

СТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИЙ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ НЕЙРОСЕКРЕТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС



Джуманиязов Шавкат Атаназарович, Карабаев Аминжон Гадаевич
Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд

ЛАБОРАТОРИЯ КАЛАМУШЛАРИНИНГ ОНТОГЕНЕЗИДА ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАР НЕЙРОСЕКРЕТОР ТИЗИМИНИНГ ФУНКЦИЯЛАРИНИ ШАКЛЛАНИШИ

Джуманиязов Шавкат Атаназарович, Карабаев Аминжон Гадаевич
Самарканд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд ш.

FORMATION OF THE FUNCTIONS OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY NEUROSECRETORY SYSTEM IN THE ONTOGENESIS OF LABORATORY RATS

Djumaniyazov Shavkat Atanazarovich, Karabaev Aminjon Gadaevich
Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand

e-mail: jradi63@mail.ru

Резюме. Мақолада лаборатория каламушларининг гипоталамо-гипофизар-нейросекретор тизими онтогенез кесимида ўрганилди. Тадқиқот гипоталамуснинг олдинги бўлимининг катта хужайрали ядролари (супраоптик ва паравентрикуляр ядролар), медиан устунлик ва гипофизнинг орқа бўлаги даражасида амалга оширилди. Тўзилгандан кейинги каламуш авлодида дастлабки икки ҳафта ичида нейросекретор хужайралар ва умуман гипоталамо-гипофизар тизимининг дифференциацияси содир бўлиши кўрсатилган; ҳаётнинг учинчи ҳафтасида каламушларда гипоталамо-гипофизар нейросекретор тизимининг морфологик кўриниши катта ҳайвонларникига яқинлашади. Постнатал ривожланишининг 21-кунидан бошлаб, гипоталамуснинг йирик хужайралик ядроларида секреция циклининг турли фазаларидаги хужайраларни кўриши мумкин. 30 кунлик каламушларда нейросекретор тизимининг кўриниши катта ҳайвонларники билан деярли бир хил бўлади.

Калим сўзлар: Гипоталамо-гипофизар нейросекретор тизими, паравентрикуляр ядро, супраоптик ядро, нейрогипофиз, онтогенез.

Abstract. The article investigates the hypothalamic-pituitary-neurosecretory system (HPNS) of laboratory rats in ontogeny. The study was carried out at the level of large-cell nuclei of the anterior hypothalamus (supraoptic and paraventricular nuclei), median eminence and posterior pituitary gland. It has been shown that during the first two weeks after the birth of rat pups, the differentiation of neurosecretory cells and the hypothalamic-pituitary system takes place as a whole; in the third week of life, the morphological picture of HPNS in rats approaches that characteristic of adult animals. Starting from the 21st day of postnatal development, cells in the large cell nuclei of the hypothalamus can already be seen in various phases of the secretory cycle. By the age of 30 in rat pups, the neurosecretory system becomes almost identical to adult animals.

Key words: Hypothalamic-pituitary neurosecretory system, paraventricular nucleus, supraoptic nucleus, neurohypophysis, ontogenesis.

Актуальность проблемы. Адаптация к различным условиям внешней среды и развитие защитной биологической реакции в ответ на воздействие стрессорных факторов являются важнейшими приспособлениями, с помощью которых обеспечивается выживаемость организмов. Многочисленными исследованиями подтверждено, что гипоталамус относится к основным структурам, обеспечивающим последовательность нейроэндокринных изменений при стрессе [1, 5, 9]. К наиболее активным и в то же время наиболее уязвимым гипоталамическим структурам при стрессе были отнесены паравентрикулярное (ПВЯ) и супраоптическое (СОЯ) ядра [5, 6, 8]. В литературе

имеются многочисленные данные о состоянии гипоталамо-гипофизарной системы и периферических эндокринных желез при воздействии различных воздействий на организм взрослых животных [2, 3, 4, 9]. В то же время, следует отметить, что морфофункциональное состояние нейроэндокринной системы в онтогенетическом аспекте изучено недостаточно [5, 6, 7].

