

УДК 612.432

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ НЕЙРОСЕКРЕТОРНОЇ РЕЧОВИНИ В ЗАДНІЙ ЧАСТЦІ ГІПОФІЗА ПРИ ВПЛИВІ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ

І. І. Герзанич, Л. П. Лисюк

Відділ гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР;
відділ загальних механізмів канцерогенезу Інституту проблем онкології АН УРСР, Київ

Одним з важливих показників, що відбивають функціональний стан гіпоталамо-гіпофізарної нейросекреторної системи (ГНС) є вміст нейросекреторної речовини (НСР) в різних її відділах. Найбільш чітко характеризує функціональний стан ГНС дистальний відділ нейрогіпофіза, який є своєрідним депо НСР. Багата васкуляризація задньої частки гіпофіза при необхідності забезпечує умови для швидкого виведення великої кількості нейрогормонів, які містяться в НСР, у загальне кров'яне русло.

Поряд з існуючою візуальною оцінкою вмісту НСР, яка має дещо суб'єктивний характер, останнім часом набувають широкого розповсюдження кількісні гістохімічні методи, які дозволяють перебороти труднощі візуальної оцінки [2, 3, 4, 6].

Ми проводили спектрофотометричне визначення концентрації НСР в задній частці гіпофіза при впливі на організм гострої гіпоксії різного ступеня.

Методика досліджень

Досліди проведені на білих щурах-самцях лінії Вістар тримісячного віку в осінньо-зимовому періоді. Стан кисневої недостатності в організмі тварин створювався в барокамері з проточно-витяжною вентиляцією. Піддослідних тварин поділили на три групи. Тварини кожної з груп знаходились в барокамері одноразово, на протязі 1 год на одній з «висот»: I група на «висоті» 4000 м (pO_2 98 мм рт. ст.), II група на «висоті» 7000 м (pO_2 64 мм рт. ст.); III група на «висоті» 10000 м (pO_2 41 мм рт. ст.). Для вивчення динаміки змін концентрації НСР, декапітацію тварин здійснювали в різні проміжки часу після впливу гіпоксії (зразу після досліду, через 20 хв, 1, 6 і 12 год). Гіпофіз фіксували в рідині Буена. Серійні парафін-целоїдинові зрізи для спектрофотометрії забарвлювали паральдегід-фуксином (ПАФ) за Гоморі — Габу без дофарбування азокарміном [4]; одночасно проводили забарвлення за Гоморі — Габу з дофарбуванням азокарміном для світлової мікроскопії. З допомогою мікроскопа МИС-11 перед забарвленням визначали товщину кожного фотометрованого зрізу. Товщина зрізів коливалась в межах 5,3—6,8 мк. В кожній серії контрольної і піддослідної груп фотометрували 24 серійні зрізи. З допомогою мікроспектрофотометра МУФ-5 визначали оптичну щільність ПАФ забарвленої нейросекреторної речовини методом сканування, який дозволяє уникнути помилки, зумовленої нерівномірністю розподілу НСР. Довжина хвилі $\lambda = 546$ мкм, в якій провадили вимірювання, була постійною, оскільки вона відповідає максимуму поглинання світла для даного барвника [1]. Діаметр зонда ~ 1 мк.

Концентрацію визначали за формулою оптичної щільності:

$$D = k\lambda \times C \times h; \quad (1)$$

де h — товщина зрізу; $k\lambda$ — коефіцієнт поглинання (для даної довжини хвилі величина постійна), C — концентрація речовини.

З (1) виходить

$$C_i = \frac{D_i}{k\lambda h_i}. \quad (2)$$

Як видно з формули (1), про динаміку змін кількості НСР концентрації вздовж лінії скаг. Кожне значення концентрації і чень концентрації в малих чис опрацьовані статистично.

Контролем у наших дослі рокамері на протязі 1 год. Пр вали в різний час доби: о 9— і піддослідних тварин співпада час доби були повідомлення, ритмі [1,5]. Попереднє розміще без утворення умов гіпоксії, ритм штучного освітлення бар

Результат

Нами встановлено, щ зміни концентрації НСР в наступні проміжки часу

Так, внаслідок пере 4000 м, як видно з таблиц центрація її статистично рівнянні з контрольними вого, або повного позбав розширеннях нейросекрет них ділянках частки. Вон дані посередньо свідчать ся в НСР, в судини загал

Середня концентрація н

Характер досліду

Контроль

Вплив гіпоксії на про зі 1 год на «висоті» 4000

Вплив гіпоксії на про зі 1 год на «висоті» 7000

Вплив гіпоксії на про зі 1 год на «висоті» 10000

УДК 612.432

ВІЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ
В ЗАДНІЙ ЧАСТЦІ ГІПОФІЗА
ГРОЇ ГІПОКСІЇ

І. П. Лисюк

огій ім. О. О. Богомольця АН УРСР;
Інституту проблем онкології АН УРСР, Київ

відбивають функціональний стан
ної системи (ГГНС) є вміст ней-
їх її відділах. Найбільш чітко ха-
С дистальний відділ нейрогіпофі-
та васкуляризація задньої частки
умови для швидкого виведення
істяться в НСР, у загальне кро-

ною вмісту НСР, яка має дещо
набувають широкого розповсюд-
ї дозволяють перебороти трудно-

не визначення концентрації НСР
організм гострої гіпоксії різного

досліджень

ліній Вістар тримісячного віку в осінньо-
в організмі тварин створювався в баро-
дослідних тварин поділили на три групи.
рі одноразово, на протязі 1 год на одній
мм рт. ст.), II група на «висоті» 7000 м
0 м (рО₂ 41 мм рт. ст.). Для вивчення
тварин здійснювали в різні проміжки
через 20 хв, 1, 6 і 12 год). Гіпофіз фік-
сировані зрізи для спектрофотометрії за-
оморі — Габу без дофарбування азокар-
а Гоморі — Габу з дофарбуванням азо-
мікроскопа МІС-11 перед забарвленням
зрізу. Товщина зрізів коливалась в ме-
піддослідної груп фотометрували 24 се-
ра МУФ-5 визначали оптичну щільність
етодом сканування, який дозволяє уник-
розподілу НСР. Довжина хвилі $\lambda =$
ла постійною, оскільки вона відповідає
ника [1]. Діаметр зонда ~ 1 мк.
чної щільності:

$$\times h; \quad (1)$$

ня (для даної довжини хвилі величина

$$- \quad (2)$$

Як видно з формули (1), оптична щільність залежить від змінних величин і судити про динаміку змін кількості НСР важко. Через це ми визначали середнє значення її концентрації вздовж лінії сканування, що відповідає концентрації для зрізу в цілому. Кожне значення концентрації збільшено в 10^3 раз (з метою уникнення вираження значень концентрації в малих числах) і представлено в умовних одиницях. Одержані дані опрацьовані статистично.

Контролем у наших дослідженнях були тварини, які заздалегідь перебували в барокамері на протязі 1 год. Проте умови гіпоксії для них не створювали, а потім захищали в різний час доби: о 9—10, 15—16, 21—22 год. Строки декапітації контрольних і піддослідних тварин співпадали. Обґрунтуванням забою контрольних тварин в різний час доби були повідомлення, що стосується коливання активності ГГНС в добовому ритмі [1,5]. Попереднє розміщення контрольних тварин в барокамері на протязі 1 год, без утворення умов гіпоксії, проводили з урахуванням можливого впливу на добовий ритм штучного освітлення барокамери, незвичайної обстановки для тварин.

Результати досліджень та їх обговорення

Нами встановлено, що в задній частці гіпофіза відбуваються значні зміни концентрації НСР як безпосередньо після впливу гіпоксії, так і в наступні проміжки часу після досліді.

Так, внаслідок перебування тварин в умовах гіпоксії на «висоті» 4000 м, як видно з таблиці, відбувається зменшення кількості НСР. Концентрація її статистично вірогідно зменшилась на 10,8% (рис. 1) в порівнянні з контрольними показниками. Це виникло за рахунок часткового, або повного позбавлення НСР в основному в дрібних і середніх розширеннях нейросекреторних волокон, що містяться в дорсо-латеральних ділянках частки. Вони прилягають до гіперемійованих капілярів. Ці дані посередньо свідчать про активний вихід нейрогормонів, що містяться в НСР, в судини загального кров'яного русла.

Середня концентрація нейросекреторної речовини в задній частці гіпофіза
(в умовних одиницях)

Характер досліді	Строк декапітації тварин в контролі і досліді	Середня концентрація НСР	Вірогідність відмінності між концентрацією в різний час доби; між контролем і дослідом, р
Контроль	9—10 год	76,1 $\pm$ 1,87	<0,001
	15—16 год	56,8 $\pm$ 1,01	<0,01
	21—22 год	61,8 $\pm$ 1,36	<0,001
Вплив гіпоксії на протязі 1 год на «висоті» 4000 м	Зразу	67,9 $\pm$ 0,68	<0,001
	20 хв	72,0 $\pm$ 1,23	<0,1
	1 год	80,6 $\pm$ 0,66	<0,05
	6 год	77,3 $\pm$ 0,65	<0,001
	12 год	73,4 $\pm$ 1,16	<0,001
Вплив гіпоксії на протязі 1 год на «висоті» 7000 м	Зразу	62,6 $\pm$ 0,90	<0,001
	20 хв	66,7 $\pm$ 1,41	<0,001
	1 год	74,1 $\pm$ 0,71	<0,5
	6 год	71,0 $\pm$ 1,69	<0,001
	12 год	67,1 $\pm$ 1,70	<0,01
Вплив гіпоксії на протязі 1 год на «висоті» 10000 м	Зразу	60,2 $\pm$ 0,72	<0,001
	20 хв	64,4 $\pm$ 1,23	<0,001
	1 год	70,8 $\pm$ 1,39	<0,05
	6 год	67,4 $\pm$ 1,22	<0,001
	12 год	63,5 $\pm$ 1,57	<0,5

В наступні проміжки часу (через 20 хв, 1, 6, 12 год) після впливу відбувається збільшення концентрації НСР. При цьому вже через 20 хв після впливу концентрація її майже не відрізняється від контрольних показників. При світловій мікроскопії препаратів спостерігаються

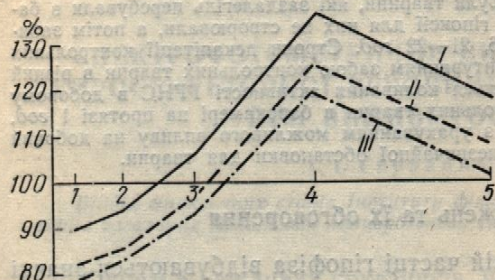


Рис. 1. Зміни концентрації нейросекреторної речовини в задній частці гіпофіза під впливом гіпоксії (в % до контрольного рівня).

Концентрація нейросекреторної речовини після впливу гіпоксії на «висотах» I — 4000 м, II — 7000 м, III — 10 000 м. Час декapітації тварин: I — зразу після впливу гіпоксії, 2 — через 20 хв, 3 — через 1 год, 4 — через 6 год, 5 — через 12 год.

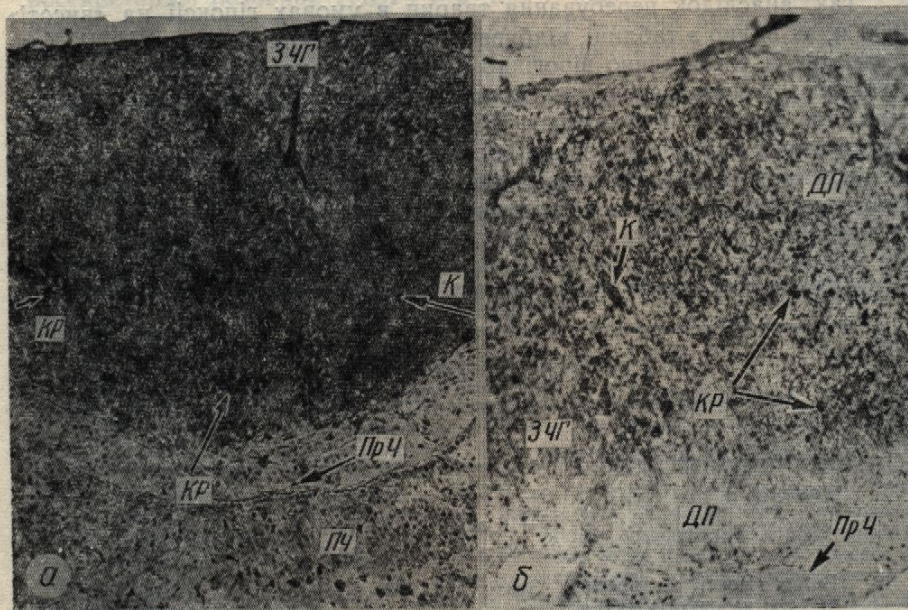


Рис. 2. Задня частка гіпофіза контрольних тварин (а) і тварин, забитих зразу після впливу гіпоксії на «висоті» 10 000 м (б).

ПЧ — передня частка, ПрЧ — проміжна частка, ЗЧГ — задня частка гіпофіза, КР — крупні розширення, ДП — ділянки просвітлення, К — капіляри. Паральдегід = фуксин + азокармін. Ок. $\times 10$, об. $\times 10$.

численні дрібні, середні, крупні та гігантські розширення нейросекреторних волокон, що містять гоморі-позитивні гранули (ГПГ), які розміщені більш менш рівномірно по всій частці. Спустошених розширень незначна кількість. Капіляри помірно розширені.

Через 1 год після дослідження концентрація НСР перевищує контрольний рівень на 5,9% ($p < 0,05$). Відзначається менш пухке розташування ГПГ, ніж це спостерігалось в досліді через 20 хв, а також зменшення кількості розширень, частково або повністю позбавлених ГПГ. Капіляри помірно розширені.

Через 6 год після впливу НСР в порівнянні з $< 0,001$). Розташування ГПГ з більш компактно розташований характер. Достатньо розсекреторних волокон. Капіляри, що відбуваються

Зміни, що відбуваються досліді свідчать про зниження продовжують в цей проміжок ($p < 0,001$). Кількість частково або повністю спустошених розширень дещо більша, ніж у досліді через 6 год. В локалізовані переважно в дорсо-латеральних ділянках.

Вплив гіпоксії на «висоті» 7000 м істотно змінює концентрацію НСР в задній частці гіпофіза. В порівнянні з контрольними показниками рівня

Рис. 3. Ділянка задньої частки гіпофіза тварини, забитої зразу після впливу гіпоксії на висоті 10 000 м.

ДР — дрібні розширення, СР — середні розширення, КР — крупні розширення, ДРП — дрібні розширення порожні, СРП — середні розширення порожні, КРП — крупні розширення порожні, П — пітуйцити, К — капіляри. Паральдегід = фуксин + азокармін. Ок. $\times 10$, об. $\times 90$.

її знижується на 17,8% ($p < 0,001$), ніж це мало місце після впливу гіпоксії. ГПГ (дрібні та середні) і дорсо-латеральних ділянок розширень досить значних, що посередньо свідчить про наявність нейрогормонів в судини загальної крові.

Через 20 хв після дослідження НСР продовжує перебувати на низькому рівні. Проте кількість розширень нейросекреторних волокон Капіляри розширені, щільно

Через 1 год після впливу гіпоксії розширення нейросекреторних волокон різняться від контрольних показників. ГПГ (дрібні та середні), гігантські розширення нейросекреторних волокон, які розміщені більш менш рівномірно по всій частці. Спустошених розширень незначна кількість. Капіляри помірно розширені.

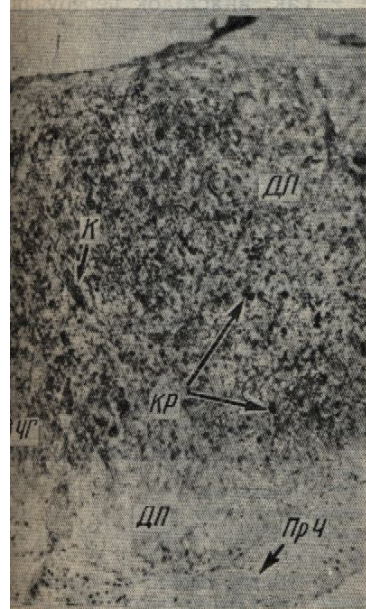
Проте, через 6 год після впливу НСР. Концентрація її перевищує контрольний рівень на 5,9% ($p < 0,001$). Розширення різної величини ГПГ розташовані компактно. Достатньо розсекреторних волокон. Капіляри розширені.

Концентрація НСР через 6 год, проте переважно в дорсо-латеральних ділянках.

1, 6, 12 год) після впливу від-
При цьому вже через 20 хв пі-
зняється від контрольних по-
препаратів спостерігаються

Рис. 1. Зміни концентрації нейросекреторної речовини в задній частці гіпофіза під впливом гіпоксії (в % до контрольного рівня).

Концентрація нейросекреторної речовини після впливу гіпоксії на «висотах» І — 000 м, ІІ — 7000 м, ІІІ — 10 000 м. Час депітації тварин: 1 — зразу після впливу гіпоксії, 2 — через 20 хв, 3 — через 1 год, 4 — через 6 год, 5 — через 12 год.



(а) і тварин, забитих зразу після 10 000 м (б).

дняя частка гіпофіза, КР — крупні розширення, К — капіляри, Паральдегід — фуксин + азокармін. Ок. $\times 10$, об. $\times 10$.

кі розширення нейросекретор-
гранули (ГПГ), які розміщені
стошених розширень незначна

я НСР перевищує контрольний
енш пухке розташування ГПГ,
а також зменшення кількості
лених ГПГ. Капіляри помірно

Через 6 год після впливу гіпоксії відбувається збільшення концен-
трації НСР в порівнянні з контрольними показниками — на 36% ($p < 0,001$). Розташування ГПГ менш пухке. Спостерігаються розширення з більш компактно розташованими ГПГ, внаслідок чого вони мають го-
могенний характер. Достатньо численні ГПГ розташовані за ходом ней-
росекреторних волокон. Капіляри слабо розширені.

Зміни, що відбуваються в задній частці гіпофіза через 12 год після
дослідку свідчать про зниження концентрації НСР, проте показники її
продовжують в цей проміжок часу перевищувати дані контролю на 18,7%
($p < 0,001$). Кількість частко-
во або повністю спустошених
розширень дещо більша, ніж
у досліді через 6 год. Вони
локалізовані переважно в дор-
со-латеральних ділянках.

Вплив гіпоксії на «висоті»
7000 м істотно змінює концен-
трацію НСР в задній частці гі-
пофіза. В порівнянні з контр-
ольними показниками рівень



Рис. 3. Ділянка задньої частки гіпофіза тварини, забитої зразу після впливу гіпоксії на висоті 10 000 м.

ДР — дрібні розширення, СР — середні розширення, КР — крупні розширення, ДРП — дрібні розширення порожні, СРП — середні розширення порожні, КРП — крупні розширення порожні, Л — пугици, К — капіляри. Паральдегід — фуксин + азокармін. Ок. $\times 10$, об. $\times 90$.

