

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПРОМІЖНОЇ ЧАСТКИ ГІПОФІЗА ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ МЕТИЛЕНОВОЇ СИНІ

Миколаївський національний університет ім. В. О. Сухомлинського (м. Миколаїв)

Дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідницької роботи Навчально-наукового інституту фізичної культури та спорту Миколаївського національного університету ім. В. О. Сухомлинського «Гістофізіологічний стан ендокринної системи в умовах впливу несприятливих факторів навколишнього середовища», зареєстрованої в Українському інституті науково-технічної і економічної інформації, №01082002830 від 03.06.08.

Вступ. Загально визнано, що проміжна частка гіпофіза має важливе значення у підтримці та регуляції основних функцій організму. Основні продокуючі гормони якої (меланоцитостимулюючий та ліпотропний) мають вагомe значення у стимуляції синтезу меланіну, посилюючи пігментацію шкіри та обмін ліпідів [6].

Сучасні джерела літератури [1, 3] містять в основному дані, присвячені дослідженню будови і функції проміжної частки гіпофіза людини та деяких тварин за умов впливу на організм радіоактивного та електромагнітного випромінювання, іммобілізації тварин, змін світлового режиму тощо залишаючи недостатньо вивченими питання впливу на залозу речовин, що використовуються для лікування і профілактики при отруєннях нітратами, пестицидами та іншими отрутними речовинами. Серед подібних речовин у дослідників особливу увагу привертає метиленова синь яка прискорює процес відновлення метгемоглобіну. Він діє як кофактор НАДФН-метгемоглобінредуктази. Сьогодні в літературі є дані про дію метиленової сині на будову і функцію органів шлунково-кишкового тракту, тоді як його тривалий вплив на ендокринну систему, а саме на проміжну частку гіпофіза залишається мало вивченим, особливо в різні вікові періоди постнатального онтогенезу тварин.

Метою дослідження було вивчення гістофізіологічних змін меланоцитостимулюючих клітин проміжної частки у щурів різного віку в нормі та за умов тривалого впливу метиленової сині.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом для вивчення стану проміжної частки гіпофіза у постнатальному онтогенезі були нелінійні білі щури – самці різного віку (14-, 45- і 90- добові). Тварини утримувались у віварії в рівноцінних умовах, при повноцінному раціоні і однаковому світловому режимі. Щурята знаходились з матір'ю до початку статевого дозрівання, тобто до 45 доби життя. Використання лабораторних тварин відповідає методам, що

рекомендуються національними нормами з біоетики [4].

Всі тварини були розподілені на 2 групи: 1-інтактна; 2-піддослідна, які отримували водний розчин метиленової сині. При тривалій дії метиленової сині, тваринам починаючи з 7-го дня життя перорально вводили метиленову синь в дозах (0,1-0,15 мл 1% водного розчину на 1 кг маси тіла).

Досліди проведені в осінньо-зимовий період.

В роботі були використані гістологічні, гістохімічні, та морфометричні методи дослідження. Для приготування оглядових гістологічних препаратів зрізи залоз фарбували гематоксиліном і еозином, паральдегід-фуксином (ПАФ) з дофарбуванням азокарміном за Гейденгайном і Хелмі, а також за методом ШІК-альціановий синій.

На отриманих гістологічних препаратах підраховували кількісний склад клітин епіфіза. За допомогою окуляр-мікрометру вимірювали діаметри світлих та темних пінеалцитів (по 50 клітин кожного типу), їх ядер та ядерець. Об'єми клітин, їх ядер та ядерець вираховували за формулою:

$$V = \sqrt{\frac{\pi d^3}{6}}$$

де d – середній діаметр і виражали в мкм і.

Вміст меланоцитостимулюючого гормону (МСГ) в периферійній крові щурів визначали за загальноприйнятою методикою [2]. Одержані дані обробляли за допомогою методів варіаційної статистики [5].

