# ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕЛОВАНИЕ ◊ ORIGINAL

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-37-41

УДК 619:616.453:636.7 03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология © Коллектив авторов, 2019



# Восстановительные процессы в надпочечных железах норок

П. М. Торгун<sup>1\*</sup>, Д. Б. Никитюк<sup>2</sup>, С. В. Клочкова<sup>3</sup>, Н. Т. Алексеева<sup>4</sup>, А. Г. Кварацхелия<sup>4</sup>, И. А. Ульянов<sup>4</sup>, В. А. Обрывков<sup>1</sup>

 $^1$ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I», Воронеж, Россия

 $^2$ ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

3ΦГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия 4ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Воронеж, Россия

Иелью настоящего исследования является изучение пиклических изменений секреторных, деструктивных и пролиферативных процессов в коре надпочечных желез у норок.

Материал и методы. Материал собран в период с декабря по апрель с месячным интервалом. Фрагменты надпочечных желез фиксировали в жидкостях Штиве, Буэна, Ценкера и в 10% растворе нейтрального формалина. Применяли ШИК-реакцию, окраску трихром-ШИК и тетрахром-ШИК. РНК выявляли реакцией Браше и галлоцианином по Эйнарсону. Материал, фиксированный в 10% растворе нейтрального формалина, использовали для изучения липидов.

Результаты. Изучены циклические изменения морфофункциональных показателей коры надпочечника у норок. В декабре в коре надпочечных желез четко выражены клубочковая, пучковая и сетчатая зоны. В клубочковой зоне представлены полигональные клетки с умеренно вакуолизированной цитоплазмой, в пучковой зоне содержатся клетки, которые не отличаются от клеток клубочковой зоны. В январе в коре надпочечных желез обнаружено снижение функциональной активности корковой паренхимы и развитие обширных деструктивных изменений железистых клеток во всех зонах коркового вещества. В феврале отмечаются обширные пролиферативные процессы и повышение секреторной активности коры надпочечника. Мелкие клетки очагов пролиферации перемещаются в пучковую зону и превращаются в активно функционирующие клетки. В марте завершаются восстановительные процессы в коре надпочечника.

Ключевые слова: надпочечник, клубочковая, пучковая, сетчатая зоны, функциональная активность, деструкция и пролиферация клеток.

## Recovery Processes in the Adrenal Glands of Minks

© P. M. Torgun<sup>1\*</sup>, D. B. Nikityuk<sup>2</sup>, S. V. Klochkova<sup>3</sup>, N. T.Alexeeva<sup>4</sup>, A. G. Kvaratskheliya<sup>4</sup>, I. A.Ul'yanov<sup>4</sup>, V. A. Obryvkov<sup>1</sup>, 2019

<sup>1</sup>Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University, Voronezh, Russia

<sup>2</sup>The Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

<sup>3</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup>N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

The aim of the present research is to study the cyclic changes in secretory, destructive and proliferative processes in the adrenal gland cortex of minks.

Material and methods. The material is collected between December and April at a monthly interval. The fragments of adrenal glands were fixed in Shtiva, Buen, Zenker fluids and in 10% neutral formalin solutions. PAS-reaction, trichrome-PAS and tetrachrome-PAS staining were applied. RNA was revealed by Brachet's reaction and by gallocyanine according to Einarson. The material fixed in 10% neutral formalin solution was used to study lipids.

Results. Cyclic changes of morphofunctional indices of minks' adrenal cortex have been studied. In December, zona glomerulosa, zona fasciculate and zona reticularis were clearly manifested. In zona glomerulosa polygonal cells with moderately vacuolated cytoplasm are present. In zona fasciculate there are cells which do not differ from the cells of zona glomerulosa. In January, a decrease in the functional activity of the cortical parenchyma and the development of extensive destructive changes of glandular cells in all zones of the cortical substance of the adrenal cortex were found. In February, extensive proliferative processes and increased secretory activity of the adrenal cortex were observed. Small cells of proliferation centers migrate to zona fasciculate and begin function actively. In March, the recovery processes in the adrenal cortex are finished.

**Key words:** adrenal gland, zona glomerulosa, zona fasciculate and zona reticularis, functional activity, cell destruction, cell proliferation.

\*Автор для переписки:

Торгун Петр Макарович

Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I, ул. Мичурина, 1, г. Воронеж, 394087, Россия

E-mail: pet.torgun@yandex.ru

\*Corresponding author:

Petr Torgun

Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University, ul. Michurina, 1, Voronezh, 394087, Russia

E-mail: pet.torgun@yandex.ru

#### Введение

Со времени первого описания отдельных зон коры надпочечника [9], вопросы регенерации корковой паренхимы вплоть до настоящего времени остаются дискуссионными [2, 8, 10-12]. В предыдущем исследовании [8] нами было отмечено, что при высоком функциональном напряжении надпочечной железы у собак наблюдаются деструктивные изменения клеток пучковой и клубочковой зон, сопровождающиеся впоследствии пролиферативными процессами. Особая роль в восстановительных процессах коры надпочечника собак принадлежит капсуле, в которой наряду с соединительнотканными клетками содержатся малодифференцированные эпителиальные клетки, представляющие собой стволовые клетки коры надпочечника [3, 4,6-8].

Целью настоящего исследования является изучение циклических изменений секреторных, деструктивных и пролиферативных процессов в коре надпочечных желез у норок.

#### Материал и методы исследования

Исследовали надпочечники половозрелых здоровых самцов норок. Материал собирали с декабря по март с месячным интервалом.

Для световой микроскопии фрагменты надпочечных желез фиксировали в жидкостях Штиве, Буэна, Ценкера и в 10% растворе нейтрального формалина. Серийные парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, железным гематоксилином, азаном по Гейденгайну, применяли ШИК-реакцию, окраску трихром-ШИК и тетрахром-ШИК. РНК выявляли реакцией Браше и галлоцианином по Эйнарсону. Материал, фиксированный в 10%-ном растворе нейтрального формалина, использовали для изучения липидов. Замороженные срезы толщиной 10–15 мкм исследовали в поляризационном микроскопе, окрашивали суданом III+IV суданом черным.

С помощью винтового окулярамикрометра измеряли диаметр ядер в клубочковой, пучковой и сетчатой зонах (по 100 измерений для каждой зоны, для одного животного). Подсчет гибнущих клеток проводили в 15 полях зрения у каждого животного при увеличении 900.

Для электронной микроскопии образцы надпочечных желез из клубочковой, пучковой и сетчатой зон фиксировали в 2.5% глютаровом альдегиде на 0.1 М S-коллидиновом буфере (рН=7.3). Последующую фиксацию материала осуществляли в 1% осмиевом фиксаторе. Материал обезвоживали в ацетоне возрастающей крепости и заключали в эпоксидную смолу эпон-812. Срезы готовили на ультрамикротомах БС-490 и ЛКБ-4800. Полученные срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Ультратонкие срезы изучали в электронном микроскопе «Тесла БС-500».

Статистический анализ результатов измерения проводили при помощи таблиц программы STATISTICA 6.1. Для определения нормальности распределения полученных результатов измерений использовали тест Колмогорова-Смирнова. Данные с нормальным распределением имели одинаковые дисперсии и сравнивались с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Статистически значимыми считали различия при р<0.001. Сравнение данных, отличающихся от нормального распределения (подсчет количества гибнущих клеток), проводили с применением непараметрического Т-критерия Уайта [1, 5]. При уровне значимости р<0.05 нулевая гипотеза отвергалась и различия рассматривались как статистически значимые.

# Результаты и их обсуждение

Моноциклические животные, отличающиеся ограниченным периодом размножения и, следовательно, контрастными состояниями эндокринной и половой систем, могут служить моделью для изучения закономерностей эндокринных функций и их нейроэндокринной регуляции в естественных условиях. Одним из характерных представителей таких животных является норка (Mustela vison), период гона у которой длится 1.5–2 месяца. Сопоставление циклических изменений в надпочечнике может пролить свет на закономерности восстановительных процессов в этом органе.

В декабре в коре надпочечника норок хорошо выражены клубочковая, пучковая и сетчатая зоны. Клубочковая зона представлена преимущественно светлыми клетками (рис. 1A) с округлыми ядрами. В клубочковой зоне выявлялось умеренное содержание липидов (рис. 1Б).

Клубочковая зона переходит в пучковую зону, которая характеризуется радиальным расположением эпителиальных тяжей и подразделяется на наружную и внутреннюю части. Клетки клубочковой и пучковой зон имеют одинаковую полигональную форму. Наружный отдел пучковой зоны состоит из светлых клеток с округлыми ядрами. Внутренний

Площадь ядер клеток в коре надпочечных желез норок (мкм², М±m)

Месяцы	n	Клубочковая зона	Пучковая зона	Сетчатая зона
Декабрь	10	30.2±0.23	31.8±0.19*	30.3±0.17*
Январь	10	25.2±0.23*	26.8±0.18*	24.3±0.18*
Февраль	10	31.1±0.23*	32.4±0.19*	30.6±0.18*
Март	10	32.2±0.24	32.9±0.19	30.6±0.17

Примечание: \* – p<0.001 (параметрический t-критерий Стьюдента).

Таблица 2 Численность гибнущих клеток в коре надпочечных желез норок (в поле зрения)

Месяцы	Клубочковая зона	Пучковая зона	Сетчатая зона
Декабрь	7.4	6.8	9.1
Январь	39.8*	36.4*	33.3*
Февраль	2.4*	3.8*	2.1*
Март	3.3	4.8	4.1

Примечание: \* – p<0.05 (непараметрический Т-критерий Уайта).

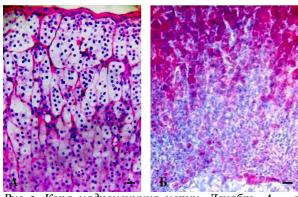


Рис. 1. Кора надпочечника норки. Декабрь. А — в клубочковой и в наружной части пучковой зоны преобладают светлые умеренно вакуолизированные клетки с округлыми ядрами. Во внутренней части пучковой зоны содержатся темные клетки. Границы зон не выражены. Фиксация в жидкости Штиве. Окраска трихром-ШИК. Б — суданофильные липиды выявляются в умеренном количестве преимущественно в наружном отделе пучковой зоны. Фиксация в 10% формалине. Окраска суданом ІІІ+ІV. Масштабный отрезок — 20 мкм.

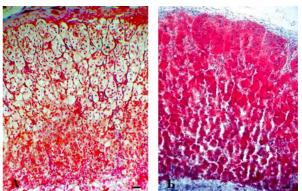


Рис. 2. Кора надпочечника норки. Январь. А — в клубочковой и в наружной части пучковой зоны преобладают светлые клетки с признаками жировой дистрофии. Фиксация в жидкости Штиве. Окраска азаном по Генденгайну. Б — все зоны коры надпочечника заполнены липидами. Фиксация в 10% формалине. Окраска суданом III+IV. Масштабный отрезок — 20 мкм.

отдел этой зоны представлен крупными темными клетками. Суданофильные включения обнаруживались в умеренном количестве преимущественно в наружной части пучковой зоны и почти отсутствуют во внутренней ее части (рис. 1Б).

Средняя площадь ядер клеток во всех зонах коры надпочечника (табл. 1) мало отличалась и находилась в пределах 30–31 мкм².

Умеренное содержание липидных веществ, большая площадь ядер во всех зонах коркового вещества, наличие большого количества темных клеток, богатых РНК, свидетельствует о высокой секреторной активности пучковой зоны надпочечника. Следует также отметить, что в декабре численность гибнущих клеток в коре надпочечника (табл. 2) небольшая и колеблется в пределах 7–9 клеток в одном поле зрения.

В январе обнаруживались обширные дистрофические процессы в клубочковой и пучковой зонах (рис. 2, 3, 4). Клубочковая зона представлена исключительно светлыми

клетками в состоянии жировой дистрофии (рис. 2, 3). Клубочковая зона не имела определенных границ и незаметно переходила в пучковую зону. Суданофильные включения и холестерин максимально насыщали клетки клубочковой зоны (рис. 2Б).

Пучковая зона подразделялась на наружную, более широкую и узкую внутреннюю части. В наружной части содержались светлые клетки в состоянии жировой дистрофии (рис. 3A). Во внутренней части имелись темные клетки, но и среди них встречались дистрофически измененные клетки.

В январе по сравнению с декабрем отмечалось статистически значимое уменьшение средней площади ядер во всех зонах коры надпочечника (табл. 1). Площадь ядер уменьшалась в среднем на 9–10%. Уменьшение площади ядер обусловлено массовой пикнотизацией ядер, что в свою очередь связано с обширной жировой дистрофией светлых клеток (рис. 4A, Б). При электронной микроскопии в светлых клетках выявлялось (рис. 3Б)

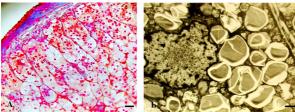


Рис. 3. Кора надпочечника норки. Январь. А — светлые клетки в клубочковой и в пучковой зонах. Гипертрофия цитоплазмы, пикноз ядер. Фиксация в жидкости Штиве. Окраска азаном по Гейденгайну. Б — электронная микроскопия светлой клетки коры надпочечника норки. В цитоплазме видны многочисленные липидные капли и единичные светлые вакуолизированные митохондрии. Ядро клетки деформированное. Масштабный отрезок: А — 20 мкм; Б — 1 мкм.

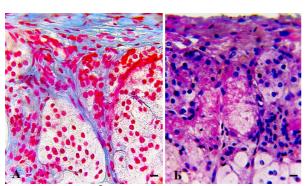


Рис. 4. Кора надпочечника норки. Январь. A-6 клубочковой зоне преобладают светлые клетки с признаками жировой дистрофии. Наблюдается разрастание соединительной ткани с активной пролиферацией клеток. B-00чаги деструкции клеток. Фиксация в жидкости Штиве. Окраска: A-00 азаном по Гейденгайну; B-00 трихром-ШИК. Масштабный отрезок D=010 мкм.

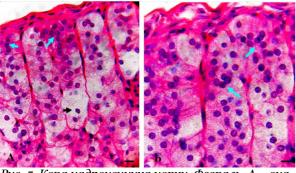


Рис. 5. Кора надпочечника норки. Февраль. А – очаги пролиферации клеток (голубые стрелки). Гибнущая светлая клетка (черная стрелка). Б – очаги пролиферации в клубочковой зоне на более поздней стадии (голубые стрелки). Фиксация в жидкости Штиве. Окраска трихром-ШИК. Масштабный отрезок – 10 мкм.

обилие липидных капель. Содержание суданофильных липидов увеличивалось во всех зонах коры надпочечника (рис. 2Б). Численность гибнущих клеток в клубочковой и наружной части пучковой зон увеличивалась более чем в три раза (табл. 2). Различия по сравнению с декабрем статистически значимы (р<0.05).

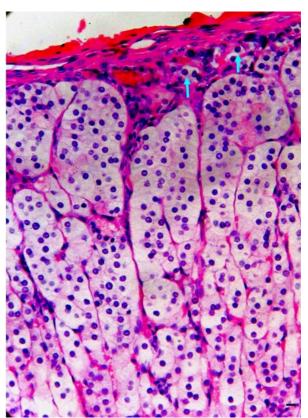


Рис. 6. Кора надпочечника норки. Март. Восстановленная структура корковой паренхимы. В клубочковой и в пучковой зонах преобладают светлые умеренно вакуолизированные клетки, которые не отличаются друг от друга. Границы клубочковой и пучковой зон не выражены. В капсуле видны единичные малодифференцированные стволовые клетки (голубые стрелки). Фиксация в жидкости Штиве. Окраска трихром-ШИК. Масштабный отрезок —15 мкм.

Все вышеотмеченные показатели свидетельствуют о резком снижении секреторной активности коры надпочечника.

В феврале в коре надпочечника выявлялись обширные пролиферативные процессы и параллельно восстанавливались гормонообразовательные процессы. Обширные очаги пролифераци выявлялись в клубочковой зоне (рис. 5A, Б), в отдельных участках пучковой зоны.

В пучковой зоне эпителиальные тяжи имели правильное радиальное расположение; в ней четко дифференцированы наружная и внутренняя части. В наружной части пучковой зоны содержались крупные светлые клетки с умеренно вакуолизированной цитоплазмой и круглым ядром.

Внутренняя часть пучковой зоны была представлена темными клетками, тяжи которых начинались в очагах пролиферации в клубочковой зоне. Во всех зонах коры надпочечника обнаруживалось умеренное содержание суданофильных веществ и холестерина.

Средняя площадь ядер клеток всех зон коры надпочечника (табл. 1) в феврале по сравнению с январем статистически значимо увеличивалось на 20.8–25.9%.

В марте кора надпочечника приобретала типичную морфологическую и гистохимическую картину (рис. 6). Клубочковая и пучковая зоны состояли в основном из светлых клеток с умеренно вакуолизированной цитоплазмой и круглым ядром. Гибнущие клетки (табл. 2) выявлялись в небольшом количестве. Площадь ядер секреторных клеток (табл. 1) оставалась на высоком уровне и варьировала от 30 до 31 мкм². В капсуле надпочечника (рис. 6) встречались мелкие, малодифференцированные эпителиальные клетки.

## Заключение

Анализируя данные о циклических изменениях коры надпочечных желез у норок, можно отметить, что клетки клубочковой и пучковой зон не отличаются друг от друга, границы между этими зонами отсутствуют. Очаги пролиферации возникают в клубочковой зоне, далее мелкие клетки из очагов пролиферации перемещаются в пучковую зону. Пролиферативные процессы происходят за счет стволовых клеток, которые локализуются в субкапсулярной зоне или непосредственно в капсуле надпочечника (рис. 6). Следует отметить, что переходная зона в надпочечных железах норок отсутствует.

# Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

# Список литературы / References

- Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М., Практика; 1998. 459 [Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika. Per. s angl. M., Praktika; 1998. 459] (in Russian).
- 2. Кацнельсон З.С. О так называемой капсулярной (субкапсулярной) бластеме в надпочечнике. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1968; (6): 3–11 [Katsnel'son ZS. O tak nazyvaemoi kapsulyarnoi (subkapsulyarnoi) blasteme v nadpochechnike. Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii. 1968; (6): 3–11] (in Russian).
- Каширина Н.К. Ультрамикроскопическая и морфофункциональная основа новой теории регенерации коры надпочечников. Таврический медико-биологический вестник. 2002: 5(3):93-7 [Kashirina Ul'tramikroskopicheskaya i morfofunktsional'naya osnova novoi teorii regeneratsii kory Tavricheskii nadpochechnikov. medikobiologicheskii vestnik. 2002; 5(3):93-7] (in Russian).

- 4. Каширина Н.К., Андибура Н.Ю., Рогозина О.В. Структурно-функциональные изменения кортикотропоцитов аденогипофиза и пучковой зоны надпочечника при хронической свинцовой интоксикации. Таврический медикобиологический вестник. 2005; 8(3): 48–51 [Kashirina NK, Andibura NYu, Rogozina OV. Strukturnofunktsional'nye izmeneniya kortikotropotsitov adenogipofiza i puchkovoi zony nadpochechnika pri khronicheskoi svintsovoi intoksikatsii. Tavricheskii mediko-biologicheskii vestnik. 2005; 8(3): 48–51] (in Russian).
- 5. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.; 1980. 291 [Lakin GF. Biometriya. Moscow; 1980] (in Russian).
- 6. Мелещенко А.В. Современные представления о морфогенезе надпочечных желез под влиянием неблагоприятных факторов окружающей среды. Український морфологічний альманах. 2009; 7(2):123—8 [Meleshchenko AV. The modern notion about morphogenesis of suprarenal glands in the influence of unfavourable factors of environment. Ukraïns'kii morfologichnii al'manakh. 2009; 7(2):123—8] (in Russian).
- 7. Сеин О.Б., Голощапов Б.В., Сеин Д.О., Умеренков И.М. Роль надпочечников в становлении половой функции свиней. Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2009; 6:69—75 [Sein OB, Goloshchapov BV, Sein DO, Umerenkov IM. Rol' nadpochechnikov v stanovlenii polovoi funktsii svinei. Vestnik of Kursk State Agricultural Academy. 2009; 6:69—75] (in Russian).
- 8. Торгун П.М., Никитюк Д.Б., Клочкова С.В., Ульянов А.Г., Алексеева Н.Т., Кварацхелия А.Г., Казачкова Ю.В. Восстановительные процессы в надпочечных железах собак. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(2): 70–6 [Torgun PM, Nikityuk DB, Klochkova SV, Ul'yanov AG, Alexeeva NT, Kvaratskheliya AG, Kazachkova YuV. Recovery processes in the adrenal glands of dogs. Journal of Anatomy and Histopathology. 2019; 8(2): 70–6] (in Russian). doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-2-70-76
- 9. Arnold J. Ein Beitrag zu der feineren Structur und dem Chemismus der Nebennieren. Virchows Archiv. 1866 Jan;35(1):64–107. doi: 10.1007/bf01979887
- 10. *Kulkarni RR*. Light Microscopic Study of Developing Cortex of Fetal Adrenal Gland. Indian Journal of Anatomy. 2017;6(3):359–64. doi: 10.21088/ija.2320.0022.6317.20
- Pignatelli D, Ferreira J, Vendeira P, Magalhães MC, Vinson GP. Proliferation of capsular stem cells induced by ACTH in the rat adrenal cortex. Endocrine Research. 2002 Jan;28(4):683–91. doi: 10.1081/erc-120016987
- 12. Wright NA, Voncina D, Morley AR. An attempt to demonstrate cell migration from the zona glomerulosa in the prepubertal male rat adrenal cortex. Journal of Endocrinology. 1973 Dec;59(3):451–9. doi: 10.1677/joe.0.0590451

Поступила в редакцию 11.09.2019 Принята в печать 1.12.2019 Received 11.09.2019 Accepted 1.12.2019

Для ципирования: Торгун П.М., Никитюк Д.Б., Клочкова С.В., Алексеева Н.Т., Кварацхелия А.Г., Ульянов И.А., Обрывков В.А. Восстановительные процессы в надпочечных железах норок. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(4): 37–41. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-37-41

For citation: Torgun P.M., Nikityuk D.B., Klochkova S.V., Alekseeva N.T., Kvaratskheliya A.G., Ul'yanov I.A., Obryvkov V.A. Recovery processes in the adrenal glands of minks. Journal of Anatomy and Histopathology. 2019; 8(4): 37–41. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-37-41