

УДК 591.481.2:615.275

© И. В. Бобрышева, 2013

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОРТИКОТРОПНЫХ ЭНДОКРИНОЦИТОВ АДЕНОГИПОФИЗА БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ИМУНОФАНА

И. В. Бобрышева

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. – проф.), ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Луганск E-mail: inessa_lug@mail.ru

STRUCTURAL CHANGES OF CORTICOTROPIC CELLS OF PITUITARY GLAND AFTER EXPERIMENTAL IMMUNOSTIMULATION

I. V. Bobrysheva

SUMMARY

The purpose of the research was to determine the structural changes of corticotropic cells of pituitary glands of mature white laboratory rats after Immunofan application in a dosage of 0.7 mg/kg of body weight. The pituitary samples were taken on the 1st, 7th, 30th, 60th, and 90th day after treatment. The research has shown with a high degree of validity that introduction of the immunomodulator Immunofan causes changes of the structural, cytological and cytometric parameters of corticotropic cells of the pituitary gland of mature white rats, which testifies to their active reaction on exogenous influence. The dynamics of changes of the areas of nuclei, nuclear-cytoplasmic ratio, and the percent correlation of corticotropic cells with the different diameters of their nuclei of the pars distalis of the pituitary gland manifests an increase of functional activity of these cells of the pituitary gland.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КОРТИКОТРОПНИХ ЕНДОКРИНОЦИТІВ АДЕНОГИПОФИЗА БІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОФАНА

I. В. Бобрышева

РЕЗЮМЕ

Метою презентованого дослідження було встановити динаміку змін будови кортикотропних ендокриноцитів аденогіпофіза білих лабораторних щурів репродуктивного періоду після введення імунофана в дозі 0,7 мг/кг маси тіла. Щурів виводили з експерименту на 1, 7, 30, 60 і 90 діб спостереження. Проведене дослідження з високою мірою вірогідності показало, що у відповідь на введення імуномодулятора імунофана спостерігається зміна цитологічних і каріометричних параметрів кортикотропних ендокриноцитів аденогіпофіза щурів репродуктивного періоду, що свідчить про їх активну реакцію на екзогенну дію. Динаміка зміни площ ядер, ядерно-цитоплазматичного співвідношення, а також процентного співвідношення кортикотропних ендокриноцитів з різним діаметром ядер дистальної частини аденогіпофіза свідчить про появу ознак підвищення функціональної активності даних кліток аденогіпофіза.

Ключевые слова: крысы, аденогипофиз, кортикотропные эндокриноциты, имунофан.

В последнее десятилетие в теоретической медицине и клинической практике выделено новое направление — нейроиммуноэндокринология [6, 10, 11, 12]. В настоящее время считается доказанной неспецифическая регуляция иммунологических функций организма с помощью эндокринной системы [4, 9]. Для многих физиологических систем организма присущ многоуровневый принцип регуляции [5]. Процесс иммуногенеза состоит из двух основных этапов. На первом этапе происходит взаимодействие лимфоцитов с антигеном, что является специфической функцией иммунной системы. Второй этап начинается после распознавания антигена и характеризуется созреванием Т- и В-лимфоцитарных клонов и подвержен экзогенным воздействиям, в том числе регулируемому влиянию нейрогормональной системы. Реализация этого влияния осуществляется посредством гуморальных факторов, нейромедиаторов, гормонов, в том числе и гормонов аденогипофиза. В сущности, тесные взаимодействия аденокортикотропного гормона (АКТГ) с иммунной системой положили начало

исследованиям роли эндокринной системы в регуляции иммунного ответа [1, 2, 13, 14].

Исследования, проведенные в последние годы во многих странах мира, позволили разработать и внедрить в клиническую практику новые комплексные подходы в лечении и профилактике различных нозологических форм заболеваний с использованием иммуностропных препаратов направленного действия.

Однако среди большого количества информации в доступной в литературе мы не найдено достаточного уровня освещенности проблемы строения аденогипофиза после применения современных иммуностропных средств нового поколения, созданных с использованием нанотехнологий.

Цель — выявление особенностей структурной перестройки кортикотропных эндокриноцитов дистальной части аденогипофиза крыс-самцов репродуктивного периода после применения имунофана, который является иммуностропным препаратом нового поколения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен в сертифицированной гистологической лаборатории ГЗ «Луганский государственный медицинский университет». Исследование проведено на 60 половозрелых белых беспородных крысах-самцах репродуктивного периода, полученных из вивария лабораторных животных ГЗ «Луганский государственный медицинский университет». Эксперимент проводили с соблюдением всех действующих этических норм при работе с подопытными животными, изложенными в публикации «Этические вопросы использования животных в учебной работе и научных исследованиях» (1998), а также в Законе Украины «О защите животных от жестокого поведения» (2006).