Про функціональні зміни активності клітин проміжної частки гіпофіза тварин судили за такими ознаками: збільшенням або зменшенням кількості меланотропних клітин, їх середніх об'ємів, ядер та ядерець; змінами ядерно-цитоплазматичного співвідношення в клітинах; зменшенням кількості секреторних гранул у цитоплазмі окремих клітин; динамікою вмісту меланоцитостимулюючого гормону у периферійній крові тварин та за ступенем гіперемії судин.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведене дослідження показало, що у 14-добових інтактних щурів на фронтальному зрізі гіпофіза проміжна частка має U-подібний вигляд, охоплюючи передні та бічні сторони нейрогіпофіза.

У більшості спостережень меланотропи або меланоцитостимулюючі клітини розташовуються по всій проміжній частці утворюючи скупчення в середині частки. Ці клітини мають округлу форму і порівняно з ліпотропними клітинами великі розміри.

Округле ядро розміщується в основному в центрі клітини, або дещо ексцентрично, випадки інвагінацій ядерної мембрани не визначаються. Округле ядерець (1-2) розташовується дещо ексцентрично. Дифузний хроматин розсіяний по всій каріоплазмі. Клітинна мембрана має відносно рівні контури. Ознак просвітлення в цитоплазмі меланотропів не виявляється. Судини, які оточують меланотропні клітини мають помірне кровонаповнення і утворюють з ними щільні контакти. У цитоплазмі меланотропних клітин відмічається накопичення дрібних округлих секреторних гранул навколо ядра і уздовж клітинної мембрани.

Середня кількість меланотропних клітин в полі зору мікроскопу становить $37,2 \pm 0,34$. Середній об'єм меланотропів, їх ядер і ядерець в мкм³ складає $1560,2 \pm 22,3$; $360,7 \pm 11,2$; $35,2 \pm 0,5$. Середній показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення – 1: 4,3. Вміст МСГ в периферійній крові 14-добових інтактних щурів становить 0,09 нг/мл (табл.).

Таким чином, у 14-добових інтактних щурів-самців проміжна частка аденогіпофіза представлена як сформований орган, в якому можна бачити два види клітин (меланотропні та ліпотропні) та розгалуженні перетинки строми з кровеносними судинами помірного кровонаповнення.

У 45-добових інтактних щурів гістоструктура проміжної частки гіпофіза відрізняється від подібної 14-добових тварин потовщенням строми, призводячи до відокремлення паренхіми на більш чіткі часточки. У паренхімі середньої частки виділяють меланотропні та ліпотропні клітини (рис. 1).

Меланотропні клітини розташовуються по всій поверхні часточки. Вони мають, порівняно з ліпотропними клітинами, відносно великі розміри та світлу гомогенну цитоплазму. Округле або овальне ядро розміщується центрально. Ядерець правильної форми локалізується, як правило, дещо ексцентрично. Хроматин знаходиться у дифузному стані. Клітинна мембрана має рівні форми. Судини помірного кровонаповнення виявляються заповненими плазмою, простежуються їх щільні контакти з меланотропами. Невеликі за розмірами секреторні гранули накопичуються навколо ядра і утворюють слабо виражені скупчення поблизу клітинної мембрани.

Середня кількість меланотропних клітин в полі зору мікроскопу становить $85,4 \pm 5,6$. Середній об'єм меланотропів, їх ядер і ядерець в мкм³ складає $1663,4 \pm 21,3$; $390,2 \pm 17,4$; $35,7 \pm 0,4$. ЯЦС меланотропів 1 : 4,3. Вміст меланотропного гормону в периферійній крові 45-добових інтактних щурів становить 0,11 нг/мл (табл.).

