

УДК: 615.361.451.014.41

**Возрастные изменения морфо-функциональных характеристик надпочечников и их органотипических культур**  
**Юссеф Хані Румієх, Т.П.Бондаренко**

*Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)*

В работе исследована гистологическая структура органотипических культур надпочечников крыс разного возраста (1–24 месяца), уровень 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови и тканях надпочечников и культурах из тканей надпочечников крыс разного возраста. Установлено, что по мере старения в плазме крови и тканях надпочечников уменьшается уровень гормонов, что согласуется с уменьшением относительной массы железы. Анализ гистологических данных указывает на уменьшение количества липидных капель с возрастом и появление гистоструктуры, характерной для светлой аденомы надпочечников.

Ключевые слова: *надпочечники, культуры надпочечников, гистологическая структура, секреция гормонов, онтогенез.*

**Введение**

К настоящему времени накоплен достаточный материал по изменению функциональных свойств надпочечников при старении организма. Однако нет ни одной теории старения, которая могла бы объяснить причину этих изменений. До сих пор биологи и медики продолжают уделять пристальное внимание выяснению тонких механизмов, приводящих к развитию старения, поскольку именно надпочечники определяют приспособительные возможности организма и определяют в значительной мере метаболизм углеводов и белков (Канунго, 1982). Имеются сведения о том, что при старении наблюдается уменьшение ширины коры надпочечников и снижение количества липидных включений (Бедров и др., 2001; Кораблева, 2001). Целью данной работы было исследование морфологических (гистология) и функциональных (уровень гормонов) характеристик надпочечников и культур надпочечников белых крыс разного возраста.

**Методики**

Исследования были проведены на белых беспородных крысах разного возраста (1, 3, 6 и 24 месяца), содержащихся в стандартных условиях вивария. Манипуляции с животными производили согласно положениям «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются с экспериментальной или другой целью» (г. Страсбург, 1985). Извлечение эндокринных желез осуществляли с соблюдением строгих правил асептики и антисептики у животных после легкого наркоза эфиром и декапитации. Культивирование проводили в течение 5-ти суток по стандартной методике (Тронько и др., 1990). Глюкокортикоиды определяли флуориметрическим методом в модификации (Бондаренко и др., 2001) и нормировали на белок, определяемый по методу Бредфорда (1985) (Практическая химия ..., 1989). Для проведения гистологических исследований образцы культур фиксировали в 10% нейтральном формалине, а затем по стандартной методике (Лилли, 1969) заливали в парафин. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли по методу Стьюдента-Фишера (Зайцев, 1984) с помощью пакета программ Excel и SigmaPlot.

**Результаты и обсуждение**

При анализе относительной массы надпочечников и уровня гормонов в плазме крови животных разного уровня были получены следующие результаты (табл. 1). Из представленных данных видно, что по мере старения животных уровень секреции глюкокортикоидов в кровь снижается, что согласуется со снижением относительной массы самих надпочечников. Кроме того, если проанализировать уровень гормонов в самой ткани надпочечников, то и здесь также отмечается снижение количества гормонов в ткани. Изменение уровня гормонов в крови может отражать как изменение скорости секреции гормонов, так и изменение скорости синтеза гормонов. Кроме того, изменение концентрации циркулирующего в крови гормона может быть связано с изменением содержания сывороточного белка, с которым связан гормон (Канунго, 1982). Поскольку на уровень гормонов в крови оказывают влияние процессы, инициируемые в гипоталамусе, то, возможно, что процессы старения, происходящие в гипоталамусе, могут также оказывать влияние на синтез и секрецию глюкокортикоидов. А, возможно, при старении могут происходить изменения и в структуре самой клетки.

Таблица 1.

