

СТАНОВЛЕНИЕ ГОНАДОТРОПНОЙ ФУНКЦИИ ГИПОФИЗА
У ДВУХ РЕДКИХ ВИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

З.А. ВОРОНЦОВА*, П.М. ТОРГУН**, Н.Т. АЛЕКСЕЕВА*, А.Г. УЛЬЯНОВ**, К.А. ЛОБОДИН*,
И.А. УЛЬЯНОВ*, Е.Г. ЛОЗОВАЯ*, Е.И. МОЗГОВАЯ*

*ФГБОУ ВО Воронежский государственный медицинский университет имени
Н.Н. Бурденко, ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Россия

**ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I,
ул. Мичурина, д. 1, г. Воронеж, 394087, Россия

Аннотация. Актуальность. Гипофиз имеет важное значение в жизнедеятельности организма. Несмотря на обширную научную информацию по гипофизу, многие вопросы остаются недостаточно изученными. В литературе отсутствуют сведения о становлении различных гипофизарных функций в постнатальном онтогенезе. **Цель исследования** – изучение микроскопических и электронномикроскопических особенностей гонадотропных эндокриноцитов у двух редких видов млекопитающих в постнатальном онтогенезе. **Материалы и методы исследования.** Использован материал от речных бобров и русской выхухолы. Сбор материала осуществлялся в Воронежском и Хоперском заповеднике. Для фиксации материала использовали жидкости Штиве, Буэна, Ценкера. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином, альдегидфуксином по Хэлми-Дыбану, азаном по Гейденгайну, применяли ШИК-реакцию, окраску трихром и тетрачром-ШИК. Определяли площадь клеток и их ядер, производили подсчет гонадотропных эндокриноцитов в 25 полях зрения. Площадь одного поля зрения составляла 5024 мкм². Для электронной микроскопии образцы гипофиза фиксировали в 2,5%-ном глютаровом альдегиде и в 1%-ном осмиевом фиксаторе. Готовили срезы на ультрамикротоме БС-490 и ЛКБ-4800. Срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе «Тесла БС-500». **Результаты и их обсуждение.** У речных бобров и русской выхухолы в возрасте 6 месяцев по сравнению с новорожденными животными увеличивается численности гонадотропных эндокриноцитов, соответственно, в 2,37 раза ($P<0,05$), и в 2,55 раза ($P<0,05$); площадь цитоплазмы клеток в 1,59 раза ($P<0,05$) и в 1,21 раза ($P<0,05$). У речных бобров и русской выхухолы в возрасте одного года по сравнению с шестимесячными выявлено увеличение численности гонадотропных эндокриноцитов в 1,28 раза ($P<0,05$) и в 1,27 раза ($P<0,05$), площади цитоплазмы клеток соответственно – в 1,19 раза ($P<0,05$) и в 1,46 раза ($P<0,05$). Максимальные показатели обнаружены у речных бобров и русской выхухолы в возрасте двух лет. Электронномикроскопически представлены последовательные стадии морфологического созревания гонадотропных эндокриноцитов. **Заключение:** морфологическое созревание гонадотропных эндокриноцитов завершается у речных бобров и русской выхухолы в возрасте двух лет.

Ключевые слова: речной бобр, русская выхухоль, гонадотропные эндокриноциты, кариометрия, электронная микроскопия.

FORMATION OF THE GONADOTROPIC FUNCTION OF THE PITUITARY
GLAND IN TWO RARE MAMMALIAN SPECIES

Z.A. VORONTSOVA*, P.M. TORGUN**, N.T. ALEKSEEVA*, A.G. ULIANOV**, K.A. LOBODIN**,
I.A. ULIANOV*, E.G. LOZOVAYA**, E.I. MOZGOVAYA**

*FSBEI HE Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko,
Studentskaya Str., 10, Voronezh, 394036, Russia

