

**КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

*Биолого-почвенный факультет*

Кафедра физиологии человека и животных

**ПРАКТИКУМ ПО ЭНДОКРИНОЛОГИИ**

**Методическое пособие**

**Яковлева О.В., Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В.**

**Казань-2007**

Печатается по решению Научно-методического совета  
биолого-почвенного факультета  
Казанского государственного университета

Рецензент: к.б.н., доцент А.М.Еремеев

**Яковлева О.В., Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В.**

Практикум по эндокринологии: методическое пособие/ Яковлева О.В.,  
Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В. – Казань: КГУ.- 2007. – 20 с

В настоящий практикум включены лабораторные работы по курсу «Эндокринология». Работы рассчитаны на самостоятельное выполнение их студентами. Описание каждой работы включает методические указания и практические задачи. Практикум предназначен для студентов биологических факультетов

Казанский государственный университет

## О Г Л А В Л Е Н И Е

Введение	3
1. Эндокринология поджелудочной железы	4
Работа 1.1 Микроскопическое строение поджелудочной железы крысы	5
Работа 1.2. Быстрое определение количества сахара и ацетоновых тел в моче	6
Работа 1.3. Быстрое определение количества сахара в крови после сахарной нагрузки	7
2. Надпочечники	8
Работа 2.1. Действие адреналина на зрачок энуклеированного глаза лягушки	9
Работа 2.2. Микроскопическое строение надпочечников крысы	9
3. Эндокринология щитовидной железы	10
Работа 3.1. Определение расположения щитовидных желез у взрослой лягушки	11
Работа 3.2 Микроскопическое строение щитовидной железы крысы	12
4. Гипофиз	13
Работа 4.1. Удаление гипофиза у лягушки	14
Работа 4.2. Действие меланофорного гормона и адреналина на пигментные клетки лягушки	15
Работа 4.3. Действие питуитрина на проницаемость стенки мочевого пузыря лягушки для воды	17
5. Эндокринология беременности	18
Работа 5.1. Сперматозидная реакция Галли-Маинини	18
Контрольные вопросы	19
Литература	20

## ВВЕДЕНИЕ

Эндокринология – это область физиологии, связанная с изучением **гормонов**, продуктов внутренней секреции специализированных **эндокринных желез**. 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. Гормоны служат химическими носителями

информации; достигнув органа-мишени, они оказывают на него специфическое воздействие. Специфичность действия гормонов обеспечивается присутствием в клетках **рецепторов**.

В зависимости от локализации рецепторов в клетках-мишенях гормоны можно разделить на три группы. Первую группу составляют **гормоны липидной природы**. Будучи жирорастворимыми, они легко проникают через клеточную мембрану и взаимодействуют с внутриклеточными рецепторами. Вторая группа – **белковые и пептидные гормоны**. Рецепторы этих гормонов находятся на поверхности клеточной мембраны. Третью группу гормонов составляют низкомолекулярные **тиреоидные гормоны**. Эти гормоны легко проникают во все клетки тела и взаимодействуют с рецепторами, локализованными в ядре.

Существуют два механизма действия гормонов в зависимости от того, где образуется гормон-рецепторный комплекс – внутри клетки или на ее поверхности. Гормон-рецепторный комплекс, образующийся внутри клетки, оказывает влияние на экспрессию генов и таким образом на процессы синтеза белков. Взаимодействие гормона с рецептором на плазматической мембране ведет к активации системы вторичных посредников, таких как цАМФ, цГМФ, инозитол-три-фосфат.

## 1. ЭНДОКРИНОЛОГИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Поджелудочная железа – 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.

