

© Бессалова Е.Ю., 2011

УДК 616-003.282+616.43:591.4+59.082

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИПОФИЗОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ КСЕНОГЕННОЙ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ В ПЕРИОД ПОЛОВОЙ ЗРЕЛОСТИ

Е.Ю.Бессалова

Кафедра нормальной анатомии человека (зав. – проф. В.С.Пикалюк) Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского, г. Симферополь

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГІПОФІЗІВ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ КСЕНОГЕННОЇ СПИННОМОЗКОВОЇ РІДИНИ В ПЕРІОД СТАТЕВОЇ ЗРІЛОСТІ

Резюме. Виявлені ефекти ін'єкцій ксеногенної спинномозкової рідини (СМР) на структуру гіпофізів зрілих щурів. Багаторазове введення СМР через день протягом місяця викликає значний приріст маси і розмірів гіпофізів самок, зниження його питомої ваги при збільшенні відносної площі аденогіпофіза і зменшенні нейрогіпофіза на максимальному гістологічному зрізі органа. СМР, введена одноразово, викликає зростання відносної площі проміжної частки гіпофіза самок.

Ключові слова: спинномозкова рідина, гіпофіз, білі щури.

Спинномозговая жидкость (СМЖ) как гуморальная среда обеспечивает нормальное функционирование мозга и организма в целом за счет содержания большого количества физиологически активных веществ. Она характеризуется широким спектром биологических эффектов применительно к другим системам организма как в норме, так и при парентеральном ее введении в качестве ксеногенного биопрепарата [1]. Гипофиз, являясь производным двух принципиально разных зачатков – эпителиального и нейрального, служит прямой точкой приложения двух жидких сред – ликворной и гемолимфатической. В свою очередь, биологические эффекты ксеногенной СМЖ на гипофиз как центральное звено нейроэндокринной системы, могут представлять практический интерес в плане использования СМЖ в качестве сырья для разработки биопрепаратов. Ранее было установлено влияние инъекций СМЖ на структурные и функциональные параметры органов нейроэндокринной и репродуктивной систем белых крыс [2, 3].

Цель исследования: изучить макроанатомические характеристики гипофиза в

условиях экспериментального введения СМЖ.

Материал и методы. СМЖ получали у лактирующих коров прижизненно методом субокципитальной пункции и сохраняли в жидком азоте, вводили крысам внутримышечно из расчета разовой дозы 2 мл/кг. Первая серия опытов проведена на самках. Поскольку репродуктивный цикл сопровождается закономерной периодической динамикой нейроэндокринных показателей, требующей дифференцированного подхода к исследованию с учетом репродуктивного статуса, СМЖ самкам вводили: а) в возрасте ранней половозрелости однократно (на 90-е сутки) и многократно (на протяжении 90-120 суток через день, коротким и интенсивным курсом инъекций); б) беременным самкам в период расцвета репродуктивной функции однократно на третьей неделе беременности. После введения СМЖ крысы спаривались и имели приплод, всех животных забивали в возрасте 180 суток. Крысы группы "а" составили группу рожавших самок; их выводили из эксперимента через месяц после отъема крысят. Крысы группы "б" забивали сразу после отъема крысят; эти крысы составили группу

лактуючих самок. Изменения гипофизов рожавших самок выявили отдаленные эффекты СМЖ, а лактирующих самок – ранние эффекты. Контролем для группы "а" служила одна группа самок, которым вводили 0,9 % раствор NaCl многократно; второй группе контрольных крыс вводили раствор NaCl на третьей неделе беременности, как и СМЖ в опыте. У самок контрольных групп сроки спаривания и выведения из эксперимента, а, следовательно, и репродуктивный статус совпадали с аналогичными параметрами самок подопытных групп.

Во второй серии опытов самкам и самцам крыс в возрасте 90 суток многократно вводили СМЖ один раз в неделю в течение трех месяцев, длительным, но неинтенсивным курсом инъекций. Забивали животных спустя три месяца после окончания курса инъекций в возрасте 270 суток жизни, чтобы выявить отдаленные эффекты воздействия СМЖ. Самок и самцов в этой серии не спаривали. Крысам контрольной группы раствор NaCl вводили по той же схеме, что и ликвор крысам подопытной группы. Количество задействованных в опытах крыс рассчитывали так, чтобы вывести из эксперимента на каждом этапе по 6 особей. Таким образом, опыты первой серии проведены на 30 самках (18 подопытных, 12 контрольных), второй серии – на 24 крысах (по 6 контрольных и подопытных самок и самцов).

Крыс забивали методом декапитации с эфирным наркозом. В обеих сериях опытов проводили органомерические исследования нативных гипофизов и гистометрические исследования максимальных срезов гипофизов, залитых в парафин. Исследование гипофиза проводили по схеме: на торсионных весах определяли массу (мг), вычисляли относительную массу (в процентах по отношению к массе тела), гипофизарно-мозговой индекс (в процентах по отношению к массе головного мозга). Штангенциркулем измеряли поперечный, переднезадний и вертикальный размеры (мм), вычисляли объем (мм³) по формуле $V = \pi ABC/6$, где А, В, С – линейные размеры; удельный вес (мг/мм³) – по формуле $\rho_{уд} = M_{абс}/V$, где $M_{абс}$ – масса, V – объем. Готовили парафиновые срезы органа. Морфометрические исследования выполнены с помощью системы компьютерного анализа микроскопических изображений (световой мик-

роскоп OLIMPUS CX-31 и цифровая камера OLIMPUS C5050Z). Проводили гистометрические исследования линейных, абсолютных и относительных плоскостных параметров долей гипофиза на микрофотографиях максимальных срезов, сделанных при увеличении в 40 раз. Использовали статистические методы, достоверность отличий определяли на основе критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их анализ.

Органомерические исследования гипофизов самок при введении СМЖ в период половозрелости с учетом репродуктивного статуса (в первой серии опытов) выявили следующие результаты (табл. 1). При однократном введении СМЖ самкам крыс в возрасте 90 суток не выявлено статистически значимых отличий органомерических показателей гипофизов между контролем и опытом. При многократном введении СМЖ у самок подопытной группы толщина гипофизов больше, что вызывает значительное увеличение объема и массы органов. Поскольку прирост массы меньше прироста объема, у крыс подопытной группы удельный вес гипофизов меньше, чем в контроле, что свидетельствует о значительной перестройке структуры органа на тканевом уровне. Гистотопографическое исследование отдаленных результатов однократного и многократного введения СМЖ подтвердило данное предположение.

Однократное введение СМЖ самкам в возрасте 90 суток приводит лишь к увеличению относительной площади промежуточной доли. Многократное введение СМЖ самкам в возрасте 90-120 суток оказывает выраженный эффект на внутреннее строение органа: вызывает увеличение общей площади максимального среза гипофиза, увеличение абсолютной и относительной площади аденогипофиза при относительном уменьшении площади нейрогипофиза.

При исследованиях эффектов однократного введения СМЖ беременным самкам получены следующие результаты: как и в предыдущем опыте, однократная инъекция СМЖ не вызывает значимых изменений органомерических показателей гипофизов, гистометрические исследования также не выявили существенных отличий между контрольной и подопытной группами (табл. 2).

Таким образом, однократная инъекция СМЖ половозрелым крысам не вызывает на

Таблиця 1

Морфометрические параметры гипофизов рожавших самок белых крыс в норме и при парентеральном введении спинномозговой жидкости (СМЖ)

Морфометрические показатели	Контроль	Однократное введение СМЖ	Многократное введение СМЖ
Исследование нативных гипофизов			
Абсолютная масса, мг	15,8±0,3	16,3±0,5	18,0±0,6*
Относительная масса, %	0,0071±0,0003	0,0070±0,0001	0,0069±0,0002
Гипофизарно-мозговой индекс, %	0,97±0,03	0,99±0,03	1,05±0,04
Поперечный размер, мм	4,9±0,2	5,1±0,1	5,3±0,2
Переднезадний размер, мм	3,4±0,1	3,6±0,1	3,5±0,2
Высота, мм	2,6±0,1	2,7±0,2	2,9±0,1*
Объем, мм ³	22,2±1,3	25,3±1,1	28,3±0,9*
Удельный вес, мг/мм ³	0,72±0,03	0,65±0,04	0,64±0,01*
Исследование максимальных парафиновых срезов гипофизов			
Общая площадь, мкм ²	3420602±154860	3142246±204530,6	4263687±177261*
Площадь аденогипофиза, %	81,3±3,3	84,0±1,3	89,9±0,23*
Площадь нейрогипофиза, %	17,3±3,0	13,1±1,1	7,7±0,2*
Площадь промежуточной доли, %	1,4±0,4	2,9±0,4*	2,5±0,3

Примечание (для таблиц): отличия между подопытной и контрольной группами достоверны при * – P<0,05, ** – P<0,01.

Таблиця 2

Морфометрические параметры гипофизов лактирующих самок крыс в норме и при однократном введении спинномозговой жидкости в период беременности

Морфометрические показатели	Контроль	Опыт
Исследование нативных гипофизов		
Абсолютная масса, мг	16,5±0,7	15,7±0,5
Относительная масса, %	0,0073±0,0003	0,0070±0,0001
Гипофизарно-мозговой индекс, %	0,99±0,04	0,99±0,03
Поперечный размер, мм	5,0±0,1	5,1±0,1
Переднезадний размер, мм	3,5±0,1	3,6±0,1
Высота, мм	2,6±0,1	2,7±0,2
Объем, мм ³	23,8±0,8	25,3±1,1
Удельный вес, мг/мм ³	0,70±0,03	0,65±0,04
Исследование максимальных парафиновых срезов гипофизов		
Общая площадь, мкм ²	3209409±162609	3682119±141188
Площадь аденогипофиза, %	60,8±2,6	62,8±2,0
Площадь нейрогипофиза, %	35,4±2,3	33,6±1,8
Площадь промежуточной доли, %	3,8±0,4	3,6±0,3

ранних и отдаленных этапах исследования значимых изменений структуры гипофиза на органном и тканевом уровнях, за исключением увеличения относительной площади промежу-

точной доли в отдаленный период. Беременность также не повышает чувствительность гипофизов взрослых крыс к ксеногенному биопрепарату ликвора. Интенсивный многократ-

Таблиця 3

Морфометрические показатели гипофизов неспаривавшихся самцов и самок крыс в норме и при парентеральном введении спинномозговой жидкости

Морфометрические показатели	Самцы		Самки	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Исследование нативных гипофизов				
Абсолютная масса, мг	8,2±0,4	8,3±0,4	11,8±0,5	11,3±0,7
Относительная масса, %	0,0034± 0,0002	0,0035± 0,0002	0,0064± 0,0008	0,0063± 0,0005
Гипофизарно-мозговой индекс, %	0,52±0,02	0,51±0,03	0,78±0,05	0,80±0,04
Поперечный размер, мм	4,7±0,1	4,7±0,2	4,9±0,1	4,8±0,3
Переднезадний размер, мм	2,9±0,1	2,6±0,2	3,0±0,1	2,9±0,1
Высота, мм	1,7±0,1	2,0±0,1**	2,1±0,1	2,1±0,1
Объем, мм ³	11,7±0,3	12,3±0,9	16,0±1,3	15,8±2,0
Удельный вес, мг/мм ³	0,70±0,04	0,70±0,06	0,75±0,05	0,75±0,07
Исследование максимальных парафиновых срезов гипофизов				
Общая площадь, мкм ²	3234422± 400447	2558404± 282521	4055425± 358380	4129146± 308819
Площадь аденогипофиза, %	72,4±4,5	73,3±2,4	72,6±2,5	78,6±3,7
Площадь нейрогипофиза, %	23,0±4,1	22,3±2,2	20,8±2,1	17,4±3,7
Площадь промежуточной доли, %	4,6±0,9	4,5±0,3	6,6±0,9	4,0±0,5

ный курс инъекций СМЖ половозрелым самкам крыс вызывает множественные отдаленные эффекты на гипофиз: прирост его объема и массы, перестройку структуры органа на тканевом уровне, увеличение абсолютной и относительной площади аденогипофиза при относительном уменьшении площади нейрогипофиза.

