

УДК 576.382.086:612.451:612.64.

Плаксіна Е. М., Сидоренко О. С., Легач Е. И., Бондаренко Т. П., Божок Г. А.**ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ХРОМОГРАНИНА А В НАДПОЧЕЧНИКАХ
ПОРΟΣЯТ НА РАЗНЫЕ СРОКИ НЕОНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ****Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)****bozhokgaru@gmail.com**

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Свойства криоконсервированных первичных культур клеток эндокринных желез неонатальных животных *in vitro* и *in vivo* при трансплантации», № государственной регистрации 0116U003494.

Вступление. Хромогранин А (ХрА) относится к семейству кислых секреторных белков, называемых секретогранинами [20]. Первоначально он был обнаружен в клетках мозгового вещества надпочечников [4,17], но впоследствии был идентифицирован в других клетках нейроэндокринной системы и нейронах центральной и периферической нервной системы [11].

Хромаффинные гранулы мозгового вещества надпочечников и электронноплотные синаптические везикулы симпатических нервов наиболее богаты ХрА. В центральной нервной системе данный белок обнаружен в нейронах коры головного мозга, мозжечка, продолговатого мозга, перегородки, миндалин, тела, клетках астроглии [14, 18, 20].

ХрА присутствует в клетках передней доли гипофиза, паразитовидной железы, С-клетках щитовидной железы, островках поджелудочной железы, нейроэндокринных клетках дыхательной и пищеварительной систем [15].

Установлено, что ХрА может быть важным диагностическим и прогностическим показателем, поскольку его базальные уровни в плазме крови изменяются при возникновении нейроэндокринных опухолей, аденоме гипофиза, гипертензии, инфаркте миокарда и некоторых других патологических состояниях [2, 15].

ХрА выполняет вне- и внутриклеточные функции. В нейронах и эндокринных клетках ХрА участвует в образовании секреторных гранул [9]. Внеклеточная роль данного белка заключается в генерации биоактивных пептидов, таких как панкреостатин, катестатин и др. [16, 19].

Известно, что симпатические ганглии и хромоаффинные клетки надпочечников имеют общее происхождение [1,3]. Согласно общепринятой теории, в эмбриогенезе клетки симпато-адреналовой линии развиваются из клеток нервного гребня, группирующихся возле дорзальной аорты. Под действием факторов морфогенеза они приобретают свойства катехоламинергических нейронов, после чего мигрируют к месту своего назначения: во вторичные симпатические ганглии или зачатки надпочечников [1,3,10,13,23].

Установлено, что у крыс в период эмбрионального развития экспрессия ХрА в надпочечниках наблюдается, начиная с E13.5 [5]. Более интересны данные, полученные на крупных млекопитающих (свинья, бык), поскольку надпочечники мелких лабораторных грызунов (крыса, мышь) имеют значительные физиологические и биохимические отличия от надпочечников человека [8]. В эмбриогенезе быка экспрессия ХрА в области нисходящей аорты, зачатков симпатических ганглиев и надпочечника обнаружена, начиная с E35 [21]. Wang J. с соавт. наблюдали появление ХрА-позитивных клеток в зачатке надпочечников свиньи уже с конца первого триместра внутриутробного развития [22].

Однако экспрессия ХрА в надпочечниках в период неонатального развития млекопитающих изучена недостаточно, хотя в этот период наблюдается значительная перестройка гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [12, 13].

Цель исследования – изучение экспрессии ХрА в надпочечниках свиньи на разные сутки неонатального развития.

Объект и методы исследования. Надпочечники были получены от поросят первого поколения гибридов пород крупная белая/ландрас и макстер/дюрок на 1, 7, 14, и 28 сутки после рождения. Эксперименты проведены в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике и согласованными с положениями «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей».

Непосредственно после забора надпочечники целиком помещали в 4%-й раствор параформальдегида («Sigma», США) на 4 часа, переносили на ночь в 25%-й раствор сахарозы на фосфатно-солевом буфере (PBS), после чего медленно замораживали, выдерживая в парах жидкого азота в течение 15 минут, и хранили в жидком азоте.