**FSBEI IN Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I,
Michurin Str., 1, Voronezh, 394087, Russia

Abstract. Relevance. The pituitary gland is extremely important in the life of the body. Despite the extensive scientific information on the pituitary gland, many issues remain insufficiently studied. There is no information in the literature on the development of various pituitary functions in postnatal ontogenesis. **The research purpose** is to study the microscopic and electron microscopic features of gonadotropic endocrinocytes in two rare mammalian species in postnatal ontogenesis. **Material and methods.** Material from river beavers and Russian desman was used. The collection of material was carried out in the Voronezh and Khopersky nature reserves. To fix the material, the liquids Shtive, Buen, Zenker were used. Paraffin sections were stained with hematoxylin-eosin, aldehyde fuchsin according to Halmi-Dyban, and azan according to Heidenhain, using the SHIK reaction, staining with trichrome and tetrachrome-SHIK. The area of cells and their nuclei was deter-

mined, and gonadotropic endocrinocytes were counted in 25 fields of view. The area of one field of view was 5024 μm^2 . For electron microscopy, pituitary gland samples were fixed in 2.5% glutaraldehyde and in 1% osmium fixative. Sections were prepared on ultramicrotomes BS-490 and LKB-4800. Sections were contrasted with uranyl acetate and lead citrate and studied in a Tesla BS-500 electron microscope. **Results and its discussion.** In river beavers and Russian desman at the age of 6 months, compared with newborn animals, the number of gonadotropic endocrinocytes increases by 2,37 times ($P<0,05$), and 2,55 times ($P<0,05$), respectively; the area of the cytoplasm of cells is 1,59 times ($P<0,05$) and 1,21 times ($P<0,05$). In river beavers and Russian desman at the age of one year, compared with six months of age, an increase in the number of gonadotropic endocrinocytes was revealed by 1,28 times ($P<0,05$) and 1,27 times ($P<0,05$), the area of the cytoplasm of cells, respectively, by 1,19 times ($P<0,05$) and 1,46 times ($P<0,05$). The maximum indicators were found in river beavers and Russian vuchucholi at the age of two years. Sequential stages of morphological maturation of gonadotropic endocrinocytes are presented electron microscopically. **Conclusion:** morphological maturation of gonadotropic endocrinocytes is completed in river beavers and Russian desman at the age of two years.

Keywords: river beaver, Russian desman, gonadotropic endocrinocytes, karyometry, electron microscopy.

Актуальность. Гипофиз является центральной эндокринной железой и вместе с гипоталамусом формирует гипоталамо-гипофизарную нейросекреторную систему, которая имеет важное значение в жизнедеятельности организма. В гипофизе вырабатываются гормоны, регулирующие функцию периферических эндокринных желез. Важную роль гипофиз играет в регуляции воспроизводительной функции организма [9, 10]. Гонадотропные гормоны гипофиза осуществляют регуляцию функции половых желез у млекопитающих. Многие вопросы, касающиеся становления гонадотропной функции гипофиза, изучены недостаточно [1-4]. В литературе отсутствуют сведения о морфологическом созревании гонадотропных эндокриноцитов гипофиза в постнатальном онтогенезе. Эти сведения имеют не только теоретическое, но и важное практическое значение.

Цель исследования – изучение микроскопических и электронномикроскопических особенностей гонадотропных эндокриноцитов у двух редких видов млекопитающих в постнатальном онтогенезе.

Материалы и методы исследования. Собран материал от самцов русской выхухолы (Хоперский заповедник) и самцов речных бобров (Воронежский заповедник). Материал использован от павших животных в первые часы после гибели животного. Фрагменты гипофизов фиксировали в жидкостях Штиве, Буэна, Ценкера. После обезвоживания материал заливали в парафин. Тонкие серийные срезы окрашивали гематоксилин-эозином, альдегидфуксином по Хэлми-Дыбану, азаном по Гейденгайну, применяли ШИК-реакцию, окраску трихром и тетрахром-ШИК. Проводили цитокариометрические исследования. С помощью винтового окуляр-микрометра измеряли диаметр ядер гонадотропных эндокриноцитов (100 измерений для каждого животного). По диаметру ядер вычисляли площадь ядер. Планиметрически определяли площадь клеток (100 измерений для каждого животного).

