

Промысловые виды и их биология

УДК 576.382.32; 591.481.2; 599.745.1

Цитокариометрические и электронно-микроскопические исследования соматотропных и аденокортикотропных клеток в гипофизе северных морских котиков в постнатальном онтогенезеА.И. Болтнев¹, А.Г. Ульянов², П.М. Торгун², Е.А. Болтнев¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»), г. Москва

² Государственный аграрный университет имени императора Петра I (ФГБОУ ВО «ВГАУ»), г. Воронеж

Изучены соматотропы и аденокортикотропы гипофизов самцов северных морских котиков в постнатальном онтогенезе. Использованы специальные методы окраски (трихром-ШИК, тетрахром-ШИК) и электронно-микроскопические методы исследования. Измеряли площадь ядер и площадь клеток, определяли ядерно-цитоплазматическое отношение. Установлены гистохимические и электронно-микроскопические особенности соматотропов и аденокортикотропов, на основании которых можно точно определить эти два типа эндокриноцитов аденогипофиза. Соматотропы интенсивно окрашиваются оранжевым С и содержат крупные секреторные гранулы, величина которых варьирует от 400 до 450 нм. Количество секреторных гранул и степень развития органелл характеризуют уровень дифференцировки клеток и их функциональную активность. Аденокортикотропы имеют небольшую величину и в обычных препаратах в цитоплазме этих клеток не обнаруживается какая-либо зернистость. В электронном микроскопе выявляются в небольшом количестве мелкие секреторные гранулы, величина которых составляет 140–160 нм. Секреторные гранулы равномерно распределены по всей цитоплазме. Изучены изменения цитокариометрических, гистохимических и электронно-микроскопических показателей соматотропов и аденокортикотропов у самцов северных морских котиков в постнатальном онтогенезе. Максимальная секреторная активность эндокриноцитов гипофиза выявлена у самцов северных морских котиков в возрасте 8–10 лет.

Ключевые слова: Северные морские котики, гипофиз, соматотропы, аденокортикотропы, электронная микроскопия, площадь ядер, площадь клеток, постнатальный онтогенез.

ВВЕДЕНИЕ

Целью настоящего сообщения является сравнительное кариометрическое, гистохимическое и электронно-микроскопическое исследование соматотропов и аденокортикотропов

аденогипофиза у самцов северных морских котиков (*Callorhinus ursinus*, L., 1758) в постнатальном онтогенезе. В настоящее время накопилась обширная научная информация [Богданов, 2009; Загребин, Капитонова и др.,

2007; Загребин, Бойко и др., 2007; Rizzoti, 2010; Reyes et al., 2008], касающаяся различных вопросов структурной организации гипофиза, однако возрастные изменения гипофиза северного морского котика не изучены.

Эндокриноциты передней доли гипофиза вырабатывают следующие гормоны: соматотропный (СТГ); аденокортикотропный (АКТГ); тиреотропный (ТТГ); лютеинизирующий (ЛГ); фолликулостимулирующий (ФСГ); пролактин (ПРА). Гормон роста (СТГ) влияет на рост организма. Пролактин стимулирует секреторные процессы в молочной железе. Тиреотропный гормон активизирует выделение щитовидной железой йодсодержащих тиронинов. Гонадотропные гормоны (ФСГ, ЛГ) влияют на сперматогенез, овогенез. Аденокортикотропный гормон стимулирует синтез гормонов в пучковой зоне коры надпочечников [Алешин, 1973; Бойко, Ирьянов, 1977; Гордиенко, Козырицкий, 1978].

Клетки гипофиза подразделяют на хромофобные и хромофильные. Хромофобные клетки представлены в виде отдельных мелких ядер, вокруг которых обнаруживается узкий ободок светлой цитоплазмы. Хромофобные клетки рассматриваются как камбиальные, резервные клетки и они не участвуют в синтезе гормонов [Алешин, 1973].

Среди хромофильных клеток различают ацидофилы и базофилы. Ацидофилы (оксифилы, эозинофилы) интенсивно окрашиваются эозином в розовый цвет и оранжевым G в оранжевый цвет. Они обладают сродством к кислым красителям. Ацидофилы имеют овальную или округлую форму и содержат округлые ядра. В аденогипофизе многих млекопитающих ацидофилы располагаются преимущественно в заднебоковых отделах. Количество ацидофилов достигает 30–35% всего клеточного состава аденогипофиза. Ядра ацидофилов обычно лежат в центре клеток [Алешин, 1973; Гордиенко, Козырицкий, 1978].

Вторую группу хромофильных клеток составляют базофилы, цитоплазма которых окрашивается основными красителями. Они расположены, как правило, в центре передней доли гипофиза и в центрально-боковых её отделах. Базофилы располагаются по периферии эпителиальных трабекул. Их ядра распо-

лагаются эксцентрично. В базофилах хорошо развит комплекс Гольджи, который в обычном микроскопе представлен в виде полого шара, расположенного рядом с ядром.

Используя гистохимический метод выявления гликопротеинов (ШИК-реакция), многие авторы выделяют несколько типов базофилов, дающих ШИК-положительную реакцию. Удалось обнаружить, что базофилы неодинаково реагируют на различные экспериментальные воздействия (кастрация, тиреоидэктомия, введение эстрогенов, тироксина). На этом основании базофилы разделили на тиреотропы и гонадотропы [Алешин, 1973; Бойко, Ирьянов, 1977; Гордиенко, Козырицкий, 1978].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материал от разновозрастных животных северного морского котика был собран в период экспериментальной добычи, проводимой Камчатским отделением Тихоокеанского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (КотИНРО) в июне-июле 1989 г. Всего в работе использован материал от 75 животных в возрасте до 14 лет. В анализ также включён материал от детёнышей разного возраста, погибших в результате травмирования секачами во время гаремного периода, а также от сеголеток во время осеннего промысла.