Для приготовления криостатных срезов органы извлекали из хранилища, заливали в монтирующую среду Tissue-Tek («Sakura», Япония) и изготавливали поперечные срезы ткани толщиной 5-7 мкм на криомикротоме MEV (Германия).

Срезы ткани пермеабелизировали в течение 20 мин в растворе на основе на фосфатно-солевого буфера (PBS, pH 7,4), содержащем 0,25 % Triton X-100 («Sigma») и 0,1 % Tween 20 («Sigma»). После этого в течение 60 мин при комнатной температуре блокировали в растворе, содержащем 2% бычьего

го сывороточного альбумина («Sigma»), 0,2% Triton X-100 и 0,3 М глицин («Reanal», Венгрия).

Для идентификации клеток, содержащих ХрА, использовали первичные антитела кролика к ХрА («Abcam», Великобритания) в разведении 1:200 и вторичные AlexaFluor 488-конъюгированные антитела к IgG кролика («Abcam») в разведении 1:400. Первичные антитела готовили на блокировочном буфере, вторичные антитела – на PBS, содержащем 0,2 % Triton X-100.

С первичными антителами срезы инкубировали в течение ночи при +4°C, после чего трижды отмывали в PBS. Инкубировали со вторичными антителами в течение 30 мин при комнатной температуре, отмывали трижды в PBS. Ядра клеток окрашивали раствором пропидий йодида (2 мкг/мл, «Sigma») на PBS в течение 5-7 мин при комнатной температуре. Срезы заключали в монтирующую среду под покровные стекла и оценивали флуоресценцию на микроскопе Carl Zeiss Axio Observer Z1 (Германия).

Окрашивание криостатных срезов гематоксилином и эозином проводили по стандартной методике.

Морфометрический анализ фотографий серийных срезов надпочечников, окрашенных антителами, осуществляли с помощью программы для обработки изображений AxioVision Rel 4.7. На поперечных срезах подсчитывали площадь поперечного сечения надпочечника S_H , площадь коры S_K , площадь мозгового вещества S_{MB} , суммарную площадь ХрА-позитивных включений, находящихся вне мозгового вещества (экстрамедуллярных включений). Относительную площадь мозгового вещества S_{MBO} определяли как:

$$S_{MBO} = S_{MB} / S_H * 100\%$$

Подсчеты проводили на 7–10 срезах ткани, полученных от 6 животных каждого возраста.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ «Excel» и «Statistic 10». Проверяли данные на нормальность распределения с помощью теста Колмогорова и Смирнова, использовали однофакторный дисперсионный анализ для сравнения двух выборок, достоверными считались различия при $p < 0,05$. Количественные данные представляли в виде среднего значения \pm стандартное отклонение.

Результаты исследований и их обсуждение.

При анализе гистологических образцов надпочечников новорожденных поросят (P1-3) установлено следующее. Орган покрыт соединительнотканной капсулой в 2-3 слоя клеток, под которой хорошо различаются корковое и мозговое вещество (**рис. 1**). В корковом слое надпочечника представлены 3 зоны: клубочковая, пучковая и сетчатая. Непосредственно под капсулой органа находится клубочковая зона, которая образована мелкими, призматической формы клетками, расположенными в виде небольших скоплений. Пучковая зона представлена крупными полигональными клетками с оксифильной мелко- и крупнозернистой цитоплазмой и крупным округлым ядром. Клетки этой зоны образуют эпителиальные тяжи, ориентированные перпендикулярно поверхности надпочечника. В данной зоне

также определяются клетки меньшего размера, неравномерно окрашивающиеся эозином, и имеющие мелкие гиперхромные ядра. Характерной особенностью пучковой зоны является наличие оптически пустых вакуолей, что свидетельствует об умеренной липидизации ткани. Клетки сетчатой зоны по морфологическим признакам близки к клеткам пучковой зоны, хотя имеют меньшие размеры и не образуют радиально направленные тяжи, липидизация слабо выражена. Заметны вытянутые ядра клеток эндотелия, выстилающего радиально расположенную капиллярную сеть железы. Четкой границы между клетками сетчатой зоны и мозговым веществом не наблюдается.