Подсчитывали количество гонадотропных клеток в 25 полях зрения при увеличении ок.16, об.90 (бинокуляр). При увеличении микроскопа ($\times 2160$), диаметр поля зрения составлял 80 мкм, площадь поля зрения – 5024 мкм².

Для электронной микроскопии образцы гипофиза фиксировали в 2,5%-ном глютаровом альдегиде на 0,1М коллидиновом буфере с $pH=7,3$ при температуре около 4°C. Последующую фиксацию материала осуществляли в 1%-ном осмиевом фиксаторе. Материал заключали в эпоксидную смолу эпон-812 и готовили срезы на ультрамикротоме БС-490 и ЛКБ-4800. Срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе «Тесла БС-500. Названия клеток гипофиза приведены в соответствии с гистологической номенклатурой [8].

Результаты цитокариометрии обрабатывали статистически с использованием t -критерия Стьюдента [5-7], так как распределения исследуемых показателей (площадь ядер и диаметр ядер) удовлетворяли двум обязательным условиям применения параметрического t -критерия Стьюдента: нормальность распределения в обеих группах сравнения и равенство двух генеральных дисперсий в группах сравнения. Мы использовали выражение $M \pm m$, где M – средняя арифметическая, m – ошибка средней арифметической. Различия между средними показателями считали статистически значимыми при уровне значимости $P<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Результаты цитокариометрических исследований представлены в табл. 1, 2. У новорожденных речных бобров количество гонадотропных эндокриноцитов составляет $4,8 \pm 0,18$ в одном поле зрения (площадь 5024 мкм²). Гонадотропоциты отличаются небольшой величиной. Площадь ядер составляет $25,8 \pm 0,87$ мкм², площадь цитоплазмы – $26,8 \pm 0,66$ мкм². Ядерно-цитоплазматическое отношение составляет 0,96.

У речных бобров в возрасте 6 месяцев по сравнению с новорожденными животными отмечается увеличение численности гонадотропных эндокриноцитов в 2,37 раза ($P<0,05$). Отмечается так же незначительное увеличение площади ядер в 1,07 раза ($P>0,05$) и площади цитоплазмы клеток в 1,59 раза

($P < 0,05$). Ядерно-цитоплазматическое отношение снижается на 32,2% по сравнению с новорожденными животными.

Таблица 1

Цитокариометрические показатели гонадотропных эндокриноцитов гипофиза речных бобров в постнатальном онтогенезе

	n	Количество клеток в одном поле зрения	Площадь гонадотропов		Ядерно-цитоплазматическое отношение
			Ядра клеток (мкм ²)	Цитоплазма клеток (мкм ²)	
15 дней	3	4,8±0,18	25,8±0,47	26,8±0,46	0,96
6 мес.	3	11,4±0,45*	27,8±0,45	42,7±0,45*	0,65
1 год	4	14,6±0,47*	29,6±0,47	51,0±0,37*	0,58
2 года	3	16,3±0,44	33,4±0,44 ^{x/}	59,8±0,44 ^{*/}	0,57

У речных бобров в возрасте одного года по сравнению с шестимесячными животными выявлено увеличение численности гонадотропных эндокриноцитов в 1,28 раза ($P < 0,05$). Площади ядер увеличиваются лишь в 1,06 раза ($P > 0,05$), площади цитоплазмы клеток – в 1,19 раза ($P < 0,05$). Ядерно-цитоплазматическое отношение снижается на 4,55% по сравнению с шестимесячными животными. На электронных микрофотограммах (рис. 1) гонадотропные эндокриноциты содержат многочисленные секреторные гранулы незрелого типа. Диаметр секреторных гранул варьирует от 120 до 140 нм.