Панкреатические островки (островки Лангерганса), диффузно распределенные 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 около 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.  $\alpha$ -клетки, содержащие в цитоплазме гранулы и окрашивающиеся азаном или флоксином в ярко-красный цвет, вырабатывают – глюкагон. Основной эффект глюкагона заключается в увеличении уровня глюкозы в крови.  $\beta$ -клетки, характеризующиеся наличием гранул в цитоплазме, окрашивающиеся хромовым гематоксилином в голубой

цвет, вырабатывают инсулин. Действие инсулина сводится к снижению содержания сахара в крови. Это происходит в результате усиления поглощения и утилизации глюкозы тканями и повышению синтеза гликогена. При недостаточном выделении 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 1.1 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 крысы.

*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.

При окраске азаном в островке Лангерганса легко определяются два типа клеток.  $\alpha$ -клетки имеют округлую или многоугольную форму, большое пузырьковидное ядро, содержат в цитоплазме гранулы, окрашенные в ярко-красный цвет.  $\beta$ -клетки имеют призматическую форму, округлое ядро, гранулы в цитоплазме окрашены в бледно-голубой цвет. У крысы  $\beta$ -клетки обычно занимают всю центральную часть островка, а  $\alpha$ -клетки расположены преимущественно в периферической его части (рис. 1).

Рассмотрите и зарисуйте строение островков Лангерганса щитовидной железы крысы.

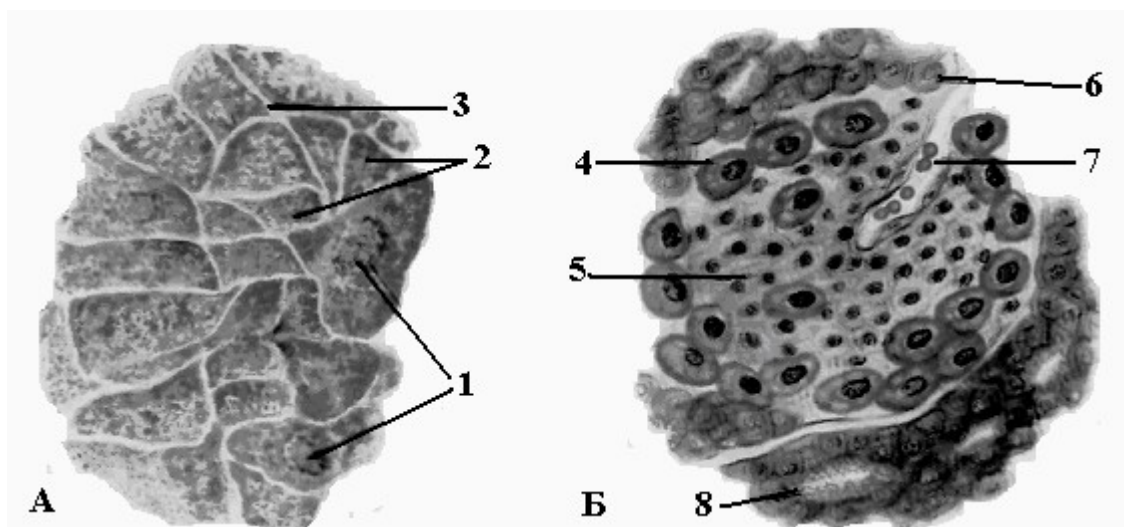


Рис. 1 Микроскопическое строение островков Лангерганса крысы.

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 -  $\alpha$ -клетка, 5 -  $\beta$ -клетка, 6 – ацинарная клетка, 7 – кровеносный сосуд, 8-гранулы секрета.

### **Работа 1.2. Быстрое определение количества сахара и 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. Если мочу, содержащую глюкозу, смешать с раствором щелочи и кипятить, она приобретает характерную окраску (от желтого до бурого цвета), интенсивность которой зависит от количества содержащегося в ней сахара.

*Для работы необходимо:* пипетки на 1 и 5 мл, химические пробирки, воронки, водяная баня, едкий натр (10% раствор), дистиллированная вода, цветовая шкала (приложение 1), 10% водный раствор нитропрусида натрия, ледяная уксусная кислота.

