

И. И. ДЕДОВ

## СРЕДИННОЕ ВОЗВЫШЕНИЕ НЕЙРОГИПОФИЗА ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

(Представлено академиком П. К. Анохиным 26 X 1971)

Образующиеся в гипоталамусе рилизинг-гормоны, регулирующие основные функции передней доли гипофиза, освобождаются в капилляры срединного возвышения нейрогипофиза. Нейрогистологически, а также флюоресцентно и электронномикроскопическими исследованиями показано, что у млекопитающих на капиллярах медиальной эминенции оканчиваются аксоны нейроцитов мелкоклеточных ядер среднего гипоталамуса (<sup>1-3</sup>). Гранулы секрета из перикариона нервных клеток аркуатного ядра по аксонам туберо-инфундибулярного тракта поступают в наружную зону срединного возвышения, в котором их активное начало освобождается в сосудистое русло гипофиза (<sup>4, 5</sup>). Такие гранулы секрета, называемые пузырьками с плотным центром (dense core vesicles — d.c.v.), диаметром в 900—1000 Å, являются носителями рилизинг-гормонов. После утраты электронноплотной субстанции от таких гранул-пузырьков остаются их оболочки — empty vesicles (e.v.). Особый интерес для нейроэндокринологов представляет изучение биохимической природы электронноплотного содержимого гранул-пузырьков, накапливающихся в срединном возвышении нейрогипофиза.

Объектом настоящего исследования были нервные терминали наружной зоны медиальной эминенции крыс, подвергшихся равным экстремальным воздействиям. Работа выполнена на 26 половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Контролем служили 5 интактных крыс; подопытные животные были подвергнуты следующим воздействиям. Крысы первой группы за 24 часа до умерщвления путем декапитации вводили резерпин в дозе 25 мкг/кг, второй — через 24 часа после инъекции резерпина в течение двух дней вводили норадреналин, 1 мг/кг. Третью группу составили животные, подвергшиеся в течение 20 мин. острому болевому стрессу. Крысы четвертой группы были подвергнуты локальному рентгеновскому облучению (область гипоталамуса) в дозе 1500 р при мощности дозы 54 р/мин, забой производили через 1 и 72 часа. Животным пятой группы вводили в течение 10 дней метопирон в дозе 1 мг на 100 г.

Кусочки срединного возвышения фиксировали в 1% растворе четырехокиси осмия; заливку производили в аралдит. Ультратонкие срезы окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-5у. Соотношение в процентах между dense core и empty vesicles определяли при подсчете пузырьков на площади экстравазальной ткани равной 200μ<sup>2</sup>, удаленной от капилляра не более чем на 2—3μ.

Основными структурами наружной зоны медиальной эминенции нейрогипофиза являются мантийное сосудистое сплетение с многочисленными петлями капилляров, нервные терминали и отростки клеток эпендимы. Терминали аксонов нейроцитов туберо-инфундибулярных ядер являются посетителями пузырьков трех типов. Самые многочисленные из них — синаптические везикулы имеют диаметр от 200 до 500 Å. Более крупные пузырьки-гранулы, т. е. dense core vesicles, варьируют в пределах от 500 до 1200 Å. Преобладают гранулы с поперечником в 900 Å. Электронноплотное

центральное содержимое таких пузырьков окаймлено светлым ободком и пограничной мембраной (рис. 1 а). Третья категория представлена малочисленными крупными со светлым содержимым пузырьками — empty vesicles. Экспериментально установлено, что пустые пузырьки е.в. являются производными d.c.v. и образуются после освобождения из последних

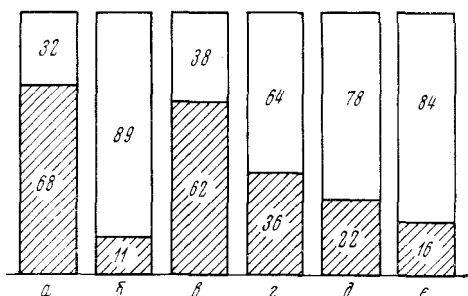


Рис. 2. Соотношение (в процентах) между гранулами секрета (заштриховано) и пустыми пузырьками в нервных терминалах наружной зоны срединного возвышения нейрогипофиза крыс — интактных (а) и получавших резерпин (б), резерпин в сочетании с норадреналином (в), болевой стресс (г), локальное рентгеновское облучение (д), метопирон (е)