Для световой микроскопии фрагменты гипофизов фиксировали в жидкости Штивее. Серийные парафиновые срезы окрашивали азаном по Гейденгайну, применяли ШИК-реакцию и окраску трихром-ШИК и тетрахром-ШИК. Парафиновые срезы (толщина 5–7 мкм) окрашивали гематоксилин-эозином, азаном по Гейденгайну, применяли ШИК-реакцию и окраску трихром-ШИК и тетрахром-ШИК [Кисели, 1962; Лилли, 1982; Меркулов, 1969; Пирс, 1962; Ромейс, 1954].

Для электронной микроскопии образцы гипофиза из центральных и боковых участков фиксировали в 2,5%-ном глутаровом альдегиде на 0,1М коллидиновом буфере с pH=7,3 при температуре около 4 °С. Последующую фиксацию материала осуществляли в 1%-ном осмиевом фиксаторе. Материал обезвоживали в ацетоне возрастающей крепости и заключали в эпоксидную смолу эпон-812. Срезы готовили

на ультрамикротоме БС-490 и ЛКБ-4800. Полученные срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе «Тесла БС-500».

Проводили кариометрию железистых клеток аденогипофиза. С помощью винтового окуляр-микрометра измеряли по 100 ядер различных типов клеток гипофиза. Идентификацию эндокриноцитов аденогипофиза проводили строго в соответствии с гистологической номенклатурой [TERMINOLOGIA HISTOLOGICA, 2009]. По диаметру ядер вычисляли площадь ядер. С помощью планиметра определяли площадь клеток (по 50 измерений для каждого животного). Полученные результаты использовали для вычисления ядерно-цитоплазматического отношения.

Для статистической обработки полученных результатов применяли параметрический *t*-критерий Стьюдента [Лакин, 1980; Снедекор, 1961; Урбах, 1964]. Распределения исследуемых показателей (площадь ядер и площадь клеток) удовлетворяли двум обязательным условиям применения *t*-критерия Стьюдента: нормальность распределения в обеих груп-

пах сравнения и равенство двух генеральных дисперсий в группах сравнения. Мы использовали выражение $M \pm m$, где M — средняя арифметическая, m — ошибка средней арифметической. Различия между средними показателями сравниваемых групп рассматривались как статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В аденогипофизе у взрослых половозрелых самцов и самок северных морских котиков при использовании обычных, гистохимических, специальных (окраска трихром и тетрахром-ШИК) и электронно-микроскопических методов исследования нами выявлено несколько разновидностей эндокриноцитов, которые отличаются по форме, величине, топографии, размерам секреторных гранул и строению оргanelл цитоплазмы.

В центре и в боковых участках гипофиза в большом количестве выявлялись хромофобы (рис. 1), в цитоплазме которых отсутствовали какие-либо секреторные гранулы. Ядра этих клеток отличаются наименьшей величиной.

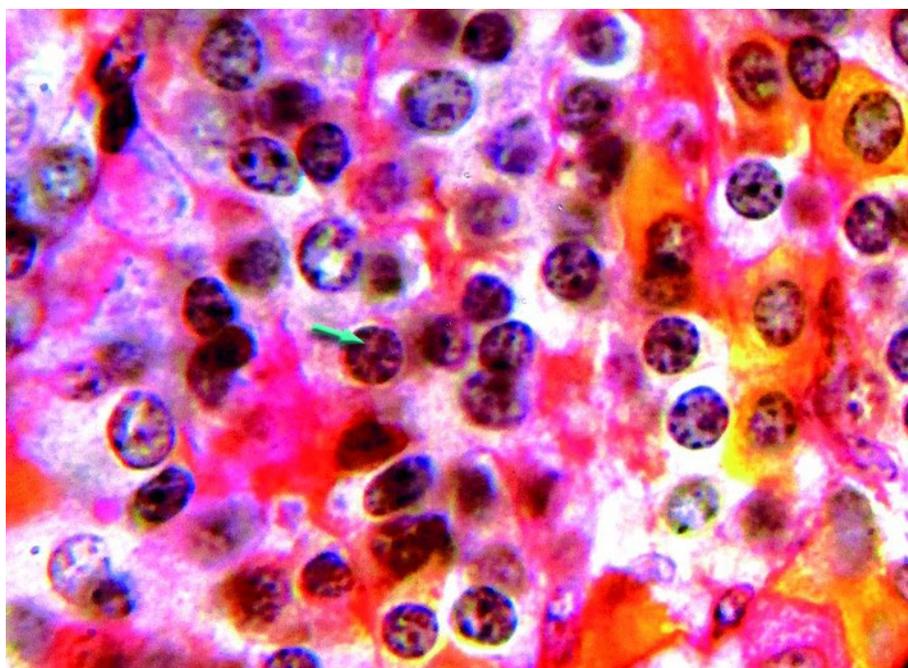


Рис. 1. Аденогипофиз северного морского котика. Видны многочисленные хромофобы (указано стрелкой) с мелкими округлыми ядрами и соматотропные клетки с оранжевой цитоплазмой. Фиксация: жидкость Штив. Окраска: тетрахром-ШИК.

Увеличение об. 90, ок. 15

Соматотропы (СТГ-клетки) встречались наиболее часто в периферических участках аденогипофиза. Они имеют округлую или овальную форму (рис. 2–3). У молодых животных соматотропные клетки содержат немного секреторных гранул, величина которых варьирует от 180 до 220 нм и в небольшом количестве встречаются гранулы зрелого типа, диаметр которых достигает 400 нм (рис. 3). В этих клетках выявляется сильно развитая гранулярная цитоплазматическая сеть, в большом количестве представлены овальные или округлые митохондрии.