Таким чином, у 45-добових інтактних щурів середня кількість меланотропних клітин у полі зору мікроскопу збільшується на 19,8%. А об'єми клітин збільшуються на 6,2%, їх ядер та ядерець відповідно на 7,6% і 1,4%, порівняно з 14-добовими тваринами. Накопичення секреторних гранул, особливо поблизу ядра, свідчить про зростання з віком синтезу МСГ, що підтверджуються збільшенням в периферійній крові гормону на 18,1%. Структурні зміни

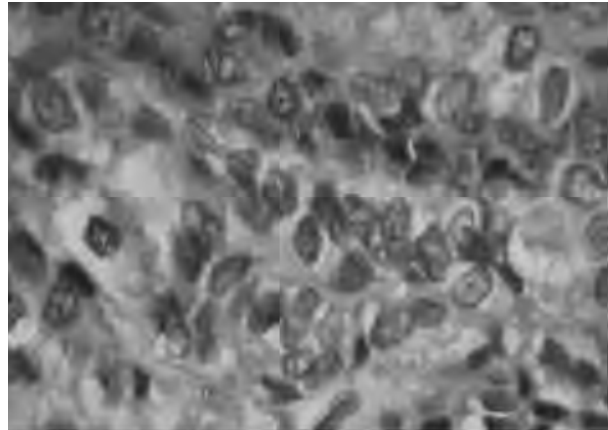


Рис. 1. Проміжна частка гіпофіза інтактного 45-добового щура. Збільшення розмірів меланотропних клітин. Щільні контакти меланотропів з судинами. Фарбування: гематоксиліном і еозином. Об. 100, ок. 15.

ліпотропних клітин показують також про зростання функціональної активності, але менш виражено. Середня кількість ліпотропних клітин зростає на 25,8%, а об'єми клітин, ядер та ядерець зростають відповідно на 7,4%; 1,9%; 3,3%.

У 90-добових інтактних щурів в паренхімі проміжної частки гіпофіза переважають компактно розташовані меланотропні клітини, які у більшості спостережень займають основну площу поверхні проміжної частки і мають більші розміри, порівняно з ліпотропними клітинами. Округле ядро розташовується в центрі клітини або дещо периферійно. Хроматин визначається дифузним. Секреторні гранули накопичуються вздовж клітинної мембрани. Спостерігається збільшення відносної кількості та щільності контактів меланотропів з розширеними елементами гемокapілярного русла, що очевидно, свідчить про посилення виведення меланоцитостимулюючого гормону в кров з віком.

Середня кількість меланотропних клітин в полі зору мікроскопу становить $51,9 \pm 1,22$. Середній об'єм меланотропів, їх ядер та ядерець в мкм³ складає $1780,3 \pm 19,7$; $420,7 \pm 13,2$; $37,5 \pm 0,6$. ЯЦС 1: 4,3. Вміст МСГ в периферійній крові 90-добових інтактних щурів становить 0,13 нг/мл (табл.).

Таким чином, в паренхімі проміжної частки гіпофіза 90-добових інтактних щурів відмічається збільшення середніх показників меланотропних клітин на 10,6%, об'ємів клітин на 6,5%, порівняно з 45-добовими тваринами, їх ядер та ядерець відповідно на 7,2% і 4,8%. МСГ зростає на 15,4%.

Дослідження проміжної частки 14-добових піддослідних щурів після тривалої дії метиленової сині показало, що паренхіма органу була утворена клітинами двох типів: меланотропними і ліпотропними.

У більшості спостережень меланотропні або меланоцитостимулюючі клітини розташовуються по всій проміжній частці утворюючи виражені скупчення (рис. 2). Ці клітини мають округлу форму і відносно великі розміри. Округле ядро розміщується в центрі клітини. Випадки інвагінацій ядерної мембрани не

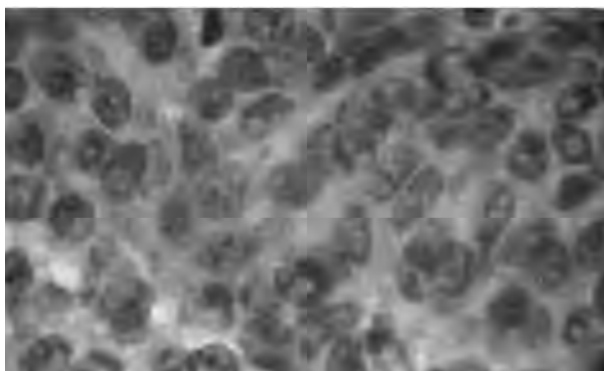


Рис. 2. Проміжна частика гіпофіза 14-добового щура після тривалої дії метиленової сині. Компактне розміщення меланотропних клітин. В меланотропах ознаки набряку та просвітлення цитоплазми. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об. 100, ок. 15.