Мозговое вещество надпочечников состоит из базофильных клеток округлой, многоугольной или призматической формы. Они располагаются в центре железы в виде рыхлых скоплений и клеточных тяжей. Кроме капиллярной сети в мозговом веществе надпочечника различаются отдельные крупные сосуды.

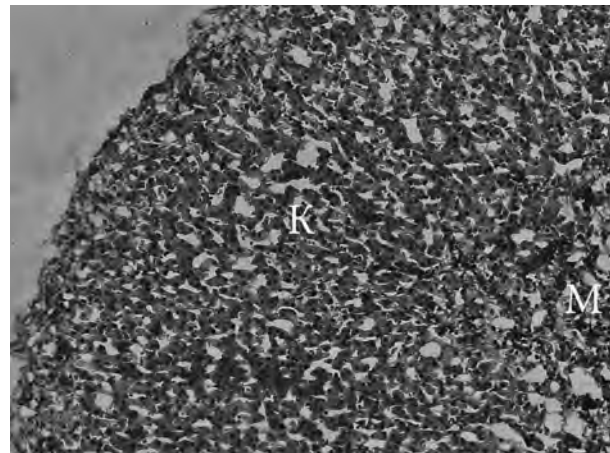


Рис. 1. Надпочечник поросенка на 1 сутки после рождения. К – корковое вещество, М – мозговое вещество. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10, об. 20.

Изменение площади поперечного сечения надпочечников наблюдается на протяжении всего периода неонатального развития поросят. В первые сутки после рождения S_H составляет $4,5 \pm 0,5$ мм². К 28-м суткам после рождения этот показатель возрастает в 3,3 раза (**рис. 2**). Прирост осуществляется в основном за счет коры надпочечников, поскольку S_K увеличивается в 3,8 раза, а S_{MB} только в 1,7 раза.

Более того, при оценке относительной площади мозгового вещества S_{MBO} заметно ее уменьшение. На 1-е сутки неонатального развития S_{MBO} составляет 25%, на 7-е сутки – 18%, на 14-е и 28-е – 10 и 13%, соответственно.

При иммуногистохимическом окрашивании антителами к ХрА в центре надпочечника четко выделяется мозговое вещество (**рис. 3, а**). Кроме того, позитивно-окрашенные клетки расположены во всех трех зонах коры надпочечника. Они представляют собой тяжи и округлые скопления клеток (**рис. 3, б, в**).

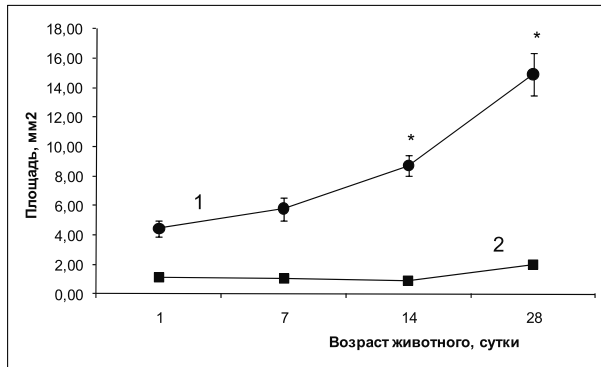


Рис. 2. Изменение площади поперечного сечения надпочечника S_n (кривая 1) и мозгового вещества S_{mv} (кривая 2) в течение 28 суток после рождения. $P < 0,05$ по сравнению с 1-ми сутками.

Тяжи располагаются вдоль радиально расположенных капилляров, а скопления чаще наблюдаются под капсулой надпочечника. Подобные экстрамедуллярные включения ХрА-позитивных клеток были обнаружены в надпочечниках поросят на всех изученных сроках неонатального развития.