У половозрелых животных зрелые секреторные гранулы соматотропов имеют строго округлую форму, отличаются повышенной электронной плотностью, окружены слабо выраженной мембраной (рис. 4). Величина секреторных гранул варьирует от 400 до 450 нм. Ядра соматотропных клеток располагаются в центре. Гипертрофированный комплекс Гольджи имеет уплощённую форму и располагается вблизи ядра. Между мембранами комплекса Гольджи встречаются мелкие и более крупные

вакуоли. Митохондрии имеют округлую или овальную форму, содержат плотный матрикс и кристы. При окраске трихром-ШИК и тетрахром-ШИК соматотропы характеризуются оранжевой цитоплазмой и чётко выделяются среди остальных клеток (рис. 2). Встречаются гнущие соматотропные клетки, которые характеризуются плотной гомогенной цитоплазмой и тёмными пикнотическими ядрами (рис. 2). Гнущие клетки обнаруживаются среди активно функционирующих соматотропов.

Повышение секреторной активности соматотропоцитов сопровождается увеличением количества крупных электронно-плотных гранул [Акмаев, Торгун, 1998], размер которых в среднем составляет 400–450 нм. Мелкие и средние секреторные гранулы отсутствуют. Местами встречаются участки хорошо развитой гранулярной цитоплазматической сети. При накоплении секреторных гранул в цитоплазме соматотропных клеток количество органелл уменьшается [Ульянова, Торгун, 2011].

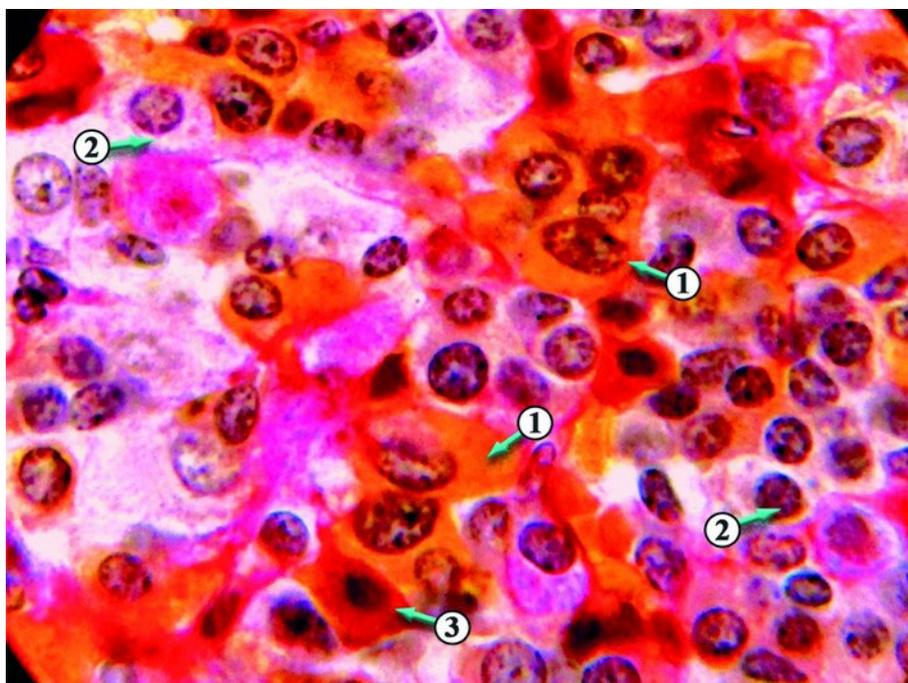


Рис. 2. Соматотропные клетки (1) содержат оранжевую гипертрофированную цитоплазму и крупные ядра; кортикотропные клетки (2) имеют светлую цитоплазму и мелкие ядра. Гнущая соматотропная клетка (3) характеризуется темной цитоплазмой и пикнотическим ядром. Фиксация — жидкость Штыве, окраска — тетрахром-ШИК.

Ув. об. 40, ок. 15

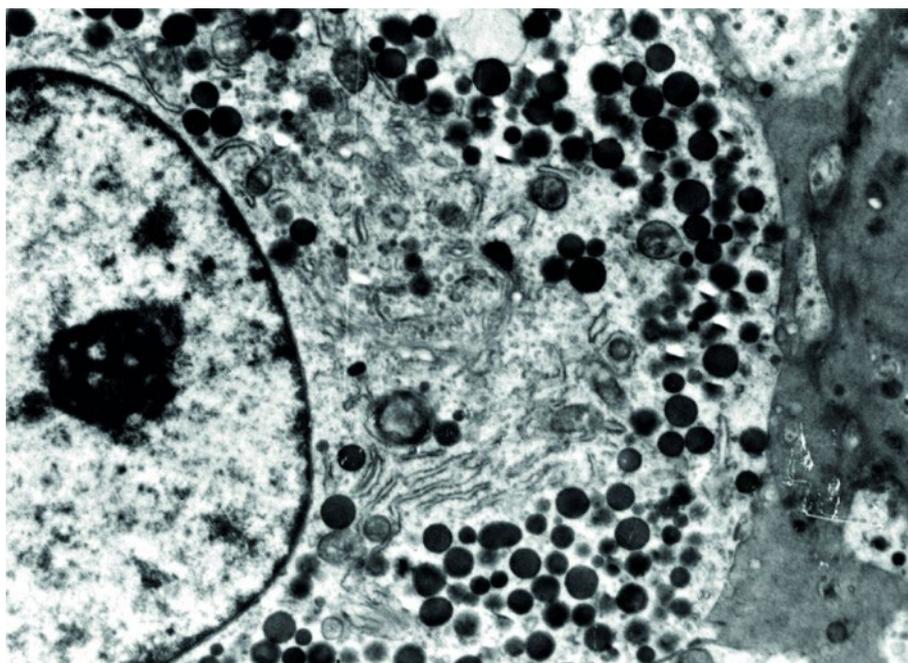


Рис. 3. Электронная микроскопия соматотропоцита в стадии дифференцировки. В левой части фрагмент ядра с ядрышком. В цитоплазме содержатся секреторные гранулы различной величины и различной электронной плотности. Видны каналы гранулярной эндоплазматической сети. Хорошо выражен гипертрофированный комплекс Гольджи. Ув. $\times 10000$