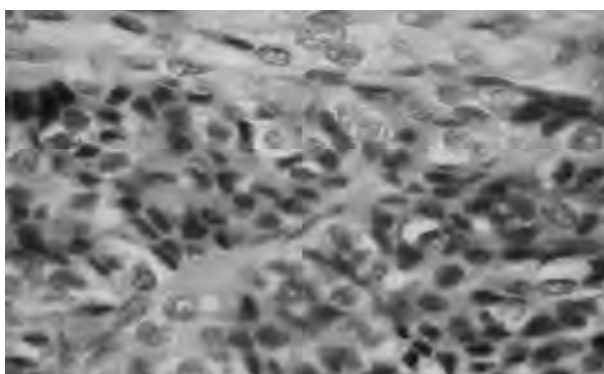


Рис. 3. Проміжна частика гіпофіза 45-добового щура після 38-денної хронічної дії метиленової сині. Потовщенням стромального комплексу. Відокремлення паренхіми на більш чіткі часточки. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об. 100, ок. 15.

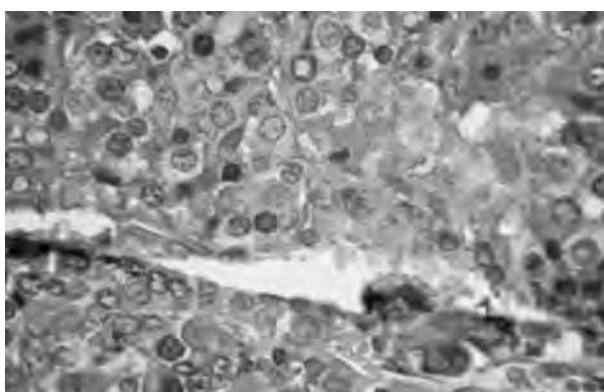


Рис. 4. Проміжна частика гіпофіза 90-добового піддослідного щура після 83-денної хронічної дії метиленової сині. Збільшення кількості та щільності контактів меланотропів з розширеними елементами гемокапілярного русла. Фарбування: гематоксилином і еозином. Об. 100, ок. 15

зустрічались. Округлі ядерця (1-2) розташовувались дещо ексцентрично. Дифузний хроматин рівномірно розсіяний по всій поверхні каріоплазми. Клітинна мембрана має рівні контури. Ознак просвітлення в цитоплазмі меланотропів не виявляється. У

цитоплазмі меланотропних клітин відмічались дрібні округлі секреторні гранули навколо ядра і клітинної мембрани. Судини, які оточують меланотропні клітини мали помірне кровонаповнення і утворювали з ними щільні контакти. Середня кількість меланотропних клітин в полі зору мікроскопу становить $80,1 \pm 5,37$. Середній об'єм меланотропів, їх ядер і ядерець в мкм складає $1513,4 \pm 24,3$; $349,2 \pm 15,6$; $34,1 \pm 2,5$. Середній показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення – 1: 4,3. Вміст МСГ в периферійній крові становить 0,09 нг/мл (табл.).

Таким чином, у 14-добових піддослідних тварин після 7-денної дії метиленової сині в проміжній частці гіпофіза відмічалось зменшення кількості меланотропних клітин на 3,1%, порівняно з контролем. Структурні зміни меланоцитостимулюючих клітин свідчили про слабо виражене зменшення функції, що супроводжувалось зменшенням об'ємів їх ядер і ядерець на 3,2% і 3,4%.