С помощью морфометрического анализа была оценена относительная суммарная площадь экстрамедуллярных включений (рис. 4). Установлено уменьшение данного показателя с возрастом по отношению к S_n и S_{mv} . На 1-е сутки он составлял 1,1%, на 7-е – 1%, на 14-е – 0,5% и на 28-е – 0,2% от S_n . По отношению к S_{mv} наблюдалось снижение площади экстрамедуллярных включений с 4,2 до 1,5%.

В эмбриогенезе надпочечник развивается из двух зародышевых листков: клетки коры – из мезодермы, а клетки мозгового вещества – из эктодермы, являясь производными нервного гребня [10].

Кора надпочечников развивается из участка целомического эпителия в краниальной области первичной почки [1]. В результате пролиферации клеток целомического эпителия и мезенхимальных клеток мезонефроса формируется адреногонадный зачаток. В дальнейшем он разделяется на зачатки половых желез и надпочечников.

В формировании мозгового вещества и его дальнейших структурных перестройках ведущую роль играют процессы миграции симпато-адреналовых производных нервного гребня и дифференцировки их в хромоаффинные клетки [23].

Общепринято, что в эмбриогенезе симпато-адреналовые прогениторы мигрируют в уже сформированный зачаток коры надпочечника [13]. Однако до настоящего времени досконально не выяснено, когда завершается процесс миграции симпатобластов, и захватывает ли он неонатальный период.

Как показывает проведенная в нашей работе оценка гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, морфологически на первые сутки после рождения в надпочечнике поросенка хорошо различаются кора со всеми зонами (клубочковой, пучковой и сетчатой) и мозговое вещество. Полностью сформированная структура органа, умеренная липидизация клеток коры и наличие разветвленной сети синусоидных капилляров, артериол и венул свидетельствует о структурно-функци-

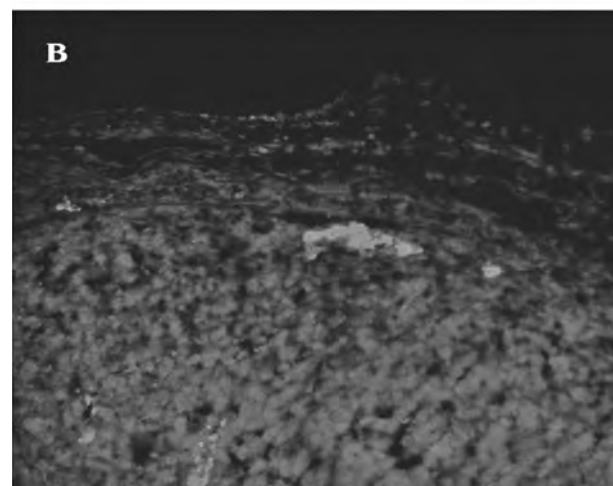
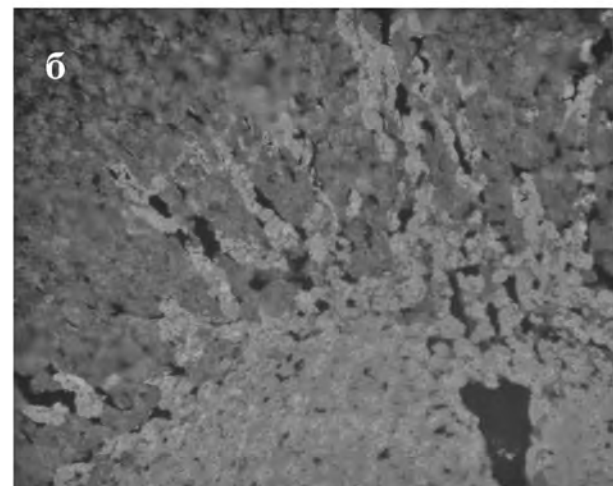
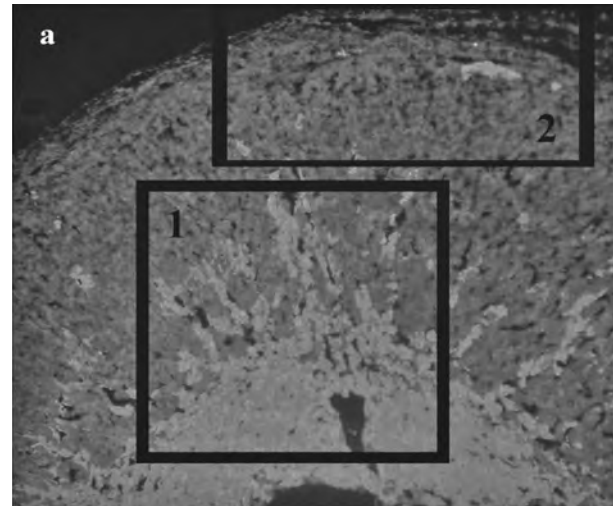


