

КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
Кафедра физиологии человека и животных

**ФИЗИОЛОГИЯ ЖЕЛЕЗ ВНУТРЕННЕЙ
СЕКРЕЦИИ**

Учебное пособие

Казань - 2024

*Рекомендовано к изданию учебно-методической комиссией Института
фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский
(Приволжский) федеральный университет»*

Протокол № 7 от 17.04.2024 г

Заседанием кафедры физиологии человека и животных

Протокол № 4 от 02.02.2024 г.

Рецензенты:

кандидат медицинских наук,

доцент каф. нормальной физиологии КГМУ, **Э.Н. Телина**

кандидат биологических наук,

доцент кафедры физиологии человека и животных **Н.Н. Хаертдинов**

Авторы:

О.В. Яковлева, Д.М. Сорокина, О.Ш. Гафуров, Г.Ф. Ситдикова, А.В.Яковлев

Физиология желез внутренней секреции: учебное пособие / О.В.

**Яковлева, Д.М. Сорокина, О.Ш. Гафуров [и др.]. – Казань: Казанский
федеральный университет, 2024. – 75 с.**

Пособие предназначено для бакалавров-биологов, магистров высших учебных заведений, изучающих курс «Физиология желез внутренней секреции» и «Эндокринология». Пособие содержит теоретический материал, проверочные работы, лабораторные работы и темы для рефератов и докладов, что позволяет освоить обучающимся

©Яковлева О.В., 2024

©Казанский федеральный университет, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
Глава 1. Организация и общие принципы функционирования эндокринной системы	8
Глава 2. Эндокринология поджелудочной железы	17
Работа 1 Микроскопическое строение поджелудочной железы крысы	18
Работа 2 Быстрое определение количества глюкозы и выявление ацетоновых тел в моче	20
Работа 3 [#] Влияние аллоксана и инсулина на уровень глюкозы в крови	22
Работа 4 Определение количества глюкозы в крови после сахарной нагрузки у крысы	23
Работа 5 Качественные реакции на инсулин в лекарственных формах и поджелудочной железе	25
Работа 6* Влияние инсулина и аллоксана на мышей	26
Работа 7 Анкетирование	28
Глава 3. Эндокринология надпочечников	31
Работа 8 Микроскопическое строение надпочечников млекопитающего	32
Работа 9 Действие адреналина, атропина и ацетилхолина на зрачок энуклеированного глаза лягушки	33
Работа 10 Качественные реакции на адреналин в лекарственных формах и плазме	34
Глава 4. Эндокринология щитовидной железы	37
Работа 11 Расположение и микроскопическое строение щитовидной, паращитовидной желез и тимуса крысы и человека	40
Работа 12 [#] Влияние тироксина, тиротропина и пропилтиоурацила на метаболизм	42
Работа 13. Влияние тироксина на сердечную деятельность	44
Работа 14 Качественные реакции на гормоны щитовидной железы	45

Глава 5. Гипофиз	48
Работа 15 Расположение и гистологическое строение гипофиза	50
Работа 16* Удаление гипофиза у лягушки	51
Работа 17 Действие меланофорного гормона и адреналина на пигментные клетки лягушки	53
Работа 18* Действие питуитрина на проницаемость стенки мочевого пузыря лягушки для воды	55
Работа 19* Влияние питуитрина на диурез	57
Глава 6. Половые железы и эндокринология размножения	59
Работа 20. Микроскопическое строение половых желез крысы	62
Работа 21. Сперматозоидная реакция Галли-Манини	63
Работа 22* Реакция на фенольную группу эстрогена	65
Работа 23. Анализ шкалы зачатий при менструальных циклах различной длительности	66
Вопросы на семинар	68
Темы для Рефератов	70
Литература	71
Приложение 1	
Приложение 2	
Приложение 3	
Приложение 4	

ВВЕДЕНИЕ

Эндокринология – это наука о функциях гормонов эндокринных желез. Эндокринная система играет важнейшую роль в жизнедеятельности организма человека, обеспечивая взаимосвязь между всеми клетками, тканями и органами. Физиология эндокринной системы является фундаментальной основой для изучения функций и регуляторных механизмов, влияющих на физическое и психическое здоровье человека. Гормоны и другие биологически активные вещества играют важную роль в процессах гомеостаза организма, функциях высшей нервной деятельности, а также поведении и адаптации человека в окружающей среде. Каждая секреторная клетка такой железы одной своей поверхностью контактирует с венозным синусом или капилляром, что способствует быстрому проникновению гормона в кровь. Гормоны, регулирующие деятельность отдельных органов или организма в целом, обычно вырабатываются в небольших количествах и с током крови переносятся к месту назначения.

Существуют по крайней мере два механизма, посредством которых гормон, проникший в кровоток и доставленный к месту назначения, может подействовать на клетки органов и тканей. Гормоны могут либо 1) изменять содержание вторичных посредников в клетке, 2) активировать гены, вызывая тем самым синтез внутриклеточных белков, также способствующий специфическим клеточным функциям.

Рост распространённости эндокринных заболеваний в мире повышает интерес к изучению эндокринологии у врачей различных специальностей. Знания особенностей функционирования эндокринных органов, механизмов рецепции гормонов и их роли в метаболизме позволяют оценивать клинические аспекты диагностики эндокринных дисфункций.

Новейшие достижения в изучении механизмов секреции гормонов, рецепции и их регуляции, а также современные методы исследования физиологических функций эндокринных желез, являются основой для

разработки клинической, лабораторной и инструментальной диагностики эндокринных заболеваний.

В учебной программе предусмотрена самостоятельная внеаудиторная работа студентов, требующая углубленного и расширенного изучения физиологии и эндокринологии. Работы и задания делятся по степени сложности: для бакалавров, специалистов и магистров*.

Требование к оформлению и оценка лабораторных работ.

Лабораторные работы оформляются обучающимися в отдельной тетради по следующему плану:

1. Дата выполнения работы.
2. Номер лабораторной работы, название.
3. Цель.
4. Теоретическое обоснование (не более 0.5 стр).
5. Оборудование, для выполнения заданий.
6. Ход работы (краткое описание этапов выполнения работы и инструкция испытуемому, не более 0.5 стр).
7. Данные, полученные в ходе проведения исследования, представленные в виде таблиц, графиков.
8. Анализ полученных результатов – расчеты, формулы.
9. Обсуждение полученных результатов.
10. Выводы.

При сдаче лабораторных работ учитываются следующие параметры (пример оценивания работы преподавателем, максимум 3 балла):

- знание теории, предваряющей каждое практическое задание (1 балл);
- активность работы студентов во время проведения экспериментов (0.5 баллов);
- правильность оформления работы (0.5 баллов);

- тщательность анализа результатов, качество представления результатов (0.5 баллов);
- обоснованность выводов (0.5 баллов).

Требование к оформлению и оценка конспектов при подготовке к семинарским занятиям. Конспекты к семинарским занятиям оформляются обучающимися от руки в отдельной тетради по следующему плану:

- 1 Название основной темы.
2. Номер и название вопроса.
3. Теория, формулы и схемы (не менее 1 страницы на вопрос).

При сдаче конспекта учитывается соответствие требованиям, сдача в установленное время (максимум 2 балла).

Глава 1. ОРГАНИЗАЦИЯ И ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Организация эндокринной системы Эволюционное появление многоклеточных организмов вызвало необходимость установления координирующих систем для регуляции и интеграции функций различных клеток. Для выполнения этой задачи были развиты два основных регуляторных механизма: нервная и эндокринная системы. В то время как первая из них для передачи команд периферическим органам и получения от них информации использует электрохимические сигналы, последняя осуществляет свою регуляторную деятельность путем продукции химических агентов, которые обычно транспортируются к органам мишеням с помощью кровотока. Две системы, тем не менее тесно связаны, наиболее хорошо известна связь между гипоталамусом и гипофизом. Гипоталамические нейросекреторные клетки образуют вещества, которые высвобождаются в портальные кровеносные сосуды и транспортируются в передний гипофиз (аденогипофиз), где они регулируют секрецию аденогипофизарных гормонов. Другие гипоталамические нейроны посылают свои аксоны в задний гипофиз, где они заканчиваются рядом с сосудистым руслом железы и высвобождают свои нейросекреторные продукты прямо в кровоток. Нервная и эндокринная системы дополнительно связаны с помощью иннервации эндокринных желез. Большинство эндокринных желез, если не все, включая гонады, щитовидную железу и надпочечники, имеют иннервацию, которая видимо, контролирует кровоток, и их секреторную активность. В свою очередь, эндокринная система регулирует функцию нервной системы. Например, стероиды гонад и надпочечников действуют прямо на центральную нервную систему, либо ингибируя, либо стимулируя секреторную активность этих нейронов, которые продуцируют релизинг-гормоны, участвующие в контроле осей гипофиз - гонады и гипофиз - надпочечники соответственно, т.е. лютеинизирующего гормона релизинг-гормон (ЛГРГ) и кортикотропина релизинг-гормон (КРГ).

Эндокринная система состоит из нескольких желез, расположенных в различных областях тела и продуцирующих гормоны с различными функциями. Главная морфологическая особенность эндокринных желез заключается в том, что у них нет протоков – они высвобождают свои секреторные продукты прямо в кровоток, а не в потоковую систему. Поскольку они сильно васкуляризированы, каждая секретирующая клетка может эффективно доставлять свои продукты в кровяное русло. Классические эндокринные железы и их известные секреторные продукты перечислены в таблице 1.

В последние годы традиционное представление о железистой природе эндокринной системы было расширено для включения продукции выявленных гормонов в органах, исходная функция которых не является эндокринной. Возможно, наиболее ранним примером этого было выяснение того, что гормоны продуцируются клетками, рассеянными вдоль слизистой желудка и тонкого кишечника. Мозг, сердце, почки, печень и некоторые элементы крови также продуцируют пептиды и образуют активные метаболиты стероидов из циркулирующих предшественников, которые заслуживают того, чтобы называться гормонами.

Существует несколько путей действия гормонов (рис. 1):

- эндокринный
- паракринный
- аутокринный
- юкстакринный
- нейрокринный.

Классические и неклассические эндокринные железы, и их гормоны

Железа	Гормоны
<i>Классические эндокринные железы</i>	
Нейрогипофиз	Вазопрессин, окситоцин
Аденогипофиз	Соматостатин, пролактин, ТТГ, АКТГ, гормон роста, ФСГ, ЛГ
Щитовидная железа	Тироксин, трийодтиронин
Паращитовидная железа	Паратиреодный гормон
Островки Лангерганса	Инсулин, глюкагон
Кора надпочечников	Альдостерон, кортизол
Мозговой вещества надпочечников	Адреналин, норадреналин
Яичники	Эстрогены, прогестерон
Яичко	Тестостерон
Плацента	Хорионический гормон человека, плацентарный лактоген
<i>Гормонопродуцирующие ткани и APUD (ДЭС)-системы</i>	
Шишковидная железа	Серотонин, мелатонин
Гипоталамус	Статины и либерины
Тимус	Тимозин
Предсердие	Атриопептид
Печень	Соматостатин, инсулиноподобные факторы роста
Почки	Ренин, эритропоэтин, кальцитриол
Жировая ткань	Лептин
ЖКТ	Гастрин, секретин, холецистокенин
Эпителий легких	Серотонин, норадреналин, брадикинин, арахидоновую кислоту и ее метаболиты

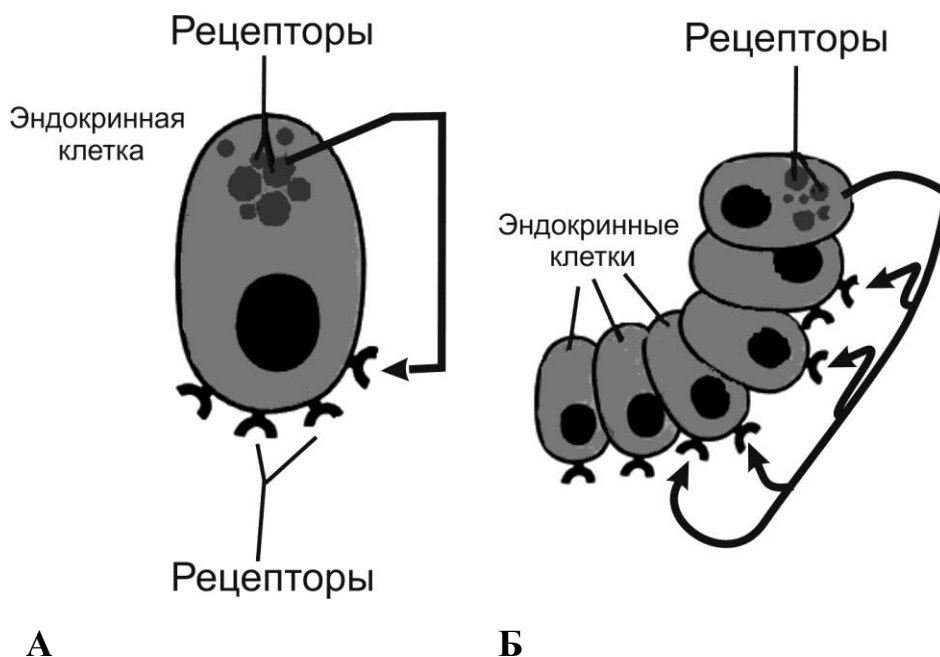


Рис. 1. Пути действия гормонов из Ерофеева. Аутокринное (А) и паракринное (Б) воздействия гормонов.

Эндокринный (классический). Гормон из эндокринной железы поступает прямо в кровоток и по нему достигает своего эффекторного органа.

Паракринный путь действия гормонов. Гормон поступает во внеклеточную жидкость и действует на рядом лежащие другие клетки в железе, не поступая в кровоток. Например, гормон соматостатин секретируется из D-клеток островков Лангерганса в межклеточную жидкость и действует на рядом лежащие А- и В-клетки островка и тормозит секрецию инсулина и глюкагона.

Аутокринный путь действия. Действие гормона на ту же клетку в которой он синтезирован.

Юкстакринное действие. Гормон из клетки, в которой он синтезирован, оказывает действие на окололежащую клетку, на которой есть рецептор к этому гормону. Такое действие оказывает гемопоэтический фактор роста.

Рецепторы гормонов. Действие гормонов на эффекторный орган начинается со связывания гормона с его рецептором. Рецепторы являются высокочувствительными к своему гормону.

Выделяют две группы рецепторов по их расположению (**Приложение 2**):

- На наружной поверхности мембраны клетки.

- Рецепторы внутри клетки – в цитоплазме или ядре. Рецепторы на поверхности клетки.

Рецепторы, которые расположены на поверхности клетки, связывают белковые и пептидные гормоны, катехоламины и простагландины. Эти рецепторы по строению являются пептидами и проходят через мембрану в цитоплазму клетки. Информация от гормона к связанному с ним рецептору передается трансмембранно с нуклеотидсвязывающим «G» протеином и другими протеинами, которые регулируют процесс образования, либо торможения второго мессенджера – цАМФ или цГМФ. Под влиянием сигнала с гормона, через рецептор внутри клетки (при участии цАМФ и цГМФ) активируется тирозинкиназа, которая стимулирует энзимы, синтез белка и осуществляет эффекты данного гормона.

Рецепторы внутри клетки связываются со стероидными гормонами, тиреоидными гормонами, витамином D₃, 10 ретиноидами. Ядерные рецепторы имеют структуру и функцию, подобную рецепторам на клеточной поверхности, хотя имеются некоторые различия в деталях действия. Гормон-рецепторный комплекс стимулирует в ядре специфический ген, или, напротив, репрессирует его. С активированного специфического гена, отвечающего за ту или иную функцию данного гормона, мессенджеры рибонуклеиновой кислоты снимают информацию и передают ее рибосомам в цитоплазму клеток с последующей активацией соответствующих энзимов и осуществлением эффекта данного гормона.

Функция гормонов. Независимо от своей химической природы, гормоны находятся в кровотоке в очень низких концентрациях (от 10^{-7} до 10^{12} М), поэтому не удивительно, что необходимым условием для осуществления действия любого гормона является то, что он должен сначала связаться со специфическими высокоаффинными клеточными рецепторами. Эти рецепторы могут находиться на клеточной мембране, как это имеет место быть в случаях белковых гормонов и аминах, или в ядре, как в случае тиреоидных и стероидных гормонов. Другая отличительная особенность гормонов

заключается в том, что один и тот же гормон может вызывать различные эффекты в различных тканях; наоборот, несколько гормонов могут регулировать одну и ту же функцию.

Гормоны осуществляют свои функции в четырех широких физиологических областях: репродукции, росте и развитии, поддержании внутренней среды и регуляции энергетического обмена (**Приложение 3**).

Синтез и высвобождение гормонов. Пептидные и белковые гормоны синтезируются в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме. Как в случае всех белков, аминокислотная последовательность белковых гормонов определяется специфическими матричными РНК, которые синтезируются в ядре и содержат нуклеотидную последовательность, определяемую конкретным геном. Трансляция последовательности специфической матричной РНК приводит к рибосомальному синтезу белка, более крупного, чем зрелый белок. Это предшественник может быть либо прогормоном, либо препрогормоном. Прогормоны удлинены по их аминоконцам гидрофобной аминокислотной последовательностью, называемой лидирующим, или сигнальным пептидом. Благодаря своей гидрофобной природе лидирующая пептидная последовательность и препрогормонов, и прогормонов обеспечивает продвижение новосинтезированного белка через мембрану эндоплазматического ретикулума для транспортировки в аппарат Гольджи. Лидирующий пептид удаляется из гормона до окончания синтеза полипептидной цепи, что позволяет белку приобрести свою вторичную структуру во время его транспортировки в аппарат Гольджи. После поступления в эту органеллу гормон может быть дополнительно подвергнут процессингу (обработке) протеолитическими ферментами, которые расщепляют прогормон с образованием одного или более зрелых гормонов, и /или другими ферментами, добавляющими небелковые остатки, такие как углеводы. В любом случае гормон всегда хранится в гранулах, которые сливаются с клеточной мембраной во время процесса высвобождения и обеспечивают выдавливание их содержимого во внеклеточное периваскулярное

пространство. Этот процесс называется экзоцитозом и включает участие микротрубочек и мобилизацию кальция через клеточную мембрану. Во время высвобождения из гранул выделяется не только гормон, но и расщепляющие ферменты и пептиды, ассоциированные с прогормоном.

Аминные и стероидные гормоны синтезируются способом, сильно отличающимся от таковых для белков. Они берут начало от молекул-предшественников (тирозина и холестерина, соответственно), которые либо полностью (тирозин), либо частично (холестерин) транспортируются в синтезирующую клетку через кровоток. Находясь внутри клетки, эти молекулы-предшественники подвергаются последовательному действию нескольких ферментов, в результате чего образуются различные промежуточные продукты, которые сами по себе могут быть гормонами. Как и белки, амины упаковываются в гранулы и высвобождаются путем сходного способа - экзоцитоза. В противоположность белковым гормонам, тиреоидные гормоны и стероиды после образования могут свободно проникать через клеточную мембрану без упаковки в гранулы и активного экзоцитоза.

Механизмы обратной связи Секреция большинства, если не всех, гормонов регулируется системами замкнутого контура, известными как механизмы обратной связи. Действительно, эндокринная система как целое организована в виде иерархии систем замкнутого контура, которые не только осуществляют взаимодействие между клетками, но и составляют важную особенность внутриклеточной регуляции. Имеется два типа механизмов обратной связи: отрицательный и положительный.

Отрицательная обратная связь является преобладающим механизмом контроля, регулирующим эндокринную функцию; в своей простейшей форме она представляет собой замкнутый контур, где гормон А стимулирует продукцию гормона В, который в свою очередь, действует на клетки, продуцирующие гормон А, снижая скорость его секреции. Пример такого типа обратной связи можно найти в стимуляции секреции кортизола надпочечниками гормоном аденогипофиза АКТГ (гормон А) и возникающем

ингибировании высвобождения АКТГ повышенным уровнем кортизола в плазмы (гормон В).

В менее распространённых механизмах *положительной обратной связи* гормон В дополнительно стимулирует продукцию гормона, вместо ее подавления. Типичным примером петли положительной обратной связи является связь между ЛГ и эстрадиолом. Во время менструального цикла постепенное увеличение уровня ЛГ в плазме стимулирует продукцию эстрадиола яичником; после достижения определенного уровня эстрадиол индуцирует резкое увеличение секреции ЛГ, известное как предовуляторный выброс ЛГ, поскольку он индуцирует овуляцию. После достижения максимального уровня, ЛГ плазмы снижается, несмотря на наличие все еще повышенной концентрации эстрогенов. Этот последний феномен иллюстрирует самоограничивающую природу систем положительной обратной связи.

Задание 1.

Пользуясь лекционным материалом, пособиями и учебниками, выполните в тетради задание. Запишите в тетрадь названия способов передачи гормональных сигналов, представленных на рисунке 2.