У 45-добових щурів після дії метиленової сині гістоструктура проміжної частки гіпофіза відрізняється від подібної 14-добових тварин потовщенням стромального комплексу призводячи до відокремлення паренхіми на більш чіткі часточки. Паренхіма залози складалась з залозистих клітин двох типів (меланотропних та ліпотропних) (рис. 3).

Меланотропні ендокриноцити розташовувались по всій поверхні часточки. Вони мали відносно великі розміри та світлу гомогенну цитоплазму. Округле в деяких випадках овальне ядро розміщувалось центрально. Ядерце правильної форми локалізується дещо ексцентрично. Дифузний хроматин скупчень не утворював. Клітинна мембрана відмічалась рівними контурами. Невеликі за розмірами секреторні гранули накопичувались навколо ядра і утворювали слабо виражені скупчення поблизу клітинної мембрани. Визначалися щільні контакти меланоцитостимулюючих клітин з елементами гемокапілярного русла. Середня кількість меланотропних клітин в полі зору мікроскопу становить $96,9 \pm 5,6$.

Середній об'єм меланотропів, їх ядер і ядерець в мкм складає $1601,6 \pm 24,2$; $375,4 \pm 17,4$; $34,1 \pm 2,4$. ЯЦС меланотропів 1 – 4,3. Вміст меланоцитостимулюючого гормону в периферійній крові становить 0,10 нг/мл (табл.).

Таким чином, у 45-добових піддослідних тварин після дії метиленової сині в проміжній частці гіпофіза відмічалось зменшення кількості меланотропних клітин на 5,1%, порівняно з контролем.

Структурно-функціональний стан меланоцитостимулюючих клітин свідчив про ознаки зниження функції. Що супроводжувалося зменшенням їх об'ємів, ядер і ядерець відповідно на 4,1%, 3,8% і 4,7%. Визначалося пониження вмісту МСГ на 9,9%.

У 90-добових піддослідних щурів в проміжній частці гіпофіза відмічались компактно розміщені меланотропні ендокриноцити, які у більшості спостережень займали основну площу поверхні залози і мали відносно великі розміри. Округле ядро розташовується в центрі клітини або дещо периферійно. Хроматин визначається дифузним. Секреторні гранули

Показники середніх об'ємів меланотропних клітин, їх ядер і ядерець в проміжній частці гіпофіза (мкм/М ± m) та вмісту меланоцитостимулюючого гормону в крові (нг/л) щурів контрольної групи (К), після тривалої дії таметиленової сині (МС)

Вік тварин	Група тварин	Об'єм клітини	Об'єм ядра	ЯЦС	Об'єм ядерця	Рівень МЗГ
14 діб	К	1560,2±22,3	360,7±11,2	1 : 4,3	35,2±0,5	0,09±0,01
	МС	1513,4±24,3	349,2±15,6	1:4,3	34,1±2,5	0,9±0,1
45 діб	К	1663,4±21,3	390,2±17,4	1:4,3	35,7±0,4	0,11±0,02
	МС	1601,6±24,2	375,4±17,4	1:4,3	34,1±2,4	0,10±0,2
90 діб	К	1780,3±19,7	420,7±13,2	1 : 4,2	37,5±0,6	0,13±0,03
	МС	1700,2±19,7	398,7±16,1	1:4,3	35,7±2,5	0,12±0,3

накопичуються вздовж ядра. Спостерігається збільшення відносної кількості та щільності контактів меланотропів з розширеними елементами гемокапілярного русла (рис. 4).

Середня кількість меланотропних клітин в полі зору мікроскопу становить 106,9±5,2. Середній об'єм меланотропів, їх ядер та ядерець в мкм складає 1700,2±19,7; 398,7±16,1; 35,7±2,5. ЯЦС 1: 4,3. Вміст МСГ в периферійній крові – 0,12 нг/мл (табл.).