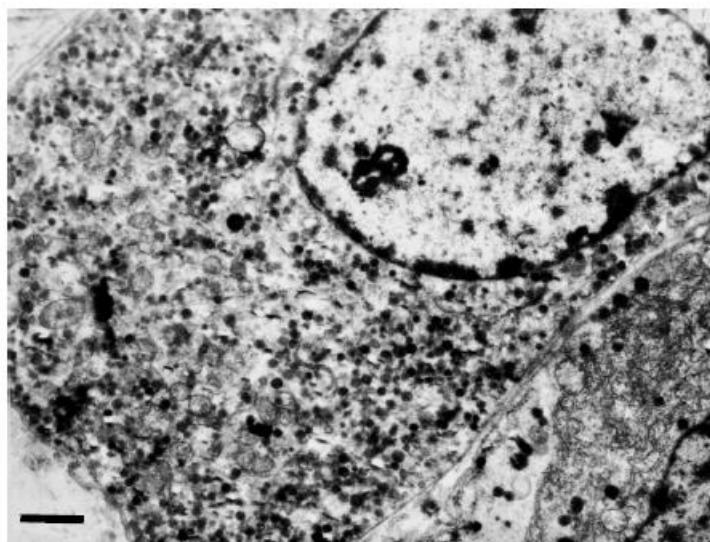


Рис. 1. Электронная микроскопия гонадотропного эндокриноцита гипофиза речного бобра. Возраст 1 год. Вверху справа расположено ядро. В цитоплазме видны многочисленные мелкие секреторные гранулы. Величина гранул 120-140 нм. Масштабный отрезок 1 мкм

У речных бобров в возрасте двух лет по сравнению с предыдущей возрастной группой выявлено увеличение численности гонадотропных эндокриноцитов в 1,11 раза ($P < 0,05$). Площадь ядер увеличивается в 1,12 раза ($P < 0,05$) и площади цитоплазмы клеток в 1,17 раза ($P < 0,05$). Ядерно-цитоплазматическое отношение остается без изменений. Электронномикроскопические исследования позволили установить, что гонадотропные эндокриноциты (рис. 2) содержат зрелые секреторные гранулы, диаметр которых достигает 160-180 нм. В этих клетках выявляется гипетрофированный комплекс Гольджи, многочисленные митохондрии.

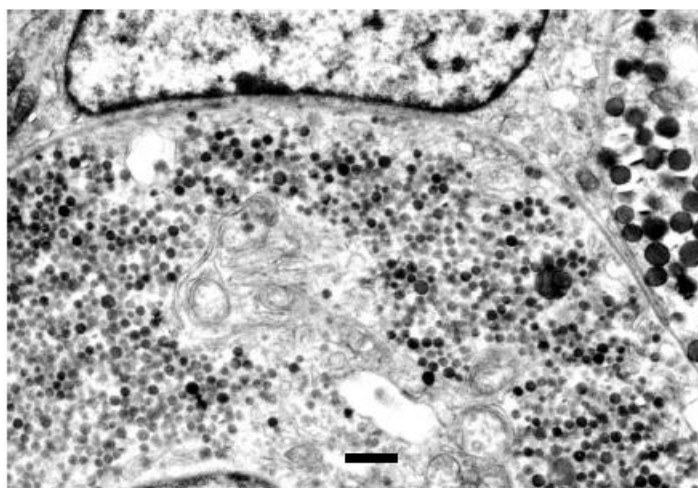


Рис. 2. Электронная микроскопия гонадотропного эндокриноцита гипофиза речного бобра. Возраст 2 года. Цитоплазма заполнена зрелыми секреторными гранулами величина которых достигает 160-180 нм. В центре расположены органеллы. Выделяется гипертрофированный комплекс Гольджи. Справа виден фрагмент соматотропного эндокриноцита с крупными секреторными гранулами, диаметр которых достигает 450-500 нм. Масштабный отрезок 1 мкм

У новорожденных самцов русской выхухоли количество гонадотропных эндокриноцитов составляет $3,8 \pm 0,15$ в одном поле зрения (площадь 5024 мкм^2). Площадь ядер составляет $26,8 \pm 0,77 \text{ мкм}^2$, площадь цитоплазмы – $30,1 \pm 0,56 \text{ мкм}^2$. Ядерно-цитоплазматическое отношение составляет 0.89.