Цель исследования. В данной работе было поставлено целью изучение становления гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы (ГГНС) в онтогенезе у крыс 1, 7, 14, 21, 30 дней постнатального развития.

Материалы и методы исследования. Данное исследование проведено на беспородных белых крысах массой тела 180-200 гр. и их потомстве различных периодов постнатального развития. Первый день беременности определялся по наличию сперматозоидов во влагалищных мазках крыс-самок, подсаженных к самцам в стадии эструса или проэструса. Забой животных производился в I, 7, 14, 21, 30-е дни после рождения путем одномоментной декапитации. В каждом сроке забивалось по 6 и более животных. Кусочки мозга, включающие гипоталамус с гипофизом, фиксировали в жидкости Буэна (для окраски по методу Гомори) или по Карнуа (для окраски по Нисслю). После проводки по спиртам кусочки заливали в парафин, затем из них готовили срезы толщиной 5-7 мкм., ориентированные фронтально или сагиттально. Срезы окрашивали одной из следующих методик: 1) крезилвиолетом по Нисслю; 2) паральдегид-фуксином (ПАФ) по Гомори-Габу; 3) хромовоквасцовым гематоксилином по Гомори с докраской ядрышек по Гайденгайну.

Изучение гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы проводилось на уровне гипоталамических ядер (СОЯ и ПВЯ), срединного возвышения и задней доли гипофиза. Изменение морфофункционального состояния нейросекреторных клеток (НСК) супраоптического и паравентрикулярных ядер устанавливали подсчитывая процентное соотношение отдельных типов нейросекреторных клеток (Поленов А.Л.): клетки I типа - в состоянии "опустошения" отражают состояние высокой функциональной активности; клетки II типа - в состоянии "начала синтеза" с перинуклеарным расположением нейросекрета; клетки III типа - в состоянии "накопления" или пониженной секреторной активности; клетки IV типа - деструктивные клетки. Наряду с этим, учитывалось содержание нейросекрета в гипоталамо-гипофизарном тракте и в задней главной части нейрогипофиза (ЗДГ).

В гипоталамических ядрах (СОЯ и ПВЯ) измеряли объём ядер нейронов с помощью винтового окулярного микрометра МОВ-15, что позволяло более точно оценить состояние функциональной активности нейросекреторных клеток. При описании морфологического состояния нейросекреторных ядер обращали внимание также и на структурные изменения в клетках, на состояние сосудов и глии. Кроме перечисленных показателей, нами учитывались данные об общем состоянии животных, показатели наступления и сохранения беременности, количество пре- и постнатальной гибели потомства. Статистическая обработка полученных данных произведена с помощью стандартного пакета программ Microsoft – Excel 2010. Достоверными двух сравниваемых показателей считали при $P=0,05$ и $P < 0,05$.

ГГНС у новорожденных интактных крысят. Супраоптическое ядро (СОЯ) у новорожденных крысят представлено довольно хорошо обособленным скоплением клеток с развитой сетью кровеносных сосудов. Нейроны расположены в области ядра достаточно плотно. Форма нейронов преимущественно округлая или овальная. Цитоплазма их хорошо контурируется в виде узкого ободка. Отростки, один или два у большинства клеток отчетливо выражены. Встречаются нейроны и с тремя отростками. Гомориположительные клетки имеются повсеместно, но преобладают они на фронтальных срезах в медиальной зоне ядра, непосредственно прилегающем к оптическому тракту. В этой зоне клетки характеризуются крупными размерами, и почти во всех клетках содержится окрашенное ПАФ вещество. По сравнению с более зрелыми животными окраска ПАФ здесь бледнее. В некоторых клетках ободки цитоплазмы, в которых содержится нейросекрет, полностью охватывают ядро. В большинстве случаев гомориположительное вещество представлено в виде полулуния. У некоторых нейронов окрашенное вещество наблюдается и в отростках у полюсов клеток. Ядра нейронов различной величины, в основном крупные, имеют четкие контуры. В них определяется значительное количество гранул хроматина, которые придают ядрам темный цвет. Вместе с тем, увеличивается число клеток со светлым ядром. Средний объём ядер составляет $223,9 \text{ мкм}^3$ (табл. 1). Ядрышки нейронов крупные, с четкими контурами. Расположены они в большинстве случаев эксцентрично по одному - два в ядре.