Таким чином, в паренхімі проміжної частки гіпофіза 90-добових піддослідних щурів відмічалось зменшення кількості меланоцитостимулюючих клітин на 6,1%, їх об'ємів, ядер та ядерець відповідно на 4,5%; 6,3% і 4,8% порівняно з інтактними тваринами цього віку. Вміст МСГ в периферійній крові зменшувався на 7,7%.

Висновки. Аналіз отриманих результатів показав, що:

1. У 14-добових інтактних щурів проміжна частка гіпофіза представлена як сформований орган, в якому визначались два типи клітин: меланотропні і ліпотропні в яких відбувались (згідно даних структури і вмісту МСГ в крові) активні процеси синте-

зу та секреції гормонів у кров'яне русло. З віком (у 45- і 90-добових інтактних тварин) функціональна активність меланотропних клітин посилювалась.

2. У 14-добових щурів після тривалої дії метиленової сині в проміжній частці гіпофіза відбувалось незначне зниження функціональної активності меланоцитостимулюючих клітин, що свідчило про зменшення їх кількості, об'ємів, ядер і ядерець та вмісту МСГ в крові.

3. У 45-добових щурів за умов впливу метиленової сині функціональна активність меланотропних клітин продовжувала знижуватися.

4. У 90-добових тварин при дії метиленової сині в проміжній частці відмічається помірно зменшення функції меланотропних клітин але зі збереженням ознак нормалізації структурно функціонального стану, що очевидно пов'язано з включенням адаптаційно-приспосувальних механізмів до дії метиленової сині.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження планується спрямувати на пошук ефективних засобів корекції дії нітратів питної води на структурно-функціональний стан клітин системи епіфіз-проміжної частки гіпофіза.

Література

1. Бажора Ю. І. Медична біологія / Ю. І. Бажора // Під. ред. Пішак В. П. –Вінниця: Нова книга, 2004. – 656 с.
2. Головаченко В. А. Инструкции по применению наборов реактивов для иммуноферментного определения гормонов / В. А. Головаченко, Д. Г. Польшцев. – М. : МГУ, 2000. – 55 с.
3. Гордиенко В. М. Ультраструктура желез эндокринной системы. / В. М. Гордиенко, В. Г. Козырицкий. – К. : Здоровье, 1978. – 288 с.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2000. – Т. 8, № 1. – С. 142-145.
5. Лях Ю. Е. Основы компьютерной биостатистики / Ю. Е. Лях. – Д., 2006. -211 с.
6. Чумаченко О. Ю. Структурно-функціональні зміни проміжної частки гіпофіза у віковому аспекті / О. Ю. Чумаченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Т. 3, № 2. – С. 216 -219.

УДК 572. 786: 546. 175

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПРОМІЖНОЇ ЧАСТКИ ГІПОФІЗА ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ МЕТИЛЕНОВОЇ СИНІ

Чумаченко О. Ю., Рожков І. М.

Резюме. Досліджено особливості змін структури та функції клітин проміжної частки гіпофіза щурів різного віку в нормі та за умов впливу метиленової сині. В інтактних тварин з віком функціональна активність меланотропних клітин посилювалась.

Встановлено, що після тривалої дії метиленової сині в структурі проміжної частки гіпофіза відмічались помірно зменшення функції меланотропних клітин але зі збереженням ознак нормалізації структурно функціонального стану, що очевидно пов'язано з включенням адаптаційно-приспосувальних механізмів до дії препарату.

Ключові слова: проміжна частка гіпофіза, меланотропні клітини, МСГ.

УДК 572. 786: 546. 175

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ ДОЛИ ГИПОФИЗА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МЕТИЛЕНОВОЙ СИНИ

Чумаченко А. Ю., Рожков И. Н.

Резюме. Исследованы особенности изменений структуры и функции клеток промежуточной доли гипофиза крыс разного возраста в норме и при воздействии метиленовой сини. В интактных животных с возрастом функциональная активность меланотропных клеток возрастала.