осmioфильной субстанции. Наши подсчеты показали наличие значительных количественных вариаций d.c.v. и е.в., что отражает неодновременность освобождения в кровь нейrogормонов из гранул секрета. В одних окончаниях количество е.в. не превышает 10—17%, в других составляет 55—60% от общего числа крупных пузырьков. Средние же данные, полученные нами в результате подсчета на площади в  $200\mu^2$  палисадной зоны медиальной эминенции у интактных крыс, составили для пустых пузырьков 32% (рис. 2 а). Следовательно, у интактных животных часть гипоталамических гормонов, поступающих в терминали аксонов, не сбрасывается немедленно в кровь, а остается депонированной в гранулах секрета.

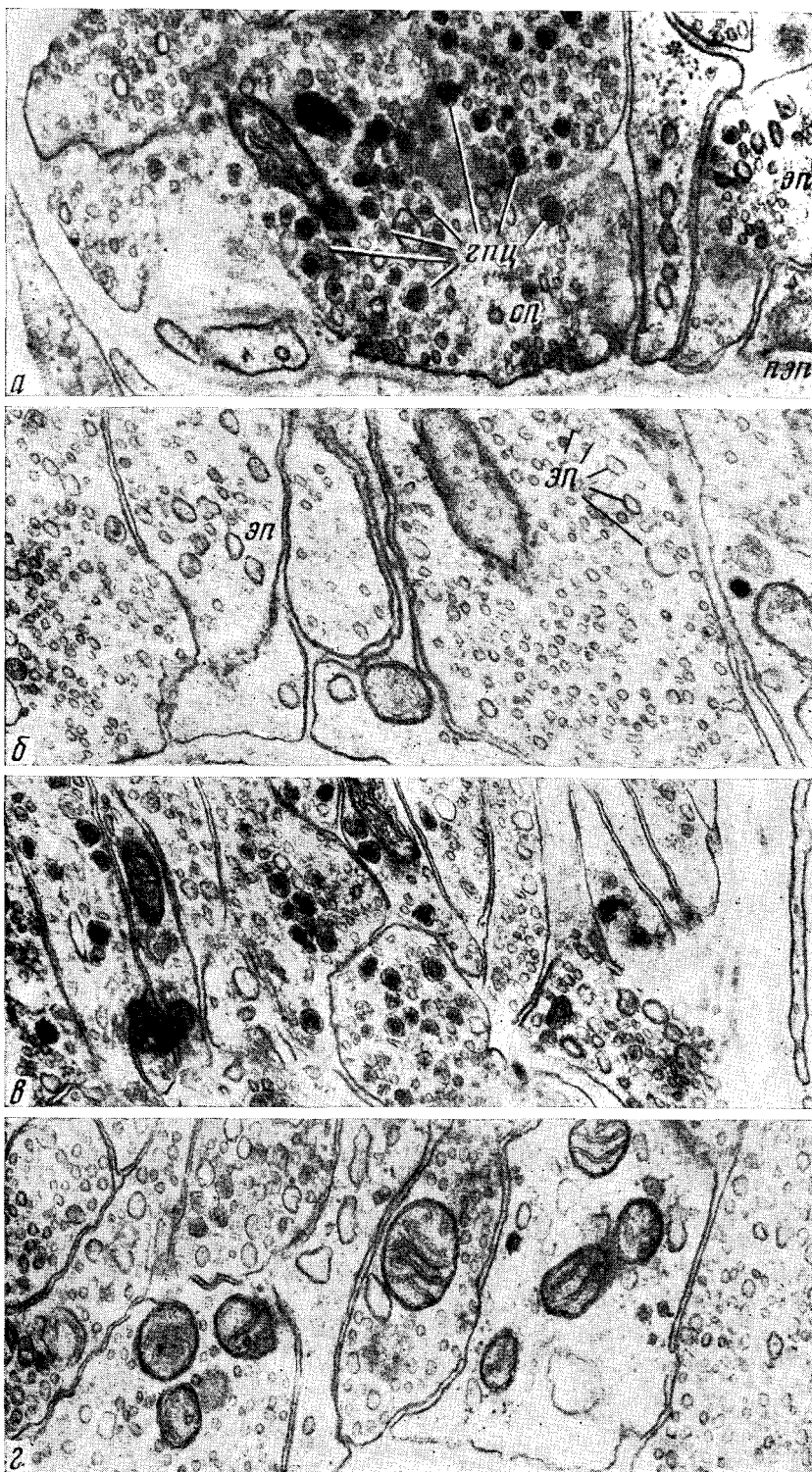
Экспериментальные воздействия существенно изменяют соотношение между гранулами секрета и пустыми пузырьками.