*Ход работы.*

*Определение сахара:* 4 мл мочи смешивают в пробирке с 1 мл 10% раствора едкого натрия и кипятят в течение 30-60 сек. Охлаждают в течение 10 мин. Сравнивают цвет жидкости в пробирке с цветовой шкалой. На каждой полоске цветовой шкалы указано процентное содержание сахара в моче (0.5 - 4.0%). Если цвет жидкости интенсивнее окраски одной полоски шкалы, но

слабее окраски следующей полоски, то считают что содержание сахара равно среднему значению между величинами, обозначенными на этих полосках (приложение 1). Сделайте вывод о количестве сахара в исследуемой пробе.

*Определение ацетоновых тел (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. Сделайте вывод о наличии ацетоновых тел в пробе.

### **Работа 1.3. Быстрое определение количества сахара в крови после сахарной нагрузки**

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». Особое 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 170 мг%. 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 180 мг% и не возвращается к исходному уровню через 3 часа, это говорит о скрытом сахарном диабете.

*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, цветная шкала.

*Ход работы.* У человека берут кровь для определения уровня сахара натощак, затем дают выпить 200 мл воды, в которых растворено 100 г глюкозы. После этого берут кровь для исследования каждые 30 минут в течение 2 часов. Определяют количество сахара в крови.

*Определение сахара.* В пробирку наливают 1.9 мл дистиллированной воды. Микропипеткой набирают 0.1 мл крови и выдувают ее в пробирку, затем промывают пипетку содержимым пробирки несколько раз. Далее в пробирку прибавляют 1мл 1.2% раствора пикриновой кислоты. Содержимое тщательно взбалтывают и фильтруют в сухую пробирку №1а. Из профильтрованной порции набирают 2 мл и переносят в сухую пробирку

№16. В нее прибавляют 0.2 мл 10% раствора едкого натра и кипятят их в течение 3 минут в кипящей водяной бане. Затем пробирку охлаждают, взбалтывают и сравнивают цвет жидкости с окраской полосок на цветовой шкале (приложение 2).

Полученные результаты изображают в виде кривой, откладывая по оси абсцисс время, а по оси ординат - количество сахара в мг%. Сделайте вывод об исходном уровне сахара в исследуемой крови, оцените скорость, степень и продолжительность повышения уровня сахара; время и характер снижения этого уровня.

## 2. НАДПОЧЕЧНИКИ

У человека надпочечники представляют собой парные пирамидальные образования, расположенные на верхних полюсах почек. 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. 2). 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. К катехоламинам относятся адреналин и норадреналин. Эти гормоны оказывают влияние на гладкие мышцы сосудов и внутренних органов. Кроме того, окончания симпатических постганглионарных нейронов выделяют в качестве нейромедиатора норадреналин. Клетки мозгового слоя надпочечников высвобождают в кровоток главным образом адреналин. Реакции различных органов на адреналин и норадреналин зависят от соотношения подтипов  $\alpha$  и  $\beta$ -рецепторов в тканях.



## **Работа 2.1. Действие адреналина на зрачок энуклеированного глаза лягушки.**

Адреналин вызывает сокращение мышцы, расширяющей зрачок, взаимодействуя с  $\alpha$ -адренорецепторами. 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, глазные пипетки, лупа, окуляр-микрометр, раствор Рингера, адреналин (1:1000), лягушки, стеклянный колпак, эфир.

*Проведение опыта.* У наркотизированной и обездвиженной лягушки выделяют глазные яблоки. Удаляют прилегающую к главному яблоку соединительную ткань. В две небольшие чашечки наливают по 5 мл раствора Рингера. В одну из них прибавляют 3 капли раствора адреналина (1:1000). Один глаз лягушки помещают в эту чашечку, а второй глаз - в чашечку с раствором Рингера без адреналина (контроль). Через 30 мин зрачок глаза, лежащего в растворе с адреналином, оказывается значительно расширенным по сравнению со зрачком второго глаза, находящегося в растворе Рингера. Для количественного определения оба глаза до начала опыта подвергают действию яркого дневного или электрического света в течение 30 мин. Наблюдения за размерами зрачков ведут через лупу с увеличением 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 с контролем. Каков механизм расширения диаметра зрачка при действии адреналина?

## **Работа 2.2. Микроскопическое строение надпочечников крысы.**

*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. 2).

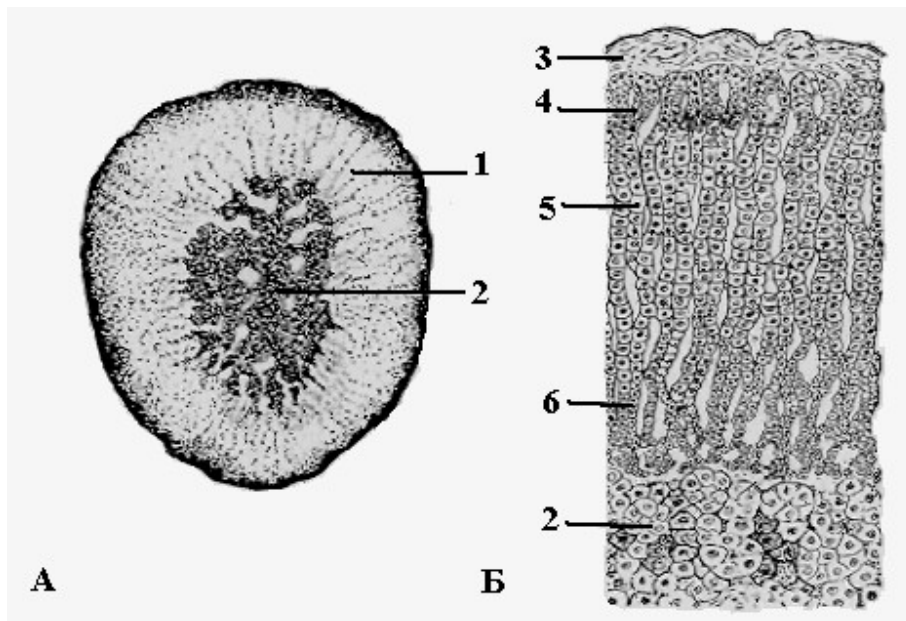


Рис. 2 Микроскопическое строение надпочечника крысы.

А – срез через надпочечник; Б – участок среза при большом увеличении.

1- корковый слой, 2- мозговое вещество, 3- капсула, 4- клубочковая зона, 5- пучковая зона, 6-сетчатая зона.

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 состоит 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.

### 3. ЭНДОКРИНОЛОГИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Щитовидная железа человека 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.

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. 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.

### **Работа 3.1. Определение расположения щитовидных желез у взрослой лягушки.**

Щитовидных желез у взрослой лягушки две. Они имеют вид небольших продолговато-овальных телец, расположенных между задне-боковым и средне-задним отростками подъязычного аппарата (рис. 3). У разных видов лягушек отношение щитовидных желез к этим хрящевым отросткам и окружающим мышцам несколько отличается.

*Для работы необходимы:* стеклянный колпак, пробковая пластинка, ножницы, глазные пинцеты, маленькие тупые крючки, препаровальные иглы, иглодержатель с хирургической иглой, шелковые нитки, булавки, вата, эфир для наркоза, раствор Рингера, лягушки.

*Проведение операции.* Лягушку наркотизируют и обездвиживают и кладут на пробковую пластинку брюшной стороной кверху и булавками прикалывают ее вытянутые конечности к пластинке. Голову прикрепляют к пластине тонкой булавкой, вколотой позади места соединения обеих переднечелюстных костей. На уровне переднего края плечевого пояса делают поперечный разрез через кожу, поверхностные мышцы и переднюю часть предгрудины. Этот разрез имеет форму дуги, направленной выпуклой стороной вперед. Крючком поднимают и отодвигают кпереди отрезанную хрящевую часть предгрудины и, таким образом, получают оперативный доступ к мышцам, прикрывающим с вентральной стороны подъязычный аппарат. Отодвигают в сторону одну грудинно-подъязычную мышцу, и с той же стороны отделяют тупым путем брюшко подъязычно-язычной мышцы от средне-заднего отростка (эта мышца начинается от средне-задних отростков

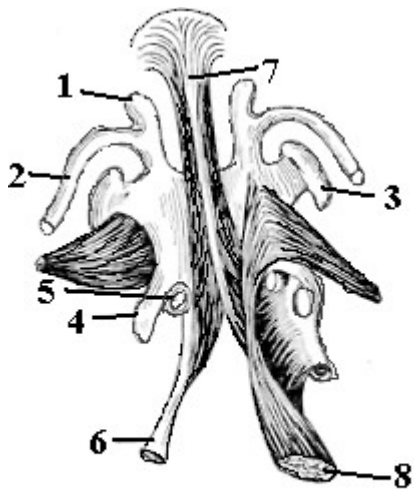


Рис. 3 Подъязычный аппарат лягушки. Вид с брюшной стороны.

1– передний отросток, 2 – главный рог, 3 – крыловидный отросток, 4 – заднебоковой отросток, 5- щитовидная железа, 6 – средне-задний отросток, 7 – подъязычно-язычная мышца, 8 – грудино-подъязычная мышца.

подъязычного аппарата двумя брюшками, которые впереди соединяются и входят в состав языка). Находят щитовидную железу. Зарисовывают местоположение щитовидных желез у лягушки.

### **Работа 3.2 Микроскопическое строение щитовидной железы крысы**

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 околотщитовидные железы, которых у крыс бывает только две. Щитовидную железу фиксируют смесью Ценкера, срезы окрашивают азаном по Гейденгайну.

*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. 4). Зарисуйте микроскопическое строение щитовидной железы крысы.

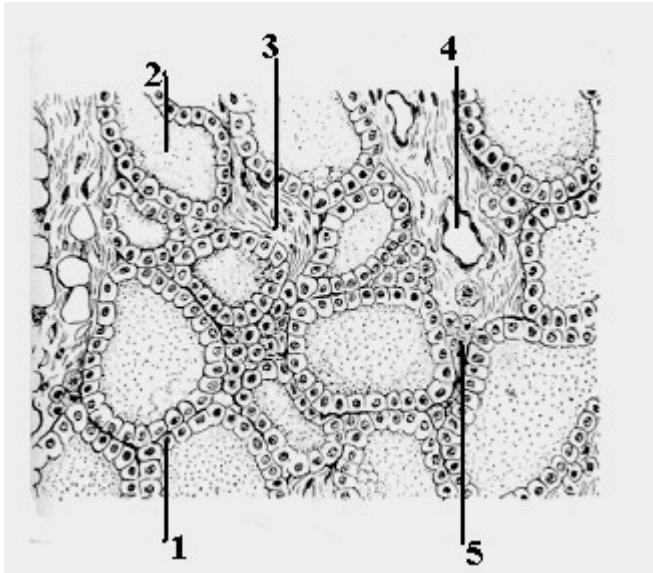


Рис. 4. Микроскопическое строение щитовидной железы крысы.

1 - фолликулярный эпителий, 2 - коллоид, 3 – интерфолликулярная соединительная ткань, 4 – кровеносный сосуд, 5 – интерфолликулярный островок.