Имунофан является представителем IV поколения производных тимических гормонов, созданным с помощью нанотехнологий [7]. Препарат вводился по схеме на 1, 3, 5, 7, 9 сутки эксперимента в дозе 0,7 мкг/кг массы тела животного. Контролем служили крысы, получавшие 0,9% раствор натрия хлорида в эквивалентных объёмах. Животных выводили из эксперимента через 1, 7, 30, 60 и 90 суток после прекращения введения препарата. Гипофиз измеряли и взвешивали. Материал фиксировали в 10% нейтрального формалина, подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы органа толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином-эозоном, а также по методу Маллори. Кроме общепринятых гистологических методов изучения препаратов под световым микроскопом проводили морфометрическое исследование: цитометрию с определением диаметров, площади клеток, их ядер, а также площади цитоплазмы с последующим вычислением ядерно-цитоплазматического соотношения, определяли процентное соотношение кортикотропных эндокриноцитов аденогипофиза с различным диаметром ядер.

Комплекс гистологических и морфометрических исследований проводился с использованием компьютерной программы «Morpholog» [8]. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных статистических программ «Statistika 6.0 for Windows». Достоверность отличий средних величин определяли по критерию Стьюдента-Фишера t при $p < 0,05$. Все измерения и исследования осуществлялись на оборудовании, прошедшем метрологическую поверку и экспертизу.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гипофиз располагается на вентральной поверхности мозга в основании черепа на дне турецкого седла. Дистальная часть аденогипофиза представлена компактно размещенными эндокриноцитами и стромой, которая состоит из тонких соединительнотканых септ и кровеносных сосудов с умеренным кровенаполнением. В просветах капилляров отмечалась наличие форменных элементов

и плазмы крови. Все эндокриноциты по форме, размерам и характеру цитоплазмы можно разделить в соответствии с современной гистологической номенклатурой [3] на несколько типов: хромофобные, ацидофильные и базофильные. Основную массу клеток интактных крыс составляют хромофобы (55,0%), которые, как известно, являются предшественниками большинства эндокриноцитов аденогипофиза, в том числе и кортикотропных. Меньшая часть была представлена ацидофильными клетками — 32,0%. Базофильные клетки составляют всего 13,0%.

Один из видов базофильных эндокриноцитов — кортикотропные — расположены вблизи капилляров поодиночке, реже небольшими группами, состоящими из 2–3 клеток. Эти клетки, как правило, округлой формы с эксцентрично расположенным сферической или овоидной формы ядром и интенсивно окрашенной базофильной цитоплазмой.

Количественные методы исследования позволяют объективно оценить морфофункциональное состояние изучаемых клеток и тканей в норме, а также динамику изменения их строения в ответ на различные влияния на организм.

Диаметр, площадь ядра, а также показатель ядерно-цитоплазматического соотношения являются объективными критериями интенсивности синтетических процессов в клетке. Сопоставление данных показателей у экспериментальных и контрольных животных дает возможность оценить степень функциональной активности кортикотропных эндокриноцитов аденогипофиза в условиях введения имунофана.

Площадь ядер кортикотропных эндокриноцитов аденогипофиза животных экспериментальных групп в начале наблюдения (1 сутки) составляла $31,07 \pm 1,65 \text{ мкм}^2$. В дальнейшем этот показатель увеличивался, на 30 сутки после введения имунофана он составлял $38,59 \pm 1,59 \text{ мкм}^2$, через 60 суток — $43,36 \pm 1,88 \text{ мкм}^2$, вновь снижаясь к концу эксперимента (90 суток) до $32,67 \pm 1,92 \text{ мкм}^2$. Динамика ядерно-цитоплазматического соотношения имеет аналогичную направленность с изменением площади ядер клеток (табл.).

У контрольных животных преобладают кортикотропные эндокриноциты с диаметрами ядер от 6,25 до 6,38 мкм, предположительно это клетки с умеренным уровнем функциональной активности. Процентное соотношение клеток с ядрами различного диаметра животных контрольной и экспериментальных групп показано на рис.