Относительные массы надпочечников и уровень 11-ОКС в плазме крови и тканях надпочечников у белых крыс разного возраста (n=8)

Возраст животных	Исследуемые параметры			
	Масса тела	% массы надпочечников от массы тела	11-ОКС в плазме крови в мкг/мг белка	11-ОКС в тканях надпочечников в мкг/мг белка
1 месяц	88 ± 6	0,013 ± 0,0005	112,28 ± 6,75	1,099 ± 0,041
3 месяца	110 ± 7	0,012 ± 0,0005	104,80 ± 6,21	1,078 ± 0,024
6 месяцев	150 ± 8	0,011 ± 0,0005	102,48* ± 5,64 P<0,05	0,976 ± 0,020
12 месяцев	260 ± 12	0,009* ± 0,0004 P<0,05	99,55* ± 4,01 P<0,05	0,812* ± 0,019 P<0,05
24 месяца	265 ± 13	0,089* ± 0,0004 P<0,05	97,49* ± 4,23 P<0,05	0,801* ± 0,017 P<0,05

Примечание: \* – данные достоверны относительно показателей для месячных животных.

В настоящее время доказано, что эндокринные клетки при сохранении своей структурной целостности и культивируемые в условиях *in vitro* могут при наличии экзогенных предшественников не только секретировать соответствующие гормоны, но и потреблять эти предшественники для синтеза гормонов (Ueno et al., 2001). В предыдущих наших исследованиях (Юссеф Хани Румиех, 2005) было показано, что культуры, получаемые из тканей надпочечников крыс разного возраста, отличаются как по уровню базальной и стимулируемой секреции, так и по скорости утилизации из среды экзогенного холестерина – источника синтеза глюкокортикоидов. Было предположено, что это связано с изменением гистоструктуры клеток при культивировании.

На рис. 1–5 представлены гистологические препараты органотипических культур, получаемых из надпочечников крыс разного возраста.

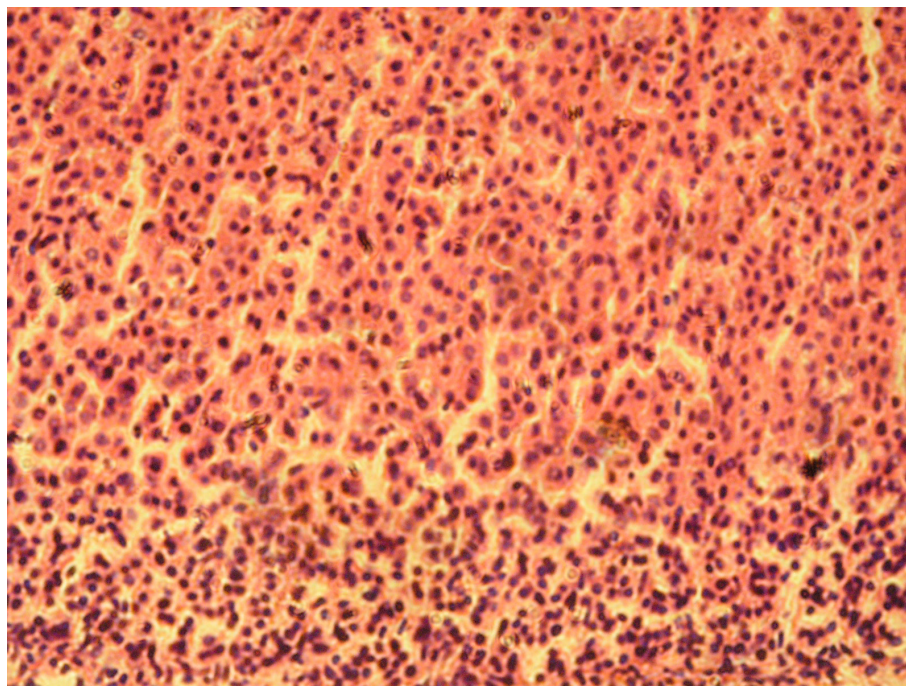
Гистоструктура органотипических тканей надпочечников месячных животных (рис. 1) характеризуется хорошо развитой клубочковой и пучковой зонами. Липидных капель в зонах пучковой области умеренное количество, т.е. культура имеет хорошо сформированную структуру надпочечников, что и обеспечивает ее нормальное функционирование в условиях *in vitro*.

Препараты культур из тканей животных 3 и 6 месяцев характеризовались одинаковой гистологической структурой с препаратами месячных животных, поэтому в качестве примера мы приводим препарат из ткани 3-месячного животного (рис. 2). Отличие состояло лишь в незначительной гиперплазии пучковой зоны.