#### 4. ГИПОФИЗ

Нижний мозговой придаток или гипофиз, расположен внутри черепа в костной ямке турецкого седла, хорошо защищающей его от повреждения. Гипофиз состоит из трех разных частей. Задняя доля гипофиза или нейрогипофиз образована окончаниями аксонов нервных клеток, тела которых находятся в гипоталамусе. Передняя доля или аденогипофиз представляет собой не нервную структуру, а скопления клеток, секретирующих гормоны. Передняя и задняя доли гипофиза разделены тонким слоем клеток, образующих промежуточную долю, которая иннервируется нервами из гипоталамуса. Промежуточная доля имеет большое значение у низших позвоночных и меньшее у млекопитающих. В передней доле вырабатываются шесть гормонов: соматотропный, фолликулостимулирующий, лютеинизирующий, пролактин, 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.

#### Работа 4.1. 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, эфир, 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. 5). 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 отверстие в черепе, и прикрывают ее слизистой оболочкой ротовой полости, на которую накладывают 1-2 шва.

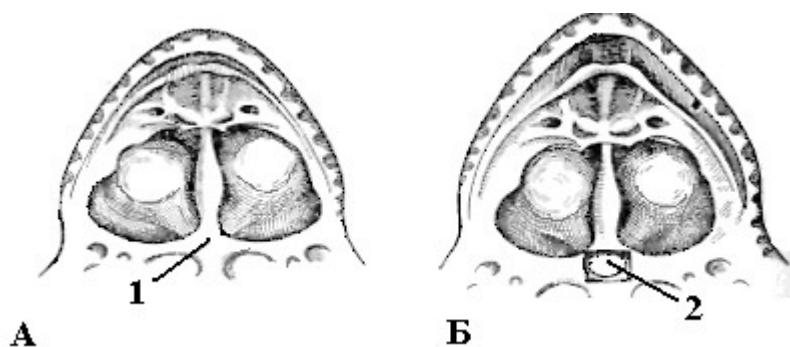


Рис. 5. Обнаружение гипофиза у лягушки

А - часть нижней поверхности черепа лягушки после удаления слизистой;

Б – в центральной части парасфеноидной кости вырезано квадратное отверстие. 1 – парасфеноидная кость, 2 – передняя доля гипофиза.

Вскоре после удаления гипофиза окраска кожи лягушек становится очень светлой вследствие исчезновения из крови меланофорного гормона (рис. 5). Запишите, через какое время наблюдалось осветление кожи лягушки. Сделайте вывод, почему это произошло?

#### **Работа 4.2. 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. 6). 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:* бинокляр, пробковая пластинка с отверстием, ножницы, пинцеты, 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 3-4 часов на белом фоне при ярком освещении. Еще лучше изучать его на гипофизэктомированных лягушках. В спинной лимфатический мешок вводят 0.2мл питуитрина (экстракта задней доли гипофиза, содержащего меланофорный гормон) 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.

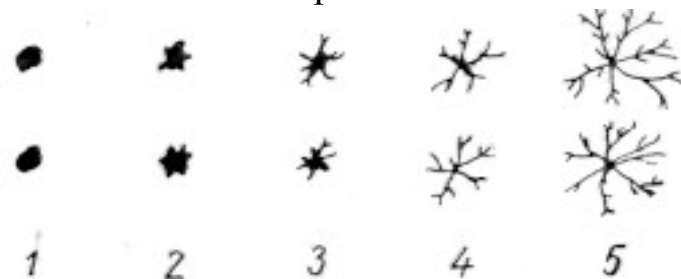


Рис.6 Шкала для оценки распространения зерен пигмента в хроматофорах по 5-балльной системе.

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. 6). 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 4.3. 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, 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, эфир, дистиллированная вода, 2 лягушки.

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

Лягушку наркотизируют и обездвиживают. 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 мочевой пузырь 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 массы мочевого пузыря (контроль/опыт) в течение опыта в процентах.

## 5. ЭНДОКРИНОЛОГИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

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 5.1. Сперматозидная 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. 7), 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. 7). 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.