Анализ представленной гистограммы показывает, что у животных, выведенных из эксперимента через 1 сутки после введения имунофана, преобладают клетки с умеренной степенью функциональной активности. Через 7 суток после введения имунофана, выявляется увеличение количества клеток, имеющие средний диаметр ядер $6,31 \pm 0,13$

Таблица

Средние значения морфометрических показателей кортикотропных эндокриноцитов аденогипофиза крыс-самцов репродуктивного возрастного периода контрольной группы и после введения имунофана в различные сроки эксперимента (M+m)

Группы	Сроки в сутках	Морфометрические показатели				
		Диаметр ядра, (мкм)	Площадь ядра (мкм ²)	Площадь цитоплазмы (мкм ²)	Площадь клетки (мкм ²)	Ядерно-цитоплазматическое соотношение
Контроль	1	6,25±0,02	30,38±1,65	75,49±3,55	105,87±1,24	0,402±0,01
	7	6,35±0,01	31,66±1,76	77,79±3,85	107,45±1,01	0,407±0,01
	30	6,29±0,01	31,12±1,65	78,93±3,47	110,05±1,31	0,394±0,01
	60	6,31±0,01	31,17±1,88	78,40±3,48	109,57±1,29	0,398±0,01
	90	6,38±0,01	31,95±1,45	69,48±3,78	101,43±3,98	0,460±0,01
Введение имунофана	1	6,29±0,05*	31,07±1,65	75,10±3,62	106,17±6,24	0,414±0,01*
	7	6,31±0,02	31,99±1,32	80,58±3,76	111,85±5,42*	0,397±0,01*
	30	7,01±0,01*	38,59±1,59*	72,25±3,11*	110,84±6,05	0,534±0,02*
	60	7,43±0,02*	43,36±1,88*	68,08±3,72*	111,44±6,23*	0,637±0,02*
	90	6,45±0,015*	32,67±1,92	77,78±3,76*	110,45±5,47*	0,420±0,01*

Примечание: * — отличия достоверны по сравнению с контролем (P < 0,05).

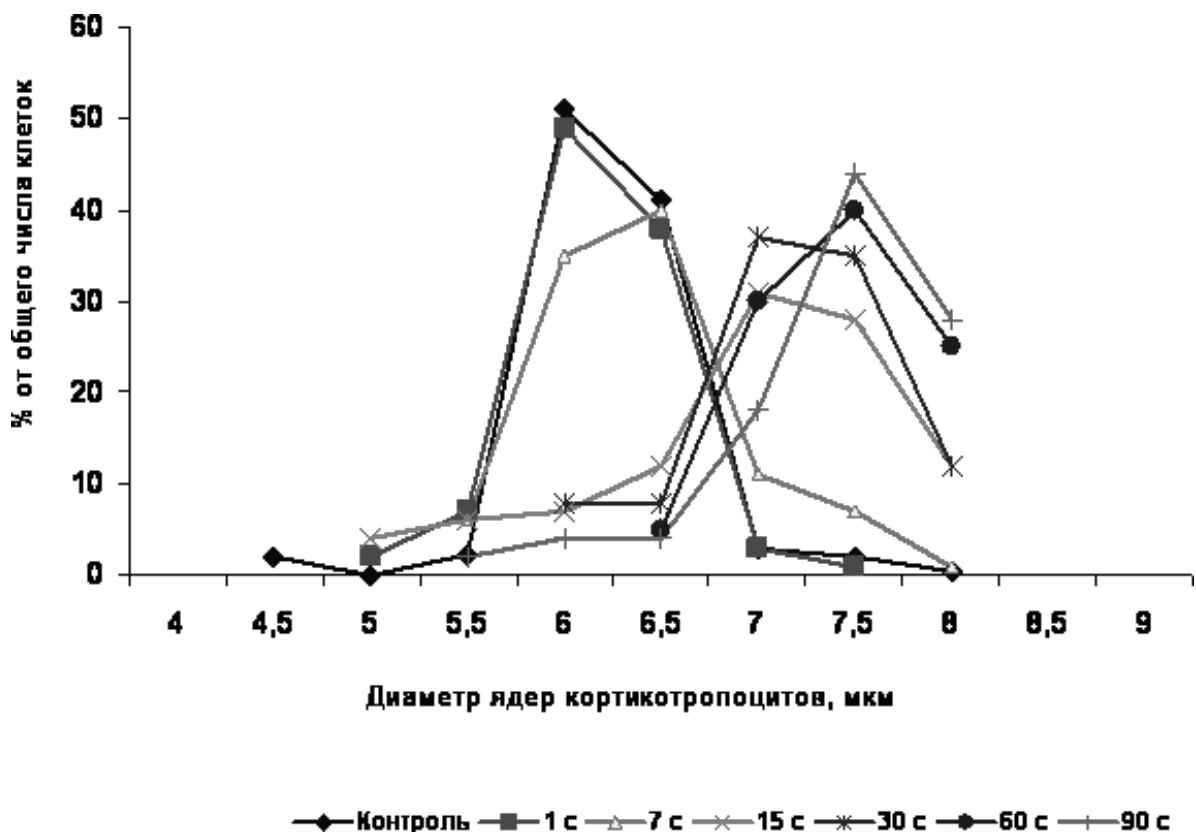


Рис. Процентное соотношение кортикотропоцитов с различным диаметром ядер контрольных животных и в различные сроки после введения имунофана

мкм. Изучение этого показателя в кортикотропцитах аденогипофиза крыс, выведенных из эксперимента через 30 и 60 суток, показывает, что среди клеток изучаемой группы большое содержание занимают клетки с более крупными ядрами – $38,59 \pm 1,59$ мкм и $43,36 \pm 1,88$ мкм соответственно. Эти данные могут свидетельствовать о повышении синтетической активности изучаемых эндокринных клеток аденогипофиза в определенные сроки эксперимента.