1. Однократная инъекция резерпина в влечет массивное освобождение электронноплотной субстанции из d.c.v. На рис. 1б представлены нервные терминалы из палисадной зоны медиальной эминенции крыс через 24 часа после инъекции резерпина. Большинство гранул утратило осmioфильный компонент и превратилось в пустые пузырьки. Число последних возрастает до 89% (рис. 2 б). В одной и той же терминали представляется возможным проследить стадии последовательного растворения осmioфильного вещества в d.c.v. Как правило, первыми освобождаются гормоны из более мелких терминалей, крупные же нервные окончания сохраняют часть типичных гранул секрета. Интенсивность освобождения рилизинг-факторов коррелирует и с расположением нервных терминалей по отношению к сосудам. Первыми, и наиболее активно, утрачивают нейrogормон окончания, непосредственно контактирующие с капиллярами.

2. Введение норадреналина в течение двух дней крысам, которые предварительно получали резерпин, достоверно увеличивает число d.c.v. (рис. 1 в). Количественное соотношение между d.c.v. и е.в. изменяется в сторону увеличения интактных гранул секрета (рис. 2 в).

3. На ультратонких срезах через срединное возвышение крыс, подвергнутых болевому стрессу, обнаруживается интенсивное освобождение электронноплотной субстанции из гранул секрета, в связи с чем возрастает число пустых пузырьков (рис. 2 г).

4. Через 1 и 72 часа после локального рентгеновского облучения в терминалах аксонов нейроцитов происходит интенсивное освобождение осmioфильного материала из гранул секрета (рис. 1 д). Число пустых пузырьков в оба срока достоверно возрастает (рис. 2 д). Однако механизм освобождения рилизинг-гормонов в начале и в более поздний срок после облучения, по-видимому, не тождествен. Если через 1 час запустевание гранул следует поставить в связь со стрессовым состоянием живот-



**Рис. 1.** Нервные терминалы в срединном возвышении нейрогипофиза. *а* — intactная крыса — гранулы секрета с плотным центром (*гпц*), пустые (*эп*) и синаптические пузырьки (*сп*); *пэп* — периваскулярное пространство, *бм* — базальная мембрана. 28 000  $\times$ . *б* — через 24 часа после введения резерпина, редукция осmioфильного содержимого гранул секрета и появление большого числа пустых пузырьков (*эп*). 32 000  $\times$ . *в* — после двух инъекций норадреналина крысам, получавшим ранее резерпин, вновь восстанавливается большое число гранул секрета. 28 000  $\times$ . *г* — запустевание гранул секрета, в связи с интенсивным освобождением нейрого르몬а у крысы, получавшей в течение 10 дней метопролол. 32 000  $\times$

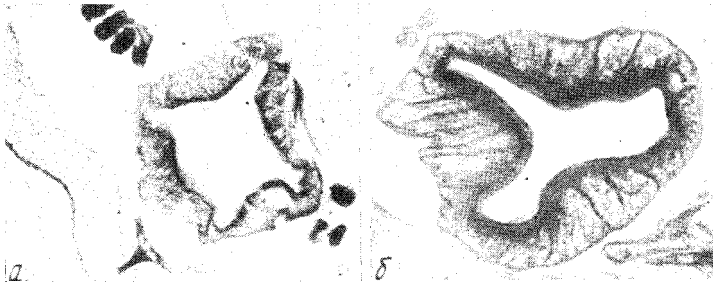


Рис. 1. Локализация НЭ (а) и ЛАМП (б) в кишечном эпителии вентрикулярного отдела кишечника «голодной» аскариды. а —  $(10 \times 8)$ ; б —  $(15 \times 8)$