Таблица 2

Цитокариометрические показатели гонадотропных эндокриноцитов гипофиза русской выхухоли в постнатальном онтогенезе

	n	Количество клеток в одном поле зрения	Площадь гонадотропов		Ядерно-цитоплазматическое отношение
			Ядра клеток (мкм^2)	Цитоплазма клеток (мкм^2)	
15 дней	3	$3,8 \pm 0,15$	$26,8 \pm 0,41$	$30,1 \pm 0,56$	0.89
6 мес.	3	$9,7 \pm 0,35^*$	$27,9 \pm 0,42$	$36,7 \pm 0,49$	0.76
1 год	4	$12,4 \pm 0,32^*$	$31,2 \pm 0,43^*$	$53,9 \pm 0,42^*$	0.56
2 года	3	$15,6 \pm 0,31^*$	$34,2 \pm 0,39^*$	$61,4 \pm 0,45^*$	0.54

У самцов русской выхухоли в возрасте 6 месяцев по сравнению с новорожденными отмечается увеличение численности гонадотропных эндокриноцитов в 2,55 раза ($P < 0,05$). Отмечается незначительное увеличение площади ядер в 1,04 раза ($P > 0,05$) и площади цитоплазмы клеток в 1,21 раза ($P < 0,05$). Ядерно-цитоплазматическое отношение снижается на 14,6% по сравнению с новорожденными животными. Гистологически хорошо выявляются гонадотропоциты в препаратах окрашенных альдегидфуксинном по Хэлми-Дыбану. Они имеют темнофиолетовую цитоплазму (рис. 3) Соматотропоциты окрашены в оранжевый цвет.

У самцов русской выхухоли в возрасте одного года по сравнению с шестимесячными численность клеток увеличивается в 1,27 раза ($P < 0,05$), площади ядер в 1,11 раза ($P < 0,05$), площади цитоплазмы клеток в 1,46 раза ($P < 0,05$). Ядерно-цитоплазматическое отношение уменьшается на 26,3% по сравнению с шестимесячными животными. В центре гипофиза выявляются гипертрофированные гонадотропные эндокриноциты (рис. 4).

У самцов русской выхухоли в возрасте двух лет по сравнению с предыдущей возрастной группы выявлено увеличение численности гонадотропных эндокриноцитов на 1,25 раза ($P < 0,05$). Площадь ядер увеличивается в 1,09 раза ($P < 0,05$) и площадь цитоплазмы клеток – в 1,13 раза ($P < 0,05$). Ядерно-цитоплазматическое отношение остается без изменений.

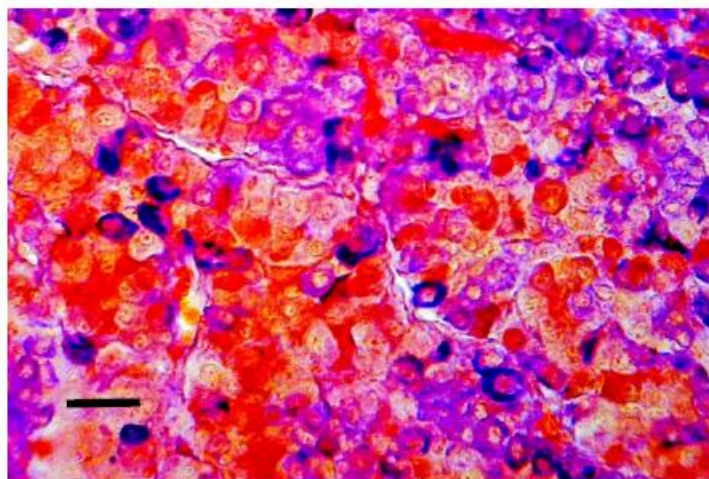


Рис. 3. Гипофиз русской выхухоли. Возраст 1 год. Видны оранжевые соматотропные эндокриноциты и темнофиолетовые гонадотропные эндокриноциты. Фиксация: жидкость Штыве. Окраска альдегид – фуксином по Хэлми-Дыбану. Масштабный отрезок 25 мкм