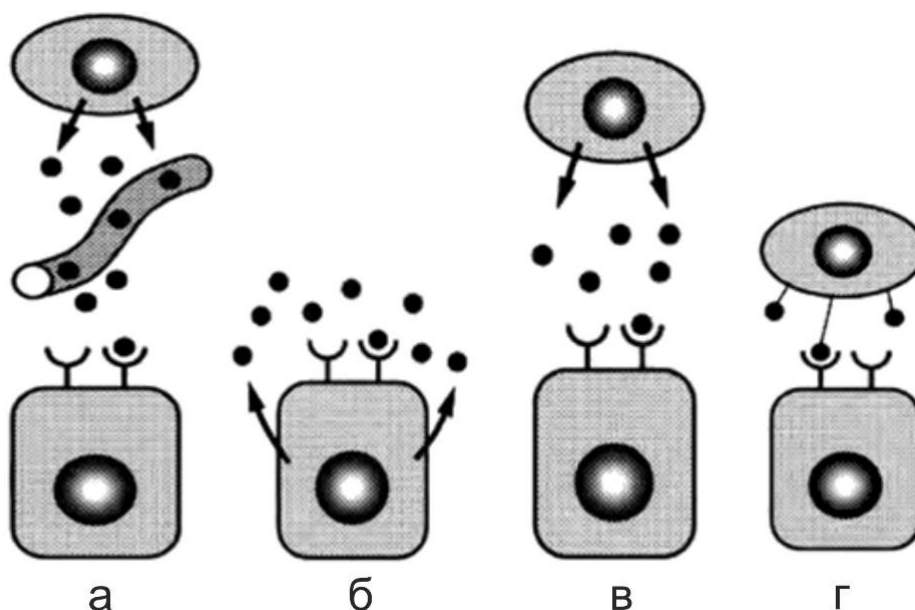


Рис. 2. Способы передачи гормональных сигналов

Задание 2.

Проанализируйте, всегда ли в клинической практике определение содержания только одного гормона больного позволяет судить о степени нарушения эндокринной системы.

Глава 2 ЭНДОКРИНОЛОГИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Поджелудочная железа (рис. 3) – непарный орган, расположенный ретроперитонеально и секретирующий пищеварительные ферменты (экзокринная часть) и различные гормоны (эндокринная часть). Эндокринная часть поджелудочной железы представлена островками, которые были описаны в 1869 г. П. Лангергансом.

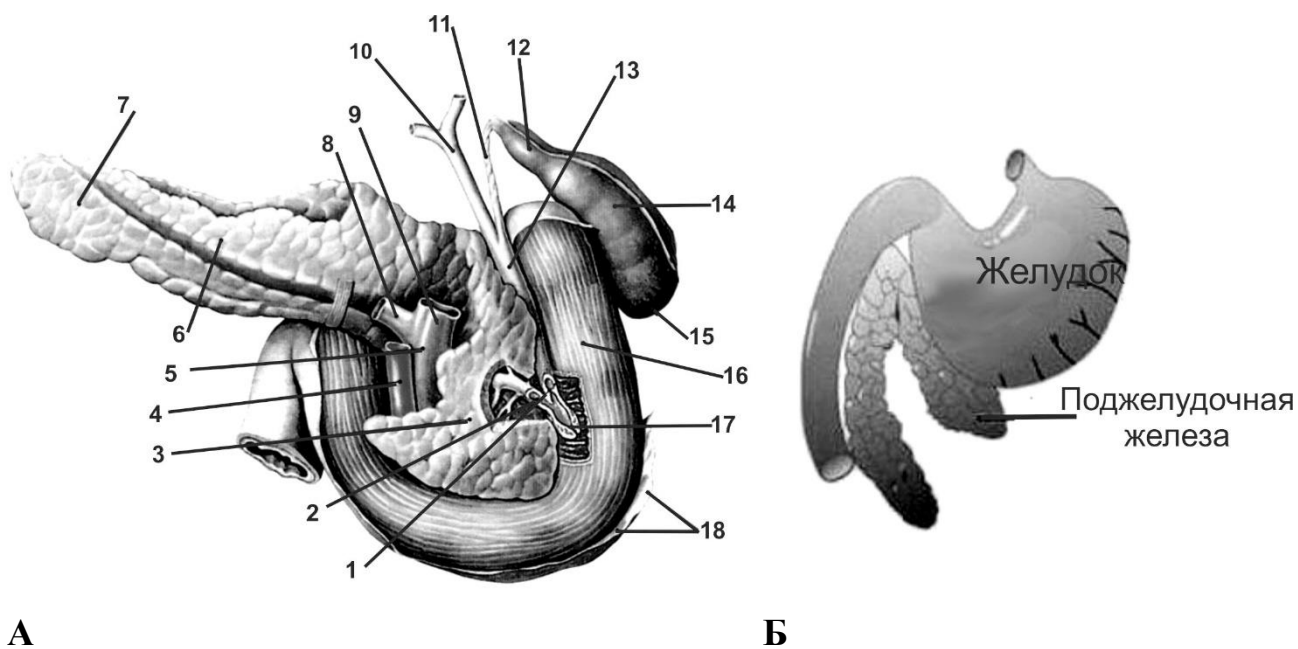


Рис. 3. Поджелудочная железа: расположение, строение. **А** - Расположение ПЖ человека. 1- сфинктер общего желчного протока, 2- проток ПЖ и его сфинктер, 3 - головка ПЖ, 4 - верхняя брыжеечная артерия, 5 - верхняя брыжеечная вена, 6 - тело ПЖ, 7 - хвост ПЖ, 8 - селезеночная вена, 9 - воротная вена печени, 10 - общий печёночный проток, 11 - пузырный проток, 12 - шейка желчного пузыря, 13 - общий желчный проток, 14 - тело желчного пузыря, 15 - дно желчного пузыря, 16 - двенадцатиперстная кишка, 17 - сфинктер Одди, 18 – брюшина; **Б** - Расположение ПЖ собаки.

Панкреатические островки (островки Лангерганса) диффузно распределены в экзокринной паренхиме (зимогенной ткани) поджелудочной железы, составляют 1-1.5 % от общего объема и имеют диаметр от 50 до 400 мкм (диаметр большей части островков 200 мкм). Число, размеры, форма и микроскопическое строение островков Лангерганса неодинаковы у разных позвоночных. В поджелудочной железе взрослого человека насчитывается от

240-360 тыс. до 2 млн. островков. У рыб, бесхвостых амфибий, рептилий и млекопитающих каждый островок содержит железистые клетки двух типов. α -клетки, содержащие в цитоплазме гранулы и окрашивающиеся азаном или флоксином в ярко-красный цвет, вырабатывают – глюкагон. Основным эффектом глюкагона заключается в увеличении уровня глюкозы в крови. β -клетки, характеризующиеся наличием гранул в цитоплазме, окрашивающиеся хромовым гематоксилином в голубой цвет, вырабатывают инсулин. Действие инсулина сводится к следующим основным процессам: снижению содержания сахара в крови в результате повышения поглощения и утилизации глюкозы тканями и усилению синтеза гликогена. В результате недостаточного выделения инсулина нарушается поглощение и утилизация тканями глюкозы – основного источника энергии в организме. Это влияет на метаболизм липидов и белков: скорость их распада увеличивается. Повышается также высвобождение глюкозы из печени, что способствует гипергликемии, глюкозурии, обезвоживанию и увеличению осмолярности мочи.

Работа 1. Микроскопическое строение поджелудочной железы крысы

Поджелудочная железа крысы расположена в желудочно-селезеночной связке, в брыжейке двенадцатиперстной кишки и вдоль всего желчного протока. Она очень рыхлая и состоит из множества долек. Поджелудочную железу крысы фиксируют смесью Ценкера, заливают в парафин и изготовленные срезы окрашивают азаном по Гейденгайну.

Для работы необходимо: микроскопы, препараты срезов поджелудочной железы различных видов млекопитающих.

Описание препарата. При малом увеличении видно, что поджелудочная железа разделена на многочисленные дольки прослойками соединительной ткани. Основную массу поджелудочной железы составляет зимогенная ткань, представляющая собой секреторные концевые отделы железистых долек, имеющие на срезе неправильную округлую или вытянутую форму. Они

образованы одним слоем железистых клеток, вырабатывающих панкреатический сок.

Внутри железистых долек среди зимогенной ткани расположены светлее окрашенные островки Лангерганса, имеющие округлую или реже неправильную форму. Каждый островок снаружи окружен тонкой прослойкой соединительной ткани. Эндокринная часть островка состоит из небольших клеток, к которым прилегают капилляры.

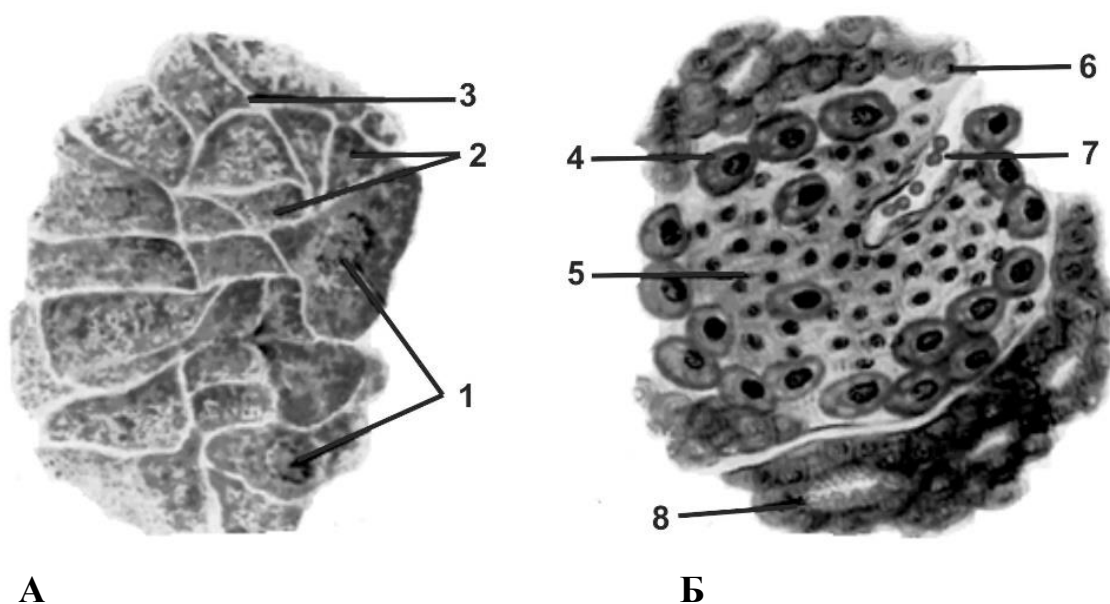


Рис. 4. Микроскопическое строение островков Лангерганса крысы. **А** - срез через поджелудочную железу при малом увеличении; **Б** - срез через островок Лангерганса при большом увеличении: 1 - островки Лангерганса, 2 – зимогенная ткань, 3 – междольковая соединительная ткань, 4 - α -клетка, 5 - β -клетка, 6 – ацинарная клетка, 7 – кровеносный сосуд, 8-гранулы секрета.

При окраске азаном в островке Лангерганса легко определяются два типа клеток. α -клетки имеют округлую или многоугольную форму, большое пузырьковидное ядро, содержат в цитоплазме гранулы, окрашенные в ярко-красный цвет. β -клетки имеют призматическую форму, округлое ядро, гранулы в цитоплазме окрашены в бледно-голубой цвет.

У крысы β -клетки обычно занимают всю центральную часть островка, а α -клетки расположены преимущественно в периферической его части (рис. 4).

Ход работы: Зарисуйте островки Лангерганса поджелудочной железы и подпишите строение.

Работа 2. Быстрое определение количества глюкозы и выявление ацетоновых тел в моче

В моче здорового человека обычно нет глюкозы, а ацетоновые тела содержатся в таких малых количествах, которые не выявляются с помощью обычных реакций. При сахарном диабете в моче содержатся глюкоза и повышенное количество ацетоновых тел. Исследование мочи на сахар и ацетоновые тела при сахарном диабете имеют важное диагностическое значение.

Для работы необходимо: пипетки на 5 и 1 мл, химические пробирки, воронки, водяная баня, едкий натр (10 % раствор), дистиллированная вода, цветная шкала, нитропруссид натрия, ледяная уксусная кислота, спектрофотометр, глюкоза.

Ход работы.

Определение количества глюкозы

1 Приготовление эталонных растворов. Исследование содержания глюкозы в моче проводится с помощью спектрофотометрического метода. Приготовить 8 мл 5% раствора глюкозы. Затем путем последовательных разбавлений приготовить 3 раствора на 2.5, 1.25 и 0.625% растворы.

2. Проведение реакции. В четыре пробирки заливают 4 мл раствора с эталонной концентрацией глюкозы и в одну 4 мл дистиллированной воды. Далее приливают 1 мл 10 % раствора едкого натрия и кипятят каждую в течение 30 - 60 сек.

3. Построение калибровочного графика. После охлаждения пробирок проводят измерение оптической плотности четырех имеющихся эталонных растворов против холостой пробы. Результаты фотометрирования записывают в рабочий журнал, затем по ним строят калибровочный график в координатах

оптическая плотность – концентрация глюкозы. Масштаб графика должен соответствовать точности измерений.

3. Выявление глюкозы в исследуемой пробе. Затем необходимо получить у лаборанта или преподавателя анализируемый образец мочи, провести реакцию согласно п. 2. Измерить его оптическую плотность, используя тот же раствор сравнения, что и при построении калибровочного графика. Определите по графику содержание глюкозы в анализируемом образце. Сделайте вывод о количестве сахара в исследуемой пробе.

Определение ацетоновых тел

1. Проба Легалья. В пробирку наливают 5 мл исследуемой мочи и прибавляют к ней 5 капель свежеприготовленного 10 % водного раствора нитропруссид натрия и 3 - 5 капель 10 % водного раствора едкого натрия. При этом смесь окрашивается в рубиново-красный цвет. Затем к смеси прибавляют 8 - 10 капель ледяной уксусной кислоты. Если в моче содержатся ацетон или ацетоуксусная кислота, то окраска смеси становится пурпурно-фиолетовой или малиновой. При отсутствии ацетоновых тел цвет смеси – зеленовато-желтый.

2. Реакция Герхарда. Наливают в пробирку 10 капель мочи и 4-6 капли 10%-го $FeCl_3$. При выполнении данной реакции с мочой необходимо учесть, что после добавления первых двух капель раствора $FeCl_3$ выпадает осадок фосфата железа (III) – $FePO_4$. Поэтому для получения вишнево-красного окрашивания необходимо добавить еще несколько капель этого реактива. Окраска постепенно бледнеет при стоянии вследствие самопроизвольного декарбоксилирования ацетоуксусной кислоты. При кипячении мочи этот процесс протекает очень быстро.

Сделайте вывод о наличии ацетоновых тел в пробе.

Работа 3.[#] Влияние аллоксана и инсулина на уровень глюкозы в крови

Работа выполняется в программе «Виртуальное ФЖ».

Цель: продемонстрировать действие инсулина на здоровую крысу и на крысу с инсулинозависимым диабетом.

Для работы необходимы компьютеры.

Ход работы:

1. Сделайте забор образца крови у здоровой крысы до воздействий, нажав кнопку «Взять образец крови». Проведите анализ концентрации глюкозы в крови с помощью кнопок «Добавить реагент», «Анализ».

2. Перезапустите эксперимент. Введите инсулин контрольной крысе, нажав стрелку, обозначающую это вещество. Повторите изменение концентрации глюкозы в крови как в п. 1. Запишите результаты в протокол эксперимента.

3. Перезапустите эксперимент. Введите аллоксан крысе, нажав стрелку, обозначающую это вещество. Повторите изменение концентрации глюкозы в крови как в п. 1. Запишите результаты в протокол эксперимента.

Таблица 2

Протокол эксперимента

Группа животных	Контроль	Инсулин	Диабет 1 типа	Диабет 1 типа +инсулин
Концентрация глюкозы, мг/мл				

4. Перезапустите эксперимент. Введите аллоксан и инсулин крысе, с помощью соответствующих стрелок. Повторите изменение концентрации глюкозы в крови как в п. 1. Запишите результаты в протокол эксперимента.

Сделайте выводы о влиянии инсулина на утилизацию глюкозы.

Работа 4. Определение количества глюкозы в крови после сахарной нагрузки у крысы

Для определения функционального состояния островкового аппарата поджелудочной железы, исследуют содержание сахара в крови не только натощак, но и в течение определенного времени после так называемой «сахарной нагрузки». Особенно важное значение эта проба имеет для диагностики случаев скрытого сахарного диабета. У здорового человека количество сахара в крови увеличивается в течение первых 30 мин после сахарной нагрузки и не превышает 8 ммоль. Затем к концу 2-го часа возвращается к исходному уровню. Если содержание сахара в крови после приема глюкозы повышается в течение 1-1.5 часов, оказывается выше 10 ммоль и не возвращается к исходному уровню через 3 часа, это говорит о скрытом сахарном диабете.

Для определения сахаров в клинике используют спектрофотометрический метод. Его проводят, осуществляя измерение оптической плотности окрашенных растворов, образуемых при взаимодействии сахаров с антроновым или орциновым реактивами и пикриновой кислотой. Метод определения с пикриновой кислотой основан на цветной реакции моносахаров с пикриновой кислотой, протекающей с образованием пикраминовой кислоты в результате восстановления сахаром группы NO_2 до NH_2 . Интенсивность образовавшейся окраски пропорциональна количеству определяемого сахара (0.1 – 0.8 мг/мл) в испытуемом растворе препарата.

Для работы необходимо: скарификаторы, микропипетки на 0.1 и 1 мл, спирт, вата, глюкоза, химические пробирки, воронки, водяная баня, пикриновая кислота (1.2 % раствор), едкий натр (10 % раствор), дистиллированная вода, фильтровальная бумага, спектрофотометр, кюветы на 10 мм.

Ход работы.

1. У крысы берут кровь из хвостовой вены для определения уровня сахара натощак (голод не менее 12 ч), затем дают выпить 2 мл воды, в которых растворено 0.1 г глюкозы. После этого берут кровь для исследования в течение

2 часов. Определяют количество сахара в крови. Исследование содержания глюкозы в крови проводится с помощью спектрофотометра методом сравнения.

2. Приготовить 1 мл эталонного раствора глюкозы концентрацией 10 ммоль (молекулярная масса глюкозы: 180 г/моль).

В пробирки 1, 2 наливают 1.9 мл дистиллированной воды, в пробирку 3 наливают 2 мл дистиллированной воды. Микропипеткой набирают 0.1 мл эталонного раствора и добавляют ее в каждую пробирку, затем промывают пипетку содержимым пробирки несколько раз. Далее в пробирки 1, 2, 3 прибавляют по 1 мл 1.2 % раствора пикриновой кислоты. Содержимое тщательно взбалтывают и фильтруют в сухие пробирки № 1а, 2а, 3а. Из профильтрованной порции набирают 2 мл и переносят в сухую пробирку № 1б, 2б, 3б. В них прибавляют 0.2 мл 10 % раствора едкого натра и кипятят их в течение 3 минут в кипящей водяной бане. После охлаждения пробирок проводят измерение оптической плотности в максимуме поглощения при длине волны от 440 до 460 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм трех имеющихся эталонных растворов против холостой пробы (пробирка 3б). Результаты фотометрирования записывают в рабочий журнал, полученные результаты усредняют.

3. В пробирки № 4 наливают 1.9 мл дистиллированной воды. Микропипеткой набирают 0.1 мл крови голодной крысы и добавляют ее в пробирку, затем промывают пипетку содержимым пробирки несколько раз. Далее в пробирку прибавляют 1 мл 1.2 % раствора пикриновой кислоты. Содержимое тщательно взбалтывают и фильтруют в сухую пробирку № 4а. Из профильтрованной порции набирают 2 мл и переносят в сухую пробирку № 4б. В нее прибавляют 0.2 мл 10 % раствора едкого натра и кипятят их в течение 3 минут в кипящей водяной бане. После охлаждения пробирок проводят измерение оптической плотности двух растворов с голодной кровью против холостой пробы (пробирка 3б). Результаты фотометрирования записывают в рабочий журнал.

4. Пункт 4 повторяют с пробирками № 5 через 15-20 мин, № 6 через 1 час и № 7 после 2 часа после кормления крысы.

5. По формуле

$$C_x = C_{эт} * S_x / S_{эт},$$

где $C_{эт}$ – 10 ммоль, $S_{эт}$ - среднее значение оптической плотности эталонного раствора, S_x – среднее значение оптической плотности образца крови, вычисляют содержание глюкозы в образцах крови.

6. Полученные результаты изображают в виде кривой, откладывая по оси абсцисс время после кормления, а по оси ординат - количество сахара в ммоль.

Сделайте вывод о исходном уровне сахара в исследуемой крови, оцените быстроту, степень и продолжительность повышения уровня сахара; время и характер снижения этого уровня.

Работа 5. Качественные реакции на инсулин в лекарственных формах и поджелудочной железе

Инсулин – гормон, продуцируемый β -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы. Инсулин регулирует уровень глюкозы в крови, он находит широкое применение при лечении сахарного диабета у людей.

Выделяют цветные реакции на инсулин, которые доказывают его белковую природу: а) биуретовая реакция; б) ксантопротеиновая реакция на циклические аминокислоты (фенилаланин, тирозин и триптофан); в) реакция на слабосвязанную серу (цистеин, цистин).

Цель работы: проделать качественные реакции с использованием лекарственной формы инсулина или препарате поджелудочной железы теплокровного*.

Для работы необходимо: инсулин, поджелудочная железа, лед, пробирки, реактивы, водяная баня.

Препарат поджелудочной железы быстро на льду растирают с добавлением физиологического раствора 1:5.

1. Биуретовая реакция

Ход работы: к 5 каплям инсулина или 10 каплям гомогената* добавить 5 капель 10% раствора едкого натра и 1 каплю (избыток мешает чтению результатов реакции!!!) 1% раствора сернокислой меди. Жидкость окрашивается в фиолетовый цвет.