Существенные изменения, выявленные через два месяца после окончания интенсивного курса инъекций СМЖ трехмесячным самкам крыс, свидетельствуют о выраженных стойких эффектах ликвора на структуру гипофиза. В связи с этим были поставлены эксперименты по еженедельному введению СМЖ половозрелым крысам в возрасте 90-180 суток (длительный курс инъекций с более редким введением СМЖ в аналогичной разовой и курсовой дозе). Поскольку крыс забивали в 9 месяцев (через 3 месяца после окончания курса инъекций), то в данной серии опытов получены также отдаленные результаты.

Исследования отдаленных эффектов длительного курсового введения СМЖ на гипофиз самцов и самок крыс в период расцвета репродукции отражены в таблице 3 (вторая серия опытов). Установлено, что длительный, но неинтенсивный курс инъекций не вызывает значительных изменений органометрических и

гистометрических показателей гипофизов. Таким образом, действие СМЖ на структуру гипофизов крыс в период расцвета репродукции незначительно. Еженедельные инъекции ликвора, в отличие от более частых инъекций, позволяют нейроэндокринной системе крыс адаптироваться к ксеногенному биопрепарату и не приводят к значимым морфологическим изменениям гипофизов самцов и самок.

Выводы и перспективы научного поиска. 1. Спинномозговая жидкость (СМЖ), введенная однократно самкам белых крыс в период ранней половозрелости и на третьей неделе беременности в период расцвета репродуктивной функции, не оказывает существенного влияния на макромикроанатомические параметры гипофизов, приводя лишь к увеличению относительной площади его промежуточной доли. 2. Многократные инъекции СМЖ половозрелым крысам вызывают стойкий отдаленный эффект на гипофиз лишь при условии введения ее интенсивным курсом инъекций (через день в течение месяца), при этом наблюдается значительный прирост массы и размеров гипофизов при снижении его удельного веса вследствие существенных изменений гистологической структуры (увеличения аденогипофиза и уменьшения нейрогипофиза). 3. Еженедельные

инъекции ликвора не приводят к значимым морфологическим изменениям гипофизов половозрелых крыс. 4. Перспективы научного

поиска заключаются в исследовании гипофиза и его органов-мишеней на клеточном и субклеточном уровнях.

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. Морфофункціональні зміни яєчників ссавців при парентеральному введенні ксеногенної спинномозкової рідини: автореф. дис. на здобуття наук. ст. канд. мед. наук: спец. 14.03.01 "Нормальна анатомія" / 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 // Наук. вісн. Ужгородського ун-ту. Серія "Медицина". – 2008. – Вип. 33. – С. 10-13.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИПОФИЗОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ КСЕНОГЕННОЙ СПИНОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ В ПЕРИОД ПОЛОВОЙ ЗРЕЛОСТИ

Резюме. Выявлены эффекты инъекций ксеногенной спинномозговой жидкости (СМЖ) на структуру гипофизов половозрелых крыс. Многократное введение СМЖ через день в течение месяца вызывает значительный прирост массы и размеров гипофизов самок, снижение его удельного веса при увеличении относительной площади аденогипофиза и уменьшении нейрогипофиза на максимальном гистологическом срезе органа. СМЖ, введенная однократно, вызывает рост относительной площади промежуточной доли гипофиза самок.

Ключевые слова: спинномозговая жидкость, гипофиз, белые крысы.

MORPHOLOGIC CHARACTERISTIC OF THE ALBINO RAT HYPOPHYSES UPON A PARENTERAL ADMINISTRATION OF THE XENOGENIC CEREBROSPINAL FLUID DURING THE PERIOD OF SEXUAL MATURITY

Abstract. The effects of xenogenic cerebrospinal fluid (CSF) injections on the hypophysial structure of mature rats have been detected. A multiple-dose introduction of CSF every other day during a month causes a considerable increase of the mass and sizes of the female hypophyses, a decrease of its specific gravity with an increased relative area of the adenohypophysis and a diminution of the neurohypophysis on a maximal histological section of the organ. CSF, introduced in a single dose causes an increase of a relative area of the intermediate lobe of the females' hypophysis.

Key words: cerebrospinal fluid, hypophysis, albino rats.

Crimean State Medical University named after S.I.Georgiievskiy (Simferopol)

Надійшла 05.09.2011 р.

Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)