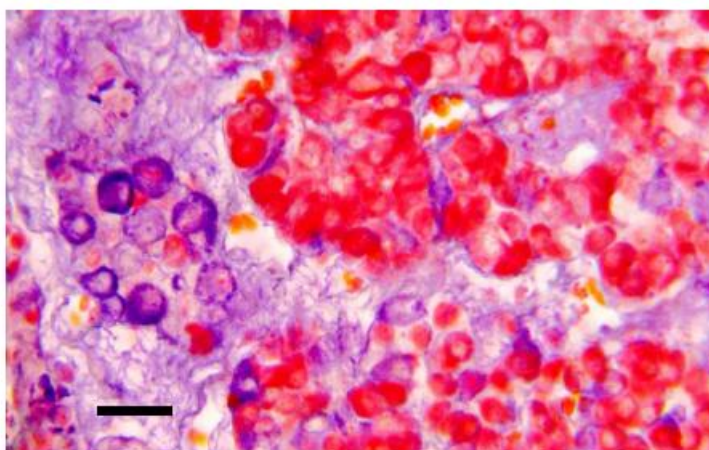


Рис. 4. Гипофиза половозрелой русской выхухоли. Возраст 2 года. Видны оранжевые соматотропные эндокриноциты. Справа небольшая группа гонадотропных эндокриноцитов, окрашенных в темнофиолетовый цвет. Фиксация: жидкость Штыве. Окраска альдегид – фуксин по Хэлми-Дыбану. Масштабный отрезок 50 мкм

Заключение. На основании проведенных исследований нами установлено, что морфологическое созревание гонадотропных эндокриноцитов завершается у речных бобров и русской выхухоли в возрасте двух лет. Отмечается максимальное увеличение численности гонадотропных эндокриноцитов, максимальное увеличение площади ядер и цитоплазмы клеток. Электронномикроскопически в цитоплазме гонадотропных клеток выявляется максимальное количество зрелых секреторных гранул, диаметр которых достигает 160-180 нм.

Литература

1. Богданов А.В. Роль тракционного механизма в реализации формообразовательных процессов развития гипофиза человека // Морфология 2009. Т. 136? №3. С. 15–17.
2. Загребин В.Л., Бойко А.С., Иванова Д.П. Сравнительная микроморфология хромофильных клеток аденогипофиза в норме и при хроническом психоэмоциональном и смешанном стрессах в раннем постнатальном онтогенезе белых крыс // Бюл. Волгогр. научного центра РАМН и администрации Волгогр. обл. 2007. № 2. С. 25–26.
3. Загребин В.Л., Капитонова М.Ю., Морозова З.Ч., Смирнова Т.С. Морфо-функциональные аспекты постстрессовой адаптации гипофизарнонадпочечниковой системы растущего организма // Вестник Волгоградского мед. ун-та. 2007. № 3. С. 64–67.

4. Котарев В.И., Ульянов А.Г., Торгун П.М. Гистохимические и электронно-микроскопические исследования соматропных, тиротропных и хромофобных эндокриноцитов гипофиза в различные сезоны года // Журнал анатомии и гистопатологии. 2014. Т. 3, № 4. С. 39–42.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. 291 с.
6. Снедекор Дж. У.. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. М.: Сельскохозяйственная литература, 1961. 505 с.
7. Урбах В.Ю. Биометрические методы. М.: Наука, 1964. 415 с.
8. Terminologia Histologica. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов / под ред. Банин В.В., Быков В.Л. М., 2009. 162 с.
9. Reyes R.T., Rizzoti K., Dattani M., Lovell-Badge R., Robinson Iain C.A. F.. SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105, №8. С. 2907–2912.
10. Rizzoti K. Adult pituitary progenitors/stem cells: From in vitro characterization to in vivo function // Eur. J. Neurosci. 2010. Vol. 32, № 2. С. 2053–2062.