2. Ксантопротеиновая реакция

Ход работы: к 5 каплям инсулина или 10 каплям гомогената* добавить 3 капли концентрированной азотной кислоты; образуется осадок белка, который при осторожном нагревании на водяной бане окрашивается в желтый цвет.

К охлажденной пробе (!!!) добавляют избыток аммиака - появляется оранжевое окрашивание вследствие образования хиноидного производного тирозина.

3. Реакция Фолья на слабосвязанную серу

Ход работы: вначале денатурируют белок, добавляя к 5 каплям раствора инсулина или или 10 каплям гомогената* 1% раствор уксуснокислого свинца по каплям до выпадения осадка. Затем также по каплям добавляют 10% раствор NaOH до полного просветления жидкости (растворение осадка денатурированного белка). Пробирку нагревают в кипящей водяной бане, пока раствор не окрасится в темный (черный) цвет за счет образования осадка сульфида свинца.

Сделайте выводы о строении гормона инсулина.

Работа 6*. Влияние инсулина и аллоксана на мышей

Цель работы: исследовать влияние введения инсулина и аллоксана на белых мышей.

Для работы необходимо: инсулин, 20% раствор глюкозы, физиологический раствор, шприцы, клетки, поилки, глюкометр.

Ход работы: Перед началом опыта животных метят и взвешивают, затем вводят подкожно инсулин в следующих дозах: 1-я мышь получает 0.1 ед. на 10

г массы тела, 2-я – 0.25 ед., 3-я – 0.5 ед., а 4-й контрольной мышью вводят 0.5 мл физиологического раствора.

После инъекции мышью помещают в индивидуальные клетки и наблюдают за их поведением. Примерно через 20 минут инсулин оказывает свое действие. Отмечают количество актов груминга, актов дефекации за 1 минуту (каждые 5 минут) и суммарное количество актов уринаций. Мышь извлекают из клеток через 30 минут после инъекции и вводят каждой из них (кроме первой и контрольной) внутривенно 0.5 мл 20%-го раствора глюкозы. Наблюдают за животными еще 20 минут, отмечая изменение их поведения.

В конце исследования оценивают количество потребленной жидкости. Для этого в начале опыта каждой мышью дают поилку с 20 мл воды и оценивают количество оставшейся воды после 1 часа эксперимента. В конце опыта измеряют концентрацию глюкозы в крови (хвостовая вена) у мышей с помощью глюкометра. Внесите полученные данные в таблицу № 3

Таблица 3

Номер мыши	Введенный препарат, ед	Уринации, количество	Объем потребленной воды, мл	Глюкоза, ммоль
1				
2				
3				
4				

При написании выводов отметьте, что произошло с мышью, получившими разные дозы инсулина, после добавочного введения глюкозы. Опишите механизм действия инсулина, а также результат недостаточного и избыточного содержания инсулина в организме.

Работа 7[#]. Анкетный метод выявления лиц с высокой вероятностью заболевания сахарным диабетом

К группе риска нарушения углеводного обмена относятся лица с наследственной предрасположенностью, ведущие малоподвижный образ жизни и имеющие избыточную массу тела, также лица, у которых в период острых заболеваний отмечали толерантности (устойчивости) к глюкозе. Нарушенная толерантности к глюкозе — это положительная проба с глюкозной нагрузкой при нормальной концентрации глюкозы в крови натощак. Раннее выявление таких лиц имеет значение для клиники.

Для работы необходимо: анкета, калькулятор.

Ход работы. Вычислить итоговую оценку ответов, суммировав положительные и отрицательные оценочные баллы. Если итоговая оценка теста составляет 3 балла и более, то вероятность диабетического нарушения углеводного обмена достаточно высока, испытуемый принадлежит к группе риска и его необходимо подвергнуть лабораторному обследованию. Результат тестирования, итоговую оценку, вывод записать в протокол (таблица 4).

Полученные результаты внесите в тетрадь. Сделайте вывод.

Задание 3

1) Перепишите предложения вставляя термины в пропуски.

Эндокринную функцию поджелудочной железы выполняют различные типы клеток, находящиеся в островках _____. Укажите названия этих клеток и продуцируемых ими гормонов: _____-_____, _____-_____, _____-_____. Инсулин - гормон _____ клеток островков _____. Главная роль инсулина _____ концентрации глюкозы в крови.

2) Перечислите названия частей поджелудочной железы, отмеченных цифрами на рисунке 5.

**Анкета выявления лиц с высокой вероятностью заболевания
сахарным диабетом**

Возраст (годы) _____ Пол (муж., жен.) _____			
Рост (см) _____ Масса тела (кг) _____			
Вопрос	Ответ	Оценочная шкала	
		мужчина	женщина
1. Наблюдаетесь ли у эндокринолога по поводу сахарного диабета?	Да – 1 Нет – 2		
2. Ваша масса тела при рождении	<ul style="list-style-type: none"> • не знаю – 1 • более 4500 г – 2 • менее 2500 г – 3 • 2500 - 4500 г – 4 		
3. Испытываете ли постоянную сухость во рту?	Да – 1 Нет – 2	Да – 1.62 Нет 0	Да – 2.07 Нет - 0
4. Беспокоит ли постоянная жажда, не связанная с употреблением соленой пищи, жаркой погодой и т. п.?	Да – 1 Нет – 2	Да – 1.26 Нет - 0	Да – 1,89 Нет - 0
5. Имеете ли повышенный аппетит?	Да – 1 Нет – 2	Да – 0.78 Нет - 0	Да – 0.85 Нет - 0
6. Имеется ли постоянная слабость?	Да – 1 Нет – 2	Да – 0.69 Нет - 0	Да – 0.94 Нет - 0
7. Беспокоит ли зуд кожи?	Да – 1 Нет – 2	Да – 0.96 Нет - 0	Да – 1.36 Нет - 0
8. Имеются ли сейчас или были ранее гнойничковые заболевания кожи?	Да – 1 Нет – 2	Да – 0.82 Нет - 0	Да – 0.38 Нет - 0
9. Имеется ли потребность в жидкости между завтраком, обедом и ужином?	<ul style="list-style-type: none"> • обычно нет – 1 • 1-2 стакана в день – 2 • До 1 л в день – 3 • более 1 л в день – 4 	-0.49 -0.30 0.73 0.67	-0.99 -0.71 1.43 1.43

10. Как изменилась масса Вашего тела в течение последнего года?	<ul style="list-style-type: none"> • не изменилась – 1 • увеличилась – 2 • уменьшилась – 3 	-0.65 0.13 1.30	-0.56 0.33 1.50
11. Кто из близких родственников (живых или умерших) страдал сахарным диабетом?	<ul style="list-style-type: none"> • никто – 1 • не знаю – 2 • родители (отец, мать) – 3 • бабушка, дедушка – 4 • брат, сестра – 5 • дядя, тетя – 6 	-0.31 -0.03 -0.28 -0.54 0.38 1.08	-0.02 -0.72 -0.16 -2.26 1.53 -0.26
12. Можете ли Вы обходиться без сладостей?	Да – 1 Нет – 2	Да - 0.42 Нет – 0.19	Да – 0.25 Нет – 0.51
13. Фактическая масса тела в сравнении с «идеальной» (рост в см – 100)	<ul style="list-style-type: none"> меньше на 11-20 кг – 1 меньше на 21 кг и более – 2 от -10 до +10 кг – 3 больше на 11-20 кг – 4 больше на 21 кг и более – 5 	-0.57 1.07 -0.71 0.37 2.20	-1.87 0.90 -0.59 0.12 1.81
Итоговая оценка: _____			

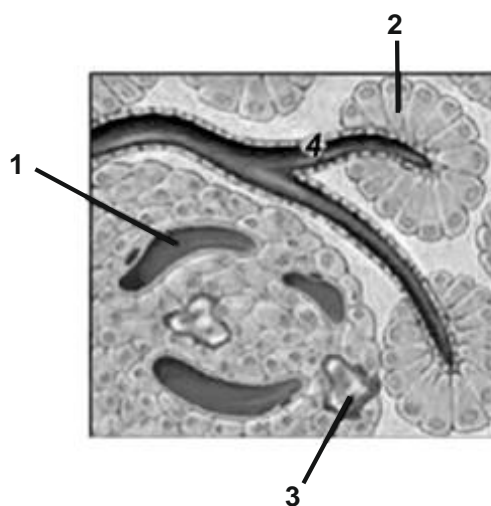


Рис. 5. Схема экзо-и инкреторной частей поджелудочной железы.

ГЛАВА 3 ЭНДОКРИНОЛОГИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ

У человека надпочечники представляют собой парные пирамидальные образования, расположенные на верхних полюсах почек (рис. 6).

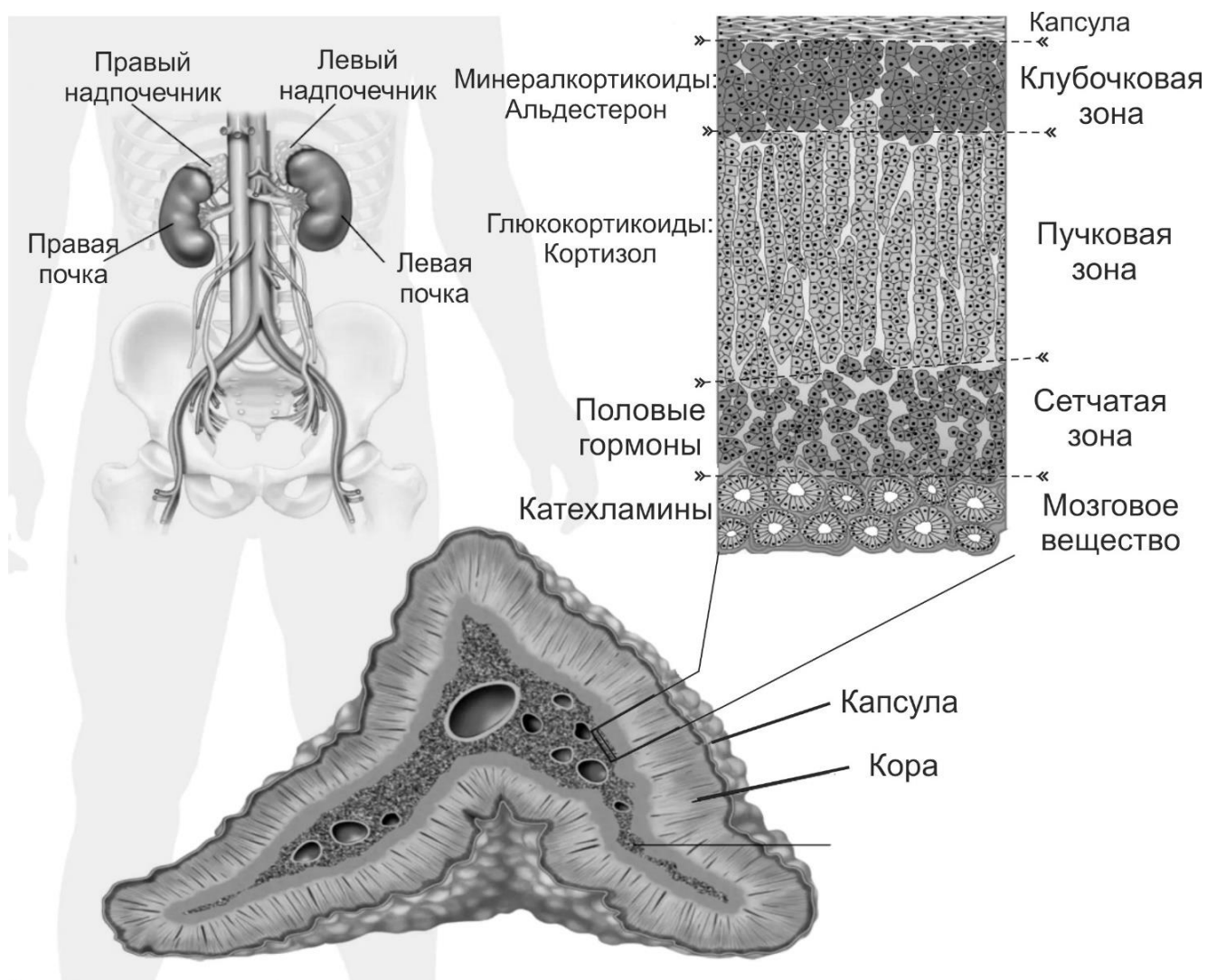


Рис. 6. Расположение, строение гормоны надпочечника человека.

Длина их колеблется от 2.5 до 5.0 см. Каждый надпочечник состоит из двух различных эндокринных желез, имеющих разное происхождение и физиологическое значение.

Кора надпочечника состоит из так называемой интерренальной ткани, образовавшейся из мезодермы и вырабатывающей стероидные гормоны. В коре надпочечника различают несколько зон (рис. 6). Клубочковая зона вырабатывает альдостерон, относящийся к минералокортикоидам – гормонам, влияющим преимущественно на минеральный обмен. В пучковой зоне

образуется кортикостерон и гидрокортизон – глюкокортикоиды, влияющие на белковый и углеводный обмен. В сетчатой зоне и Х-зоне происходит образование андрогенов или мужских половых гормонов.

Мозговое вещество надпочечника состоит из так называемой хромаффинной ткани, образующейся из общего эктодермального зачатка с пограничными симпатическими стволами, и вырабатывает катехоламины.

Работа 8.[#] Микроскопическое строение надпочечников млекопитающего.

Для работы необходимо: микроскоп, препараты срезов надпочечника крысы.

Описание препарата. Даже невооруженным глазом на срезе видно, что надпочечник состоит из более темноокрашенной центральной части - мозгового вещества и расположенного периферически коркового вещества.

При рассматривании под микроскопом легко установить, что надпочечник покрыт соединительной капсулой. Кора надпочечников представляет собой мощный слой, который на основании строения клеток и характера расположения клеточных тяжей делит на 3 зоны: клубочковую, пучковую и сетчатую (рис. 6, 7).

В клубочковой зоне клеточные тяжи имеют форму петель или клубочков. В пучковой зоне – наиболее широкой зоне, длинные клеточные тяжи идут радиально, почти параллельно друг другу. В сетчатой зоне тяжи клеток анастомозируют друг с другом, образуя сложную сеть, разные петли которой на срезе оказываются перерезанными неодинаково.

Мозговое вещество надпочечника слагается из гораздо более широких тяжей, каждый из которых состоит из нескольких рядов сравнительно крупных многоугольных клеток с большими ядрами. Зарисуйте срез надпочечника крысы, обозначьте зоны коры надпочечника.

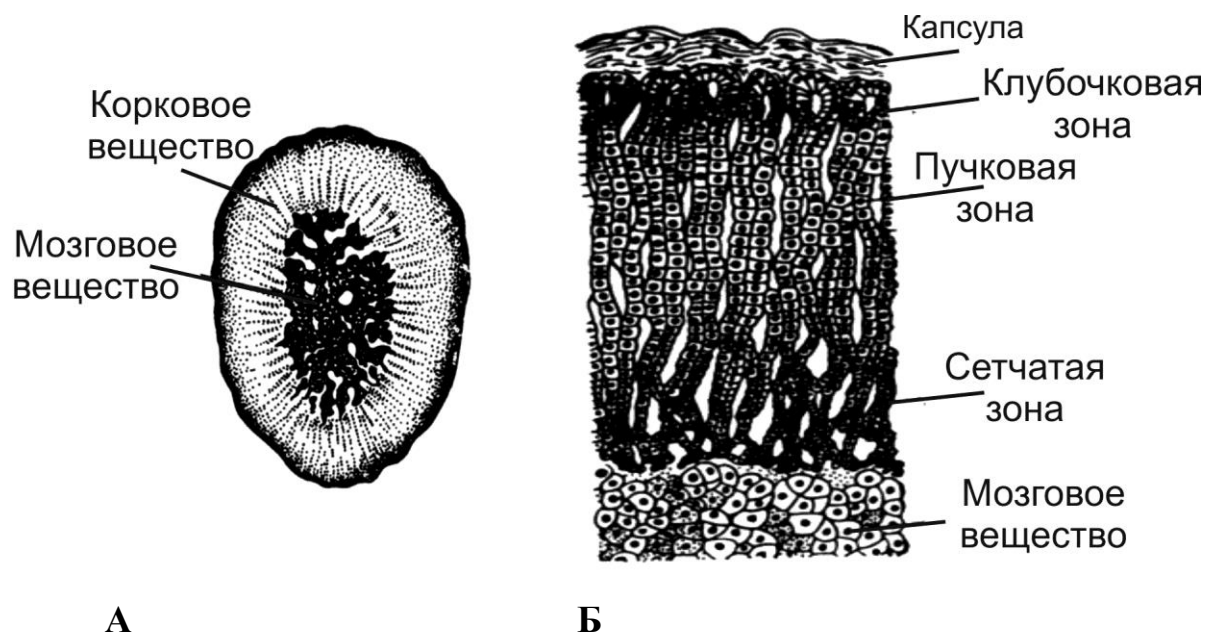


Рис. 7. Микроскопическое строение надпочечника крысы. А – срез через надпочечник; Б – участок среза при большом увеличении.

Работа 9. Действие адреналина, атропина и ацетилхолина на зрачок энуклеированного глаза лягушки.

Адреналин вызывает сокращение мышцы, расширяющей зрачок. Его действие на зрачки можно наблюдать не только на целом организме, но и на энуклеированных глазах, помещенных в физиологический раствор.

Для работы необходимы: стеклянные или фарфоровые чашечки, ножницы, пинцеты, глазные ножницы, зонд для разрушения спинного мозга, глазные пипетки, лупа, окуляр-микрометр, раствор Рингера, адреналин (1:1000), атропин, ацетилхолин, 2 лягушки.

Проведение опыта. Лягушку обезглавливают и вырезают оба глаза. Удаляют прилегающую к главному яблоку соединительную ткань. В две небольшие чашечки наливают по 5 мл раствора Рингера. Один глаз лягушки помещают в эту чашечку без БАВ (контроль), а второй глаз - в чашечку с раствором Рингера и 3 каплями раствора адреналина, третий глаз – в чашечку с раствором Рингера и 3 каплями раствора атропина, четвертый - в чашечку раствором Рингера и 3 каплями раствора ацетилхолина. Через 30 мин зрачок глаза, лежащего в растворе, куда был прибавлен адреналин, оказывается

значительно расширенным по сравнению с зрачком второго глаза, находящегося в чистом растворе Рингера. Для количественного определения оба глаза до начала опыта с адреналином подвергают действию яркого дневного или электрического света в течение 30 мин. Наблюдения над размерами зрачков ведут через лупу при увеличении в 10 - 20 раз. Диаметр зрачков измеряют с помощью окуляр-микрометра. Максимальное расширение зрачка наступает через 60 - 90 мин после помещения энуклеированного глаза в раствор адреналина.

Опишите изменение диаметра зрачка после воздействия адреналина. Сравните изменения в контроле. Каков механизм расширения диаметра зрачка при действии адреналина?

Записать в тетрадь данные о диаметрах зрачков до и после воздействия применяемых веществ. Построить график изменений. Описать механизм действия каждого из этих веществ на мышцы радужной оболочки лягушки.

Работа 10. Качественные реакции на адреналин в лекарственных формах и плазме.

Гормон мозгового слоя надпочечников – адреналин. По химической природе адреналин – производное пирокатехина. При окислении адреналина образуется адренохром.

Для работы необходимы: адреналин, набор химических реактивов, пробирки.

Проделать качественные реакции с использованием лекарственной формы адреналина и плазмы теплокровного*.

1. Реакция с $FeCl_3$

Метод основан на способности пирокатехиновой группировки адреналина образовывать с $FeCl_3$ комплексное соединение изумрудно-зеленого цвета.

Ход работы: В пробирку приливают 10 капель 0.1%-го раствора адреналина и добавляют 1 каплю 1%-го раствора $FeCl_3$. Жидкость

окрашивается в изумрудно-зеленый цвет, переходящий при стоянии в желтый. При добавлении 1 капли концентрированного раствора аммиака окраска переходит в красную, а затем в коричневую.

2. Диазореакция

В основе метода лежит способность адреналина образовывать с диазобензолсульфокислотой соединение красного цвета.

Ход работы: Для получения диазобензолсульфокислоты в пробирку помещают 3 капли 1 %-го раствора сульфаниловой кислоты, 3 капли 5 %-го раствора нитрита натрия и перемешивают встряхиванием. Затем в пробирку добавляют 5 капель 0.1 %-го раствора адреналина и 3 капли 10 %-го раствора карбоната натрия. Перемешивают и наблюдают за окрашиванием жидкости в красный цвет.

3. Реакция с йодатом калия (KIO_3)

Продукты хиноидного окисления адреналина окрашивают раствор адреналина в цвета от розового до бурого. В условиях опыта адреналин окисляется а пигмент - галохром, имеющий красно-фиолетовую окраску.

Ход работы: В пробирку внести 2 - 3 капли раствора адреналина, 2 капли 1% раствора йодата калия и 2 капли 10% раствора уксусной кислоты. При легком нагревании появляется красно-фиолетовое окрашивание.

4. Флюоресценция продуктов окисления адреналина

Адреналин окисляясь кислородом воздуха, при добавлении щелочи дает флюоресцентные продукты.

Ход работы: К 5 каплям воды добавляют 3 капель 10 % раствора гидроксида натрия и 3 капель раствора адреналина. Наблюдают зеленую флюоресценцию продуктов окисления адреналина в ультрафиолетовом свете.

