

УДК 572.786

ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

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. Нейротистологически, а также флюоресцентно и электронномикроскопическими исследованиями показано, что у млекопитающих на капиллярах медиальной эминенции оканчиваются аксоны нейроцитов мелкоклеточных ядер среднего гипоталамуса (1-3). Гранулы секрета из перикариона нервных клеток аркуатного ядра по аксонам туберо-инфундабулярного тракта поступают в наружную зону срединного возвышения, в котором их активное начало освобождается в сосудистое русло гипофиза (4, 5). 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 пейроэндокринологов 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. Крысам 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-Бу. Соотношение в процентах между dense core и empty vesicles определяли при подсчете пузырьков на площади экстравазальной ткани равной  $200\mu^2$ , удаленной от капилляра не более чем на 2—3 м.

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-инфундабулярных ядер являются носителями 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 a). Третья категория представлена мало-численными крупными со светлым содержимым пузырьками — empty vesicles. Экспериментально установлено, что пустые пузырьки e.v. являются производными d.c.v. и образуются после освобождения из последних осмиофильтральной субстанции. Наша подсчеты показали наличие значительных количественных вариаций d.c.v. и e.v., что отражает неодновременность освобождения в кровь нейрогормонов из гранул секрета. В одних окончаниях количество e.v. 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 a).

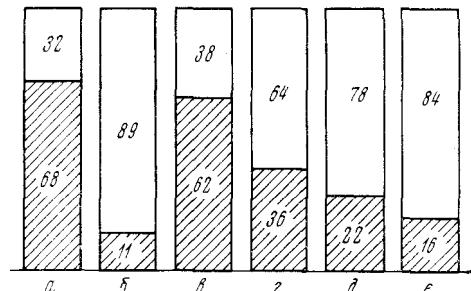


Рис. 2. Соотношение (в процентах) между гранулами секрета (заштриховано) и пустыми пузырьками в нервных терминалях наружной зоны срединного возвышения нейропида крыс — интактных (a) и получавших резерпин (b), резерпин в сочетании с норадреналином (c), болевого стресса (d), локальное рентгеновское облучение (e), метоцироп (f).

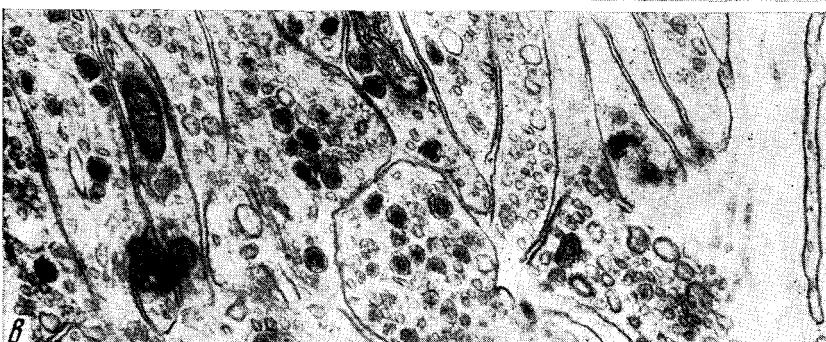
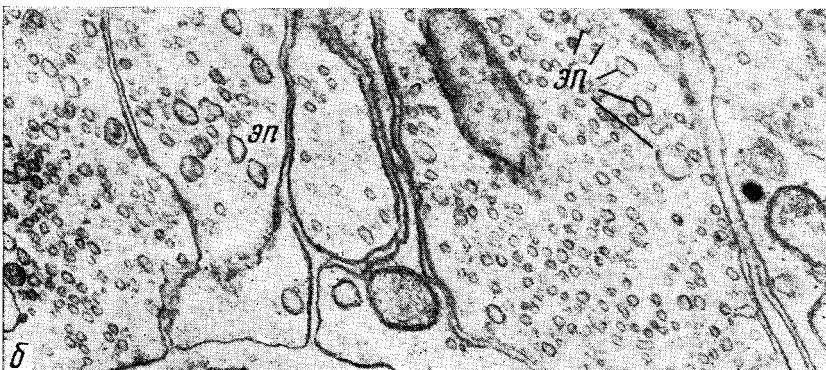
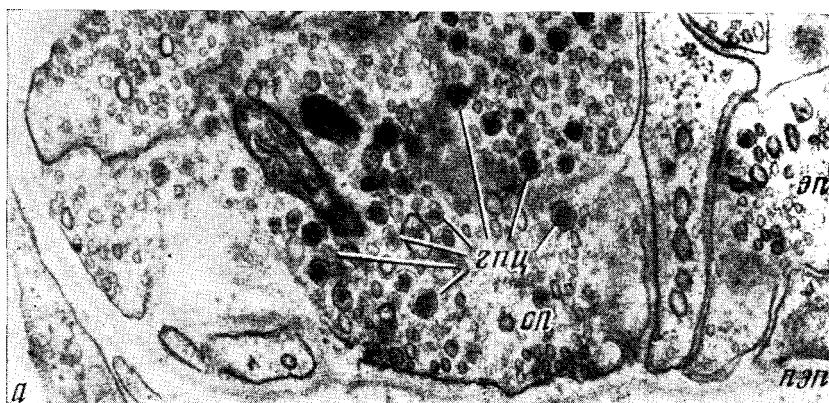
Экспериментальные воздействия существенно изменяют соотношение между гранулами секрета и пустыми пузырьками.