Рис. 3. Окрашивание антителами к ХрА надпочечника поросенка на 1 сутки после рождения. А – общий план, ок. 10, об. 10; Б – увеличение поля зрения 1, ок. 10, об. 20; В – увеличение поля зрения 2, ок. 10, об. 20.

ональной зрелости надпочечника поросят к моменту рождения.

В результате изучения надпочечников человека и других млекопитающих с помощью классических гистологических приемов сформировалась устойчивая

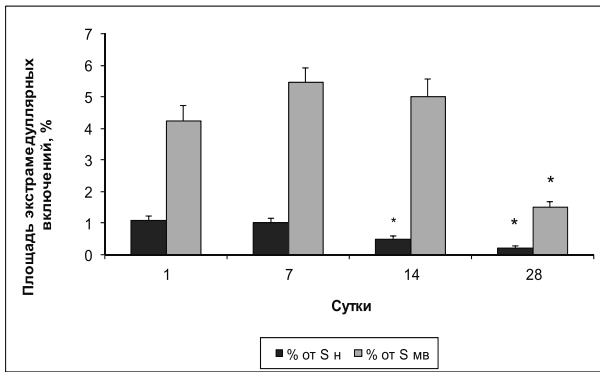


Рис. 4. Изменение суммарной площади, занимаемой ХрА-позитивными экстрамедуллярными включениями клеток, в поперечных срезах надпочечников поросят на разные сутки после рождения.

* – отличия статистически достоверны по сравнению с 1-ми сутками, $P < 0,05$.

концепция о наличии четких анатомических границ между кортикальной и медуллярной частями надпочечников. Однако с накоплением новых данных, полученных с помощью окрашивания антителами к различным внутриклеточным структурам кортикальных либо медуллярных клеток, становится очевидным, что это деление несколько условно.

В исследовании Bornstein S. с соавт. парафиновые срезы надпочечников взрослого человека окрашивались специфическими антителами к цитохром-Р450-17- α -гидроксилазе для выявления кортикостероид-продуцирующих клеток коры и антителами к ХрА для выявления мозгового вещества [6]. Авторы не обнаружили внутренней соединительнотканной капсулы, разделяющей кору и мозговое вещество, и не установили четкой границы между клетками коры и мозгового вещества. Напротив, в мозговом веществе наблюдались единичные вкрапления или кластеры клеток коры. Хромаффинные клетки были обнаружены в коре органа в виде тяжей, пересекающих сетчатую и пучковую зоны, и в виде скоплений в клубочковой зоне.

В надпочечниках других видов млекопитающих также были обнаружены хромаффинные клетки в различных зонах коры. Gallo-Payet N. с соавт. изучали надпочечники половозрелых крыс разных линий [7]. Всего было проанализировано больше 200 образцов. Ими были обнаружены тяжи клеток диаметром 15-20 мкм, отходящие от мозгового вещества и пронизывающие кортикальную зону. Как правило, тяжи располагались радиально вдоль капилляров и прослоек соединительной ткани. Нужно отметить, что частота встречаемости была невысокой: 3-5 тяжей на железу.