Задание 4

Пользуясь лекционным материалом, учебниками и пособиями в тетради выполните задание. Перерисуйте рисунок 8 в тетрадь и напишите названия отделов надпочечника в тетради: 1 - _____, 2 - _____. Запишите

названия зон в правой части рисунка и перечислите продуцируемые ими гормоны.

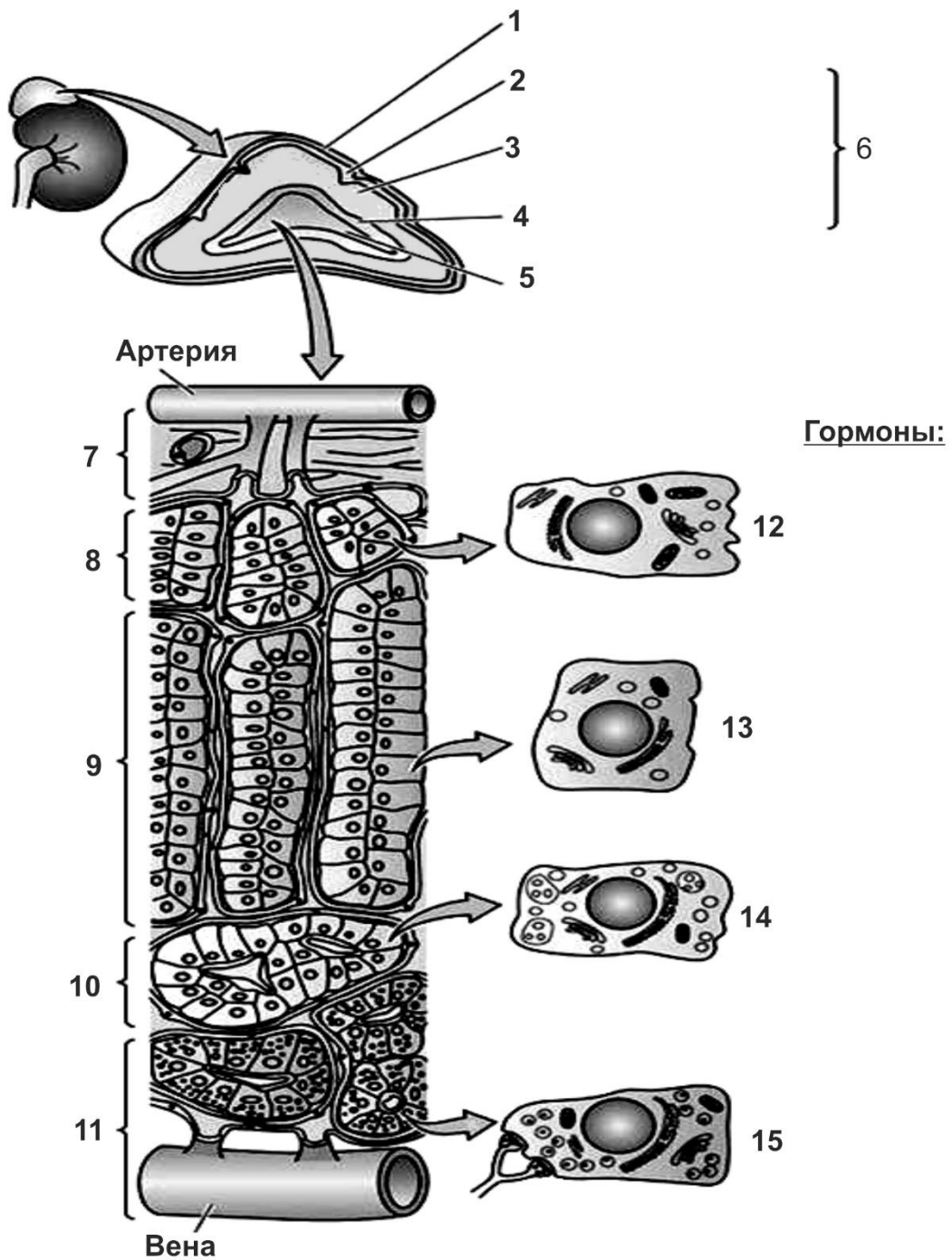


Рис. 8. Строение надпочечника человека

ГЛАВА 4 ЭНДОКРИНОЛОГИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Щитовидная железа млекопитающих (рис. 9) состоит из двух основных долей, фиксированных к боковым поверхностям трахеи в верхней части, и соединяющего их перешейка. У взрослого человека в норме она весит около 20 г, однако размеры ее при ряде состояний она может увеличиваться или уменьшаться.

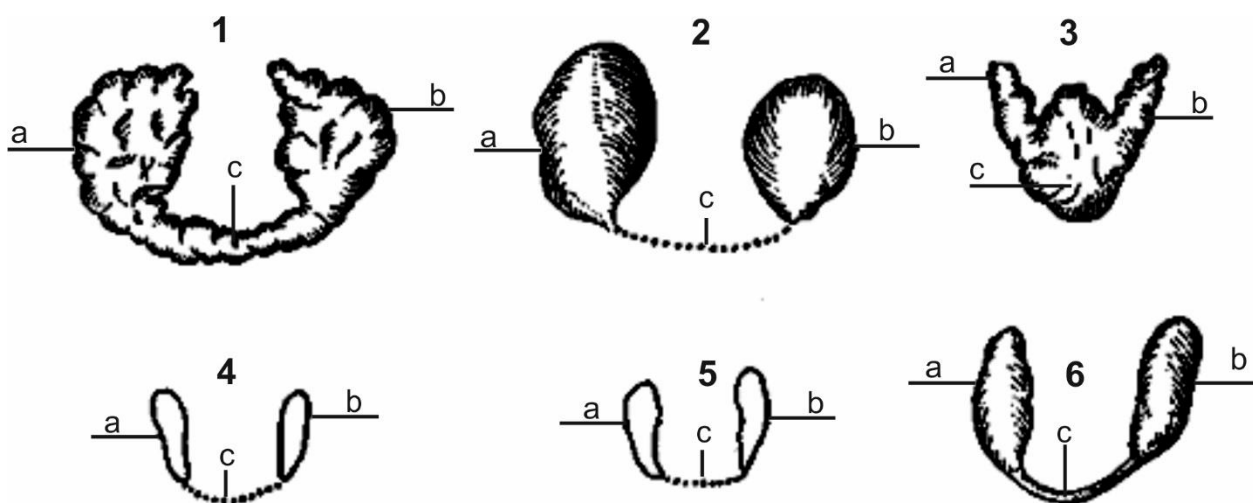


Рис. 9. Щитовидная железа животных: *a* - правая доля; *b* - левая доля; *c* - перешеек. 1 – крупный рогатый скот, 2 – лошадь, 3 – свинья, 4 – овца, 5 – коза, 6 - собака

Клетки фолликулярного эпителия щитовидной железы интенсивно захватывают из крови йод и синтезируют йодированные аминокислоты. Последние соединяются друг с другом в пептидные цепи, образуя белок – тиреоглобулин, накапливающийся в фолликулах. Перед выделением гормона в кровь тиреоглобулин расщепляется на тироксин и трийодтиронин.

Гормоны щитовидной железы оказывают на организм чрезвычайно многообразное действие (рис. 10). Они регулируют: процессы роста и развития, влияют на белковый, углеводный, жировой, минеральный и водный обмен, оказывают действие на состояние кожи и ее производных (волос и ногтей), зубов, скелета, на функции нервной системы, сердца, половых желез.

Если в результате снижения функции щитовидной железы уменьшается потребление кислорода и скорость обменных процессов, может развиваться гипотериоз. Это ведет к угнетению роста и изменениям кожи и волос, наблюдается тенденция к замедлению всех физиологических процессов. При повышенной секреции гормонов щитовидной железы возрастает потребление кислорода, что может сопровождаться такими вторичными симптомами как: 1) нервозность, 2) тремор, 3) тахикардия, 4) утомляемость, 5) потеря веса, 6) экзофтальм и 7) зоб.

Щитовидная железа

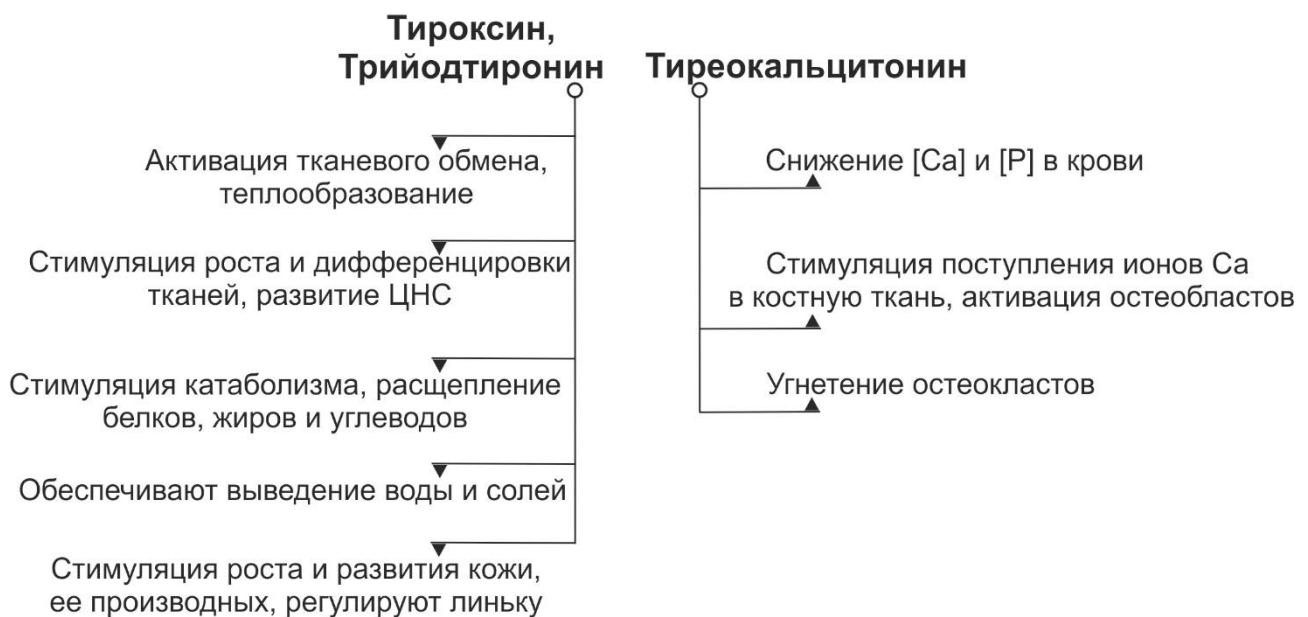
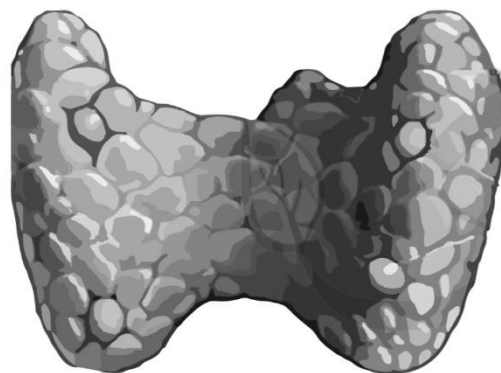


Рис. 10. Гормоны щитовидной железы и их функции.

Паращитовидные железы (рис. 11 А)— это две верхние и две нижние небольшие эндокринных железы, преимущественно расположенные по задней поверхности боковых долей щитовидной железы; также нередко встречается

нахождение парашитовидных желез внутри ткани щитовидной железы. Общая масса желез составляет 1,18 г. Как правило, в организме 4 парашитовидных железы, расположенные попарно справа и слева на задней поверхности щитовидной железы. Количество и место расположения парашитовидных желез может быть разным – иногда их больше 5, а иногда только 3.

Парашитовидные железы выделяют паратиреоидный гормон. Основной функцией паратиреоидного гормона является **регулирование концентрации кальция в крови**. Кальций накапливается и хранится в костях, а паратиреоидный гормон, наряду с витамином D, регулирует его выделение из костной ткани в кровь, поглощение в почках или кишечнике, и, таким образом, выполняет функцию увеличения уровня кальция в крови. Как правило, содержание кальция в крови регулируется на уровне 8,8-10,1 мг/дл.

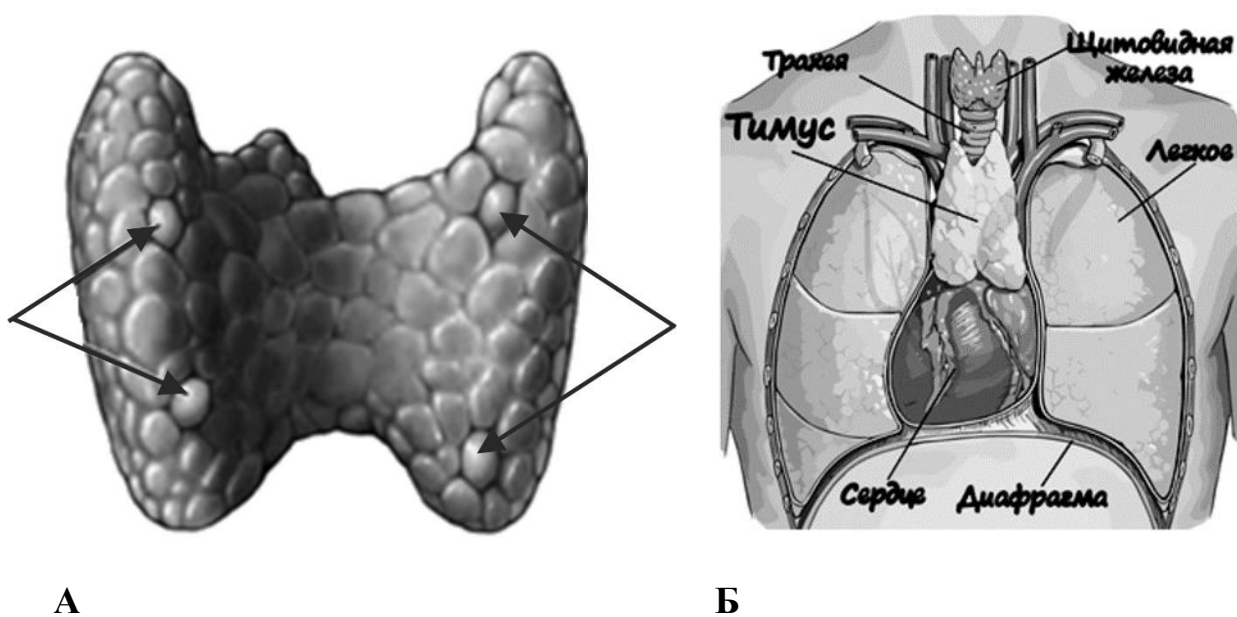


Рис. 11. Парашитовидные железы (А, стрелки) и тимус (Б) человека

Тимус (вилочковая железа) – важный орган иммунной системы детей (рис. 11 Б). Он расположен в верхнем отделе грудной клетки и состоит из двух долей, соединяющихся в передней части трахеи. Железа растет до наступления половой зрелости, достигая массы 30–40 г, затем постепенно уменьшается (обратное развитие). Она играет доминирующую роль в иммунной,

эндокринной системе. Тимус продуцирует тимозин, тимопозтин, стимулирующие выработку антител, а также производит Т-лимфоциты – белые клетки крови, уничтожающие аномальные клетки с чужеродными антигенами. Другая функция вилочковой железы – предотвращение патологического роста клеток и предупреждение рака. Следует отметить, что тимус играет ведущую роль в иммунитете ребенка до трех лет.

Работа 11.[#] Расположение и микроскопическое строение щитовидной, паращитовидной желез и тимуса крысы и человека.

У крыс щитовидная железа состоит из двух долей расположенных по бокам трахеи на протяжении 4 и 5 ее колец. Железа буровато-красная. В каждой доле можно заметить округлое пятнышко – это околотимовидные железы, которых у крыс бывает только две. Щитовидную фиксируют смесью Ценкера, срезы окрашивают эозином-гематоксилином.

Для работы необходимо: микроскопы, препараты срезов щитовидной железы крысы.

Описание препарата. Щитовидная железа снаружи покрыта соединительной тканью, которая проникая внутрь железы, делит ее на дольки. Ткань щитовидной железы состоит из фолликулов – замкнутых шаровидных или вытянутых пузырьков, образованных одним слоем эпителиальных клеток с округлыми ядрами. Полость этих пузырьков содержит однородную вязкую массу, называемую коллоидом. Снаружи каждый фолликул окружен тонкой прослойкой соединительной ткани, в которой проходят кровеносные сосуды. Между фолликулами имеются небольшие скопления или тяжи окрашенных клеток, называемые интерфолликулярными островками (рис. 12). Зарисуйте микроскопическое строение щитовидной железы крысы.

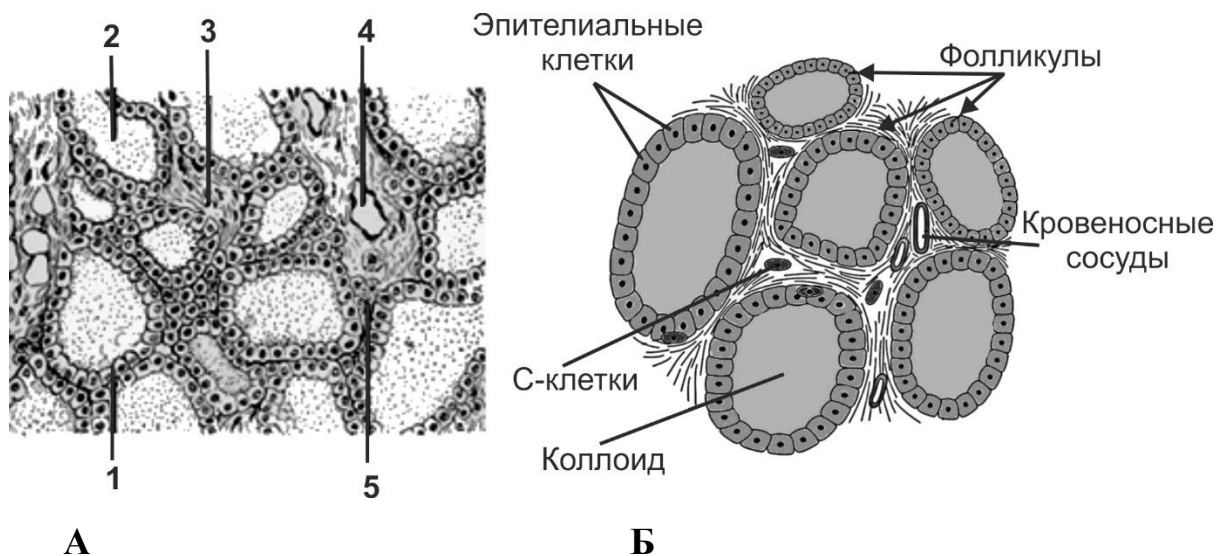


Рис. 12. Микроскопическое строение щитовидной железы крысы (А), человека (Б). 1 - фолликулярный эпителий, 2 - коллоид, 3 - интерфолликулярная соединительная ткань, 4 - кровеносный сосуд, 5 - интерфолликулярный островок.

Вилочковая железа имеет дольчатое строение, в ткани дольки различают корковое и мозговое вещество (рис. 13 А). Корковое вещество расположено на периферии дольки и в гистологическом микропрепарате выглядит тёмным (в нём много лимфоцитов — клеток с крупными ядрами). В корковом веществе расположены артериолы и кровеносные капилляры, имеющие гемато-тимусный барьер, препятствующий заносу антигенов из крови. Непосредственно под капсулой в клеточном составе преобладают делящиеся Т-лимфобласты. Глубже находятся созревающие Т-лимфоциты, постепенно мигрирующие к мозговому веществу. В мозговом веществе в основном содержатся дозревающие Т-лимфоциты. Отсюда они мигрируют в кровяной поток венул с высоким эндотелием и расселяются по организму. Предполагается также наличие здесь зрелых рециркулирующих Т-лимфоцитов. Клеточный состав мозгового вещества представлен опорными эпителиальными клетками, звездчатыми клетками, макрофагами. Имеются также выносящие лимфатические сосуды и тельца Гассала.

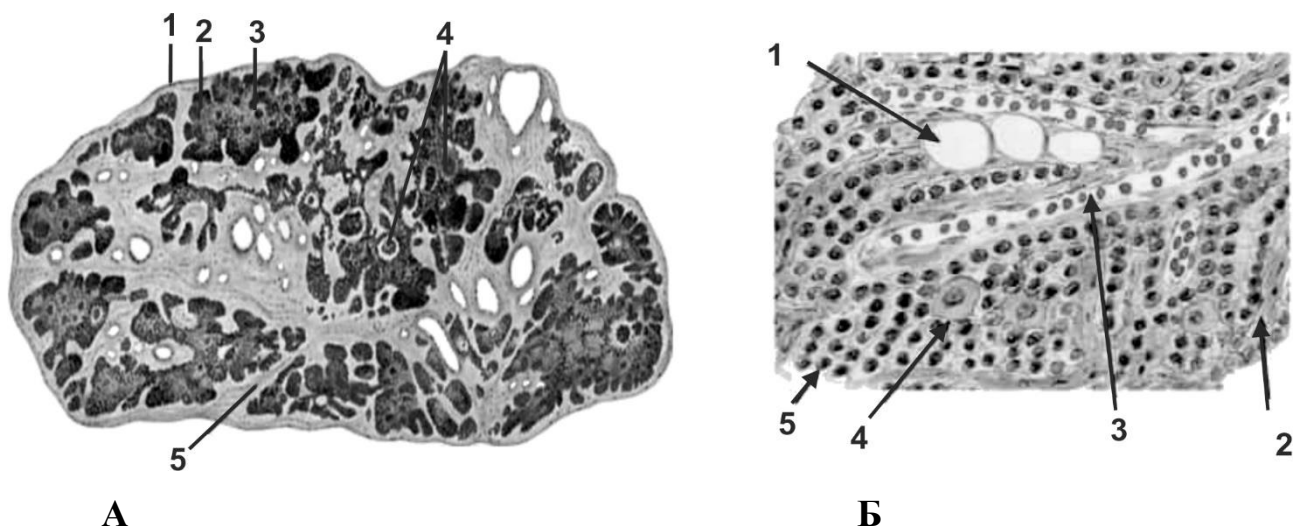


Рис. 13. Микроскопическое строение тимуса (А), паращитовидной железы (Б) человека. А - Капсула (1), кора (2), мозговое вещество (3) тимуса, тимические тельца (тельца Гассалья) (4), междольковая перегородка (5). Б – Адиipoцит (1), строма (2), кровеносный капилляр (3), оксифильный паратироцит (4), главный паратироцит (5).

Каждая паращитовидная железа (рис. 13 Б) покрыта соединительнотканной капсулой. От неё отходят прослойки рыхлой соединительной ткани (1), составляющие строму железы и содержащие многочисленные кровеносные сосуды. Кроме того, имеются прослойки жировой ткани. Клетки железистого эпителия называются паратироцитами. Выделяют два вида секреторных клеток: главные паратироциты (с базофильной цитоплазмой) и оксифильные паратироциты.

Зарисуйте микроскопическое строение паращитовидной железы и тимуса.

Работа 12.[#] Влияние тироксина, тиротропина и пропилтиоурацила на метаболизм

Метаболизм состоит из всех видов обмена веществ и энергии, происходящих между организмом и окружающей средой. Основными гормонами, ответственными за регуляцию метаболизма, являются гормоны щитовидной железы – тиреодные гормоны. Пропилтиоурацил является веществом, которое тормозит синтез тиреодных гормонов.

Интенсивность обменных процессов определяют путем измерения тепла, исходящего из организма в окружающую среду методом калориметрии. К методам непрямой калориметрии относят метод газообмена. Он основан на принципе того, что интенсивность метаболизма пропорциональна количеству кислорода, потребляемого организмом за единицу времени и рассчитывается по формуле:

Коэффициент обмена веществ = мл O_2 * 60 * 1000 / массу тела.

Работа выполняется в программе «Виртуальное ФЖ».

Цель: продемонстрировать влияние тироксина, тиротропина и пропилтиуроцила на метаболизм крыс в контроле, с удаленной щитовидной железой и удаленным гипофизом.

Для работы необходимы компьютеры.

Ход работы:

1. Рассмотрите экспериментальную установку.
2. Поместите контрольную крысу в дыхательную камеру, нажмите кнопку СТАРТ. Через 60 секунд щелкните клавишу для запуска воздуха в дыхательную камеру. После того как уровень жидкости в манометре выровняется, запишите количество кислорода, потребленное крысой. Данные внесите в протокол исследования.
3. Повторите эксперимент, введя крысе сначала тироксин, потом, тиротропин и пропилтиоурацил, нажав стрелку с необходимым веществом.
4. Рассчитайте коэффициент обмена веществ для контрольной крысы в трех экспериментальных условиях, зная ее массу 250 грамм. Данные внесите в таблицу 5.
5. Повторите эксперимент (пп 2-4) для крысы с удаленной щитовидной железой и рассчитайте коэффициент обмена веществ (245 гр). Данные внесите в таблицу 5.

6. Повторите эксперимент (пп 2-4) для крысы с удаленным гипофизом и рассчитайте коэффициент обмена веществ (245 гр). Данные внесите в таблицу 5.

Таблица 5

Коэффициент обмена веществ

Группа крыс/ воздействие	Без воздействия	Тироксин	Тиротропин	Пропил- тиоурацил
Контроль				
Удаленная щитовидная железа				
Удаленный гипофиз				

Сделайте вывод.

Работа 13*. Влияние тироксина на деятельность сердца

Гормон щитовидной железы тироксин влияет на процессы роста и развития, ускоряет все виды обмена, усиливает процессы возбуждения в коре полушарий большого мозга, снижает способность крови к свёртыванию, повышает потоотделение, частоту дыхательных движений и ЧСС, а также повышает чувствительность сердца к симпатическим влияниям.

Для работы необходимы: набор препаровальных инструментов, пробковая пластинка; вата; раствор Рингера; 0.01 % раствор тироксина; секундомер; пипетка. Исследование проводят на лягушке или мыши.

Ход работы. Вскройте грудную клетку. С сердца снимите околосердечную сумку. Подсчитайте исходное количество ударов сердца в минуту. Нанесите на сердце лягушки несколько капель раствора тироксина через 1-2 мин вновь подсчитайте сердечных сокращений. Отметьте характер изменений деятельности сердца.

Полученные результаты внесите в тетрадь протоколов опытов. Сделайте вывод о влиянии тироксина на деятельность сердца лягушки.

Работа 14. Качественные реакции на гормоны щитовидной железы*

Основным гормоном щитовидной железы является тироксин; гормональными свойствами обладают также трийодтиронин и дийодтиронин (рис. 14).

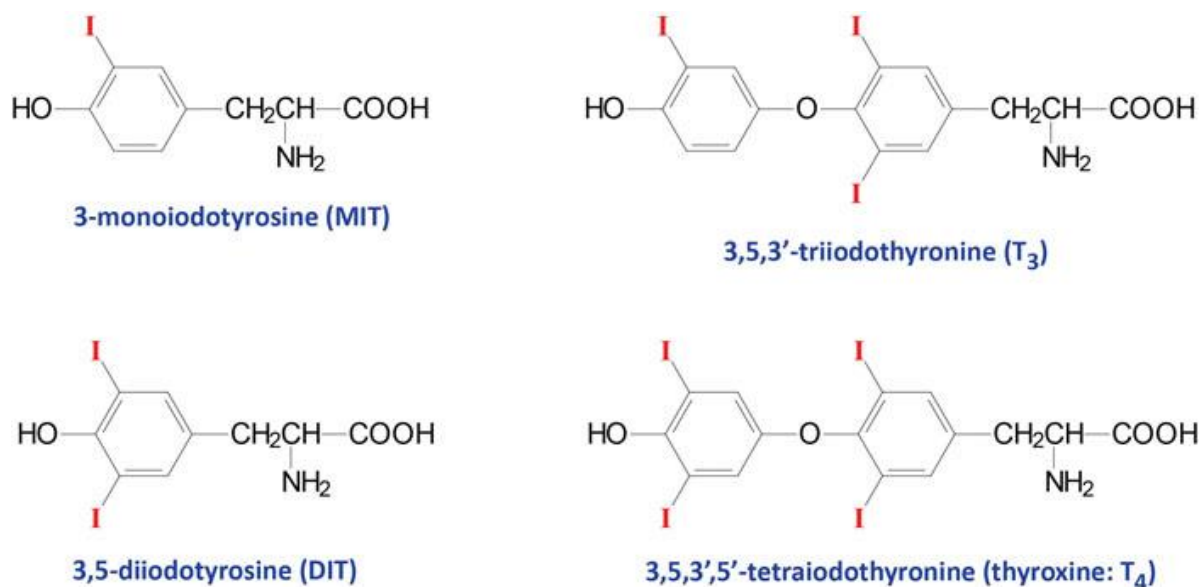


Рис. 14. Химическое строение гормонов щитовидной железы

Для работы необходимо: колбы, пробирки, ступка и пестик фарфоровые, водяная баня, лакмусовые бумажки, таблетки тиреоидина, вода дистиллированная, реактивы.

1) При разрушении тироксина щелочью образуется йодистый калий, из которого йодноватистый калий легко вытесняет свободный йод.

Ход реакции: 5 таблеток тиреоидина тщательно растереть в фарфоровой ступке. Порошок переместить в колбочку для гидролиза, добавить 5 мл 10% раствора едкого калия и 5 мл дистиллированной воды. Содержимое колбы кипятить 12-15 минут.

Для открытия йода к 1 мл гидролизата добавить 10 % серной кислоты до кислой реакции по лакмусу, затем прибавить 3-4 капли 1% раствора крахмала и

5-10 капель 2% йодноватистого калия. Отметить появление синего окрашивания.

2). Метод обнаружения йодтиронинов основан на отщеплении при кислотном гидролизе от тиреоидных гормонов (йодтиронины) йодистоводородной кислоты, при взаимодействии которой с йодатом калия выделяется свободный йод, который в хлороформе имеет фиолетовую окраску.

Ход реакции: В пробирку помещают несколько кристаллов L-тироксина, добавляют 10 капель концентрированной азотной кислоты (HNO_3) и нагревают 3 - 5 минут в кипящей водяной бане. Затем приливают 20 капель 1 % раствора йодата калия (KIO_3). Содержимое пробирки перемешивают и охлаждают. После этого в пробирку добавляют 15 капель хлороформа, интенсивно встряхивают, дают слоям отстояться и наблюдают, что хлороформ (нижний слой) окрасился йодом в фиолетовый цвет.

В отчете следует отметить свои наблюдения. Сделать вывод, какие структурные особенности тироксина отвечают за протекание данной химической реакции.

Задание 5

Пользуясь лекционным материалом, учебниками и пособиями в тетради выполните задание. Перепишите предложения, вставляя термины в пропуски.

Паратиреоидный гормон (ПТГ) синтезируется в _____. При их удалении падает концентрация кальция в сыворотке крови, развиваются судороги и смерть. ПТГ – полипептид, который состоит из _____ аминокислот, расположенных в виде одной цепи.

На мембранах паратиреоидных клеток находятся рецепторы к кальцию. Органами-мишенями для ПТГ являются _____, _____, _____.

Задание 6

Пользуясь лекционным материалом, учебниками и пособиями в тетради выполните задание. Перепишите предложения, вставляя термины в пропуски.

Гормонами щитовидной железы являются _____ и _____. Это единственные биологически активные вещества, содержащие _____. Активность щитовидной железы _____ при увеличении продукции тиреолиберина. Высокий уровень Т3 и Т4, соматостатина, глюкокортикоидов и дофамина оказывает _____ действие на тиреотропные клетки аденогипофиза, что приводит к _____ активности щитовидной железы.

ГЛАВА 5 ГИПОФИЗ

Нижний мозговой придаток или гипофиз, расположен на основании черепа под промежуточным мозгом (рисунок 15). Он состоит из 4 долей: 1) туберальной, 2) передней, 3) промежуточной и 4) задней или нервной. Туберальная доля по-видимому гормонов не образует.

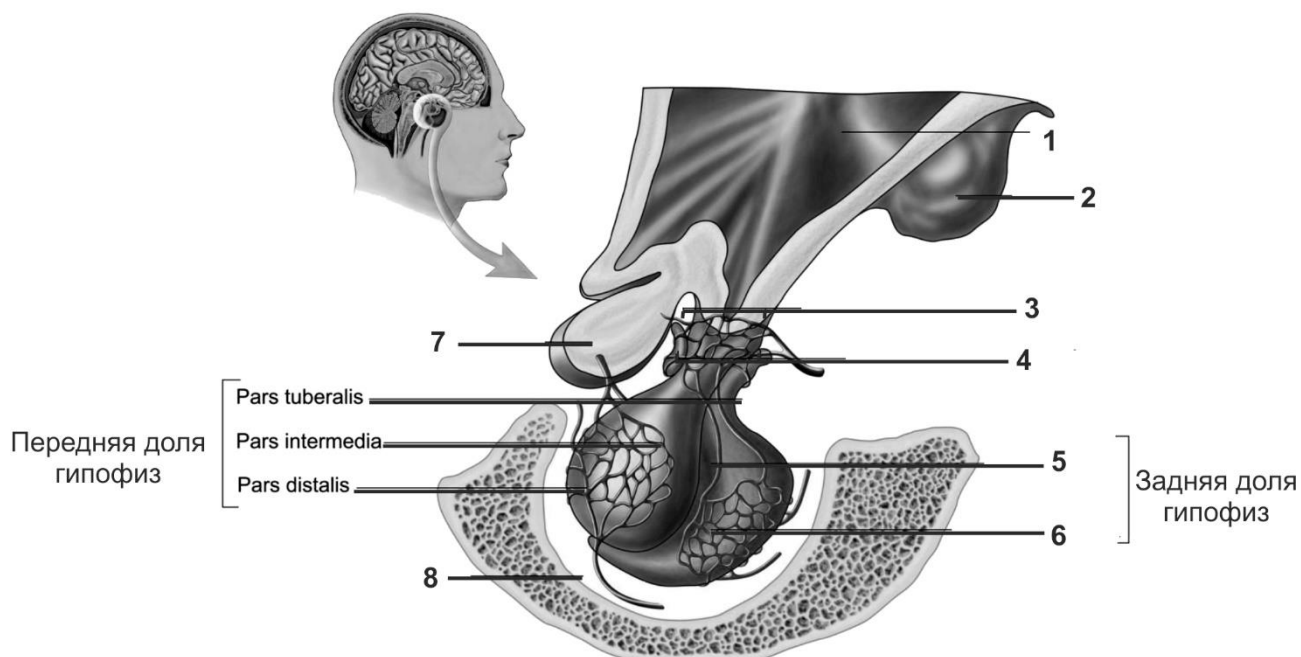


Рис. 15. Расположение и строение гипофиза человека. 1 – гипоталамус, 2 – сосцевидное тело, срединное возвышение, 4 – воронка головного мозга, 5 – ножка гипофиза, 6 – нервная доля, 7 зрительный перекрест, 8 – ямка гипофиза в турецком седле клиновидной кости.

В передней доле вырабатываются шесть гормонов: соматотропный, фолликулостимулирующий, лютеинизирующий, лактогенный, тиреотропный и адренокортикотропный. В промежуточной доле образуется меланофорный гормон.

Задняя доля гипофиза не обладает гормонообразующей функцией, а служит местом накопления и выведения в кровь гормонов, которые продуцируются нервными клетками гипоталамуса. У млекопитающих сюда поступают вазопрессин и окситоцин, вырабатываемый в супраоптических и

паравентрикулярных ядрах. У позвоночных остальных классов – вазотоцин, вырабатываемый в преоптических ядрах гипоталамуса.

Гипофиз располагается в основании черепа, в выемке решетчатой кости, которая называется «турецкое седло». Гипофиз окружен твердой оболочкой и сверху его отделяет от других частей мозга диафрагма турецкого седла. Она препятствует попаданию в седло спинномозговой жидкости. К гипофизу через отверстие диафрагмы проходит ножка гипофиза, окруженная кровеносными сосудами. Вес гипофиза колеблется от 600 до 1200 мг. Во время беременности вес гипофиза увеличивается за счет гипертрофии лактотрофов и увеличения кровотока. Гипофиз состоит из двух долей – большей передней и меньшей задней доли. Передняя доля, или аденогипофиз, эктодермального происхождения, она образуется из эктодермы орофарингса, которая внедряется в турецкое седло. Задняя доля, нейрогипофиз, образуется путем инвагинации в турецкое седло вентрального отдела гипоталамуса. Задняя доля состоит из аксонов и нервных окончаний нейронов, которых отходят от нервных клеток, расположенных в супраоптических и паравентрикулярных ядрах гипоталамуса. Аксоны этих клеток образуют ножку гипофиза и распространяются в заднюю долю. Гипоталамо-нейрогипофизарный тракт состоит примерно из 100 000 нервных фибрилл. Кровоснабжение передней доли очень обильное. Артериальная кровь поступает в аденогипофиз из верхней, средней и нижней гипофизарных 19 артерий. Верхняя гипофизарная артерия образует капиллярную сеть в срединном возвышении гипоталамуса, кровь из нее поступает в одну вену, которая окружает ножку гипофиза, - воротную вену. Воротная вена входит в переднюю долю гипофиза и вновь разветвляется на капилляры. Капилляры окружают тропные клетки и по ним в эти клетки поступают гипоталамические гормоны. Вены, идущие из гипофиза, впадают в кавернозный синус, а из него в верхний и нижний петрозные синусы, а затем в югулярную вену. В задней доле аксоны ножки гипофиза оканчиваются на капиллярах, которые собираются в вену задней доли, впадающую в кавернозный синус. В задней доле освобождаются в кровоток гормоны,

синтезированные в гипоталамусе, - вазопрессин и окситоцин. Между задней и передней долями гипофиза располагается очень небольшая часть гипофиза, остаток кармана Ратке, которая называется средней долей. У человека она практически не активна. Предполагается, что в ней может синтезироваться предшественник АКТГ – проопиомеланокортин

Работа 15. Расположение и гистологическое строение гипофиза

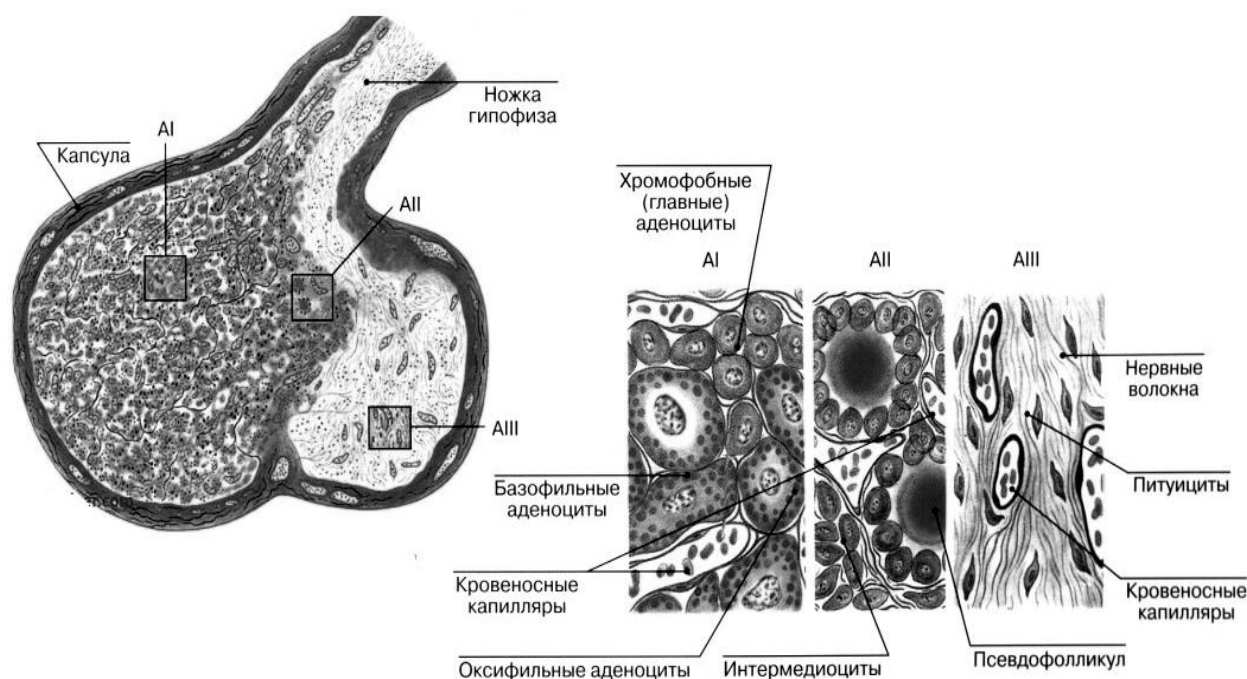
Для работы необходимо: микроскопы, препараты срезов гипофиза крысы.

Описание препарата. На рисунке 16 А, при небольшом увеличении, видна граница между адено- и нейрогипофизом. Поэтому в поле зрения оказались все три доли гипофиза: передняя доля (I), очень узкая промежуточная доля (II) и задняя доля (III), или нейрогипофиз. При используемой здесь окраске ядра всех клеток окрашиваются в **оранжевый цвет**, а коллагеновые волокна - **в синий**. С учётом этого, видно, что в передней доле преобладают клетки, в промежуточной доле - обширные прослойки соединительной ткани, а в задней доле - относительно мало и клеток, и стромы.

В передней доле имеются три тканевых элемента: секреторные клетки (1) (клетки железистого эпителия), соединительнотканная строма (2) и многочисленные синусоидные (т.е. очень широкие) капилляры (3).

Секреторные клетки. Секреторные клетки лежат группами, называемыми аденомерами. Аденомеры формируют тяжи, складывающиеся в разветвлённую сеть. Строма гипофиза образована прослойками рыхлой соединительной ткани, которые разделяют аденомеры.

Гормоны средней доли гипофиза (меланоцитостимулирующий гормон и липотропин) образуются вначале в составе единого предшественника в вышележащих отделах мозга. А в железистых клетках средней доли происходит, видимо, лишь созревание гормонов. После этого секрет выделяется **во внеклеточную среду**; его накопление здесь приводит к образованию характерных структур - **псевдофолликулов**, или фолликулоподобных кист (1).



А

Б

Рис. 16. Препарат – гипофиз человека (А). Окраска смесью Маллори по Генденгайну (Б), AI – Передняя доля гипофиза, AII – Средняя (промежуточная) доля гипофиза. AIII – Задняя доля гипофиза.

Строение кист. Стенки образованы слоем секреторных клеток (1.А). Внутри находится коллоидный секрет (1.Б), имеющий окраску от бледно-голубой (как на данном снимке) до **оранжевой**. Между псевдофолликулами - обширные прослойки соединительной ткани (2).

Зарисуйте расположение и микроскопическое строение гипофиза крысы.

Работа 16* Удаление гипофиза у лягушки

Окраска тела лягушек зависит от состояния пигментных клеток (хроматофоров), находящихся в коже. Пигментные клетки имеют звездчатую форму и состоят из центральной части, где расположено ядро, и многочисленных разветвляющихся тонких отростков, расходящихся во все стороны и расположенных в разных плоскостях. В хроматофорах находятся многочисленные мелкие зерна темного пигмента, которые благодаря движениям цитоплазмы то концентрируются в центральной части клетки около ядра, то перемещаются в отростки вплоть до их конечных разветвлений. Когда

зерна пигмента концентрируются вокруг ядра на небольшом пространстве, окраска тела светлеет, при распределении их вдоль отростков и поглощении света на большем пространстве - темнеет. Хроматофоры лягушек лишены иннервации и их функциональное состояние регулируется гормонами. Особенно важную роль в регуляции распределения зерен пигмента играет меланофорный гормон, вырабатываемый промежуточной долей гипофиза. После удаления гипофиза кожа лягушки сильно светлеет благодаря концентрации зерен пигмента в центральной части хроматофоров.

Для работы необходимы: пробковая пластинка, широкий бинт, скальпель, ножницы, пинцет, глазные ножницы, глазной пинцет, иглодержатель с хирургической иглой, нитки, ватные шарики, раствор Рингера, лягушки.

Проведение операции. Лягушку наркотизируют, затем кладут на пробковую пластинку брюшной стороной кверху и туго прибинтовывают к пластинке так, чтобы бинт не прикрывал только голову. Рот широко открывают, пинцетом захватывают язык, выворачивают его наружу и вершиной пришивают к бинту. Ножницами или скальпелем делают продольный разрез слизистой оболочки верхней стенки ротовой полости точно по средней линии, открывая нижнюю поверхность парасфеноидной кости, имеющей крестообразную форму (рис. 17). Острыми, тонкими ножницами перерезают передний и оба боковых отростка парасфеноидной кости и пинцетом отгибают центральную часть этой кости, благодаря чему открывают полость черепа в области расположения гипофиза. Переднюю долю гипофиза легко извлечь тонким пинцетом или путем насасывания в пипетку.

Затем центральную часть парасфеноидной кости опускают на прежнее место, закрывая ею отверстие в черепе, и прикрывают ее слизистой оболочкой ротовой полости, на которую накладывают 1 - 2 шва.

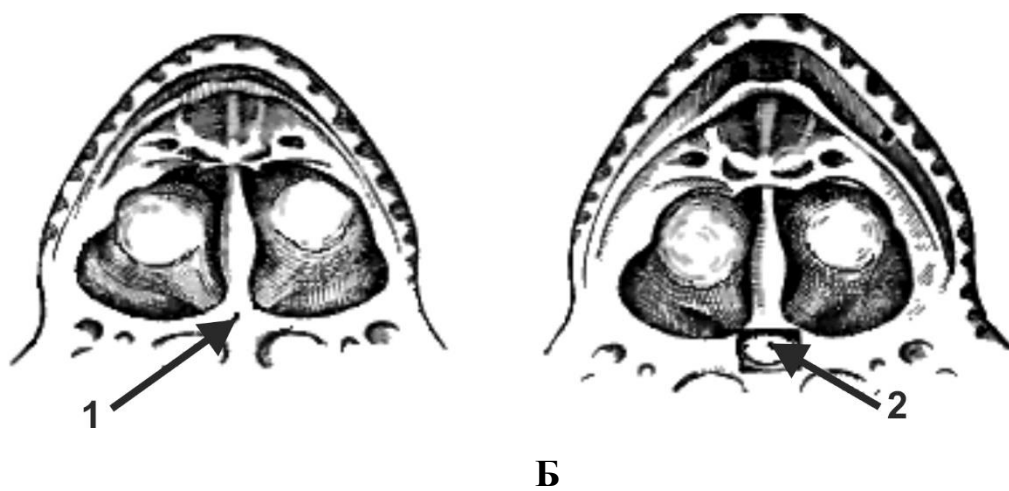


Рис. 17. Обнаружение гипофиза у лягушки. А - часть нижней поверхности черепа лягушки после удаления слизистой; Б - в центральной части парасфеноидной кости вырезано квадратное отверстие (указано стрелкой). 1 – парасфеноидная кость, 2 – передняя доля гипофиза.

Вскоре после удаления гипофиза окраска кожи лягушек становится очень светлой вследствие исчезновения из крови меланофорного гормона.

Запишите время осветления кожи лягушки. Почему это происходит?

Работа 17. Действие меланофорного гормона и адреналина на пигментные клетки лягушки.

Введение экстрактов, содержащих меланофорный гормон, вызывает у гипофизэктомированных лягушек перемещение зерен пигмента из центральной части в отростки пигментных клеток, что ведет к значительному потемнению кожи. Степень распределения зерен пигмента в хроматофорах оценивается по 5-балльной системе, предложенной Хогбеном (рис. 18). Быструю концентрацию зерен пигмента в центральной части клетки, ведущую к посветлению окраски тела, вызывают адреналин и антагонист меланофорного гормона - мелатонин. Действие адреналина на пигментные клетки в организме лягушки наступает быстро, но оно кратковременно, так как адреналин вскоре разрушается аминоксидазой. Действие меланофорного гормона проявляется гораздо медленнее, но значительно более длительно.

Для работы необходимы: микроскоп или бинокляр, пробковая пластинка с отверстием, ножницы, пинцеты, зонды для разрушения спинного мозга, булавки, шприцы на 1 - 2 мл, стеклянные чашечки, часы, питуитрин, адреналин (1:1000), раствор Рингера, лягушки.

Проведение опыта. Действие меланофорного гормона хорошо наблюдать на лягушках, кожа которых посветлела в результате содержания их в течение 10 - 12 часов на белом фоне при ярком освещении. Еще лучше изучать его на гипофизэктомированных лягушках. В спинной лимфатический мешок вводят 0.2 мл питуитрина (экстракта задней доли гипофиза) в 0.5 мл водного раствора. Приблизительно через 20 мин лягушка начинает темнеть. Под микроскопом хорошо видно, как в прозрачной плавательной перепонке, наряду с кровеносными сосудами разного калибра, в которых можно наблюдать движение крови, хорошо видны пигментные клетки с черным пигментом – меланофоры (<https://www.youtube.com/watch?v=sRMfe8jM06s>).

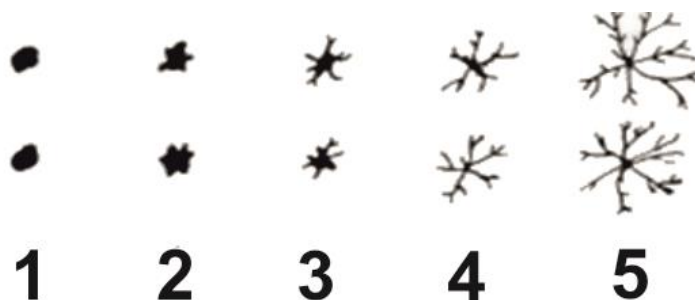


Рис. 18. Шкала для оценки распространения зерен пигмента в хроматофорах по 5-балльной системе.

В пигментных клетках происходит перемещение темного пигмента в отростки меланофоров; создается ошибочное впечатление, что эти отростки удлиняются и начинают ветвиться. Зерна пигмента находятся в отростках пигментных клеток, благодаря чему видно, что меланофоры имеют звездчатую форму (рис. 18). Так как разветвления соседних меланофоров переплетаются между собой, то после перемещения в них зерен пигмента они как бы образуют густую темную сеть. Вызванное меланофорным гормоном потемнение окраски лягушки сохраняется в течение 1 - 2 суток.

Действие адреналина можно наблюдать и на темных лягушках. В спинной лимфатический мешок вводят 0.5 мл раствора адреналина (1:1000). Уже через 1 - 2 мин в плавательной перепонке можно наблюдать сильное сужение кровеносных сосудов, а через 3 - 5 мин начинается перемещение зерен пигмента из отростков в центральную часть меланофоров. Через 10 - 20 мин весь пигмент концентрируется около ядра и меланофоры под микроскопом производят впечатление черных комочков неправильной формы, «без каких-либо выступов или отростков». Действие адреналина непродолжительно и вскоре зерна пигмента вновь начинают перемещаться в отростки. Под микроскопом хорошо видно, как на поверхности черных комочков появляются небольшие выступы, которые затем приобретают вид «коротких отростков». Постепенно такие «темные отростки» «становятся длиннее и начинают ветвиться». На самом деле форма отростков не изменяется при изменениях окраски, но они ясно видны только тогда, когда заполнены зернами пигмента.

Зарисуйте изменения меланофоров при действии питуитрина и адреналина. Запишите время изменения окраски кожи лягушки под действием питуитрина и адреналина.

Работа 18* Действие питуитрина на проницаемость стенки мочевого пузыря лягушки для воды

У лягушек и жаб вазопрессин и вазотоцин сильно изменяют проницаемость стенки мочевого пузыря для воды. Под влиянием этих гормонов вода из мочевого пузыря реабсорбируется в кровь. Изменение проницаемости можно наблюдать в опыте на изолированном мочевом пузыре лягушки, помещенном в физиологический раствор.

Для работы необходимы: пробковая пластинка, зонд для разрушения спинного мозга, ножницы, пинцет, иглодержатель с хирургической иглой, шприц на 2 мл, стеклянные или фарфоровые чашечки, глазные пипетки, булавки, резиновые или полиэтиленовые трубочки диаметром около 2 мм,

торсионные весы, часы, нитки, фильтровальная бумага, питуитрин, раствор Рингера, дистиллированная вода, 2 лягушки.

Проведение опыта (по методике Ю. В. Наточина и Е. И. Шахматовой).

Лягушку обездвигивают, разрушая зондом ее спинной и головной мозг. Осторожным массированием передней брюшной стенки выдавливают содержимое мочевого пузыря. Прошивают ниткой кожу вокруг клоаки, вводят в отверстие клоаки резиновую или полиэтиленовую трубку диаметром около 2 мм и затягивают отверстие ниткой. Кладут лягушку на пробковую пластинку брюшной стороной кверху и прикалывают конечности булавками. Ножницами разрезают по средней линии кожу и мышцы, открывая полость тела. В обе половины мочевого пузыря вводят раствор Рингера, разведенный дистиллированной водой в 10 раз. Мочевой пузырь завязывают ниткой. Нитку надо завязать таким образом, чтобы за нее можно было подвесить пузырь к рычажку торсионных весов. Взвешивают на торсионных весах и переносят в чашечку с 20 мл раствора Рингера. На одной лягушке изучают действие питуитрина или синтетического вазопрессина, вторая лягушка служит для контроля. Первый пузырь поливают раствором Рингера, куда прибавляют 1 каплю питуитрина, второй - раствором Рингера без гормонального препарата. Через каждые 15 мин мочевой пузырь извлекают из чашечек, осторожно обсушивают их внешнюю поверхность фильтровальной бумагой и взвешивают на торсионных весах.

Контрольная половина мочевого пузыря за 30 мин теряет в весе не более 2 -- 4 мг вследствие перехода воды в окружающий раствор Рингера по осмотическому градиенту. Половина мочевого пузыря, на которую действовал питуитрин, может потерять в весе за 30 мин до 150 мг, т. е. во много раз больше.

Результаты представляют в виде таблицы изменения веса мочевого пузыря (контроль/опыт) за время опыта в процентах.

Работа 19* Влияние питуитрина на диурез

Питуитрин (препарат задней доли гипофиза) при введении в организм здорового животного значительно снижает диурез.

Цель работы: исследовать влияние питуитрина на диурез.

Для работы необходимы: мыши 6 шт., большие стеклянные воронки с сетками, градуированные пробирки, штативы, шприц с иглами, питуитрин в ампулах, весы технические, разновесы.

Ход работы. Не кормленных с вечера мышей утром взвесить и рассадить по одной в стеклянные воронки на сетчатое дно. Воронки сверху прикрыть сеткой. Установить все воронки в штативы и поставить под них пробирки.

Всем мышам ввести внутривенно по 1 мл воды. Половине всех мышей ввести подкожно питуитрин из расчета по 0.02 ед. на 1 г массы тела. Через 4 часа измерить количество мочи, выделившейся у мышей, получивших питуитрин, и сравнить его с количеством мочи, выделившейся за это время у контрольных животных.

Сделать выводы о роли гипофиза в регуляции диуреза.

Задание 7

Назовите части гипофиза, обозначенные на рисунке 19 цифрами. Напишите в тетради названия гормонов синтезирующихся в ядрах гипоталамуса, укажите процесс транспорта этих гормонов в гипофиз.

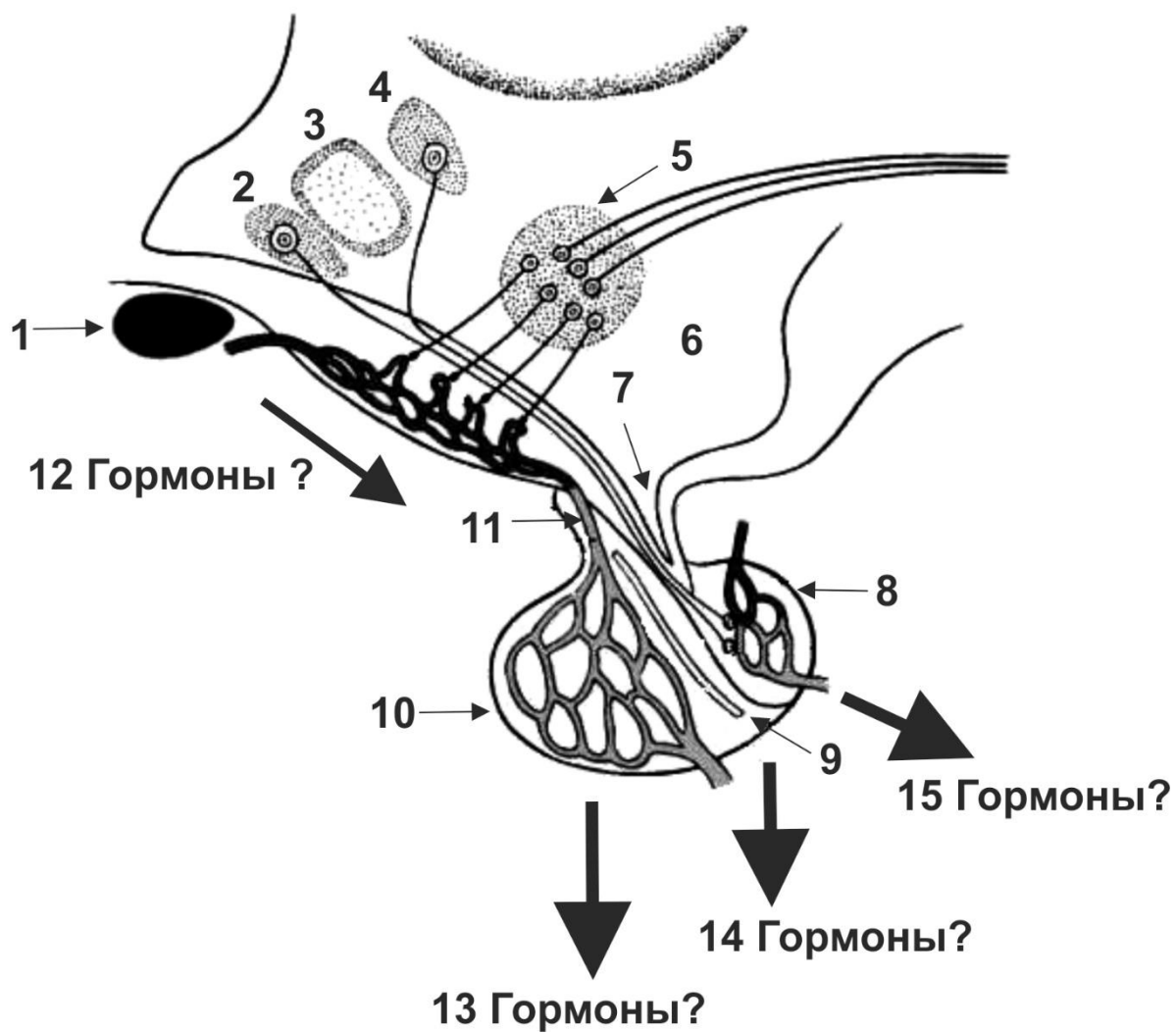


Рис. 19. Схема вертикальной эндокринной оси: гипоталамус – нейроипофиз.

ГЛАВА 6 ПОЛОВЫЕ ЖЕЛЕЗЫ И ЭНДОКРИНОЛОГИЯ РАЗМНОЖЕНИЯ

Половая дифференцировка представляет собой последовательный процесс: начинается он при оплодотворении с установления хромосомного пола, продолжается детерминацией гонадного пола и завершается развитием вторичных половых признаков, включающих мужской и женский фенотипы.

Мужские половые железы - яички (тестис) выполняют две функции, тесно связанные между собой: репродуктивную и гормональную (рис. 20А). В яичках, в клетках Лейдига, синтезируются мужские половые гормоны: тестостерон и дегидротестостерон, а в семинофорных трубочках образуются сперматозоиды.

Гормоны мужских половых желез – яичек. В яичках синтезируется целый ряд стероидных и белковых гормонов. Наиболее важными и наиболее биологически активными мужскими половыми гормонами являются тестостерон и дегидротестостерон. Образуется 95% тестостерона в клетках Лейдига в яичках. Дегидротестостерон в основном образуется из тестостерона в периферических тканях, под влиянием энзима 5α редуктазы. В клетках Лейдига в небольших количествах синтезируются слабые андрогены дегидроэпиандростерон (ДГЭАС) и андростендион, а также эстрадиол, прогестерон и 17α -гидроксипрогестерон. Эстрадиола, циркулирующего в сыворотке крови, образуется 80% в периферических тканях из андростендиона. В клетках Лейдига синтезируются в небольших количествах окситоцин, инсулинподобный фактор роста 1, ангиотензин, простагландины.

Женские половые железы – яичники состоят из двух слоев: наружного - кортикального и внутреннего – мозгового (рис. 20Б). Кортикальная часть яичника у взрослой женщины содержит около 400 000 фолликулов в разной стадии развития. Фолликулы окружены соединительной стромой и глиосными клетками, в которых находятся скопления интерстициальных клеток, не отличающихся от клеток Лейдига у мужчин. Мозговой слой состоит из

соединительнотканной стромы с кровеносными и лимфатическими сосудами и нервами.

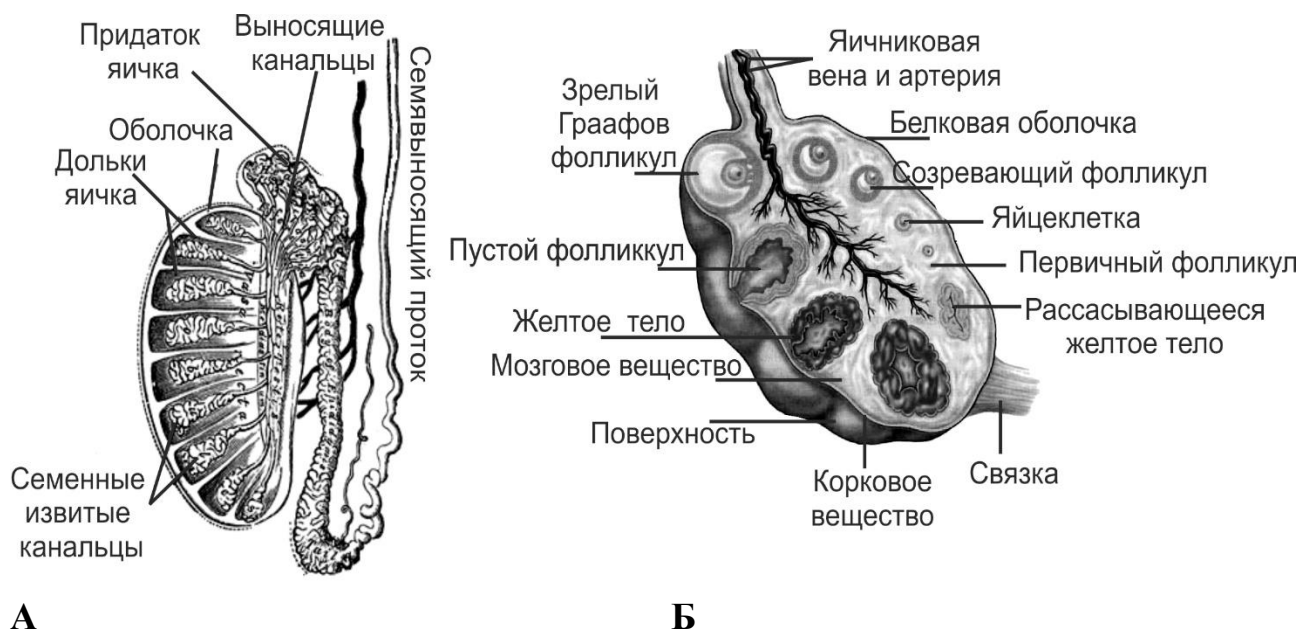


Рис. 20. Строение яичка (А) и яичника (Б) человека.

Основная функция яичников состоит в обеспечении репродукции и синтезе половых гормонов. Половые гормоны необходимы для нормального роста и созревания фолликулов, овуляции, подготовки эндометрия к восприятию оплодотворенной яйцеклетки, поддержания беременности, развития вторичных женских половых признаков и для обеспечения целого ряда метаболических процессов.

Гормоны яичников Яичники синтезируют целый ряд стероидных гормонов и их предшественников. Они являются главным источником женского полового гормона эстрадиола. В яичниках синтезируется прогестерон, тестостерон, андростендион, эстрон. В них синтезируются полипептидные гормоны - ингибин, активин, релаксан и локально действующие фоллостатин и простагландины. Тестостерон является предшественником эстрадиола. Он образуется в текаклетках фолликула, поступает паракринно в гранулезные клетки того же фолликула, где под влиянием энзима ароматазы превращается в эстрадиол. В фолликулиновую фазу развития фолликула синтезируется много эстрадиола, особенно к концу

этой фазы, и очень мало прогестерона. После овуляции лютеинизированные гранулезные клетки синтезируют в больших количествах прогестерон. Тестостерон в основном используется для синтеза эстрадиола, а в кровоток поступает в крайне малых количествах. Основным источником тестостерона, который поступает в кровь у женщин, является кора надпочечников. Синтез половых гормонов происходит в клетках фолликула и желтого тела под влиянием энзимов. Активность этих энзимов регулируется гонадотропными гормонами. Первым «кирпичиком» всех стероидных гормонов является холестерин, который поступает в яичники из крови в ЛПНП (липопротеины низкой плотности). Пути синтеза эстрадиола и прогестерона несколько отличаются в фолликулиновую и лютеиновую фазы.

Плацента. Во время беременности у самок млекопитающих не только происходят изменения функций большинства эндокринных желез, но возникают и новые источники образования гормонов. Наиболее мощным из них становится плацента. Она продуцирует разнообразные гормоны, играющие важную роль для нормального течения беременности и во время родов.

Для диагностики беременности у женщин предложено много различных методов, основанных на обнаружении или количественном определении в крови или моче беременной женщины гормонов или продуктов их химического превращения. Среди этих методов на особом месте стоят реакции подопытных животных на действие хориального гонадотропина.

Работа 20. Микроскопическое строение половых желез крысы

Для работы необходимо: микроскопы, препараты срезов поджелудочной железы различных видов млекопитающих.

Описание препарата. Посмотрите препарат семенника крысы на малом и большом увеличении. Зарисуйте строение семенника, отмечая вспомогательные клетки, половые клетки на разных стадиях развития (рис. 21).

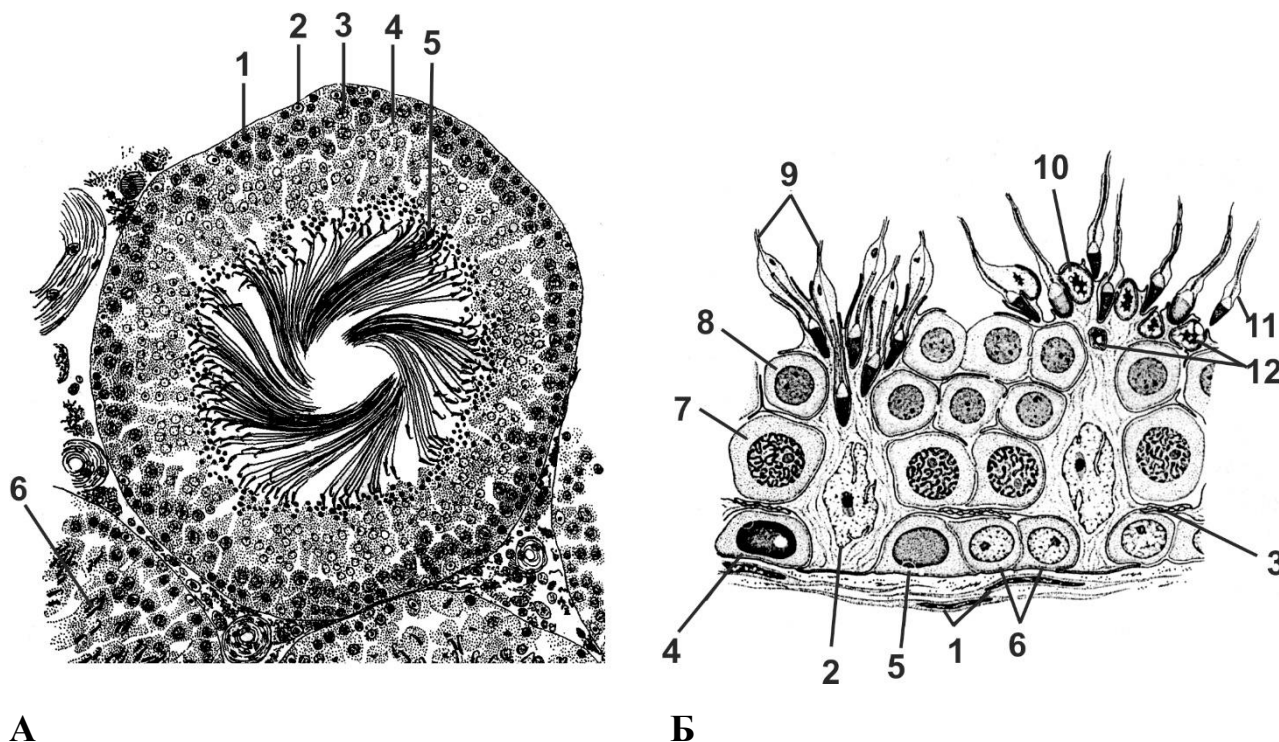


Рис. 21. А - Поперечный разрез семенного канальца крысы: 1 – сперматогония; 2 – клетка Сертоли; 3 – сперматоцит первого порядка; 4 – сперматид; 5 – сперматозоид; 6 – преобразующаяся сперматид. Б - Схема строения сперматогенного эпителия: 1 – ядра клеток оболочки семенного канальца; 2 – ядро клетки Сертоли; 3 – зоны плотных контактов между отростками соседних клеток Сертоли; 4, 5, 6 – сперматогонии; 7 – сперматоциты первого порядка; 8 – ранние (округлые) сперматиды; 9 – поздние (удлиненные) сперматиды; 10 – отделение резидуального тельца; 11 – сперматозоид в просвете семенного канальца; 12 – резидуальные тельца.

Посмотрите препарат яичника кошки на малом и большом увеличении. Зарисуйте строение яичника, отмечая вспомогательные клетки, половые клетки на разных стадиях развития (рис. 22).

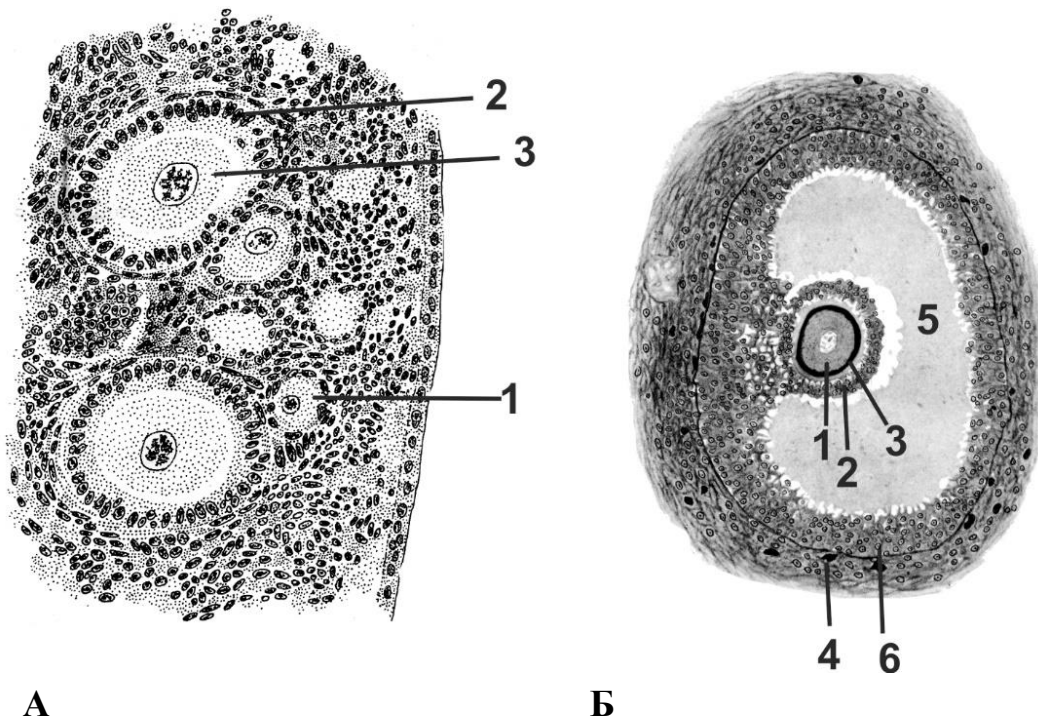


Рис. 22. А - Яичник кошки: 1 – первичный фолликул; 2 – фолликулярный эпителий; 3 – цитоплазма ооцита. Б - Граафов пузырек из яичника кошки: 1 – яйцо; 2 – яйценосный бугорок; 3 – блестящая оболочка; 4 – тека; 5 – полость пузырька; 6– фолликулярный эпителий.

Работа 21. Сперматозоидная реакция Галли-Маинини

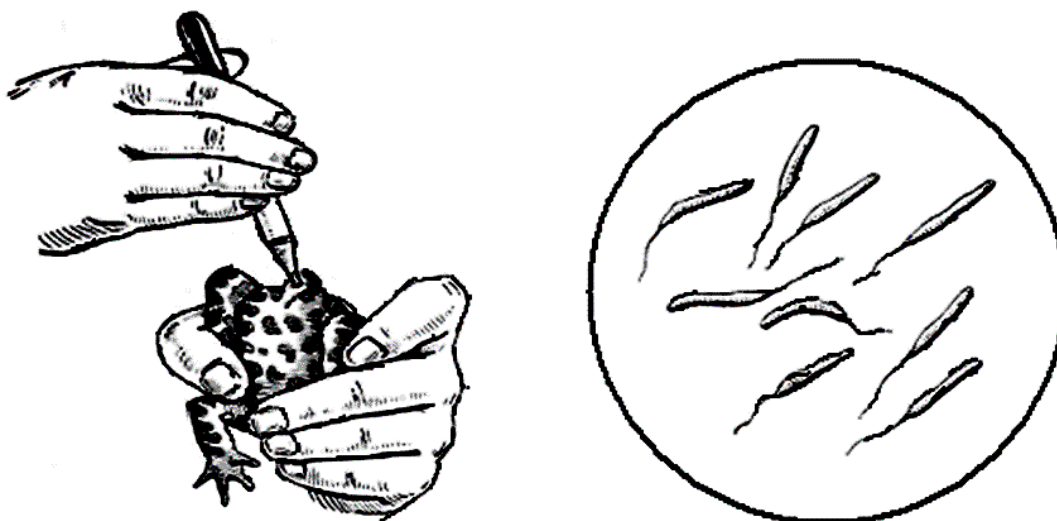
У самцов лягушек и жаб вне естественного периода их размножения в содержимом клоаки никогда не бывает сперматозоидов. Освобождение зрелых сперматозоидов в семенниках и выход их в клоаку происходят под влиянием гонадотропных гормонов. Этот процесс совершается в течение нескольких десятков минут после введения мочи беременной женщины или препарата хориального гонадотропина самцу лягушки или жабы. Для этой реакции наиболее удобны самцы озерной и зеленой лягушек. Самцы этих лягушек легко отличаются от самок резонаторами (голосовыми мешками) и крупными мозолями на основании первого пальца передних лап. Для реакции можно использовать также самцов обыкновенной и зеленой жабы, но их гораздо труднее отличить от самок, так как мозолей на пальцах у них нет. Самцы

травяной лягушки для диагностики беременности мало пригодны, так как чувствительность их к хориальному гонадотропину гораздо ниже, чем у самцов лягушек других видов.

Для работы необходимы: микроскопы, шприцы на 5 мл, глазные пипетки, предметные стекла, покровные стекла, фильтровальная бумага, моча беременной женщины, самцы лягушек.

Проведение реакции. Исследуемую мочу, предварительно профильтрованную и обезвреженную эфиром, в количестве 4 мл вводят однократно в спинной лимфатический мешок лягушки. Рекомендуется не прямо вкалывать иглу шприца в этот лимфатический мешок через кожу спины, а проводить ее туда сзади через бедро, чтобы введенная моча не могла бы вылиться наружу через проколотое иглой отверстие в коже. Каждую реакцию ставят одновременно не менее чем на двух лягушках. Через 30 минут, 1, 2, и 3 часа после инъекции мочи осторожно вводят в клоаку лягушки на глубину нескольких миллиметров конец глазной пипетки, насасывают небольшое количество содержимого клоаки (рис. 23), переносят его на предметное стекло и, накрыв покровным стеклом, рассматривают под микроскопом при сильном увеличении в слегка затемненном поле зрения. Сперматозоиды лягушек имеют характерную форму благодаря очень длинной и сравнительно узкой головке и длинному тонкому хвостику (рис. 23). Они сильно отличаются от других форменных элементов и паразитических жгутиконосцев, встречающихся в содержимом клоаки. Если сперматозоиды обнаружены в содержимом клоаки (обычно их бывает очень много, и они подвижны), то результат реакции считается положительным. Если в течение 3 часа после инъекции мочи сперматозоиды в содержимом клоаки не появляются, то результат реакции считается отрицательным.

На самцах лягушек и жаб разных видов в разное время года реакция Галли-Майнини дает от 85 до 99% правильных ответов. На самцах травяной лягушки процент правильных ответов в несколько раз ниже. Сделайте вывод о проведенной реакции.



А

Б

Рис. 23. Реакция Галли-Маинини. А - Взятие пипеткой содержимого клоака у лягушки (ориг.); Б - Сперматозоиды зеленой лягушки

Работа 22.* Реакция на фенольную группу эстрогена

Половые гормоны играют важную роль в обмене веществ и способствуют возникновению вторичных половых признаков. Они вырабатываются половыми железами – семенниками и яичниками. К важнейшим женским половым гормонам относятся эстрадиол, эстрон (фолликулин) и эстриол (рис. 24).

1. При взаимодействии фолликулина с диазореактивом на фенольную группу.

Ход определения: В пробирку наливают 1 мл спиртового раствора фолликулина, 1 мл 10 % раствора карбоната натрия и 1 мл диазореактива (0.5 мл 1% раствора сульфаниловой кислоты и 0.5 мл 5 % раствора нитрита натрия). Постепенно возникает бледно-желтое окрашивание.

2. Качественные реакции на стероидные гормоны основаны на присутствии в молекуле гормона кольца циклопентанпергидрофенантрена при взаимодействии сахарозы с серной кислотой появляется оксиметилфурфурол, образующий со стероидным гормоном соединение, окрашенное в пурпурно-красный цвет.

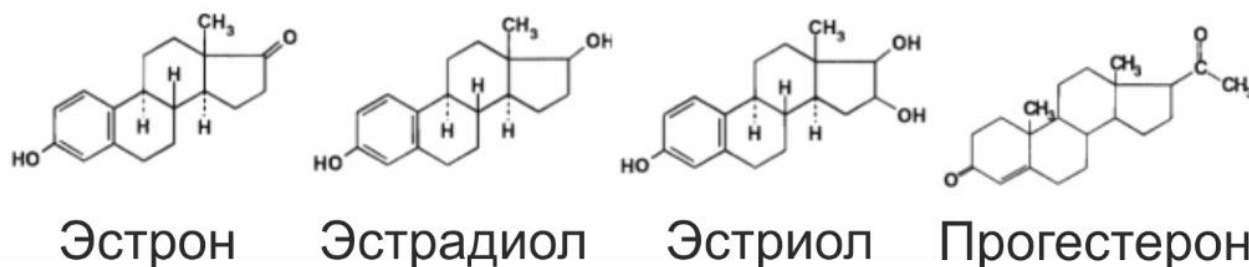


Рис. 24. Химическое строение женских половых гормонов

Ход определения: Приготовить 10 % растворы эстриола и кортизона из предварительно растолченных таблеток. К 20 каплям стероидного гормона (эстриол и кортизон) добавить 1 каплю 10% раствора сахарозы. После тщательного перемешивания осторожно по стенке пробирки добавить концентрированную серную кислоту. На границе двух жидкостей появляется пурпурно-красное кольцо.

В отчете следует отметить свои наблюдения. Сделать вывод, какие структурные особенности фолликулина отвечают за протекание данных химических реакций.

Работа 23. Анализ шкалы зачатий при менструальных циклах различной длительности.

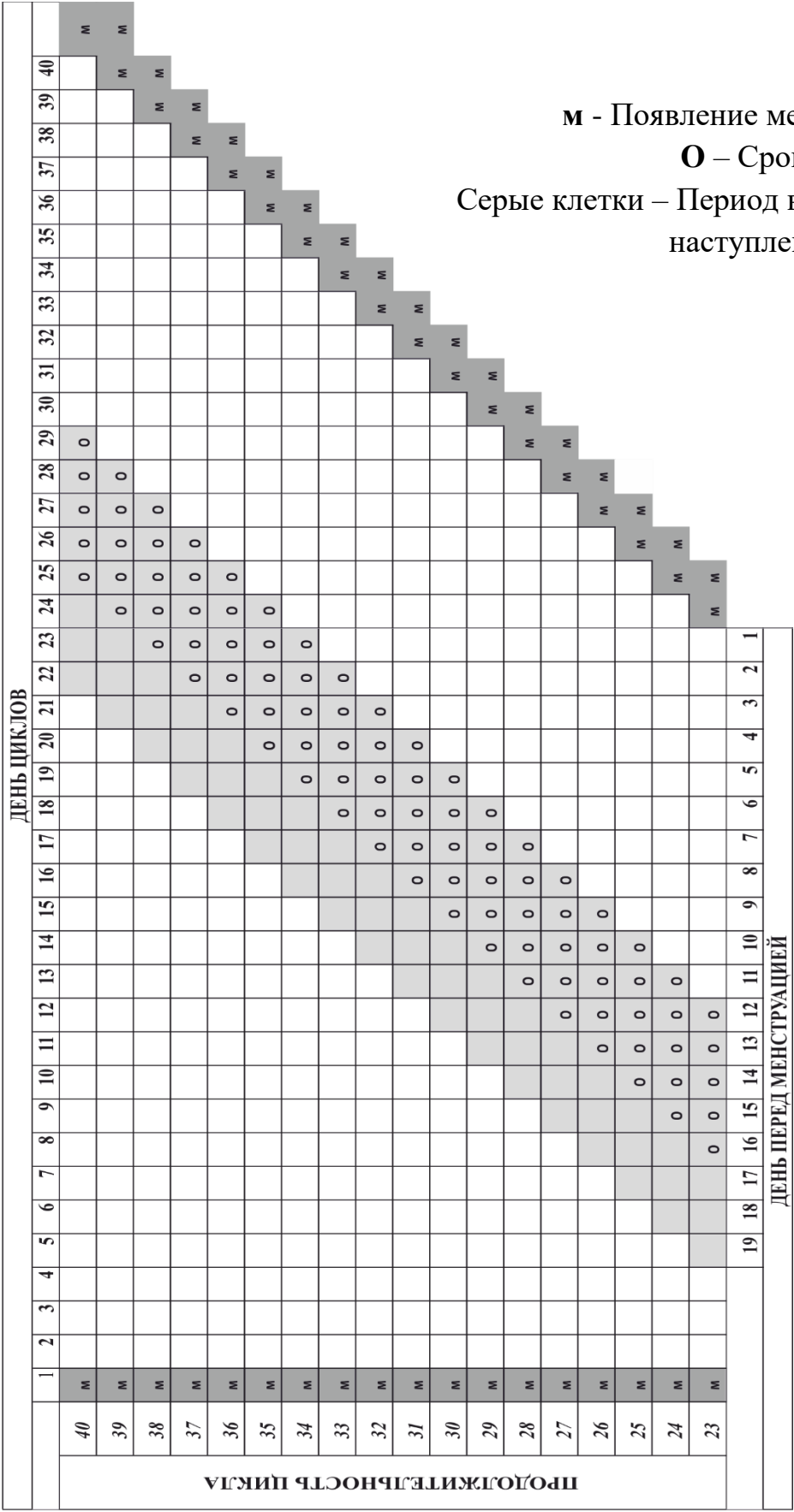
Ритмический метод контрацепции основан на предположительном определении времени овуляции, которая наблюдается у большинства женщин на 14-ый (-2) день менструального цикла, и на воздержании от половых отношений в период возможного наступления зачатия (с 10-го по 14-ый день 28-дневного менструального цикла).

Для работы необходимо: типовая шкала зачатий, календарь.

Ход работы: Определите вероятные дни зачатия в этом месяце по своему менструальному циклу - для студенток, по вероятному циклу - для студентов, используя шкалу (таблица 6).

Полученные результаты занесите в тетрадь. Объясните почему период плодовитости всегда больше срока овуляции.