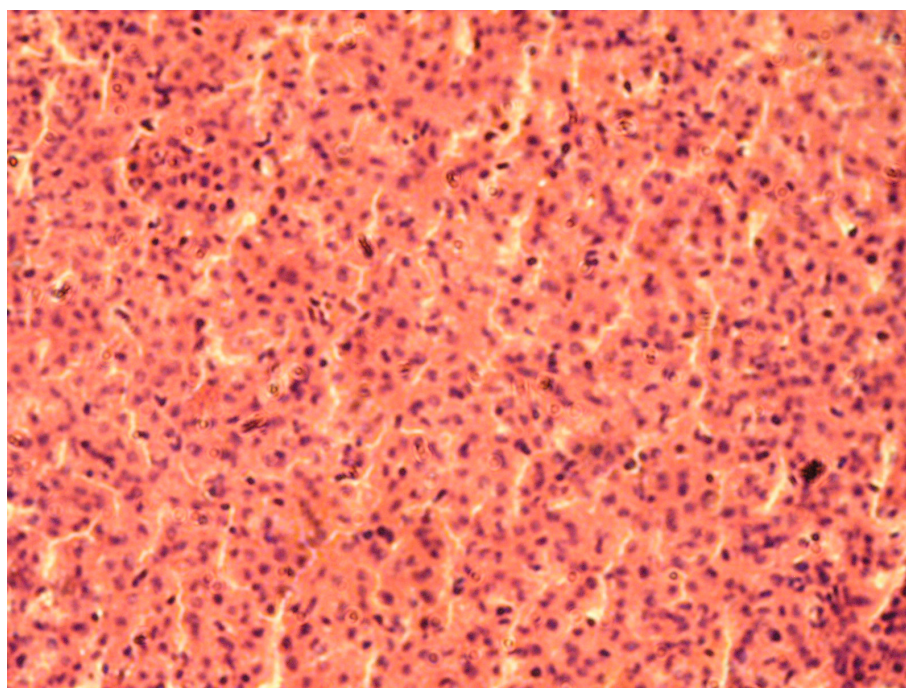
Среди препаратов культур из тканей 12-месячных животных можно было вычленить препараты (рис. 3), которые характеризовались пониженной функцией пучковой зоны, так, липидных включений мало, особенно в верхних отделах, и препараты (рис. 4), напоминающие светлоклеточную аденому, представленную клетками разного размера полигональной или округлой формы. Для такой структуры характерна повышенная выработка минералокортикоидов и малая – глюкокортикоидов.

При анализе препаратов 24-месячных животных обращала на себя внимание резкая гиперплазия клубочковой зоны (рис. 5), что характерно при введении АКТГ для здоровых половозрелых животных. Кроме того, мы также регистрировали препараты, напоминающие препараты аденомы надпочечников (рис. 6).

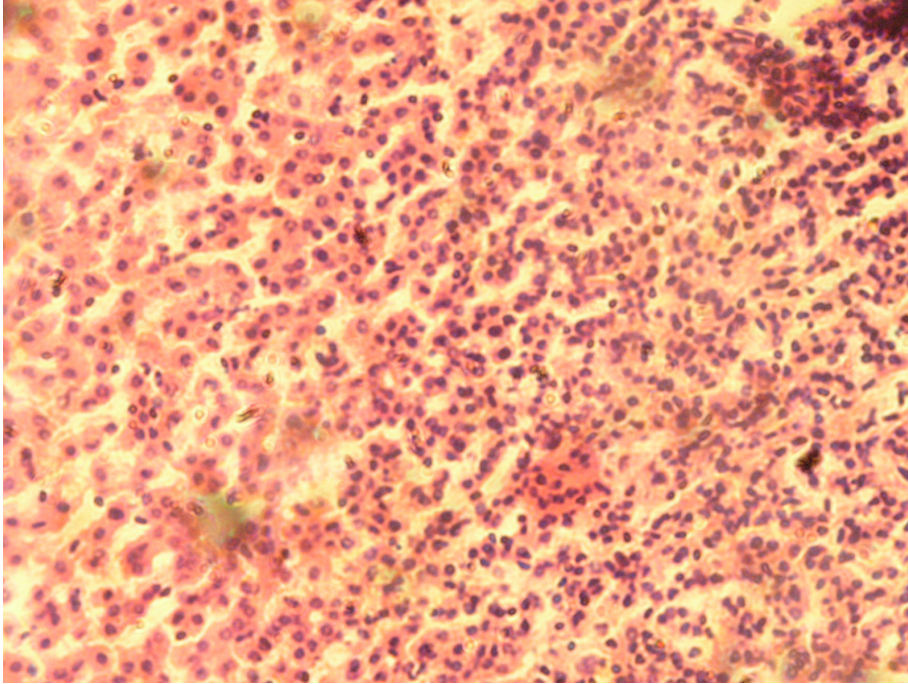
Суммируя анализ гистологических препаратов органотипических культур из тканей надпочечников крыс разного возраста, можно сделать вывод о том, что снижение функциональной активности тканей надпочечников в онтогенезе в значительной мере связано с возрастными изменениями их гистоструктуры.



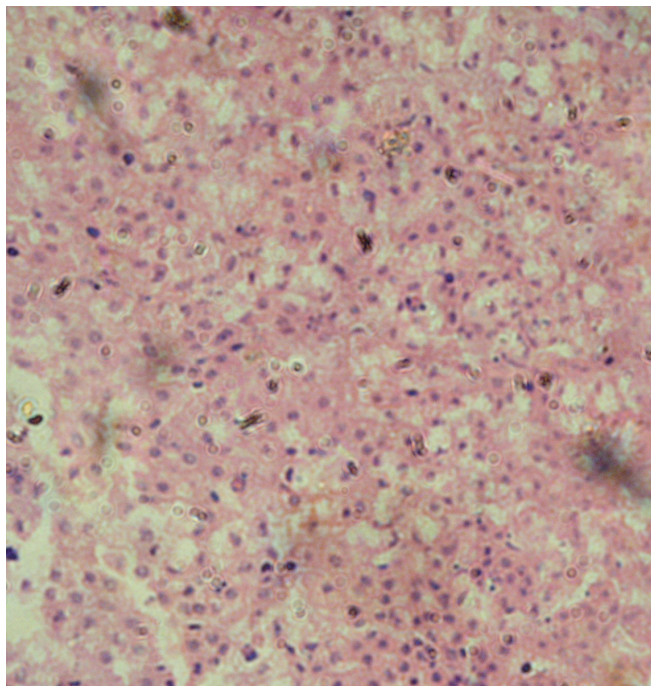
**Рис. 1.** Органотипическая культура из надпочечников месячных крыс. Гистопрепарат  
Окраска: гематоксилин-эозин. Микрофото. Увеличение  $\times 280$



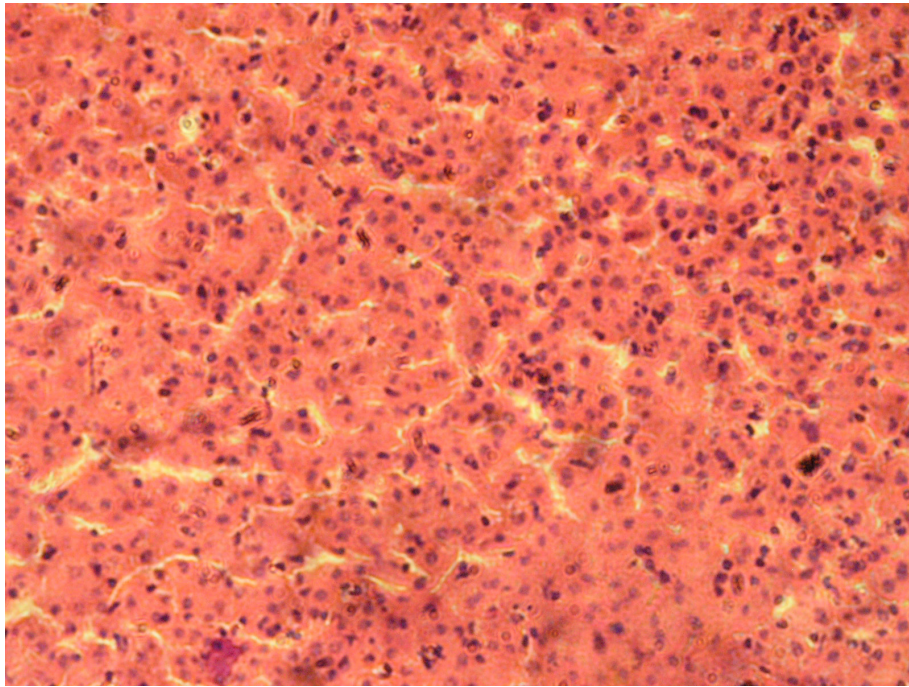
**Рис. 2.** Органотипическая культура из надпочечников 3-месячных крыс. Гистопрепарат  
Окраска: гематоксилин-эозин. Микрофото. Увеличение  $\times 280$



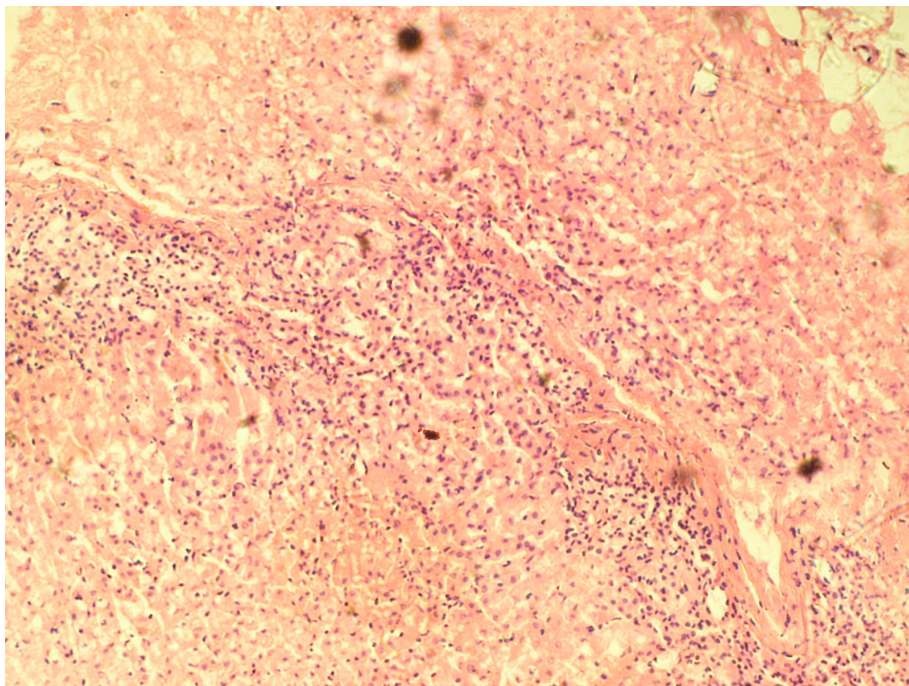
**Рис. 3.** Органотипическая культура из надпочечников 12-месячных крыс. Гистопрепарат  
*Окраска: гематоксилин-эозин. Микрофото. Увеличение × 280*



**Рис. 4.** Органотипическая культура из надпочечников 12-месячных крыс. Гистопрепарат  
*Окраска: гематоксилин-эозин. Микрофото. Увеличение × 280*



**Рис. 5.** Органотипическая культура из надпочечников 24-месячных крыс. Гистопрепарат  
Окраска: гематоксилин-эозин. Микрофото. Увеличение  $\times 280$



**Рис. 6.** Органотипическая культура из надпочечников 24-месячных крыс. Гистопрепарат  
Окраска: гематоксилин-эозин. Микрофото. Увеличение  $\times 280$

#### **Выводы**

Из представленных данных можно сделать вывод о том, что в онтогенезе тканей надпочечников происходят изменения, связанные со снижением синтетической активности образования гормонов. Об этом свидетельствуют данные по снижению уровня гормонов как в плазме крови, так и тканях надпочечников и органотипических культурах, получаемых из тканей животных, что обусловлено изменениями их структуры, следствием чего может быть нарушение рецепторных взаимодействий (Ehrhart-Bornstein et al., 1998).

