методикам в анатомических работах. Они также ориентируют исследователя в дальнейшей работе при использовании дорогостоящих тонких гистологических методик, определяя топикку выбора участков железы для электронной микроскопии, являются базой для интерпретации результатов иммуногистохимического исследования, значимо увеличивая научную ценность результатов. При выборе обзорных гистологических методик с использованием нескольких красителей при окраске аденогипофиза, особое внимание следует уделить тем методам, химизм которых связан с дифференцированным окрашиванием клеток в зависимости от тинкториальных свойств.

Наиболее информативны следующие методы: 1. Азан по Гейденгайну. Метод основан на использовании двух кислотных красителей: азокармина и анилинового синего. Для получения хорошего результата необходимо передержать препараты в азокармине, а потом медленно дифференцировать в анилиновом спирте для предупреждения переокрашивания. Результат окрашивания: ацидофилы – красные, гонадотропоциты – голубые, тиротропоциты – темно-синие.

2. Окраска по Маллори. Реактив для селективного окрашивания базофилов (анилиновый синий) и ацидофилов (оранж G). Результат: хромофобы – светло-серые, ацидофилы – оранжевые, базофилы – фиолетовые.

3. Анилиновый синий по Массону. Метод основан на использовании четырех различных красителей: железного гематоксилина Вейгарта для окраски ядер, пикриновой кислоты для эритроцитов, кислого фуксина для ацидофилов и анилинового синего для гранул базофилов. Результат: базофилы – синие, ацидофилы – красные, ядра клеток – черные, эритроциты – желтые.

4. Окраска по Массону-Голднеру. Модификация предыдущего метода, вместо анилинового синего используется световой зелёный. Результат: базофилы – зелёные, ацидофилы – красные.

5. Окраска реактивом Шиффа-оранж G (ШИК) по Мак-Манусу-Хочкиксу. Все клетки, содержащие гликопротеины (гонадотропоциты и тиротропоциты), окрашиваются в розово-красный цвет (ШИК реакция), а остальные – в светло-желтый (оранж G). Для лучшего восприятия можно подкрасить ядра азокармином.

6. Паральдегид-фуксин по Гомори-Габу (ПАФ). Состав: основной фуксин, соляная кислота, паральдегид. Все типы базофилов (гонадотропоциты и тиротропоциты) окрасятся в синий цвет.

7. Свинцовый гематоксилин по Макконейлу. Метод основан на свойстве стабилизированного раствора свинца (смесь азотнокислого свинца с раствором уксуснокислого аммония) окрашивать клетки, продуцирующие АКТГ. Результат: кортикотропоциты – серого цвета. Для удаления серого фона рекомендовано окрашенные срезы промывать в водопроводной воде при слабом токе в течение 5 часов [2].

8. При исследовании аденогипофиза, удобно использовать в сравнении два вида окраски гематоксилином и эозином: классическим способом и по А.И. Брусиловскому (АВ НхЕ). Метод А.И. Брусиловского подразумевает использование гематоксилина и эозина в обратной последовательности (реверсивный принцип), в отличие от классической методики [1, 6]. Когда эозин используется первым, а гематоксилин вторым, амфотерные соединения большей частью реагируют с кислым красителем, и лишь оставшаяся их часть – с основным. Накопление или потеря амфотерных соединений (важнейших структурных белков клетки) в конечном итоге влияет на соотношение катионов и анионов, что определяет интенсивность окраски эозином. При окраске серийных срезов классическим способом и АВ НхЕ видна динамика структур за счет амфотерных соединений, эти два метода в комплексе удачно дополняют друг друга в понимании клетки как целостной системы. Ценность использования двух способов окраски, обусловлена тем, что кислотно-основные границы при использовании классической методики могут не соответствовать границам между структурами, в процессе созревания клеток содержание ДНК и амфотерных белков меняется [7, 8, 9]. АВ НхЕ удобен для исследования аденогипофиза, где гистохимические процессы обеспечивают клеткам различных типов наличие базофильных, оксифильных или хромофобных свойств.

Существуют излюбленные места расположения различных типов аденогипофиза. *Саматропоциты* расположены по всему аденогипофизу вблизи сосудов и вдоль соединительнотканых септ; наи-

большая концентрация – в латеральных участках железы, они локализованы группами по 3-5 клеток или расположены в одиночку. Контактируют между собой и с другими аденоцитами (чаще с тиротропоцитами). *Кортикотропоциты* локализованы обычно вдали от капилляров, расположены диффузно по железе, исключая передне-вентральную область и область, пограничную с промежуточной долей, где могут встречаться лишь единичные клетки. *Гонадотропоциты* расположены вблизи капилляров по периферии аденогипофиза и в виде двух тяжей, тянущихся вальд промежуточной доли гипофиза. *Тиротропоциты* расположены диффузно по всей железе, однако в центральной зоне аденогипофиза они встречаются более часто. *Лактотропоциты* редко встречаются в аденогипофизе у самцов, а также у самок до наступления половой зрелости и находятся обычно в неактивном состоянии [3].

Выводы. Светооптическое исследование аденогипофиза высокоинформативно и является важным этапом в морфологических исследованиях, поскольку дает важную информацию о развитии общих патологических процессов, состоянии сосудистого русла. Методы светооптического исследования доступны, их результаты являются дополнением к анатомическим методикам. Они также ориентируют исследователя при использовании дорогостоящих тонких гистологических методик, определяя топку выбора участков для электронной микроскопии, являются базой для интерпретации результатов иммуногистохимического исследования, повышая научную ценность результатов работы. Перспективен анализ функциональных методик изучения гипофиза, определение взаимосвязи структурных и физиологических данных.

ЛИТЕРАТУРА:

1. 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 // Морфология. – 2008. – Т. 133, № 2 – С. 21.
2. Голицынов В.А. Методы эмбриологических исследований. Учеб. пособие. / Голицынов В.А. – М.: Изд-во МГУ, 1996. – 177с.
3. Гордиенко В.М. Ультраструктура желез эндокринной системы / В.М. Гордиенко, В.Г. Козырицкий. — К.: Здоров'я, 1978. — 287 с.
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. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. - Л.: Медицина, 1961. - 423 с.
6. Arkadiy I Brusilovskiy. AV 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.
7. The Encyclopedia of Microscopy and Microtechnique edited by Peter Gray. - New York: VNR, 1980 – P. 547-551.
8. Paulsen D.F. Basic Histology: Examination & Board Review. Appleton & Lange / D.F. Paulsen. - 1996. - P. 248.
9. W. Bloom. A textbook of Histology / William Bloom, Don W. Fawcett. – Philadelphia, London: W. B. Saunders company. – 1962. - P. 16-19.

Надійшла 11.09.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін