

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРТИКОТРОПНЫХ АДЕНОЦИТОВ ГИПОФИЗА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ДЕЙСТВИИ КРАСНОГО ШЛАМА

И.Н. РОЖКОВ¹, Г.Г. БОРЕЦКИЙ¹

¹ Кафедра биологических основ физической культуры и спорта, Николаевский национальный университет имени В.А.Сухомлинского, Николаев, Украина

Цель: изучить особенности ультраструктурных изменений и характер репаративных процессов в кортикотропных клетках (КК) аденогипофиза при действии на организм красного шлама.

Материал и методы: исследование ультраструктурной организации КК гипофизов лабораторных крыс проводили на электронном микроскопе GEM – 100CX (Япония). Для установления ультраструктурных закономерностей КК осуществляли морфометрическую обработку электроннограмм на компьютерном анализаторе изображений IBAS-2000 фирмы OPTON (Германия). Концентрацию адреноркортикотропного гормона (АКТГ) определяли «двухступенчатым» иммуноферментным методом для измерения биологически активной молекулы АКТГ, используя тест-набор фирмы Biometrica (США).

Результаты: по сравнению с контрольными животными, в условиях действия красного шлама у 14-суточных крыс в КК аденогипофиза, в ядрах отмечается увеличение площади хроматина, а в цитоплазме – количества митохондрий, секреторных гранул и их активности. Однако в отдельных КК наблюдаются гиперхромность, сморщенность и отёк ядер, в цитоплазме – вакуолизация эндоплазматической сетки с частичным разрушением её мембран и образованием полостей, а также уплотнение матрикса митохондрий. У 45-суточных животных в ядрах происходит уменьшение количества хроматина, а в цитоплазме – митохондрий и секреторных гранул. В ультраструктурной организации большинства КК выявляются выраженные дистрофические и деструктивные изменения. На 180 сутки действия красного шлама при одновременном снижении морфометрических показателей КК и усилении в клетках выраженности дистрофических изменений выявляются признаки регенерации (увеличиваются размеры и количество элементов комплекса Гольджи, гранулярной эндоплазматической сети, молодых форм митохондрий, свободных рибосом и полирибосом).

Заключение: в эксперименте достоверно установлено влияние красного шлама на ультраструктурную организацию КК передней доли гипофиза с временной зависимостью эффективности адаптационных реакций. Максимальное напряжение механизмов адаптации отмечено в ранний период воздействия красного шлама. Несостоятельность адаптационно-приспособительных реакций на 45 сутки эксперимента, вероятно, связано с истощением компенсаторных механизмов. Регенераторно-компенсаторные изменения КК в отдалённые сроки эксперимента предполагают возможность адаптационного восстановления во временном диапазоне.

Ключевые слова: аденогипофиз, кортикотропные клетки, ультраструктура, красный шлам.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF CORTICOTROPIC ADENOCYTES OF HYPOPHYSIS AT LONG-TERM EXPOSURE OF RED SLUDGE

I.N. ROZHKOVA¹, G.G. BORETSKY¹

¹ Department of Biological Fundamentals of Physical Culture and Sports, Nikolaev National University named after VA Sukhomlinsky, Nikolaev, Ukraine

Objective: The study of the features of ultrastructural changes and the character of the reparative processes in corticotropic cells (CC) of adenohypophysis exposure of red sludge.

Methods: A study of the ultrastructural organization of the CC of hypophyses of the laboratory rats was carried out on an electron microscope GEM-100CX (Japan). To determine ultrastructural regularities of CC, the morphometric processing of the electron diffraction patterns was carried out on the computer image analyzer IBAS-2000 of OPTON Company (Germany). The concentration of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) was determined by a «two-step» enzyme immunoassay method for measuring the biologically active molecule of ACTH using the Biometrica test kit (USA).

Results: Compared with control animals, in the conditions of exposure of red sludge in 14-day-old rats in the CC of the adenohypophysis, the nuclei indicate an increase in chromatin area, and in the cytoplasm - the amounts of the mitochondrion, secretory granules and its activity. However, in individual CCs, hyperchromium, corrugation and oedema of the nuclei are observed, in the cytoplasm - the vacuolization of the endoplasmic reticulum with partial destruction of its membranes and the formation of cavities, as well as compaction of the mitochondrial matrix. In 45-day-old animals, a reduction amount of chromatin is observed in the nuclei, and mitochondrion and secretory granules in the cytoplasm. In the ultrastructural organization of the majority of CC, the expressed dystrophic and destructive changes are revealed. On the 180th day of the action of red sludge with the simultaneous decrease in the morphometric indices of the CC and increasing in cells the evidence of dystrophic changes, the signs of regeneration have emerged (scale up the size and amount of the elements of the Golgi complex, the granular endoplasmic reticulum, young forms of mitochondrion, free ribosomes and polyribosomes).