**Список литературы**

- Бедров Я.А., Ордян Н.Э., Шаляпина В.Г. и др. Характеристика параметров гормональной функции коры надпочечников и ее модификация в онтогенезе крыс // Журн. эволюционной биохимии и физиологии. – 2001. – Т.37, №2. – С. 131–135.
- Бондаренко Т.П., Геращенко А.В., Божок Г.А., Алабедаькарим Н.М. Оптимизация условий экстрагирования и развития флуоресценции при определении глюкокортикоидов в биологических жидкостях // Лабораторная диагностика – 2001. – №3. – С. 36–39.
- Зайцев Т.Н. Математическая статистика в экспериментальной биологии. – М.: Наука, 1984. – 424с.
- Канунго М. Биохимия старения. – М.: Мир, 1982. – 294с.
- Кораблева Т.В. Количественные показатели строения мозгового вещества надпочечников лабораторных крыс // Сб. научных работ студентов и молодых ученых ЯГМА. – Ярославль: ДМА-пресс, 2001. – С. 16–18.
- Лилли Р. Патологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645с.
- Практическая химия белка / Пер. с англ. Под. ред. А.Дарбре. – М.: Мир, 1989. – 623с.
- Тронько Н.Д., Рыбаков С.И., Комиссаренко И.В. и др. Лечение хронического гипокритицизма методом трансплантации культур клеток коры надпочечных желез: Метод. рекомендации – К.: Изд-во Минздрав Украины, 1990. – 24с.
- Юссеф Хани Румиех Функциональные характеристики органотипических культур, полученных из надпочечников крыс разного возраста // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. – 2005. – №709. – С. 134–139.
- Ehrhart-Bornstein M., Hinson J.P., Bornstein S.R. et al. Intraadrenal interaction in the regulation of adrenocortical steroidogenesis // Endocr. Rew. – 1998. – Vol.19, №2. – P. 101–103.
- Ueno M., Nakashima J., Akita M. et al. Characterization of a newly established cell line derived from human adrenocortical carcinoma // Int. J. Urol. – 2001. – Vol.8, №1. – P. 17–22.

**Вікові зміни морфо-функціональних характеристик наднирників та їх органотипових культур**

**Юссеф Хані Румієх, Т.П.Бондаренко**

В роботі досліджено гістологічну структуру органотипових культур наднирників щурів, різних за віком (1–24 місяця), рівень 11-оксикортикостероїдів у плазмі крові та тканинах наднирників і культурах з тканин наднирників білих щурів, різних за віком. Встановлено, що за умов старіння в плазмі крові та тканинах наднирників зменшується рівень гормонів, що пов'язано зі зменшенням відносної маси залози. Аналіз гістологічних даних вказує на зменшення кількості ліпідних крапель з віком та появу гістоструктури, що характерна для світлої аденоми наднирників.

Ключові слова: *наднирники, культури наднирників, гістологічна структура, секреція гормонів, онтогенез.*

**Changes of morphological and functional characteristics of adrenal glands and their organo-typical cultures with aging**

**Youssef Hani Roumieh, T.P.Bondarenko**

In this work the histological structure of organo-typical cultures of adrenal glands of the rats of different ages (1–24 months), the level of 11-oxicorticalsteroids in the plasma of blood and tissues of adrenal glands and cultures of tissues of adrenal glands of white rats of different ages have been investigated. We determined that in conditions of aging the level of hormones is restricted in plasma of blood and in tissues of adrenal glands and this fact is connected with the restriction of relative mass of gland. The analysis of these data shows the diminution of a number of lipid drops in connection with age and emergence of histological structure which is typical for light adenoma of adrenal glands.

Key words: *adrenal glands, adrenal glands culture, histological structure, secretion of hormones, ontogenesis.*

**Представлено Н.І.Пандікідас**

**Рекомендовано до друку В.В.Мартиненко**