References

1. Bogdanov AV. Rol' traktionnogo mehanizma v realizacii formoobrazovatel'nyh processov razvitiya gipofiza cheloveka [The role of the traction mechanism in the implementation of the formative processes of the development of the human pituitary gland]. Morphology 2009;136(3):15-7. Russian.
2. Zagrebin VL, Boyko AS, Ivanova DP. Sravnitel'naja mikromorfologija hromofil'nyh kletok adenogipofiza v norme i pri hronicheskom psihojemocional'nom i smeshannom stressah v rannem postnatal'nom ontogeneze belyh krysov [Comparative micromorphology of chromophilic cells of the adenohypophysis in normal conditions and in chronic psychoemotional and mixed stress in the early postnatal ontogenesis of white rats]. Bul. Volgogr. scientific. center of RAMS and administration of Volgograd. region 2007;2:25-6. Russian.
3. Zagrebin VL, Kapitonova MYu, Morozova ZCh, Smirnova TS. Morfo-funkcional'nye aspekty poststresovoj adaptacii gipofizarnadpochechnicovoj sistemy rastushhego organizma [Morpho-functional aspects of post-stress adaptation of the pituitary-adrenal system of a growing organism]. Vestnik Volgogr. honey. un-that. 2007;3:64-7. Russian.
4. Kotarev VI, Ulyanov AG, Torgun PM. Gistohimicheskie i jelektronno-mikroskopicheskie issledovaniya somatropnyh, tirotropnyh i hromofobnyh jendokrinocitov gipofiza v razlichnye sezony goda [Histochemical and electron microscopic studies of somatropic, thyrotropic and chromophobic endocrinocytes of the pituitary gland in different seasons of the year]. Journal of Anatomy and Histopathology. 2014;3(4):39-42. Russian.
5. Lakin GF. Biometrija [Biometrics]. Moscow: Higher school; 1980. Russian.
6. Snedecor JW. Statisticheskie metody v primenenii k issledovanijam v sel'skom hozjajstve i biologii [Statistical methods as applied to research in agriculture and biology]. Moscow: Agricultural literature; 1961. Russian.
7. Urbach VYu. Biometricheskie metody [Biometric Methods]. Moscow: Science; 1964. Russian.
8. Terminologia Histologica. Mezhdunarodnye terminy po citologii i gistologii cheloveka s oficial'nym spisikom russkih jekvivalentov [International terms in human cytology and histology with an official list of Russian equivalents]. Banin VV, Bykov VL. (ed.). Moscow; 2009.
9. Reyes RT, Rizzoti K, Dattani M, Lovell-Badge R, Robinson Iain CAF. SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2008;105(8):2907-12.
10. Rizzoti K. Adult pituitary progenitors / stem cells: From in vitro characterization to in vivo function. Eur. J. Neurosci. 2010;32(2):2053-62.

Библиографическая ссылка:

Воронцова З.А., Торгун П.М., Алексеева Н.Т., Ульянов А.Г., Лободин К.А., Ульянов И.А., Лозовая Е.Г., Мозговая Е.И. Становление гонадотропной функции гипофиза у двух редких видов млекопитающих // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2022. №1. Публикация 3-5. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-1/3-5.pdf> (дата обращения: 04.02.2022). DOI: 10.24412/2075-4094-2022-1-3-5*

Bibliographic reference:

Vorontsova ZA, Torgun PM, Alekseeva NT, Ulianov AG, Lobodin KA, Ulianov IA, Lozovaya EG, Mozgovaya EI. Stanovlenie gonadotropnoj funkcii gipofiza u dvuh redkih vidov mlekopitajushhih [Formation of the gonadotropic function of the pituitary gland in two rare mammalian species]. Journal of New Medical Technologies, e-edition. 2022 [cited 2022 Feb 04];1 [about 6 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-1/3-5.pdf>. DOI: 10.24412/2075-4094-2022-1-3-5

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-1/e2022-1.pdf>