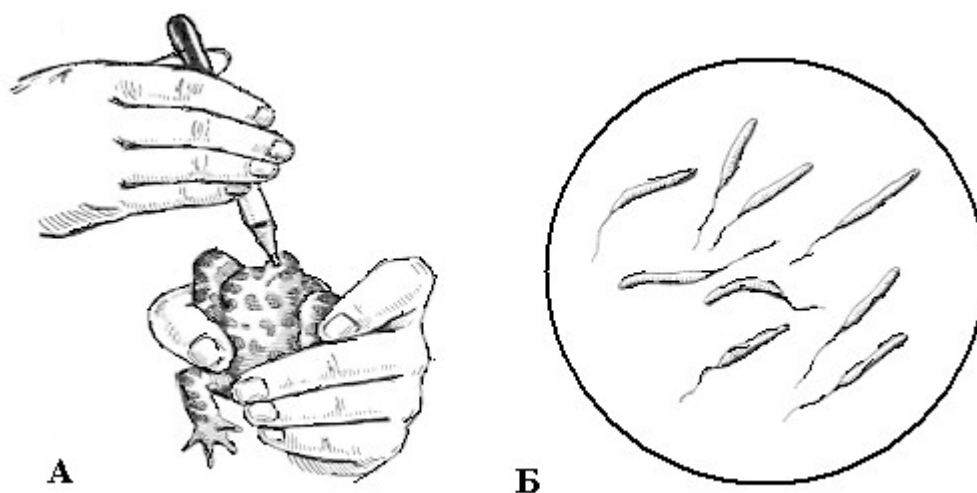


Рис. 7 Реакция Галли-Маинини

А - Взятие пипеткой содержимого клоаки у лягушки; Б - Сперматозоиды зеленой лягушки

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.

### Контрольные вопросы

1. Надпочечники. Строение и функции. Гормоны коркового слоя.
2. Симпатоадреналовая система. Катехоламины – гормоны мозгового слоя надпочечников.
3. Гипоталамус и гипофиз, их взаимодействие.
4. Гипоталамические гормоны – либерины и статины.

5. Система ренин-ангиотензин-альдостерон. Механизмы действия альдостерона.
6. Аденогипофиз и его гормоны. Тропные гормоны: тиреотропный, гонадотропный, адренокортикотропный.
7. Эпифиз. Мелатонин, его биологическое действие.
8. Гормон роста, механизмы действия и патология.
9. Пептиды семейства кортикотропина. Меланоцитстимулирующий гормон.
10. Поджелудочная железа. Гормоны поджелудочной железы.
11. Классификация сахарного диабета, патогенез.
12. Гормональная регуляция обмена веществ.
13. Щитовидная железа. Трийодтиронин и тироксин.
14. Регуляция секреции тиреоидных гормонов.
15. Биологическое действие тиреоидных гормонов. Клеточный механизм и их действия.
16. Нейроэндокринная регуляция размножения.
17. Мужские половые гормоны- андрогены (тестостерон и дигидротестостерон). Метаболизм андрогенов.
18. Функция семенников и сперматогенез.
19. Женская половая система. Действие эстрогенов и прогестинов на ткани и оогенез.

### **Литература**

- 1 Ноздрачев А.Д. Анатомия лягушки. Лабораторные животные/ Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. // М:Высшая школа. - 1994 – 320 с.
- 2 Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы. Лабораторные животные/ Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л. // СПб:Лань. - 2001 – 463 с.
- 3 Камкин А.Г. Фундаментальная и клиническая физиология. Учебник для студентов высших учебных заведений/Камкин А.Г., Каменский А.А.// М:Академия. - 2004 – 1072 с.
- 4 Шмидт Р. Физиология человека в 3-х т./Шмидт Р., Тевс Г.//М:Мир. - 1996. – 834 с
5. Киршенблат Я.Д. Практикум по эндокринологии//М:Высшая школа.- 1969 – 256 с.