Несмотря на то, что при окраске надпочечника неонатального поросенка гематоксилином и эозином обнаруживается обычная структура органа, при мечении антителами к ХрА нами было установлено наличие позитивных включений, находящихся вне мозгового вещества. Эти наблюдения совпадают с результатами вышеназванных авторов, причем локализация включений (вдоль капилляров и под

капсулой) и их форма (клеточные скопления и тяжи) была сходной.

Wang J. с соавт. изучали распределение ХрА-позитивных клеток в надпочечниках свиньи в фетальный и ранний неонатальный период [22]. Их данные противоречат полученным нами, поскольку они сделали вывод, что к моменту рождения симпатобласты уже завершают миграцию в область мозгового вещества. Причина расхождения результатов может быть связана с использованием различных антител к ХрА и разных пород свиней.

Остается открытым вопрос о том, как трактовать присутствие ХрА-позитивных клеточных включений в коре надпочечника млекопитающих. Bornstein S. с соавт. считают, что подобный тесный контакт хромаффинных и кортикальных клеток надпочечников существует на протяжении всей жизни и имеет важное значение для регуляции функции органа [6]. С другой стороны, практически не изучено, являются ли экстрамедуллярные клетки зрелыми хромаффиноцитами, либо они сохраняют фенотипические признаки прогениторных клеток симпато-адреналовой линии. Возможно, такие клетки принимают участие в пожизненном обновлении клеток мозгового вещества.

Согласно современным представлениям, триада основных процессов, принимающих участие в созревании и формировании зональности коры надпочечника, являются гиперплазия, миграция и апоптоз клеток [13]. В наших исследованиях были обнаружены гиперпластические изменения коры надпочечников поросят, поскольку в течение первого месяца после рождения S_k увеличилась в 3,8 раз. В это же время происходит увеличение $S_{мв}$.

Кроме того, установлено уменьшение площади, занимаемой ХрА-позитивными клеточными включениями в коре надпочечников, в первый месяц после рождения. Исходя из этого, можно предположить, что фактор миграции клеток симпато-адреналовой линии играет важную роль в формировании мозгового вещества надпочечников в неонатальный период. Вопрос о том, принимают ли участие в созревании надпочечника процессы апоптоза «недомигрировавших» симпатобластов и гиперплазия хромаффинных клеток, пока является открытым.

Выводы. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что в период неонатального развития в надпочечниках поросят происходят анатомо-физиологические перестройки, которые затрагивают кору и мозговое вещество. Они заключаются в увеличении площади поперечного сечения коры и мозгового вещества, а также в уменьшении количества экстрамедуллярных ХрА-позитивных клеток.

Перспективы дальнейших исследований. Данные о наличии ХрА-позитивных клеток в коре надпочечников человека, их локализации и форме совпадают с результатами, полученными нами при исследовании надпочечников свиней. Это свидетельствует о том, что данный вид животного может быть использован в качестве адекватной модели для изучения постнатального развития надпочечников, их изменений при различных патологических состояниях и адренал-ассоциированных опухолях (феохромцитоммах, нейробластомах, аденомах, ганглиомах).