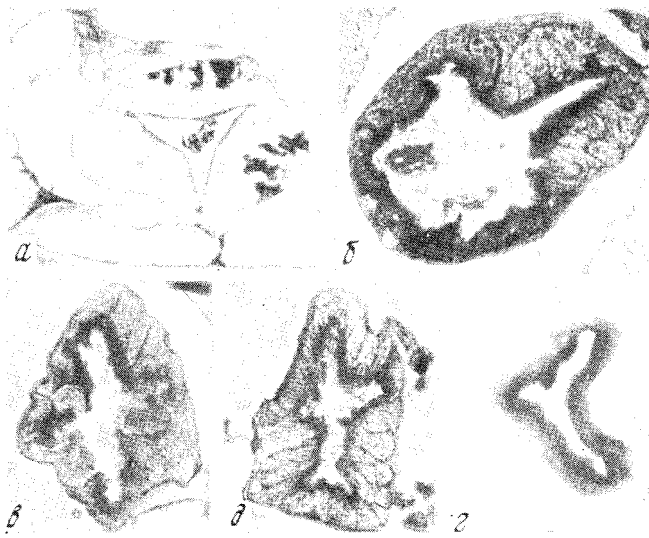


Рис. 2. Секретция НЭ (а, б, в, д) и ЛАМП (з) у аскарид после кормления кур. а, б — через 1 час в пищеводе и вентрикулярном отделе кишечника; в, з — через 4 часа, д — через 6 час. в среднем отделе кишечника;  $10 \times 8$

ных, то через 72 часа освобождение осмиофильного содержимого из d.c.v. обусловлено специфической реакцией организма на облучение.

5. Введение метопирона также влечет массивный выход нейрогомонов, депонированных в гранулах секрета. В нервных терминалях преобладают пустые пузырьки (рис. 1 e), гранулы секрета встречаются очень редко (рис. 2 e).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в различных экспериментальных условиях, способствующих освобождению рилизинг-гормонов, в нервных терминалях медиальной эминенции изменениям подвергаются преимущественно гранулы — пузырьки с плотным центром и в меньшей степени синаптические пузырьки. Наши данные подтверждают, что эти пузырьки — гранулы секрета являются носителями рилизинг-гормонов. Мелкие же синаптические пузырьки диаметром в 300—500 Å не могут рассматриваться в качестве носителей рилизинг-гормонов, поскольку они, будучи резервуарами ацетилхолина, являются обязательным компонентом различных по своей природе нервных окончаний как-то: холин-, адрен- и пептидергических (6-8).

Крупные пустые пузырьки (e.v.), как мы отмечали выше, появляются после освобождения из гранул электронноплотного материала. Мы видим, следовательно, что единственными образованиями в нервных терминалях области медиальной эминенции нейрогипофиза, несущих рилизинг-гормоны, являются гранулы — пузырьки с плотным центром.

В опытах с острым стрессом и локальным рентгеновским облучением, т. е. в условиях значительной активации АКГГ-функции гипофиза и надпочечников, нами отмечено интенсивное освобождение осмиофильной субстанции из гранул секрета. Поскольку система АКГГ — надпочечники активизируются соответствующим гипоталамическим кортикотрофин-рилизинг-гормоном (CRH), уместно сделать заключение, что последний аккумулирован в пузырьках с плотным центром. Это подтверждено в эксперименте с метопироном. Последний, как известно, блокирует биосинтез гормонов в надпочечниках, при этом по принципу обратных связей активизируется сброс CRH в портальные капилляры медиальной эминенции, что находит свое отражение в редукции плотного центра из гранул секрета. Следовательно, путем активизации разными способами системы гипофиз — кора надпочечников получены данные о том, что именно гранулы секрета в 900 Å являются носителями CRH.

При воздействии резерпином и норадреналином также обнаружено, что изменениям избирательно подвергаются все те же пузырьки с плотным центром. Одна инъекция резерпина форсирует выход плотного субстрата из гранул секрета; в результате число пустых пузырьков достоверно возрастает. Резерпин, как известно, является специфическим фактором, освобождающим из тканей первичные и вторичные моноамины. Аналогичные данные о реакции гранул секрета в срединном возвышении на введение резерпина были получены другими авторами (9, 10), что послужило основанием высказать предположение, что гранулы секрета являются носителями моноаминов. Действительно, у животных, получавших резерпин, в палисадной зоне срединного возвышения синхронно с освобождением осмиофильного вещества из гранул секрета значительно снижается эффект флуоресценции моноаминов (9, 10). В наших опытах введение норадреналина влекло в нервных терминалях увеличение количества гранул секрета.