Установлено, что после длительного воздействия метиленовой сини в структуре промежуточной доли гипофиза отмечались умеренное уменьшение функции меланотропных клеток но с сохранением признаков нормализации структурно функционального состояния, что очевидно связано с включением адаптационно-приспособительных механизмов к препарату.

Ключевые слова: промежуточная доля гипофиза, меланотропные клетки, МСГ.

UDC 572. 786: 546. 175

Morphofunctional Changes in the Intermediate Lobe of Pituitary because of Long Term Exposure of Methylene Blue

Chumatchenko O., Rozhkov I.

Summary. The urgency of this problem is caused by a number of factors. The intermediate lobe of the pituitary has importance in supporting and regulation of the basic bodily functions. The main producing hormones (melanocyte-stimulating hormones and lipotropic pituitary hormone) which have a great meaning for the stimulation of melanin synthesis, increases skin pigmentation and lipid metabolism.

Modern literature mostly sources contain data devoted to the study of the structure and function of the intermediate pituitary of human and some animals in conditions of influence of radioactive and electromagnetic radiation, immobilization animals, changes in light regime, etc. There are unexplored items of influence on the gland substances, which use to treat and prevention of poisoning by nitrates, pesticides and other poisonous substances. Among similar materials, researchers' attention attract methylene blue – accelerate the recovery process of methemoglobin. It works as a cofactor of *NADPH methemoglobin* reductases. Today, there are facts in the literature about the effects of methylene blue on the structure and function of the gastrointestinal tract, while its long-term effects on the endocrine system, especially, the intermediate lobe of the pituitary remain unexplored, especially in different age periods of postnatal ontogenesis of animals.

The target needs of research are to investigate changes histophysiological melanocyte-stimulating cells in rats' intermediate lobe of different ages and in normal conditions and under the long-term exposure of methylene blue.

Object and methods of the research. The objects for researching the intermediate lobe of the pituitary's condition in the postnatal ontogeny are white non-linear rats – males of different ages (the 14th – , 45th – and 90th – per diem). Animals were kept in a vivarium in equal circumstances, with the proper diet and the same light regime. Little rats were with their mother before puberty that is until the 45th day of life. The use of laboratory animals corresponded to the methods which are recommended by national norms on bioethics.

About functional changes in the activity of cells in the intermediate pituitary of animals judged by the following features: an increase or decrease the number of *melanotropin cells*, its average size, nuclei and nucleoli, the *nuclear-cytoplasmic ratio's* changes in the cells; the decrease in the number of secretory granules in separate cells' cytoplasm, the dynamic content of melanocyte-stimulating hormone in the peripheral blood of animals and the vascular congestion's degree.

The 14th – per diem intact rats' intermediate lobe of the pituitary is presented as a formed body, in which defines two types of cells: *melanotropic and lipotropic* where takes place (according to the structure and content of MSH in the blood) active synthesis and secretion of hormones into the bloodstream. With age (in the 45th-and 90th- per diem intact animals) functional activity of *melanotropin* cells intensifies.

The 14th – per diem rats, after the methylene blue's long-term acting in the intermediate lobe of the pituitary take place minor decrease in functional activity melanocyte-stimulating cells, that mean a decrease of number, volume , nuclei and nucleoli and MSH content in the blood.

The functional activity of *melanotropin cells* continued to decline under the influence of methylene blue for the 45 – per diem rats.

When the methylene blue acts into the intermediate lobe in 90th -day animals, it notes a medium decrease a function of *melanotropin cells*, but with the preservation features of the normal structural and functional condition, which is obviously due to the inclusion of adaptation and adaptive mechanisms to the action of methylene blue.

Prospects for further researching. Further studies will be directed at finding effective ways to correct the action of nitrate in drinking water on the structural and functional condition of the cells in system of epiphysis-intermediate's pituitary.

Key words: intermediate lobe of the pituitary, *melanotropin cells*, MSH.

Рецензент – проф. Шепітько В. І.

Стаття надійшла 14. 09. 2013 р.