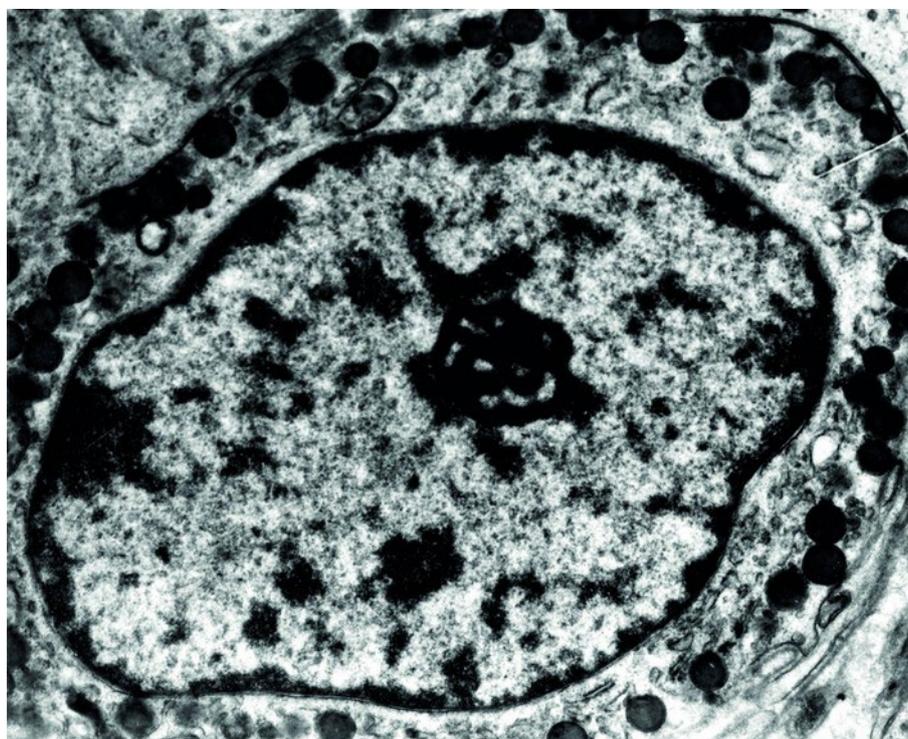


Рис. 4. Электронная микроскопия соматотропоцита. В ядре хорошо выражено ядрышко. На периферии цитоплазмы содержатся крупные зрелые электронно-плотные секреторные гранулы. Ув. $\times 10000$

Кортикотропы (аденокортикотропоциты) встречаются по всей площади горизонтальных срезов, но в большем количестве в зоне, прилегающей к промежуточной доле гипофиза. Эти клетки имеют небольшую величину (рис. 2), округлую форму. Секреторные гранулы отличаются наименьшими размерами (140–160 нм) и содержатся в малом количестве (рис. 2, 5). Митохондрии имеют округлую или удлинённую форму. Местами хорошо выражен гранулярный эндоплазматический ретикулум.

В аденогипофизе новорождённых самцов северного морского котика преобладающими клетками являются хромофобы, характеризующиеся небольшой величиной, округлыми ядрами, отсутствием в цитоплазме секреторных гранул и органоидов. Встречаются единичные митохондрии и небольшие участки цитоплазматической сети.

В периферических и центральных зонах аденогипофиза обнаруживаются небольшие группы мелких соматотропов, интенсивно окрашивающихся оранжевым G. Электронно-микроскопически в соматотропах выявляются хорошо развитая гранулярная сеть, митохон-

дрии, комплекс Гольджи и в небольшом количестве секреторные гранулы. Большая часть секреторных гранул имеет диаметр 260 нм, встречаются более крупные секреторные гранулы (300–350 нм) и реже обнаруживаются гранулы, диаметр которых составляет 400–450 нм (рис. 3).

Цитокариометрические исследования показали (табл. 1–2), что площади ядер и клеток соматотропов и кортикотропов у новорождённых самцов морских котиков отличаются наименьшей величиной. Кортикотропы встречаются в небольшом количестве в аденогипофизе новорождённых самцов морских котиков и, судя по кариометрическим и электронно-микроскопическим показателям, эти клетки характеризуются пониженной секреторной активностью. Ядерно-цитоплазматическое отношение соматотропов и кортикотропов характеризуется наибольшей величиной (табл. 1–2).

На основании выше изложенного можно заключить, что железистые клетки аденогипофиза новорождённых самцов северных морских котиков имеют характерные морфологические и субмикроскопические особенности. Наиболее активными являются соматотропы,

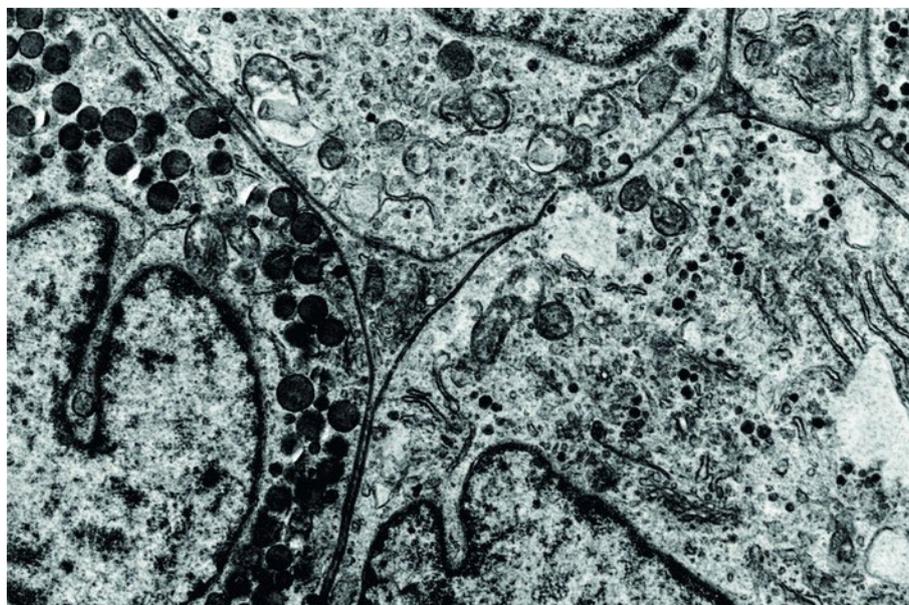


Рис. 5. Электронная микроскопия эндокриноцитов гипофиза. В левой части фрагмент соматотропной клетки с крупными секреторными гранулами. Вверху и внизу справа фрагменты кортикотропных клеток. В цитоплазме этих клеток содержатся мелкие секреторные гранулы в небольшом количестве. Крупные секреторные гранулы отсутствуют. Видны митохондрии, каналы гранулярной цитоплазматической сети. Рядом с ядром расположен комплекс Гольджи. Ув. $\times 8500$

Таблица 1. Цитокариометрические показатели соматотропных клеток аденогипофиза северных морских котиков в постнатальном онтогенезе

Возраст животных	n	Площадь ядер соматотропов (мкм ²) M±m	Площадь цитоплазмы соматотропов (мкм ²) M±m	Ядерно-цитоплазматическое отношение
0–10 дней	10	29,8±0,55	57,2±0,65	0,52
1–3 мес.	10	33,5±0,49*	78,5±0,86*	0,42
2–3 года	10	33,0±0,46	99,8±0,94*	0,33
4–5 лет	10	33,0±0,41	102,5±0,73*	0,32
6–7 лет	10	32,8±0,37*	97,7±0,89*	0,33
8–10 лет	15	32,7±0,40*	116,4±0,98*	0,28
11–12 лет	6	32,1±0,43*	91,9±0,93*	0,35
13–14 лет	4	30,0±0,44*	81,1±0,92*	0,37

* $p < 0,001$.**Таблица 2.** Цитокариометрические показатели кортикотропных клеток аденогипофиза северных морских котиков в постнатальном онтогенезе

Возраст животных	n	Площадь ядер адренокортикотропоцитов (мкм ²) M±m	Площадь цитоплазмы адренокортикотропоцитов (мкм ²) M±m	Ядерно-цитоплазматическое отношение
0–10 дней	10	23,1±0,29	33,4±0,58	0,69
1–3 мес.	10	24,4±0,41	36,4±0,76*	0,67
2–3 года	10	29,4±0,45*	49,8±0,73*	0,59
4–5 лет	10	31,1±0,47	69,3±0,67*	0,44
6–7 лет	10	32,9±0,49*	87,5±0,79*	0,37
8–10 лет	15	34,2±0,60*	96,4±0,98*	0,35
11–12 лет	6	33,8±0,59	71,9±0,78*	0,47
13–14 лет	4	30,3±0,48*	62,4±0,82*	0,48

* $p < 0,001$.

однако эти клетки, как и все остальные, относятся к незрелым секреторным клеткам.

У самцов морских котиков в возрасте 1–3 месяцев в аденогипофизе преобладают соматотропы. В значительном количестве представлены хромофобы. Существенно повысился уровень дифференцировки соматотропов, которые мало чем отличаются от соматотропов взрослых животных. Площадь ядер и клеток соматотропов статистически значимо увеличилась (табл. 1). Электронно-микроскопически в соматотропах выявляются в большем количестве зрелые, крупные, электронно-плотные гранулы, диаметр которых равен 400–450 нм. В меньшем количестве в цитоплазме соматотропов содержатся мелкие гранулы (200–260 нм).

Адренотропные клетки отличаются умеренной гормональной активностью. Площадь ядер этих клеток несколько увеличивается (табл. 2), однако площадь клеток статистически значимо больше (табл. 2) по сравнению с предыдущей возрастной группой животных. Следовательно, у самцов морских котиков в возрасте 1–3 месяцев выявлен значительный подъём секреторной активности соматотропов.

В аденогипофизе самцов морских котиков в возрасте 2–3 лет обнаружено увеличение количества соматотропов. Цитокариометрические и электронно-микроскопические показатели свидетельствуют о повышении секреторной активности этих клеток. Площадь клеток и их ядер статистически значимо увеличивает-

ся (табл. 1), ядерно-цитоплазматическое отношение уменьшается. В цитоплазме этих клеток выявляются многочисленные электронно-плотные крупные секреторные гранулы, диаметр которых составляет 400–450 нм. Некоторые соматотропные клетки характеризуются деградированной цитоплазмой, что свидетельствует об интенсивном выведении секреторных гранул.

У самцов морских котиков в возрасте 2–3 лет резко усиливается активность кортикотропов: площадь ядер и клеток увеличивается. Различия по сравнению с новорождёнными животными статистически значимы ($p < 0,001$). Электронно-микроскопически в этих клетках выявляются мелкие гранулы (140–160 нм), распределённые по всей цитоплазме.

У 6–7-летних самцов морских котиков отмечается некоторое снижение активности соматотропных клеток (табл. 1). Выявляются деградированные соматотропы и деструктивно изменённые с пикнотическими ядрами и плотной гомогенной цитоплазмой. Кортикотропные клетки у 6–7-летних самцов характеризуются признаками повышенной функциональной активности. Это подтверждается не только результатами цитокариометрических исследований, но и электронно-микроскопическими особенностями этих клеток (хорошо развиты органоиды, обилие секреторных гранул).

В аденогипофизе самцов в возрасте 8–10 лет выявляются активно функционирующие соматотропы и кортикотропы (табл. 1–2). Площадь ядер характеризуется максимальным значением (табл. 1). Площадь клеток статистически значимо увеличивается соответственно на 10,2%, ядерно-цитоплазматическое отношение максимально уменьшается (0,35 и 0,28). В цитоплазме соматотропов выявляется большое количество зрелых секреторных гранул. Органеллы хорошо развиты.

В аденогипофизе 11–12-летних самцов хомячков отмечается снижение секреторной активности соматотропов. Отмечается статистически значимое ($p < 0,001$) уменьшение площади клеток на 21,5% (табл. 1). Выявляются клетки с небольшим содержанием секреторных гранул, некоторые из них претерпевают деструктивные изменения. Кортикотропы так

же характеризуются признаками пониженной секреторной активности. Площадь клеток статистически значимо ($p < 0,001$) уменьшается на 25,5% (табл. 2). Ядерно-цитоплазматическое отношение увеличивается на 26,4%.

Заметное снижение функциональной активности соматотропных и кортикотропных клеток выявлено у старых самцов хомячков в возрасте 13–14 лет (табл. 1–2). Цитокариометрические показатели у этих животных статистически значимо ($p < 0,001$) уменьшаются: площадь ядер на 10,3%, площадь клеток на 13,2%. Ядерно-цитоплазматическое отношение возрастает до 0,48 (табл. 2). Гистологически выявляются в большом количестве гибнущие клетки, электронно-микроскопически обнаруживается уменьшение численности секреторных гранул.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведённых исследований нами с помощью специальных методов окраски и с помощью электронной микроскопии точно идентифицированы эндокриноциты передней доли гипофиза, продуцирующие соматотропный и аденокортикотропный гормоны. Величина секреторных гранул, их количество и распределение в цитоплазме являются наиболее надёжными критериями определения типов клеток в аденогипофизе [Котарев и др., 2014]. Нами определены сроки становления морфологического и функционального созревания эндокриноцитов передней доли гипофиза. Снижение секреторной активности эндокриноцитов аденогипофиза выявлено у старых самцов северных морских котиков в возрасте 13–14 лет.

ЛИТЕРАТУРА

- Акмаев И.Г., Торгун П.М. 1998. Функциональная морфология эндокринной и половой систем. Гипофиз // Северный морской котик: Систематика, морфология, экология, поведение. М.: Россельхозакадемия. Т. 1. С. 337–346.
- Алешин Б.В. 1973. Гистофизиология гипоталамо-гипофизарной системы. М.: Медицина. 439 с.
- Богданов А.В. 2009. Роль тракционного механизма в реализации формообразовательных процессов развития гипофиза человека // Морфология. Т. 136. № 4. С. 21–22.

- Бойко Р.Т., Ирьянов Ю.М. 1977. Иммуногистохимическая характеристика клеток аденогипофиза, продуцирующих адренокортикотропный гормон // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. Т. 73. N8. С. 32–35.
- Гордиенко В.М., Козырицкий В.Г. 1978. Ультраструктура желёз эндокринной системы. Киев: Здоровья. 288 с.
- Загребин В.Л., Бойко А.С., Иванова Д.П. 2007. Сравнительная микроморфология хромофильных клеток аденогипофиза в норме и при хроническом психоэмоциональном и смешанном стрессах в раннем постнатальном онтогенезе белых крыс // Бюл. Волгогр. науч. центра РАМН и администрации Волгогр. обл. № 2. С. 25–26.
- Загребин В.Л., Капитонова М.Ю., Морозова Э.Ч., Смирнова Т.С. 2007. Морфо-функциональные аспекты постстрессовой адаптации гипофизарно-надпочечниковой системы растущего организма // Вестник Волгогр. мед. ун-та. № 3. С. 64–67.
- Кисели Д. 1962. Практическая микротехника и гистохимия. Будапешт: Изд-во АН Венгрии. 382 с. (Kiszely G. Gyakorlati mikrotechnika es hisztokem. Medicina Konyvkiado, Budapest, 1958).
- Котарев В.И., Ульянов А.Г., Торгун П.М. 2014. Гистохимические и электронно-микроскопические исследования соматотропных, тиротропных и хромофобных эндокриноцитов гипофиза в различные сезоны года // Журнал анатомии и гистопатологии. Т. 3. № 4. С. 39–42.
- Лакин Г.Ф. 1980. Биометрия. М.: Высшая школа. 291 с.
- Лилли Р. 1982. Патологистологическая техника и практическая гистохимия // М.: Мир. 639 с. (Lillie R.D. 1954. Histopathologic Technic and Practical Histochemistry, 2d ed., McGraw-Hill Book Company, New York).
- Меркулов Г.А. 1969. Курс патологистологической техники. М.: Медицина. 424 с.
- Пирс Э. 1962. Гистохимия теоретическая и прикладная. М.: Изд-во иностр. лит-ры. 1962. 962 с. (Pearse A.G. E. 1960. Histochemistry, Theoretical and Applied., Little, Brown and Company, Boston, 2d ed.,).
- Ромейс Б. 1954. Микроскопическая техника. М.: Изд-во иностр. лит-ры. 1954. 718 с. (Romeis B. 1948. Mikroskopische Technik. Leibnitz Verlag, Munich).
- Снедекор Дж. У. 1961. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. М.: Сельскохозяйственная литература. 505 с. (Snedecor G.W. 1957. Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology. 5 th ed. Jowa, The Jowa State college press).
- Ульянова И.П., Торгун П.М. 2011. Электронно-микроскопические исследования соматотропных и гонадотропных эндокриноцитов аденогипофиза морских млекопитающих в постнатальном онтогенезе // Морфология. Т. 140. № 5. С. 56.
- Урбах В.Ю. 1964. Биометрические методы. М.: Наука. 415 с.
- Terminologia Histologica. 2009. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов. Банин В.В., Быков В.Л. (ред.). М.: ГЭОТАР-Медиа. 272 с.
- Rizzoti K. 2010. Adult pituitary progenitors/stem cells: From in vitro characterization to in vivo function // Eur. J. Neurosci. Т. 32. № 2. С. 2053–2062.
- Reyes R.T., Rizzoti K., Dattani M., Lovell-Badge R., Robinson Iain C.A. F. 2008. SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Т. 105. N8. С. 2907–2912.

Поступила в редакцию 13.05.2019 г.

Принята после рецензии 23.05.2019 г.

Commercial species and their biology

Cytokaryometric and electron-microscopic study of somatotropic and adrenocorticotrophic cells in the pituitary gland of Northern fur seals in postnatal ontogenesisA.I. Boltnev¹, A.G. Ul'yanov², P.M. Torgun², E.A. Boltnev¹¹ Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography (FSBSI «VNIRO»), Moscow² Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University (FSBEI HE «VSAU»), Voronezh

We studied somatotropes and adrenocorticotropes of the pituitary glands of male northern fur seals in postnatal ontogenesis. Special coloring methods were used (trichrome ShIK, tetrakhrom ShIK) and electron microscopic examination methods. The area of the nuclei and the area of the cells was measured, and the nuclear-cytoplasmic ratio was determined. Histochemical and electron microscopic features of somatotropes and adrenocorticotropes have been established, on the basis of which these two types of endocrinocytes of the adenohypophysis can be accurately determined. Somatotropes are intensively stained with orange G and contain large secretory granules, the size of which varies from 400 to 450 nm. The number of secretory granules and the degree of development of organelles characterize the level of cell differentiation and their functional activity. Adrenocorticotropes have a small size and in usual preparations in the cytoplasm of these cells no granularity is detected. In the electron microscope, small secretory granules are detected in a small amount, the size of which is 140–160 nm. Secretory granules evenly distributed throughout the cytoplasm. Changes in the cytokaryometric, histochemical, and electron-microscopic parameters of somatotropes and adrenocorticotropes in male northern fur seals in postnatal ontogenesis were studied. The maximum secretory activity of the endocrinocytes of the pituitary glands was found in males of northern fur seals at the age of 8–10 years.

Keywords: Northern fur seals, pituitary gland, somatotropes, adrenocorticotropes, electron microscopy, nuclear area, cell area, postnatal ontogenesis.

REFERENCES

- Akmaev I.G., Torgun P.M. 1998. Funkcional'naya morfologiya endokrinnoj i polo-voj sistem. Gipofiz. [Functional morphology of the endocrine and reproductive systems. Pituitary.] // Severnyj morskoy kotik. Sistematika, morfologiya, ekologiya, povedenie. Moskva. T. 1. S. 337–346.
- Aleshin B.V. 1973. Gistofiziologiya gipotalamo-gipofizarnoj sistemy [Histophysiology of the hypothalamic-pituitary system] // M.: Medicina. 439 s.
- Bogdanov A.V. 2009. Rol' traktionnogo mekhanizma v realizacii formoobrazovatel'nyh processov razvitiya gipofiza cheloveka [The role of the traction mechanism in the implementation of the shaping processes of the human pituitary gland development] // Morfologiya: Arhiv anatomii, gistologii i embriologii (SPb.). T. 136. N 4. S. 21–22.
- Bojko R.T., Ir'yanov Yu. 1977. Immunogistohimicheskaya harakteristika kletok adenogipofiza, produciruyushchih adrenokortikotropnyj gormon [Immunohistochemical characteristics of adenohypophysis cells producing