Паравентрикулярное ядро (ПВЯ) у новорожденных крысят на фронтальных срезах выглядит в виде треугольников, расположенных по обе стороны третьего желудочка и обособленных от окружающих нейронов узкой бесклеточной зоной. Через область ядра проходят многочисленные сосуды. Нейроны в ядре распределены в виде отдельных групп, НСК, расположенные в верхней широкой части ядра крупнее остальных. Цитоплазма большинства нейронов хорошо выражена и представляет узкий ободок, окружающий ядро. У многих из них от полюсов клеток отходят контрастные уни- и биполярные отростки. У некоторых нейронов они прослеживаются на довольно большом расстоянии. Иногда встречаются и мультиполярные нейроны. На фронтальных срезах нейроны, содержащие гоморипозитивное вещество, чаще встречаются в дорсолатеральной части ядра. Но и здесь число клеток, содержащих нейросекреторное вещество (НСВ), и интенсивность окраски меньше по сравнению с таковыми с СОЯ.

Таблица 1. Объемы ядер (в $\mu\text{м}^3$) нейросекреторных клеток СОЯ и ПВЯ у интактных крысят различного возраста

Ядро гипоталамуса	Статистический показатель	Возраст крысят (дни)				
		Новорожден.	7	14	21	30
СОЯ	M	223.9	328.2	466.7	462.6	457.9
	m	6.47	8.63	12.14	9.44	9.38
	N	150	150	150	150	150
ПВЯ	M	204.9	310.5	478.3	455.8	463.0
	m	5.92	7.44	9.24	11.62	10.72
	N	150	150	150	150	150

Ядра НСК крупные, округлой формы. Контуры их четкие. Окраска ядер различна, но у новорожденных крысят встречается больше светлоокрашенных ядер. Ядрышки нейронов крупные, четкие, расположены большей частью эксцентрично. В каждом ядре находится по одному, или же по два ядрышка.

Нейрогипофиз. У новорожденных крысят отчетливо различаются наружная и внутренняя зоны срединного возвышения (СВ). Во внутренней зоне его НСВ ещё не обнаруживается. В наружной зоне капиллярные петли отсутствуют. Главная, задняя часть нейрогипофиза увеличивается в размерах по сравнению с ЗДГ плодов. В ней различаются нейросекреторные волокна, в четковидных расширениях которых находится НСВ.

ГГНС у интактных 7-дневных крысят. Супраоптическое ядро представлено довольно плотным скоплением крупных нейронов, контактирующих с многочисленными капиллярами. Светлая цитоплазма клеток незначительно вакуолизирована, в ней выявляются мелкие гранулы нейросекрета, концентрирующиеся перинуклеарно и в устьях аксонов. Результаты морфометрии ядер свидетельствуют, что их размеры существенно увеличиваются по сравнению с таковыми новорожденных животных.

Отростки придают нейронам би-, иногда мультиполярные формы, при окрашивании хромовым гематоксилином отмечаются большие размеры и протяженность их по сравнению с новорожденными животными. Ядрышки в ядрах расположены чаще эксцентрично, по одному-два в ядре. Средняя величина объёмов ядер нейронов $310,46 \mu\text{м}^3$. Половых различий в величине объёмов ядер не наблюдалось.

Нейрогипофиз. Архитектоника срединного возвышения приобретает все большее сходство с таковой взрослых животных. Внутренние и наружные зоны его значительно расширены, в последней уже контурируются петли капилляров. Во внутренней зоне выявляются отдельные шаровидные скопления НСВ, окрашенные ПАФ. Главная задняя часть нейрогипофиза существенно увеличивается в размерах. Нервные волокна содержат значительное количество НСВ, хотя круп-

ных скоплений его ещё в этом возрасте не образуется.