Типовая шкала зачатий



ВОПРОСЫ НА СЕМИНАР

1. Гормоны. Их классификации. Жизненный цикл гормонов: синтез, метаболизм, время полужизни, транспорт.
2. Принципы гормональной регуляции: вертикальная ось, обратные связи, ритмы секреции, иерархия.
3. Гипоталамус как центр эндокринной регуляции.
4. Строение задней и промежуточной долей гипофиза. Кровоснабжение.
5. Гормоны задней доли гипофиза. Окситоцин.
6. Гормоны задней доли гипофиза. Антидиуретический гормон.
7. Строение передней доли гипофиза. Вертикальная ось: гипоталамус-аденогипофиз.
8. Аденогипофиз и его гормоны. Гормон роста, механизмы действия и патология.
9. Аденогипофиз и его гормоны. Лютеинизирующий гормон, фолликулостимулирующий гормон.
10. Аденогипофиз и его гормоны. Адренкортикотропный гормон.
11. Аденогипофиз и его гормоны. Прولاктин.
12. Аденогипофиз и его гормоны. Тиреотропный гормон
13. Эпифиз. Мелатонин, его биологическое действие.
14. Мужские половые гормоны - андрогены (тестостерон и дигидротестостерон). Метаболизм андрогенов.
15. Женская половая система. Действие эстрогенов и прогестинов на ткани и оогенез.
16. Нейроэндокринная регуляция размножения. Беременность.
17. Роды, как пример биологической обратной положительной связи.
18. Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО)
19. Надпочечники. Строение. Секретируемые гормоны. Их роль в регуляции функций. Морфофункциональная характеристика коркового слоя, мозгового вещества.
20. Глюкокортикоиды. Кортизол: место секреции, органы-мишени, физиологические эффекты. Регуляция выработки.
21. Минералокортикоиды. Альдостерон: место секреции, органы-мишени, физиологические эффекты механизмы действия. Система ренин-ангиотензин-альдостерон.
22. Симпатоадреналовая система. Катехоламины – гормоны мозгового слоя надпочечника.

23. Гормональная регуляция обмена веществ.
24. Поджелудочная железа. Гормоны поджелудочной железы. Их взаимодействие. Регуляция метаболизма глюкозы. Контринсулярные гормоны.
25. Классификация сахарного диабета. Механизмы возникновения сахарного диабета. Нарушения эндотелия сосудов при сахарном диабете – последствия.
26. Щитовидная железа. Трийодтиронин и тироксин. Регуляция секреции тиреоидных гормонов.
27. Биологическое действие тиреоидных гормонов. Клеточный механизм и их действия.
28. Регуляция поддержания нормальных уровней кальция, магния и фосфора в крови. Паращитовидная железа: строение.
29. Паратгормон: синтез, органы-мишени, эффекты, регуляция секреции.
30. Витамин Д3: синтез, органы-мишени, эффекты, регуляция секреции.
31. Кальцитонин: синтез, органы-мишени, эффекты, регуляция секреции.
32. Пути поступления и метаболизма кальция и фосфора в организме. Нарушения обмена кальция и фосфора.
33. Физиологическая роль магния в организме человека. Регуляция уровня магния.
34. Обзор гормонпродуцирующих тканей и APUD (ДЭС)- системы.

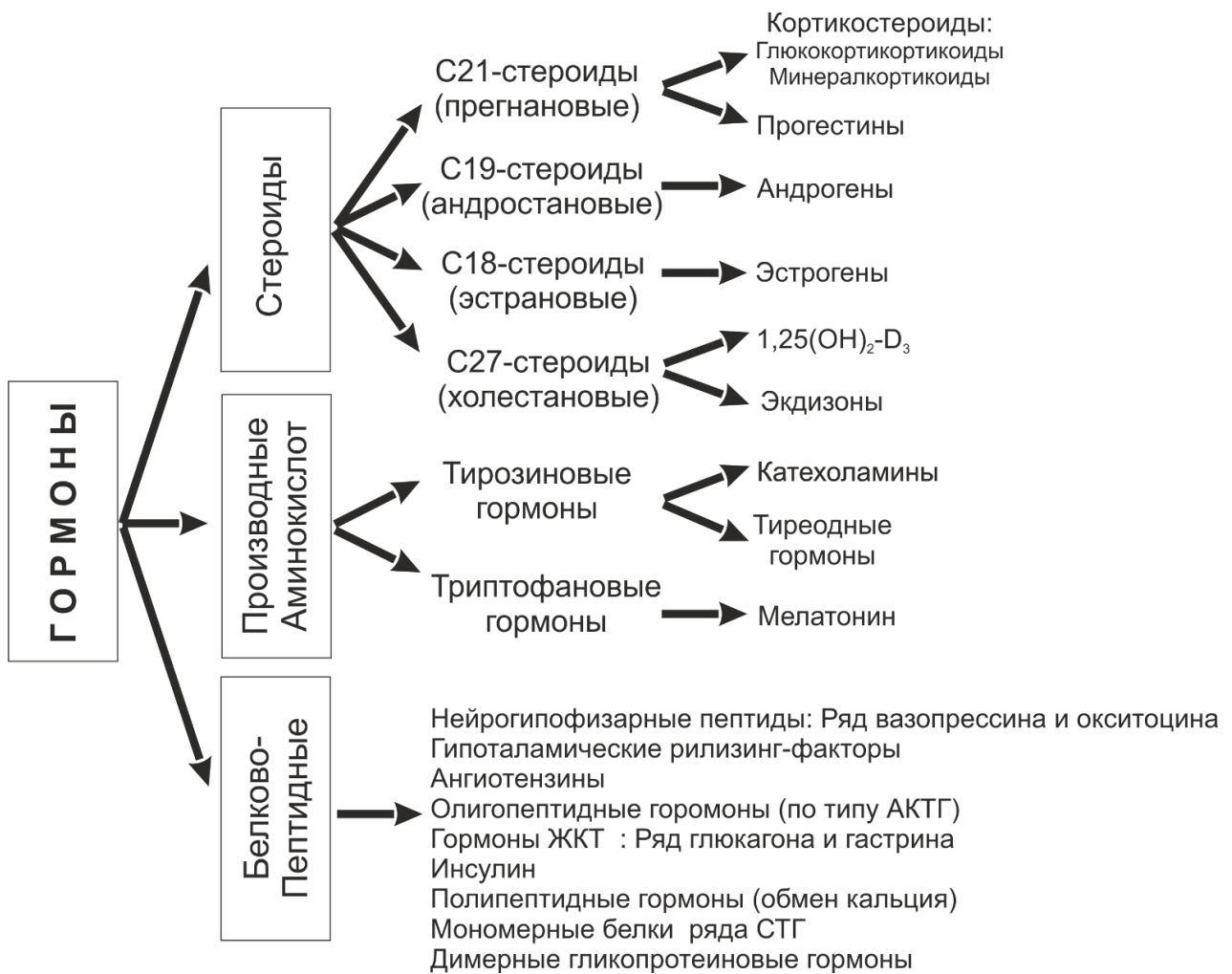
ТЕМЫ ДЛЯ РЕФЕРАТОВ

1. Взаимодействие двух систем иммунной и эндокринной.
2. Механизмы развития диабета 1 типа, патофизиологические последствия
3. Гипогликемическая болезнь: причины, клинические проявления, диагностика, лечение.
4. Йодный дефицит и его влияние на здоровье.
5. Гомоны регулирующие функции сердечно-сосудистой системы.
6. Эволюционное развитие желез внутренней секреции
7. Рецепторы ядра как мишень действия гомонов
8. Аутоиммунные механизмы развития эндокринных нарушений.
9. Формы, причины развития и признаки несахарного диабета
10. Нейроэндокринная регуляция развития и размножения.
11. Методы определения гормонов.
12. Создание инсулина - эволюция инсулинотерапии.
13. Гормоны желудочно-кишечного тракта.
14. Эволюция действия гомонов
15. Гомоны регулирующие водно-минеральный обмен.
16. Влияние гормонов на половой диморфизм мозга.
17. Диетотерапия при сахарном диабете
18. Нейроэндокринный контроль биологических ритмов.
19. Роль желез внутренней секреции в развитии стресса.
20. Гипоталамический контроль потребления пищи. Регуляция аппетита.
21. Нейроэндокринно-иммунное взаимодействие в организме человека.
22. Ожирение, гипоталамус и кости.
23. Феромоны обоняния и нейроэндокринные механизмы их действия.
24. Лимбическая система и цепь вознаграждения, роль желез внутренней секреции.
25. Гормоны агрессивного поведения.
26. Действие гонадных стероидов: развитие, дифференцировка, диморфизм.
27. Кибернетические принципы в управлении работе желез внутренней секреции
28. Взаимоотношения нервной и эндокринной системы.
29. Несахарный диабет: определение понятия, этиопатогенез.
30. Тестостерон и болезнь Альцгеймера.
31. Гормональная терапия: преимущества и риски. Область применения

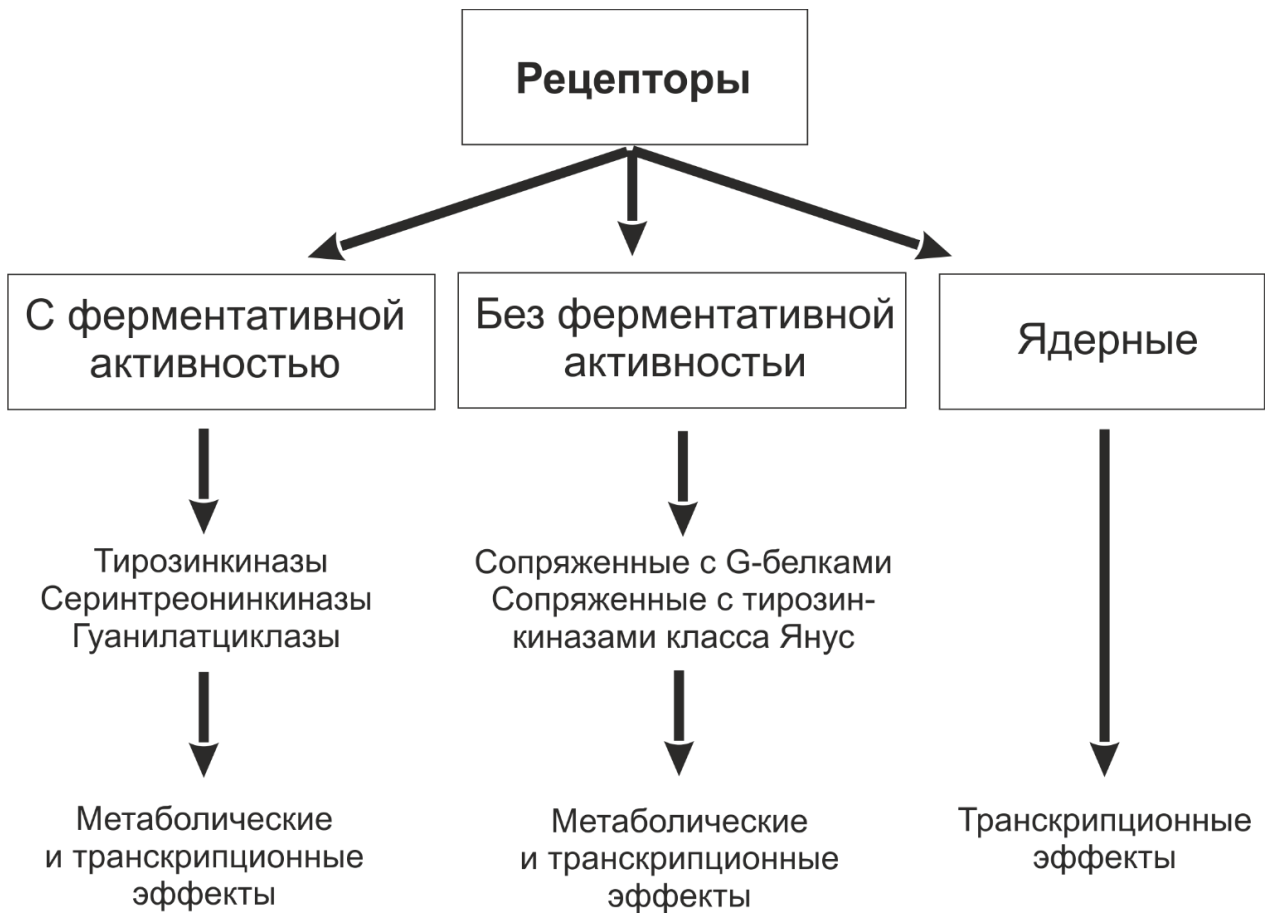
ЛИТЕРАТУРА

1. Ерофеев Н.П. Физиология эндокринной системы / Н.П. Ерофеев, Е.Н. Парийская. – СпецЛит., 2013. – 80с
2. Камкин А.Г. Фундаментальная и клиническая физиология. Учебник для студентов высших учебных заведений. / А.Г. Камкин, А.А. Каменский. – М: изд-во «Академия», 2004. – 1072 с.
3. Киршенблат Я.Д. Практикум по эндокринологии / Я.Д. Киршенблат. – М.: изд-во «Высшая школа», 1969. – 256 с.
4. Мануилова Н.А. Гистология с основами эмбриологии / Н.А. Мануилова - 4-е изд., доп. и испр. - М.: Просвещение, 1964. – 287 с.
5. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы. Лабораторные животные / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков. – СПб: изд-во «Лань», 2001. – 463 с.
6. Ноздрачев А.Д. Анатомия лягушки. Лабораторные животные / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков. – М: изд-во «Высшая школа», 1994. – 320 с.
7. Смирнов П.Н. Физиология эндокринной системы: учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных занятий по физиологии эндокринной системы / П.Н. Смирнов, Н.В. Ефанова, Л.М. Осина, Е.А. Борисенко, С.В. Баталова. – Новосибирск: ИЦ «Золотой колос», 2015. – 113 с.
8. Токарева М.И. Биохимия в 3 частях / М.И. Токарева, И.С. Селезнева. – Екатеринбург, 2005. (Учебное электронное текстовое издание).
9. Шмидт Р. Физиология человека / Р. Шмидт, Г. Тевс. – М: изд-во «Мир», 1996. – 3 т. – 860 с.
10. Яковлева О.В. Практикум по эндокринологии / О.В. Яковлева, Г.Ф. Ситдикова, А.В. Яковлев. – Казань, изд-во КГУ, 2007. – 20 с.

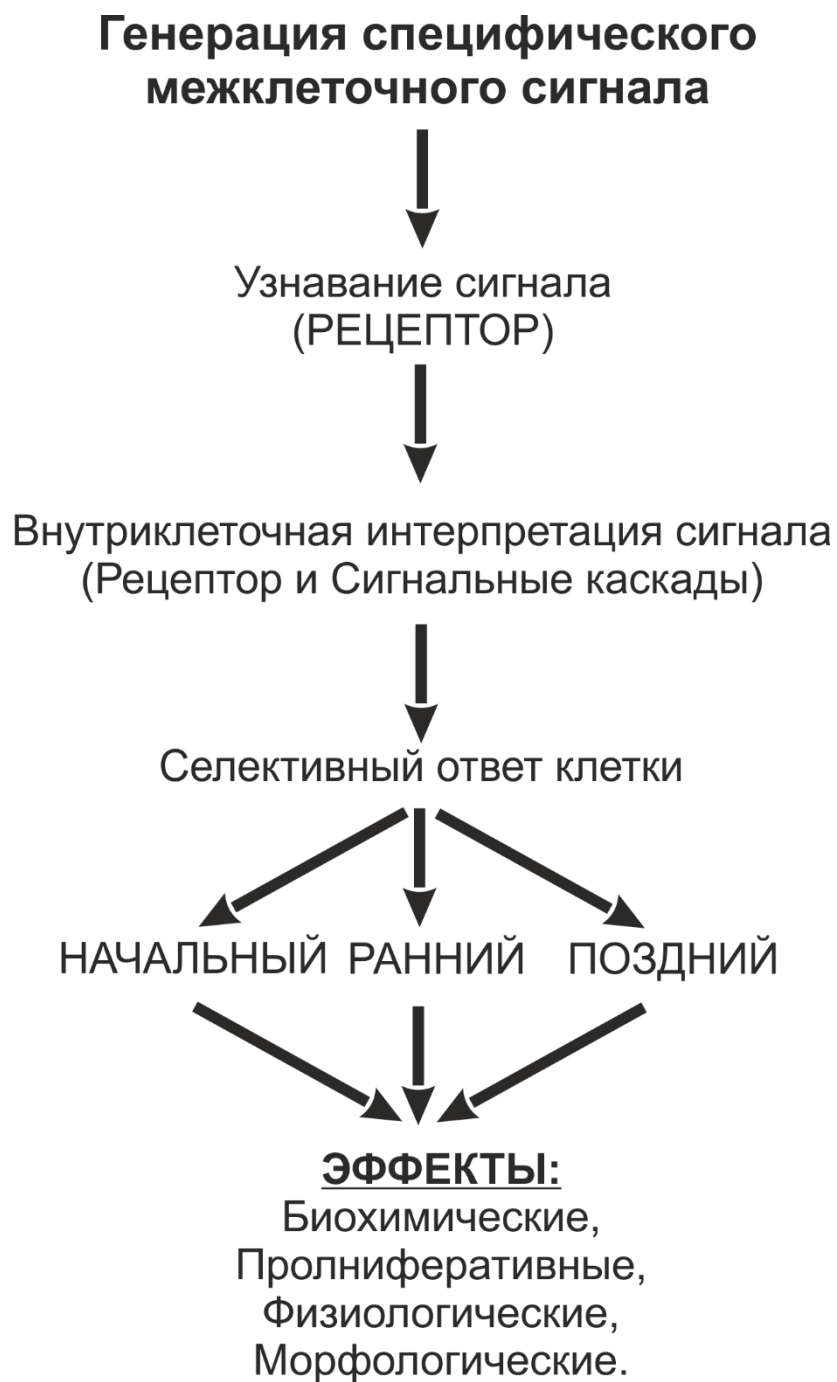
Классификация гормонов (по химической природе)



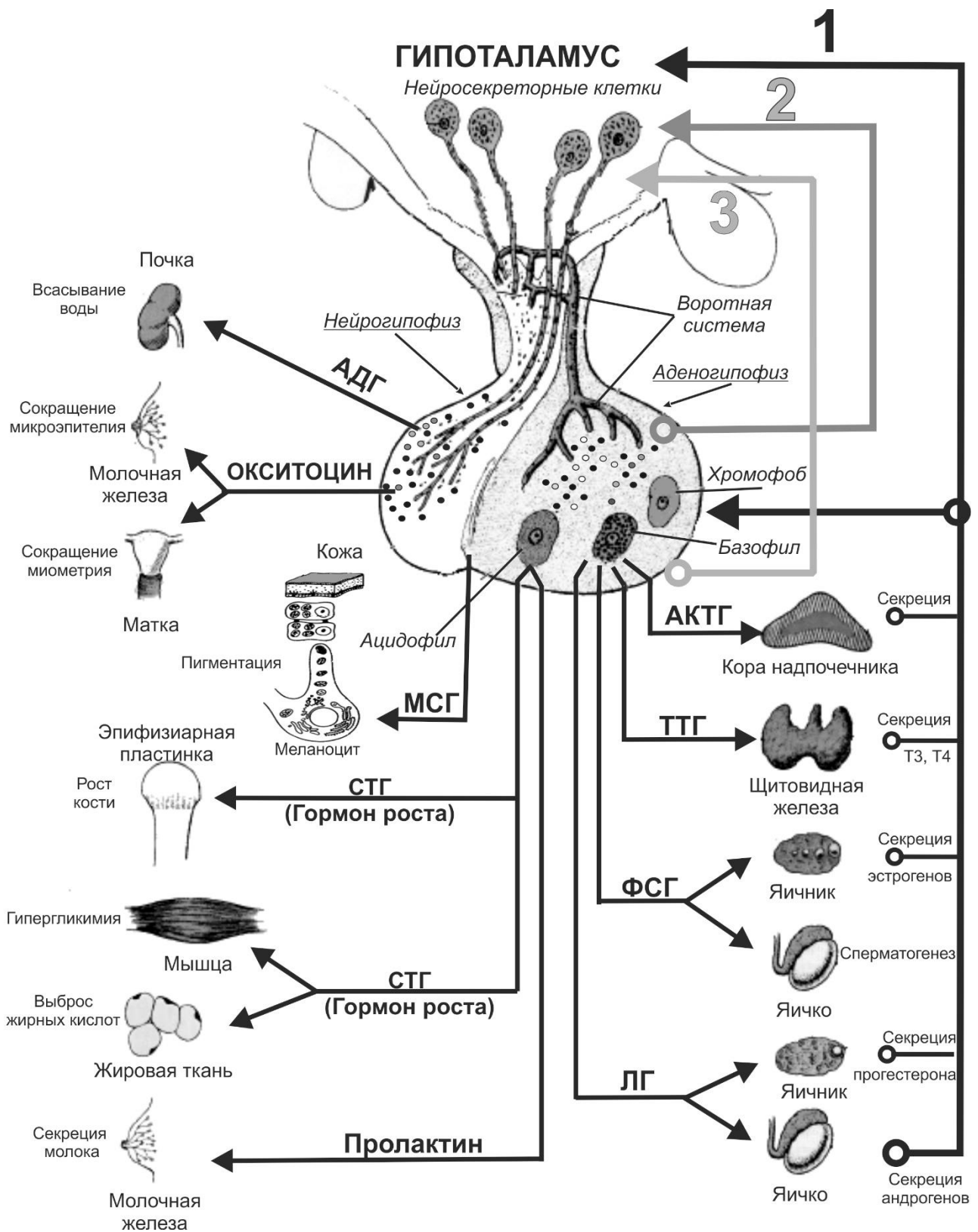
Типы гормональных рецепторов



Этапы инициации гормональных эффектов



Принцип обратной отрицательной связи



1 – длинная, 2 – короткая, 3 – ультракороткая петли