ВЫВОДЫ

1. В ответ на введение имунофана наблюдается изменение морфометрических показателей кортикотропных эндокриноцитов аденогипофиза крыс репродуктивного периода, что свидетельствует об их активной реакции на экзогенное воздействие.

2. Динамика изученных цито- и кариометрических параметров свидетельствует о появлении признаков функциональной активности кортикотропных эндокриноцитов аденогипофиза в средние и поздние сроки эксперимента.

Перспективы дальнейших разработок в данном направлении

В дальнейшем планируется изучение морфометрических особенностей эндокриноцитов аденогипофиза крыс неполовозрелого возраста, а также периода выраженных старческих изменений.

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Особливості будови організму імунної та ендокринної систем при імуностимуляції та імносупресії» (государственный регистрационный номер 0112U000096).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобынцев И. И. Морфологические изменения в органах иммунной и эндокринной систем стрессированных мышей после введения аналога гонадотропин-рилизинг гормона/Бобынцев И. И., Должиков А. А., Северьянова Л. А.//Бюл. экспер. биол. и мед. 2007. — Т. 144, № 11.- С. 590–593.

2. Гадиева Ф. Г. Взаимосвязь иммунной и эндокринной систем у женщин репродуктивного возраста//Акушерство и гинекология. — 2001.-N 1.- С. 11–13.

3. Чайковский Ю. Б. Гістологічна номенклатура. Міжнародні терміни з цитології та гістології людини/ Чайковский Ю. Б., Луцик О. Д.. — Київ: Медицина, 2010. — 283 с.

4. Евсеев В. А. Антитела к нейромедиаторам в механизмах нейроиммуно-патологии. — М.: Из-

дательство РАМН, 2007. — 148 с.

5. Пути взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем в регуляции функций организма/ Казаков В. Н., Снегирь М. А., Снегирь А. Г. и др.//Архив клинической и экспериментальной медицины. — 2004. — Том 13, № 1–2. — С. 3–10.

6. Кузнецов С. Д. Стресс и нейроэндокринная система: современные морфо-функциональные аспекты/Кузнецов С. Д., Капитонова М. Ю., Дегтярь Ю. В. и др.//Вестн. Волгоградского гос. мед. ун-та. — 2008. — N 2. — С. 10–16.

7. Лебедев В. В. Имунофан — синтетический пептидный препарат нового поколения/В. В. Лебедев, В. И. Покровский//Вестник РАМН. — 1999. — № 4. — С. 56–61.

8. Овчаренко В. В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Master of Morphology»/В. В. Овчаренко, В. В. Маврич//Свід. про реєстрацію авт. права на винахід № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.

9. Рыбакина Е. Г. Физиологическая роль интерлейкина-1 в механизмах развития стрессорной реакции./Рыбакина Е. Г., Корнева Е. А.//Мед. акад. журн. — 2002. — Т. 2, № 2. — С. 4–17.

10. Тыртышная Г. В. Взаимосвязь нарушений иммунной и эндокринной систем при аутоиммунной патологии/Тыртышная Г. В., Парохонский А. П.//Современные наукоемкие технологии. — 2007. — № 2. — С. 80–81.

11. Шаймарданова Л. Р. Стволовая система/Шаймарданова Л. Р., Пикалюк В. С.//Морфологія. —2008. — Т. 2, № 1. — С. 16–21.

12. How the immune and the neuroendocrine systems talk to each other/Di Comite G, Grazia Sabbadini M, Corti A. et al.//Autoimmun Rev. —2007. — № 7 (1). — P. 23–9.

Interferon- γ inhibits cellular proliferation and ACTH production in corticotroph tumor cells through a novel janus kinases–signal transducer and activator of transcription 1 nuclear factor-kappa B inhibitory signaling pathway/Marta Labeur, Damian Refojo, Barbara Wolfel et al.//Journal of Endocrinology. — 2008. — 199. — P. 177–189.

13. Effect of Interferon- Treatment on 24-Hour Variations in Plasma ACTH, Growth Hormone, Prolactin, Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone of Male Rats/Pilar Canoa, Daniel P. Cardinalic, Vanessa Jimenez et al.//Neuroimmunomodulation. — 2005. — № 12. — P.146–151.