Показано также, что после предварительного ингибирования моноаминоксидазы ниламидом введение предшественника в синтезе катехоламинов *l*-дегидроксифенилаланина увеличивает число гранул в терминалях срединного возвышения на 49% (11). Все это служит дополнительным доказательством того, что такие гранулы секрета являются носителями моноаминов. По величине и структуре гранулы-пузырьки в терминалях срединного возвышения близки к катехоламиновым пузырькам, присутст-

вующим в адренергических терминалях центральной, и периферической нервной системы (<sup>6</sup>, <sup>12</sup>). Интенсивную флуоресценцию моноаминов в палисадной зоне медиальной эминенции ряд авторов с достаточным основанием связывает с гранулами секрета (<sup>3</sup>). В работах, использующих электронную и флуоресцентную микроскопию, показано, что флуоресценция норадреналина и допамина совпадает с локализацией гранул-пузырьков [<sup>3</sup>, <sup>9</sup>, <sup>10</sup>]. У амфибий, по данным цитоавтордиографии, меченый Н<sup>3</sup>-норадреналин включается в осмифильную субстанцию d.s.v. срединного возвышения нейрогипофиза (<sup>3</sup>). Следовательно, имеются достоверные доказательства в пользу того, что в гранулах секрета срединного возвышения резервированы моноамины. Создается впечатление, что одни и те же гранулы секрета якобы являются одновременно носителями рилизинг-гормонов и моноаминов. Возможно, что кортикотропин-рилизинг-фактор и моноамины содержатся в разных нервных терминалях, оканчивающихся на портальных капиллярах срединного возвышения. Вместе с тем Клементи с соавторами (<sup>14</sup>) сообщили результаты биохимического и электронномикроскопического исследования, показывающие, что соматотропин-рилизинг-фактор и фактор, активизирующий освобождение фолликулостимулирующего гормона, присутствуют в допаминсодержащих нервных терминалях. По мнению авторов допамин, резервированный в «синаптических пузырьках», регулирует освобождение рилизинг-факторов из гранул секрета и далее через аксолемму — в портальное русло гипофиза. В этой связи уместно допустить, что моноамины контролируют освобождение из нервных терминалей в ток крови и кортикотропин-рилизинг-фактора.

Институт медицинской радиологии  
Академии медицинских наук СССР  
Обнинск Калужской обл.

Поступило  
21 X 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> H. Spatz, *Acta neuroveg.*, Wien, 3, 5 (1951). <sup>2</sup> J. Szentágothai, B. Flérko et al., *Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary*, Budapest Akadémiai Kiadó, 1962. <sup>3</sup> K. Fuxe, T. Hokfelt, O. Nilsson, *Life Sci.*, 6, 2057 (1967). <sup>4</sup> G. Jaim Etcheverry, A. Pellegrino de Iraldi, *Anat. Rec.*, 160, 239 (1968). <sup>5</sup> И. И. Дедов, А. А. Войткевич, *Цитология*, 13, 3 (1971). <sup>6</sup> E. De Robertis, *Pharmacol. Rev.*, 18, 413 (1966). <sup>7</sup> G. B. Koelle, *J. Pharmacol.*, 14, 65 (1962). <sup>8</sup> W. Bargmann, E. Lindner, K. Andres, *Zs. Zellforsch.* 77, 282 (1967). <sup>9</sup> T. Matsui, *Neuroendocrinol.*, 2, 99 (1967). <sup>10</sup> Y. Sano, G. Odake, S. Taketomo, *Neuroendocrinol.*, 2, 30 (1967). <sup>11</sup> A. Pellegrino de Iraldi, G. J. Etcheverry, *Brain Res.*, 6, 614 (1967). <sup>12</sup> Ж. Такси, Б. Дроз, *Арх. анат.*, 55, 35 (1968). <sup>13</sup> J. Doerr-Schott, E. Follenius, *Zs. Zellforsch.*, 111, 427 (1970). <sup>14</sup> F. Clementi, C. Ceccarelli et al., *J. Endocrinol.*, 48, 205 (1970).