ГГНС у интактных 14-дневных крысят. Супраоптическое ядро в основном представлено светлыми грушевидными клетками с хорошо контурирующими отростками, некоторые из которых прослеживаются на довольно значительном расстоянии. Объём цитоплазмы у двухнедельных крысят увеличен по сравнению с предыдущими сроками. Мелкие нейросекреторные гранулы концентрируются в местах отхождения аксонов и перинуклеарно. Количество нислевского вещества в СОЯ и ПВЯ в этом возрасте значительно уменьшается, что видимо связано с процессами прозревания у крысят.

Объёмы ядер продолжают расти, и составляют в среднем $486,7 \mu\text{м}^3$. На срезах ядра видны в виде светлых пузырей, большая часть которых оптически пуста и содержит хроматин, расположенный мелкими глыбками, прилегающими к ядерной оболочке. Ядрышки, прокрашенные флоксином, представлены в виде крупных, контрастных образований, расположенных центрально или эксцентрично, по одному, редко по два в одном ядре.

Паравентрикулярное ядро. Дорсолатеральная часть ПВЯ образована крупными НСК, расположенными компактно в контакте с многочисленными капиллярами. В вентролатеральной части ПВЯ клетки лежат сравнительно рыхло и эта часть ядра характеризуется значительным разнообразием форм и размеров нейронов. На срезах, окрашенных хромовым гематоксилином отчетливо различаются глиальные клетки, тесно прилегающие к НСК, и отличающиеся от последних более темной окраской и малыми размерами. При окраске ПАФ становится отчетливо видно, что цитоплазма и отростки нейронов содержат большее количество НСВ по сравнению с более младшей группой крысят. Ядра клеток у двухнедельных крысят имеют светлую окраску и преимущественно одно крупное ядрышко. Средний объём ядер достигает своего максимума и составляет $478,3 \mu\text{м}^3$.

Нейрогипофиз. Строение нейрогипофиза у 14-дневных крысят очень напоминает нейрогипофиз взрослых животных. Капиллярная сеть развита как в наружной, так и во внутренней зонах сре-

динного возвышения. Во внутренней зоне срединного возвышения видны скопления НСВ, напоминающие тела Герринга. Задняя доля гипофиза имеет многочисленные волокна, заполненные НСВ, которые заканчиваются терминальными расширениями средних размеров, тесно контактирующими с кровеносными капиллярами.

ГНС у интактных 21-дневных крысят.

СОЯ у трехнедельных крысят по своему строению аналогично таковому взрослых животных. Ядро представлено плотно расположенными крупными нейронами, вблизи которых размещаются клетки-сателлиты, имеющие меньшие размеры и темную окраску. На срезах, окрашенных ПАФ, по характеру расположения нейросекреторного вещества в нейронах последние удается подразделить на различные морфологические типы, среди которых преобладают светлые клетки:

Типы нейронов	I	II	III	IV
Содержание в %	30	54	15	1

Объём цитоплазмы, окружающей ядра клеток, заметно увеличивается. Аксоны секреторных клеток прослеживаются на значительном расстоянии от их тел. Нисслевское вещество наблюдается в цитоплазме клеток в большом количестве и заполняет равномерно весь её объём. Ядра нейронов крупные с четкими контурами, хроматин в ядрах в виде единичных мелких глыбок расположен около ядрышек и кароилеммы. Ядрышки в ядрах крупные, расположены чаще по одному в центре ядра, реже наблюдаются двухядрышковые клетки.