її знижується на 17,8% ($p < 0,001$), що відбиває більш виразні її зміни, ніж це мало місце після впливу гіпоксії на «висоті» 4000 м. Розширення позбавлені ГПГ (дрібні та середні), локалізовані переважно у вентральних і дорсо-латеральних ділянках частки. При цьому кількість спустошених розширень досить значна і вони прилягають до розширених капілярів, що посередньо свідчать про збільшення інтенсивності виходу нейрогормонів в судини загального кров'яного русла.

Через 20 хв після дослідку на вказаній «висоті» концентрація НСР продовжує перебувати нижче контрольного рівня (на 12,4%; $p < 0,001$). Проте кількість розширень, позбавлених ГПГ, помітно зменшується. Капіляри розширені, щільно заповнені еритроцитами.

Через 1 год після впливу гіпоксії концентрація НСР майже не відрізняється від контрольних показників. Достатньо численні дрібні, середні, гігантські розширення містять пухко розташовані, чітко окреслені ГПГ. Капіляри значно розширені.

Проте, через 6 год після дослідку відбувається значне накопичення НСР. Концентрація її перевищує показники контролю на 25% ($p < 0,001$). Розширення різної величини ніби «набиті» гранулами нейросекрету. Численні ГПГ розташовані за ходом нейросекреторних волокон, капіляри розширені.

Концентрація НСР через 12 год зменшується в порівнянні з дослідом через 6 год, проте перевищує контрольний рівень на 8,5% ($p < 0,01$).

ться розширення, частково або
ирені.

центрації нейросекреторної ре-
юксії на «висоті» 10 000 м (на
стю є наявність великої кілько-
них ГПГ, які контактують з ка-
ю свідчать про значну інтенси-
піляри загального кров'яного

хв, 1, 6 і 12 год, свідчать про
нцентрація її через 20 хв і 1 год
ів контрольного рівня відповід-
еншується кількість розширень,
ирені.

ігається виразне накопичення
ого рівня на 18,6% ($p < 0,001$).
но зменшується; розташування
ерігаються розширення з більш

бі речовини через 12 год після
льному. Розширення різних роз-
астці. Кількість розширень, по-
ювані переважно в дорсо-лате-
ирені.

ни концентрації НСР в задній

ігаються безпосередньо після
асу, характеризуються однона-

сії на кожний з «висот» спосте-
яке прямо пропорційно ступе-

впливу гіпоксії найбільш вира-
ям концентрації через 12 год.

71, 17, 4, 478.
72, 18, 5, 632.
студ. и аспи. морф. каб. и лаб. Л.,

-В сб.: Пробл. физиол. гипоталамуса,
6, 1—2, 131.

Надійшла до редакції
11.V 1973 р.

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF NEUROSECRETORY SUBSTANCE CONCENTRATION IN THE POSTERIOR LOBE OF HYPOPHYSIS UNDER THE EFFECT OF ACUTE HYPOXY

I. I. Gerzanich, L. P. Lysyuk

Department of Hypoxic States, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of
Sciences, Ukrainian SSR; Department of General Mechanisms of Cancerogenesis, Insti-
tute of Problems of Oncology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Summary

Concentration of neurosecretory substance (NSS) in the hypophysis posterior lobe
was determined in three-month albino rat males of the Vistar line by means of the micro-
electrophotometer «МЧФ-5» under the effect of hypoxia created in the pressure chamber
for an hour at «altitudes» of 4000, 7000 and 10000 m.

It is established that hypoxia results in the change of NSS concentration which im-
mediately after the hypoxia effect and in the following periods of time is unidirectional.
The NSS concentration decrease is observed immediately after the hypoxia effect at every
altitude. It is directly proportional to the degree of hypoxia development. A gradual accu-
mulation of NSS after the hypoxia effect is most expressed 6 hours later with the subse-
quent drop in the concentration in 12 hours. The NSS concentration decrease in the hy-
pophysis posterior lobe is an indirect index of the active yield of neurohormones con-
tained in NSS into the general blood flow capillaries.