Conclusions: Reliably in the experiment the influence of red sludge on the ultrastructural organization of CC in the entryway part of hypophysis the temporal dependence effectiveness of adaptive reactions are placed. Maximum tension of mechanisms of adaptation was mentioned in the early period of exposure of red sludge. The inconsistency of adapt-accommodative mechanisms on the 45th day of the experiment was probably connected with the depletion of compensatory mechanisms. The regenerative-compensatory changes in CC in distant deadlines of the experiment proposes the possibility of adaptive regeneration in the time span.

Keywords: Adenohypophysis, corticotropic cells, ultrastructure, red sludge.

ВВЕДЕНИЕ

Красный шлам является отходом промышленного производства алюминия и достаточно вредным для здоровья человека, а также всего живого. В его составе присутствуют сильные щёлочи, тяжёлые металлы (свинец, висмут, ртуть) и другие вещества [1]. Как показывают исследования [2-7], центральным звеном в приспособительных реакциях организма на действие вредных веществ являются эндокринные железы, а именно гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система. Кортикотропные клетки аденогипофиза, как основные биологические структуры системы адаптации, чувствительны к действию различных экзогенных и эндогенных факторов. Анализ специальной литературы показал недостаточность и разрозненность сведений по вопросам ультраструктурных изменений кортикотропных клеток аденогипофиза в условиях длительного действия красного шлама в различные периоды адаптации [8-13].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей ультраструктурных изменений и характера репаративных процессов в кортикотропных клетках аденогипофиза при действии на организм красного шлама.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на 60 нелинейных белых крысах-самцах возрастом: 14 суток (период прозревания), 45 суток (период полового созревания) и 180 суток (репродуктивный период). Животные были распределены на контрольную и опытную группы. Действие красного шлама на организм крыс достигалось ежедневным пребыванием животных на шламовой подстилке толщиной 5-7 мм (с ежедневным обновлением), начиная со дня рождения. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало установленным национальным и международным нормам.

Изучение ультраструктуры кортикотропных клеток гипофиза после изготовления ультратонких срезов проводили на электронном микроскопе GEM-100CX (Япония) [14]. Для установления ультраструктурных закономерностей кортикотропов осуществляли морфометрическую обработку электронограмм на компьютерном анализаторе изображений IBAS-2000 фирмы OPTON (Германия). Концентрацию адренокортикотропного гормона (мМЕ/Л) определяли в периферической крови «двухступенчатым» иммуноферментным методом для измерения биологически активной молекулы АКТГ, используя тест-набор фирмы Biometrica (США), на базе научной медико-биологической лаборатории «Биологические технологии». Вариационно-статистическую обработку всех полученных данных эксперимента осуществляли с помощью программы SigmaPlot (SYSTAT Software, USA) [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали исследования, у животных контрольной группы ультраструктурные изменения кортикотропных клеток с возрастом свидетельствовали об усилении функциональной активности, что сопровождалось увеличением количества и размеров эндоплазматической сети, митохондрий, комплекса Гольджи, свободных и связанных рибосом, а также секреторных гранул. У 180-суточных интактных животных отмечалось увеличение в ядрах площади хроматина на 74,2% относительно 14-суточных

крыс. В цитоплазме – митохондрий на 38,8%, секреторных гранул – на 81,3%. Индекс активности секреторных гранул возрастал на 53,3%. Как результат, уровень АКТГ в периферической крови животных контрольной группы повышался на 98,8%.

После действия красного шлама у 14-суточных животных в ультраструктуре цитоплазмы кортикотропных клеток отмечались признаки усиления функциональной активности. В ядрах кортикотропов количество диффузного хроматина преобладало над гетерохроматином. Митохондрии округлой формы содержали нечёткие кристы. Количество митохондрий увеличивалось на 16,6% относительно контроля. Секреторные гранулы высокой электронной плотности образовали скопления вокруг ядра и вдоль плазмолеммы (рис. 1). При этом площадь, занятая гранулами, возрастала на 21,2%. Индекс активности секреторных гранул повышался на 24,4% (табл., рис. 2). Морфологические признаки усиления функции кортикотропов сопровождалось повышением содержания АКТГ в периферической крови на 34,6%. Однако, в отдельных кортикотропных клетках отмечались признаки дистрофических изменений и деструктивных перестроек в структурах ядра (гиперхромность, отёчность) и в мембранных органеллах цитоплазмы (вакуолизация эндоплазматической сети, частичное разрушение её мембран и образование полостей, уплотнение матрикса митохондрий). Данная реакция, как считает О.В. Рогозина и соавторы [15], обусловлена как непосредственным токсическим действием веществ, входящих в состав шлама, так и высокой функциональной нагрузкой на этот тип аденоцитов в связи с реализацией механизма общего адаптационного синдрома.

У 45 суточных животных экспериментальной группы после длительного действия красного шлама в ультраструктуре кортикотропных клеток выявлялись существенные дистрофические изменения как в ядре, так и в цитоплазме. Динамика морфометрических показателей состояния внутриклеточных органелл и активности секреторных гранул свидетельствовала об ослаблении функции кортикотропных клеток.

Количество эухроматина в ядрах кортикотропов уменьшалось на 30,9% по отношению к контрольным значениям, митохондрий – на 30,6%, секреторных гранул – на 20,1%. Индекс активности секреторных гранул снижался на 22,2% соответственно снижению уровня АКТГ в крови (на 26,7%) (табл., рис. 2).

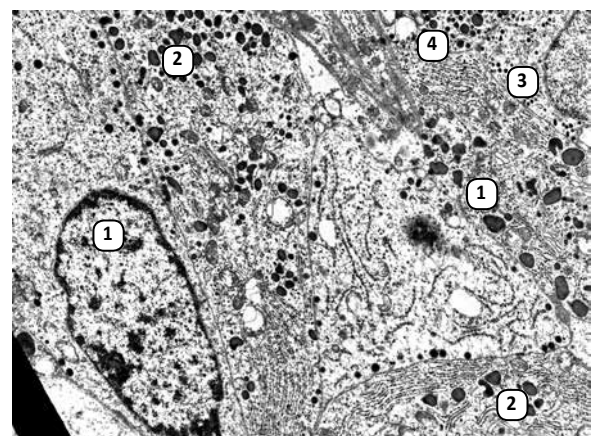


Рис. 1 Электронограмма. Аденогипофиз 14-суточной крысы после действия красного шлама. Контакт кортикотропов (1) с лактотропами (2). В кортикотропе – накопление плотных секреторных гранул сферической формы вблизи ядра и вдоль плазмолеммы (3). Канальцы эндоплазматической сети расширены и заполнены коллоидоподобным веществом (4). Ув. x 5000

Таблица Морфометрические показатели состояния внутриклеточных органелл и активности секреторных гранул в кортикотропных клетках аденогипофиза после действия красного шлама ($M \pm m/n=10$)

Показатели	Группа животных	Возраст животных, суток					
		14	Отклонение от контроля, %	45	Отклонение от контроля, %	180	Отклонение от контроля, %
Площадь эухроматина, (Sx), %	О	38,5±2,6*	+18,1	29,0±1,2**	-30,9	50,1±2,5*	-11,8
	К	32,6±±3,1		42,0±2,6		56,8±2,1	
Площадь митохондрий, (Sm), %	О	47,8±5,0*	+16,6	31,0±2,0**	-30,6	50,3±0,9*	-11,6
	К	41,0±1,8		44,7±2,6		56,9±2,0	
Площадь гранул, (Sr), %	О	24,6±1,9*	+21,2	23,1±2,5*	-20,1	38,3±2,7	+4,1
	К	20,3±2,6		28,9±2,1		36,8±2,5	
Индекс с активности секреторных гранул (IAN)	О	5,6±2,0**	+24,4	4,2±2,1**	-22,2	6,4±0,9	+7,2
	К	4,5±0,8		5,4±2,0		6,9±3,8	

Примечание: О – животные, которые подвергались действию красного шлама; К – контроль; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

Таким образом, исходя из полученных данных, возможно предположить, что после максимального напряжения механизмов адаптации в ранние сроки эксперимента к 45 суткам наступил адаптационный провал.

Исследования ультраструктурной организации аденогипофиза 180-суточных животных после действия шлама показали, что в отдельных клетках выявлялись участки деструкции органелл. Немногочисленные секреторные гранулы имели различную электронную плотность и были увеличены в размерах. В цитоплазме можно было наблюдать элементы вакуолярной эндоплазматической сети.

Митохондрии имели просветлённый матрикс и разрушенные кристы (рис. 3), тогда как в других кортикотропах изменения ультраструктуры свидетельствовали о признаках внутриклеточной регенерации: увеличение количества и размеров элементов комплекса Гольджи и гранулярной эндоплазматической сети, появление молодых форм митохондрий, рибосом и их комплексов.

Морфометрические показатели состояния внутриклеточных органелл и активности секреторных гранул свидетельствовали об уменьшении в ядрах количества хроматина на 11,8% (относительно нормы), в цитоплазме – митохондрий на 11,6%. Однако количество секреторных гранул увеличивалось на 4,1%, также как их активность (на 7,2%) (табл., рис.2). Уровень АКТГ в крови был выше нормы на 4,5%.

Таким образом, сочетание деструктивных и регенеративных процессов в кортикотропоцитах аденогипофиза предполагает развитие приспособительно-компенсаторных эффектов в отдалённый период эксперимента, что позволяет констатировать временную зависимость адаптивных реакций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В эксперименте достоверно установлено влияние красного шлама на ультраструктурную организацию кортикотропоцитов

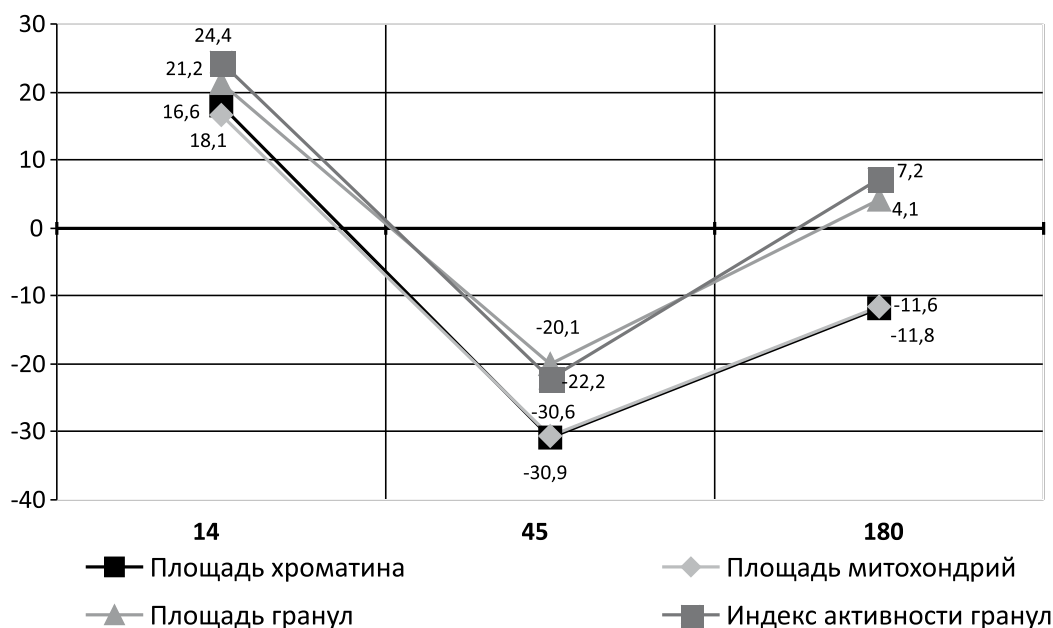


Рис. 2 Динамика морфометрических показателей внутриклеточных органелл и активности секреторных гранул в кортикотропных клетках аденогипофиза крысы после действия красного шлама, %

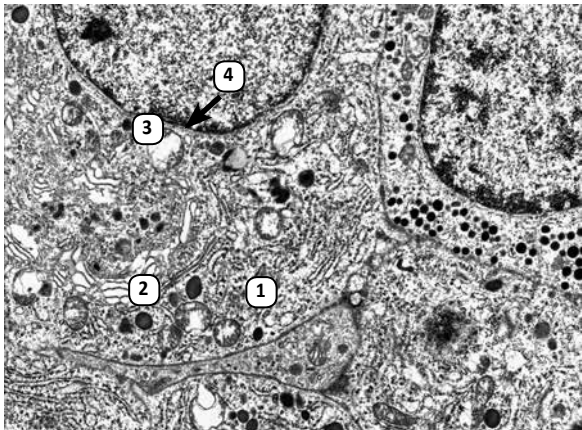


Рис. 3 Электронограмма. Аденогипофиз 180-суточной крысы после действия красного шлама. Кортикотроп (1). В цитоплазме много элементов вакуолярной эндоплазматической сети (2). Пузырчатые митохондрии – с разрушенными кристами (3). В ядре гетерохроматин образует небольшие скопления при мембранно (4). Ув. х 5000.

передней доли гипофиза с временной зависимостью эффективности адапционных реакций:

1. Максимальное напряжение механизмов адаптации в ранний период воздействия красного шлама.

2. Несостоятельность адапционно-приспособительных реакций на 45 сутки эксперимента, вероятно связанная с истощением компенсаторных механизмов.

3. Регенераторно-компенсаторные изменения кортикотропцитов в отдалённые сроки эксперимента, предполагающие возможность адапционного восстановления во временном диапазоне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Юсфин ЮС. *Общая металлургия*. Москва, РФ: Металлургия; 2007. 650 с.
2. Winship KA. Toxicity of lead: A review. *Adverse Drug React and Acute Poison. Rev.* 2009;8(3):117-53.
3. Карташёв АГ. *Влияние хронических факторов в постнатальном онтогенезе животных*. Томск, РФ: В-Спектр; 2010. 122 с.
4. Пикалюк ВС, Шкуренко ВП, Кутя СА. *Органы внутренней секреции*. Симферополь, Украина: Наука; 2007. 96 с.
5. Кузнецов СЛ. Стресс и нейроэндокринная система: современные морфо-функциональные аспекты. *Вестник ВГУ*. 2014;2(26):10-5.
6. Судаков КВ. Эволюция концепции стресса. *Вестник РАМН*. 2008;11:59-66.
7. Papadimitriou A. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuroimmunomodulation*. 2009;16(5):265-71.
8. Бобришева ОВ. Ультраструктурна характеристика аденогипофиза білих щурів на різних етапах постнатального онтогенезу. *Морфологія*. 2013;7(3):27-32.
9. Большакова ОВ. Ультраструктура кортикотропцитов аденогипофиза при интоксикации свинцом. *Таврический медико-биологический вестник*. 2013;16(1):37-9.
10. Большакова ОВ. Ультраструктура соматотропцитов при интоксикации свинцом. *Актуальні питання медичної науки та практики*. 2015;82(2):249-52.
11. Пикалюк ВС. Морфология аденогипофиза белых крыс в норме. *Світ медицини та біології*. 2013;2:69-71.
12. Aguilera G. Negative regulation of corticotropin releasing factor expression and limitation of stress response. *Stress*. 2007;10(2):153-61.
13. Armario A. Long-term neuroendocrine and behavioural effects of a single exposure to stress in adult animals. *Neurosci Behav Rev.* 2008;32:1121-35.
14. Рогозина ОВ, Озерова НЮ, Каширина НК. Морфология аденогипофиза и надпочечников под воздействием свинцовой интоксикации и её коррекции. *Світ медицини та біології*. 2009;3:136-40.

REFERENCES

1. Yusfin YuS. *Obshchaya metallurgiya [General metallurgy]*. Moscow, RF: Metallurgiya; 2007. 650 p.
2. Winship KA. Toxicity of lead: A review. *Adverse Drug React and Acute Poison. Rev.* 2009;8(3):117-53.
3. Kartashyov AG. *Vliyaniye khronicheskikh faktorov v postnatal'nom ontogeneze zhivotnykh [Influence of chronic factors in postnatal ontogenesis of animals]*. Tomsk, RF: V-Spektr; 2010. 122 p.
4. Pikalyuk VS, Shkurenko VP, Kutya SA. *Organy vnutrenney sekretsii [Organs of internal secretion]*. Simferopol, Ukraine: Nauka; 2007. 96 p.
5. Kuznetsov SL. Stress i neyroendokrinnaya sistema: sovremennyye morfofunktsional'nye aspekty [Stress and neuroendocrine system: modern morphology and functional aspects]. *Vestnik VGU*. 2014;2(26):10-5.
6. Sudakov KV. Evolutsiya kontseptsii stressa [Evolution of conception of stress]. *Vestnik RAMN*. 2008;11:59-66.
7. Papadimitriou A. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuroimmunomodulation*. 2009;16(5):265-71.
8. Bobrisheva OV. Ul'trastrukturna kharakteristika adenogipofiza bilikh shchuriv na riznikh etapakh postnatal'nogo ontogenezu [Ultrastructural characteristics of adenohypophysis of white rats on different stages of postnatal ontogenesis]. *Morfologiya*. 2013;7(3):27-32.
9. Bolshakova OV. Ul'trastruktura kortikotropitsitov adenogipofiza pri intoksikatsii svintsom [Ultrastructure of adenohypophysial corticotropic hormone cells on lead intoxication]. *Tavrisheskiy mediko-biologicheskyy vestnik*. 2013;16(1):37-9.
10. Bolshakova OV. Ul'trastruktura somatotropitsitov adenogipofiza pri intoksikatsii svintsom [Ultrastructure of adenohypophysial somatotrophic cells on lead intoxication]. *Actual'ni pitannya medichnoy nauki ta praktiki*. 2015;82(2):249-52.
11. Pikalyuk VS. Morfologiya adenogipofiza belykh krysv v norme [Normal morphology of adenohypophysis of white rats]. *Svit meditsini ta biologii*. 2013;2:69-71.
12. Aguilera G. Negative regulation of corticotropin releasing factor expression and limitation of stress response. *Stress*. 2007;10(2):153-61.
13. Armario A. Long-term neuroendocrine and behavioural effects of a single exposure to stress in adult animals. *Neurosci Behav Rev.* 2008;32:1121-35.
14. Rogozina OV, Ozerova NYu, Kashirina NK. Morfologiya adenogipofiza i nadpochechnikov pod vozdeystviem svintsovoy intoksikatsii i eyo korrektsii [Morphology of adenohypophysis and adrenal glands under the influence of lead intoxication and its correction]. *Svit meditsini ta biologii*. 2009;3:136-40.

15. Пикалюк ВС. Возможности макро-микро-анатомических методов в исследовании гипофизов белых крыс. *Український медичний альманах*. 2011;9(3):200-2.
16. Лях ЮЕ. *Основи комп'ютерної біостатистики*. Донецьк, Україна: Наука; 2010. 211 с.
15. Pikalyuk VS. Vozmozhnosti makro-mikro-anatomicheskikh metodov v issledovanii gipofizov belykh krysh [Possibilities of macro-micro anatomic methods research of hypophysis of white rats]. *Ukrainskiy medichniy al'manakh*. 2011; 9(3):200-2.
16. Lyakh YuE. *Osnovy komp'yuternoy biostatistiki [Bases of computers biostatistics]*. Donetsk, Ukraina: Nauka; 2010. 211 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Рожков Игорь Николаевич, д.б.н., академик Академии наук Высшей школы Украины, профессор кафедры биологических основ физической культуры и спорта Николаевского национального университета имени В.А.Сухомлинского

Борецкий Геннадий Георгиевич, аспирант кафедры биологических основ физической культуры и спорта Николаевского национального университета имени В.А.Сухомлинского

Информация о поддержке в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований кафедры биологических основ физической культуры и спорта ННУ имени В.А. Сухомлинского (номер регистрации 0115U001237). Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали.

Конфликт интересов: отсутствует.

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Рожков Игорь Николаевич
д.б.н., академик Академии наук Высшей школы Украины, профессор кафедры биологических основ физической культуры и спорта Николаевского национального университета имени В.А.Сухомлинского

54030, Украина, г. Николаев, ул. Никольская, 24

Тел.: (+30) 667 498257

E-mail: IgorNikolaevichR1965@gmail.com

ВКЛАД АВТОРОВ

Разработка концепции и дизайна исследования: РИН

Сбор материала: БГГ

Статистическая обработка данных: БГГ

Анализ полученных данных: РИН, БГГ

Подготовка текста: РИН, БГГ

Редактирование: РИН

Общая ответственность: РИН

Поступила 20.02.2017

Принята в печать 07.07.2017

AUTHOR INFORMATION

Rozhkov Igor Nikolaevich, Doctor of Biological Sciences, Academician of the Academy of Sciences of the Higher School of Ukraine, Professor of the Department of Biological Fundamentals of Physical Culture and Sports of Nikolaev National University named after V.A. Sukhomlinsky

Boretsky Gennady Georgievich, Post-graduate Student of the Department of Biological Fundamentals of Physical Culture and Sports of the Nikolaev National University named after V.A. Sukhomlinsky

ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:

Rozhkov Igor Nikolaevich
Doctor of Biological Sciences, Academician of the Academy of Sciences of the Higher School of Ukraine, Professor of the Department of Biological Fundamentals of Physical Culture and Sports, Nikolaev National University named after V.A. Sukhomlinsky

54030, Ukraine, Nikolaev City, str. Nikolskaya # 24

Tel: (+30) 667 498257

E-mail: IgorNikolaevichR1965@gmail.com

Received 20.02.2017

Accepted 07.07.2017