Паравентрикулярное ядро. На фронтальных срезах ПВЯ представлено в виде хорошо ограниченного от других гипоталамических образований треугольника, с обилием кровеносных сосудов. На территории ядра нейроны подразделены на обособленные группы, отличающихся от соседних размерами ядер, интенсивностью окраски цитоплазмы, плотностью расположения клеток. Различия в интенсивности окраски цитоплазмы выявляются как при применении хромового гематоксилина, так и ПМ, что способствует подразделению нейронов на функциональные типы:

Типы нейронов	I	II	III	IV
Содержание в %	27	59	12	2

Ядра клеток крупные, преимущественно округлой формы, с четкими контурами, в кароилемме которых в большинстве случаев содержится по одному крупному ядрышку. Надо отметить, что объёмы ядер несколько уменьшаются по сравнению с предыдущим сроком.

Нейрогипофиз. На сагиттальных срезах, окрашенных ПАФ, во внутренней зоне срединного возвышения отчетливо прослеживается ход нервных волокон, содержащих НСВ, местами об-

разующих четковидные утолщения. Последние, как правило, тесно прилегают к капиллярам. Единичные тонкие нейросекреторные волокна, содержащие НСВ, выявляются и в наружной зоне СВ. В задней главной части гипофиза содержится значительное количество волокон, заполненных нейросекретом и часто образующих тела Герринга.

ГНС у интактных 30-дневных крысят.

Нейроны СОЯ по структуре подобны аналогичным образованиям взрослых животных. Большинство клеток имеют крупные размеры, и тесно прилежат друг к другу. На территории ядра довольно много кровеносных сосудов, вокруг которых концентрируются НСК. Функциональное состояние нейронов СОЯ у данных крысят несколько отличается от трехнедельных животных, но и здесь в структурной формуле преобладающими остаются светлые клетки I и II типов:

Типы нейронов	I	II	III	IV
Содержание в %	25	64	10	1

Ядра нейронов крупные, пузырьвидные, с отчетливо контурирующимися одним, редко двумя ядрышками.

Паравентрикулярное ядро. Область ядра имеет разветвленную сеть кровеносных сосудов, вокруг которых концентрируются плотно расположенные нейроны. Цитоплазма вокруг ядер занимает довольно значительную площадь. Соотношение различных типов клеток почти соответствует таковому в СОЯ:

Типы нейронов	I	II	III	IV
Содержание в %	24	61	14	1

При окраске по Ниссию, тигроид в СОЯ и ПВЯ у большинства клеток полностью заполняет цитоплазму, глыбки тигроида расположены главным образом по периферии цитоплазмы. Количество базофильного вещества в нейросекреторных клетках различно, что ещё раз подтверждает различия в функциональном состоянии нейронов.

Нейрогипофиз. Срединное возвышение отчетливо разделяется на три слоя: слой эпендимных клеток, внутреннюю к наружную зоны. Первый из них представлен одним слоем клеток эпендимы, выстилающих инфундибулярную бухту III желудочка. Внутренняя зона представляет собой множество волокон интенсивно прокрашенных паральдегид фуксином. Среди них наблюдаются гигантские расширения, напоминающие тела Герринга и тесно контактирующими с петлями капилляров. Третий, наружный слой представлен радиально расположенными питуицидами, отростками эпендимных клеток, между которыми отчетливо прослеживаются капилляры портальной системы. Задняя доля гипофиза представлена нейросекреторными волокнами и их

терминальными расширениями - телами Герринга.

Выводы. Исследование показало, что крупноклеточные ядра гипоталамуса уже в позднем антенатальном периоде обособлены в хорошо различимые образования. Но морфологический анализ гипоталамо-гипофизарной показывает, что данная система далека от степени зрелости, характерной для взрослых животных. Это проявляется не только меньшими размерами ядер и ядрышек нейронов, но и отсутствием хорошо выраженной цитоплазмы. Единичные мелкие гранулы нейросекреторное вещество (НСВ) выявляются только в отдельных клетках супраоптического ядра (СОЯ) и задней доле гипофиза (ЗДГ), в то время как в паравентрикулярном ядре (ПВЯ) его нет. В процессе постнатального онтогенеза крысят имеет место рост объемов ядер, ядрышек и цитоплазмы. Объем ядер нейронов СОЯ и ПВЯ достигает своего пика у двухнедельных крысят, что по времени совпадает с их прозреванием. В дальнейшем у крысят средние объемы ядер имеют тенденцию к некоторому снижению, а объем цитоплазмы - к увеличению. Вместе с этим увеличивается количество НСВ в различных отделах ГГНС. У 3-х и 4-недельных крысят в срединном возвышении и задней доле гипофиза ясно наблюдаются крупные скопления нейросекреторного вещества, образующие тела Герринга и тесно контактирующие с капиллярами портальной системы, что дает основание предположить о взаимодействии нейрогормонов с системой аденогипофиза.