- adrenocorticotrophic hormone] // *Arhiv AGE*. T. 73. N 8. C. 32–35.
- Gordienko V.M., Kozyrickij V.G.* 1978. Ul'trastruktura zhelez endokrinnoj sistemy [Ultrastructure of the glands of the endocrine system]. Kiev: Zdorov'ya. 288 s.
- Zagrebin V.L., Bojko A.S., Ivanova D.P.* 2007. Sravnitel'naya mikromorfologiya hro-mofil'nyh kletok adenogipofiza v norme i pri hronicheskom psihoemocional'nom i smeshannom stressah v rannem postnatal'nom ontogeneze belyh kryc [Comparative micromorphology of chromophilic cells of the adenohypophysis in normal and chronic psycho-emotional and mixed stresses in early postnatal ontogenesis of white rats] // *Byul. Volgogr. nauch. centra RAMN i Administracii Volgogr. obl.* N2. S. 25–26.
- Zagrebin V.L., Kapitonova M. Yu., Morozova Z. Ch., Smirnova T.S.* 2007. Morfo-funkcional'nye aspekty poststrecsovoj adaptacii gipofizarno-nadpochechnikovej sis-temy rastushchego organizma [Morphological and functional aspects of the post-stress adaptation of the pituitary-adrenal system of a growing organism] // *Vestn. Volgogr. med. un-ta* N3. S. 64–67.
- Kiseli D.* 1962. Prakticheskaya mikrotehnika i gistohimiya [Practical microtechnique and histochemistry] // *Budapesht: Izd-vo AN Vegrui*. 382 s.
- Kotarev V.I., Ul'yanov A. G., Torgun P.M.* 2014. Gistohimicheskie i elektronno-mikroskopicheskie issledovaniya somatropnyh, tirotropnyh i hromofobnyh endokri-nocitov gipofiza v razlichnye sezony goda [Histochemical and electron microscopic studies of somatropic, thyrotropic and chromophobic endocrinocytes of the pituitary in various seasons of the year] // *Zhurnal anatomii i gistopatologii*. T. 3. № 4. S. 39–42.
- Lakin G.F.* 1980. *Biometriya* [Biometrics]. M.: Vysshaya shkola. 291 c.
- Lilli R.* 1982. *Patologogistologicheskaya tekhnika i prakticheskaya gistohimiya* [Pathologic histology and practical histochemistry]. M.: Mir. 639 s.
- Merkulov G.A.* 1969. *Kurs patologogistologicheskoy tekhniki* [Course of pathologic histology]. M.: Medicina. 424 s.
- Pirs E.* 1962. *Gistohimiya teoreticheskaya i prikladnaya* [Histochemistry theoretical and applied] // M.: Izd-vo inostr. lit-ry. 962 s.
- Romejs B.* 1954. *Mikroskopicheskaya tekhnika* [Microscopic technique] // M.: Izd-vo Inostr. lit-ry. 1954. 718 s.
- Snedekor Dzh. U.* 1961. *Statisticheskie metody vprimenenii k issledovaniyam v sel'skom hozyajstve i biologii* [Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology]. M.: Sel'skohozyajstvennaya literatura. 505 c.
- Torgun P.M., Boltnev A.I.* 2004. *Sravnitel'no-morfologicheskoe i elektronno-mikroskopicheskoe issledovanie spermatogeneza u mlekopitayushchih* [Comparative morphological and electron microscopic study of spermatogenesis in mammals.] Voronezh.: VGPU. 200 s.
- Ul'yanova I. P., Torgun P.M.* 2011. *Elektronno-mikroskopicheskie issledovaniya somatotropnyh i gonadotropnyh endokrinocitov adenogipofiza morskikh mlekopitayu-shchih v postnatal'nom ontogeneze* [Electron-microscopic studies of somatotropic and gonadotropic endocrinocytes of the adenohypophysis of marine mammals in postnatal ontogenesis] // *Morfologiya*. T. 140. № 5. S. 56.
- Urbakh V. Yu.* 1964. *Biometricheskie metody* [Biometric methods]. M.: Nauka. 415 c.
- Rizzoti K.* 2010. Adult pituitary progenitors/stem cells: From in vitro characterization to in vivo function // *Eur. J. Neurosci*. T. 32. № 2. C. 2053–2062.
- Reyes R.T., Rizzoti K., Dattani M., Lovell-Badge R., Robinson Iain C.A. F.* 2008. SOX2-expressing progenitor cells generate all of the major cell types in the adult mouse pituitary gland // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. T. 105. N8. C. 2907–2912.
- Terminologia Histologica.* 2009. *Mezhdunarodnye terminy po citologii i gistologii cheloveka s oficial'nym spiskom russkih ekvivalentov* [Terminologia Histologica. International terms on human cytology and histology with an official list of Russian equivalents] // *Banin V.V., Bykov V.L. (red.) Moskva, GEOTAR-Media*, 272 s.

TABLE CAPTIONS

Table 1. Cytokaryometric indicators of somatotrophic cells of the adenohipophys of the northern fur seals in postnatal ontogenesis

Table 2. Cytokaryometric indices of corticotrophic cells of the adenohipophys of the northern fur seals in postnatal ontogenesis

FIGURE CAPTIONS

Fig. 1. Adenohipophys of the northern fur seal. Numerous chromophobes with small rounded nuclei and somatotrocytes with orange cytoplasm are seen. Fixation: liquid Shtivae. Coloring: tetra chrome SHIK. Magnification: lens 90, eyepiece 15.

Fig. 2. Somatotrophic cells (1) contain an orange hypertrophied cytoplasm and large nuclei; corticotrophic cells (2) have a bright cytoplasm and small nuclei. Perishing somatotrophic cell (3) is characterized by dark cytoplasm and pycnotic nucleus. Fixation — liquid Shtivae, coloring — tetra chrom-SHIK. Magnification: lens 40, eyepiece 15.

Fig. 3. Electron microscopy of somatotrophic cells at the stage of differentiation. In the left part of the nucleus fragment with the nucleolus. The cytoplasm contains secretory granules of various sizes and different electron density. Channels of a granular endoplasmic reticulum are visible. Well expressed hypertrophied Golgi complex. The increase: 10,000.

Fig. 4. Electron microscopy of somatotropocytes. The nucleolus is well expressed in the nucleus. On the periphery of the cytoplasm, large, mature, electronically dense secretory granules are contained. The increase: 10,000.

Fig. 5. Electron microscopy of pituitary endocrinocytes. In the left part a fragment of a somatotropocyte with large secretory granules. At the top and bottom right are adrenocorticotrophic cell fragments. The cytoplasm of these cells contains small secretory granules in a small amount. Large secretory granules are absent. Mitochondria, channels of the granular cytoplasmic reticulum are visible. Next to the core is the Golgi complex. Increase: 8500.