1. Однократная инъекция резерпина влечет массированное освобождение электронноплотной субстанции из d.c.v. На рис. 1б представлены нервные терминали из палисадной зоны медиальной эминенции крыс через 24 часа после инъекции резерпина. Большинство гранул утратило осмиофильтральный 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 осмиофильтрального 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 нейрогормон 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 e.v. 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 и я в терминалях аксонов нейроцитов происходит интенсивное освобождение осмиофильтрального 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 запустение гранул следует поставить в связь со стрессовым состоянием живот-



**Рис. 1.** Нервные терминали в срединном возвышении нейротрофиза. *а* — интактная крыса — гранулы секрета с плотным центром (*гпц*), пустые (*эп*) и синаптические пузырьки (*сп*); *бм* — периваскулярное пространство, *бм* — базальная мембрана.  $28\ 000\times$ . *б* — через 24 часа после введения резерпина, редукция осмиофильного 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 нейротрофина у крысы, получавшей в течение 10 дней метоклорамид.  $32\ 000\times$



Рис. 1. Локализация НЭ (a) и ЛАМП (b) в кишечном эпителии вентрикулярного отдела кишечника «голодной» аскариды; a — (10 × 8); b — (15 × 8)



Рис. 2. Секреция НЭ (a, б, в, г) и ЛАМП (г) у аскаридий после кормления кур. a, б — через 1 час в пищеводе и вентрикулярном отделе кишечника; в, г — через 4 часа, г — через 6 час. в среднем отделе кишечника; 10 × 8

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

5. Введение метопирона также влечет массированный выход нейрогормонов, депонированных в гранулах секрета. В первых 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 первых 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 электроннооплотного материала. Мы видим, следовательно, что единственными образованиями в первых терминалях области медиальной эминенции нейрогофиза, несущими рилизинг-гормоны, являются гранулы — пузырьки с плотным центром.

В опытах с острым стрессом и локальным рентгеновским облучением, т. е. в условиях значительной активации АКТГ-функции гипофиза и надпочечников, нами отмечено интенсивное освобождение осмиофильтной субстанции из гранул секрета. Поскольку система АКТГ — 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 вторичныеmonoамины. 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 monoаминов. Действительно, у животных, получавших резерпин, в палисадной зоне срединного возвышения синхронно с освобождением осмиофильтного вещества из гранул секрета значительно снижается эффект флуоресценции monoаминов (9, 10). В наших опытах введение норадреналина влечет в первых терминалях увеличение количества гранул секрета.

Показано также, что после предварительного ингибиования monoаминооксидазы ниаламидом 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 monoаминов. По величине и структуре гранулы-пузырьки в терминалях срединного возвышения близки к катехоламиновым пузырькам, присутствуют.

вующим в адренергических терминалях центральной, и периферической нервной системы (6, 12). Интенсивную флуоресценциюmonoаминов в палисадной зоне медиальной эминенции ряд авторов с достаточным основанием связывает с гранулами секрета (3). В работах, использующих электронную и флуоресцентную микроскопию, показано, что флуоресценция норадреналина и дофамина совпадает с локализацией гранул-пузырьков [3, 9, 10]. У амфибий, по данным цитоавторадиографии, меченный  $H^3$ -норадреналин включается в осмиофильную субстанцию d.c.v. срединного возвышения нейропиофиза (3). Следовательно, имеются достоверные доказательства в пользу того, что в гранулах секрета срединного возвышения резервированы monoамины. Создается впечатление, что одни и те же гранулы секрета якобы являются одновременно носителями рилизинг-гормонов и monoаминов. Возможно, что кортикотропин-рилизинг-фактор и monoамины содержатся в разных нервных терминалях, оканчивающихся на портальных капиллярах срединного возвышения. Вместе с тем Клементи с соавторами (14) сообщили результаты биохимического и электронномикроскопического исследования, показывающие, что соматотропин-рилизинг-фактор и фактор, активизирующий освобождение фолликулостимулирующего гормона, присутствуют в дофаминсодержащих нервных терминалях. По мнению авторов дофамин, резервированный в «синаптических пузырьках», регулирует освобождение рилизинг-факторов из гранул секрета и далее через аксонемму — в портальное русло гипофиза. В этой связи уместно допустить, что monoамины 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. Szentagothai, B. Flérko et al., Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary, Budapest Akadémiai Kiádó, 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. Войтекевич, 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. Takeuchi, 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. Дров, Апр. 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).