Таким образом, в течение первых двух недель после рождения крысят происходит в основном дифференцировка нейросекреторных клеток и гипоталамо-гипофизарной системы в целом, на третьей неделе жизни морфологическая картина ГГНС у крыс приближается к той, которая характерна для взрослых животных. Начиная с 21-го дня постнатального развития в крупноклеточных ядрах гипоталамуса можно увидеть уже клетки в различных фазах секреторного цикла. К 30-му жизни крысят нейросекреторная система становится практически идентичной с таковой у взрослых животных.

Литература:

1. Бабичев В. Н. Организация и функционирование нейроэндокринной системы. Проблемы эндокринологии. 2013;59(1):62-69.
2. Белокоскова С.Г., Цикунов С.Г. Вазопрессин в механизмах реализации реакций на стресс и модуляции эмоций // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – Т. 16. – № 3. – С. 5–12
3. Коржевский Д.Э. и др. Иммуногистохимическое исследование головного мозга; подред. Д. Э.

Коржевского. — Санкт-Петербург : СпецЛит, 2016 —143 с.

4. Кубасов Р. В. Гормональные изменения в ответ на экстремальные факторы внешней среды // Вестник РАМН. 2014. №9-10. С 102-107.
5. Постнова М.В. и др. морфофункциональные особенности ядер переднего гипоталамуса в обеспечении стресс-реактивности организма // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10-2. – С. 366-370;
6. Симанкова А. А.. Влияние биологически активных пептидов семейства опиоидов на морфофункциональные показатели развития головного мозга белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии. Автореф. дисс. канд. мед.наук. Хабаровск, 2017- 24 с.
7. Софват Х., Бекетова Г. В. Физиология и регулирование развития плода (гормональная регуляция роста плода) (часть 2). Педиатрия. Восточная Европа. 2016;4:659-679.
8. Циркин В.И. и др. Окситоцин: синтез, выделение, метаболизм и регуляция этих процессов (обзор)//Журнал медико-биологических исследований. 2018. Т. 6, № 3. С. 270–283
9. Karabaev A.G. (2020). Relationship between the reactivity of the autonomic nervous system and the morphofunctional activity of basophilic cells of the adenohypophysis in the post-resuscitation period. // Science and World International scientific journal, 3 (79). 55-62.

СТАНОВЛЕНИЕ ФУНКЦИЙ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ НЕЙРОСЕКРЕТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Джуманиязов Ш.А., Карабаев А.Г.

Резюме. В статье исследована гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система лабораторных крыс в онтогенезе. Исследование проводилось на уровне крупноклеточных ядер переднего гипоталамуса (супраоптическое и паравентрикулярное ядра), срединного возвышения и задней доли гипофиза. Показано что, в течение первых двух недель после рождения крысят происходит в основном дифференцировка нейросекреторных клеток и гипоталамо-гипофизарной системы в целом, на третьей неделе жизни морфологическая картина гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы (ГГНС) у крыс приближается к той, которая характерна для взрослых животных. Начиная с 21-го дня постнатального развития в крупноклеточных ядрах гипоталамуса можно увидеть уже клетки в различных фазах секреторного цикла. К 30-му жизни крысят нейросекреторная система становится практически идентичной с таковой у взрослых животных.

Ключевые слова: Гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система, паравентрикулярное ядро, супраоптическое ядро, нейрогипофиз, онтогенез.