Література

1. Afanas'ev V.A. Gistologiya / V.A. Afanas'ev, H.A. Yurina, V.F. Kotovskiy. – М.: Meditsina, 2002. – 744 s.
2. Lipatenkova A.K. Graniny v kachestve biokhimičeskikh, immunogistokhimičeskikh i metaboličeskikh markerov gormonal'no-neaktivnykh adenom gipofiza / A.K. Lipatenkova, L.K. Dzeranova, E.A. Pigarova // Ozhirenje i metabolism. – 2013. – № 2 (35). – S. 42-44.
3. Anderson D. J. Molecular control of cell fate in the neural crest: the sympathoadrenal lineage / D.J. Anderson // Annual Rev. Neurosci. – 1993. – Vol. 16. – P. 129-158.
4. Banks P. The release of protein from the stimulated adrenal medulla / P. Banks, K. Helle // Biochem J. – 1965. – Vol. 97. – P. 40-41.
5. Barkatullah S.C. Ontogenetic expression of chromogranin A and its derived peptides, WE-14 and pancreastatin, in the rat neuroendocrine system / S.C. Barkatullah, W.J. Curry, C.F. Johnston [et al.] // Histochem Cell Biol. – 1997. – Vol. 107 (3). – P. 251-257.
6. Bornstein S.R. Intimate contact of chromaffin and cortical cells within the human adrenal gland forms the cellular basis for important intraadrenal interactions / S.R. Bornstein, J.A. Gonzalez-Hernandez, M. Ehrhart-Bornstein [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 1994. – Vol. 78 (1). – P. 225-232.
7. Gallo-Payet N. On the presence of chromaffin cells in the adrenal cortex: their possible role in adrenocortical function / N. Gallo-Payet, P. Pothier, H. Isler // Biochem Cell Biol. – 1987. – Vol. 65 (6). – P. 588-592.
8. Gong S. Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice / S. Gong, Y.L. Miao, G.Z. Jiao [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10 (2).
9. Kim T. Dense-core secretory granule biogenesis / T. Kim, M.C. Gondry-Lewis, I. Arnaoutova, Y.P. Loh // Physiology (Bethesda). – 2006. – Vol. 21. – P. 124-133.
10. Kuo B.R. Regional differences in neural crest morphogenesis / B.R. Kuo, C.A. Erickson // Cell Adh Migr. – 2010. – Vol. 4 (4). – P. 567-585.
11. Louthan O. Chromogranin A in physiology and oncology / O. Louthan // Folia Biol (Praha). – 2011. – Vol. 57 (5). – P. 173-181.
12. Mastorakos G. Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum / G. Mastorakos, I. Ilias // Ann NY Acad Sci. – 2003. – Vol. 997. – P. 136-149.
13. Mesiano S. Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex / S. Mesiano, R.B. Jaffe // Endocr Rev. – 1997. – Vol. 18 (3). – P. 378-403.
14. Munoz D.G. Chromogranin A-like immunoreactivity in the human brain: distribution in bulbar medulla and cerebral cortex / D.G. Munoz, L. Kobylinski, D.D. Henry, D.H. George // Neuroscience. – 1990. – Vol. 34 (3). – P. 533-543.
15. Rosa P. The granin protein family: markers for neuroendocrine cells and tools for the diagnosis of neuroendocrine tumors / P. Rosa, H.H. Gerdes // J Endocrinol Invest. – 1994. – Vol. 17 (3). – P. 207-225.
16. Sanchez-Margalet V. Pancreastatin: further evidence for its consideration as a regulatory peptide / V. Sanchez-Margalet, M. Lucas, R. Goberna // J. Mol. Endocrinol. – 1996. – Vol. 16 (1). – P. 1-8.
17. Smith A.D. Purification and properties of an acidic protein from chromaffin granules of bovine adrenal medulla / A.D. Smith, H. Winkler // Biochem J. – 1967. – Vol. 103. – P. 483-492.
18. Somogyi P. Chromogranin immunoreactivity in the central nervous system: immunochemical characterisation, distribution and relationship to catecholamine and enkephalin pathways / P. Somogyi, A.J. Hodgson, R.W. DePotter [et al.] // Brain Res. – 1984. – Vol. 320 (2-3). – P. 193-230.
19. Taupenot L. Interaction of the catecholamine release-inhibitory peptide catestatin (human chromogranin A (352-372)) with the chromaffin cell surface and Torpedo electroplax: implications for nicotinic cholinergic antagonism / L. Taupenot, S.K. Mahata, M. Mahata [et al.] // Regul. Pept. – 2000. – Vol. 95 (1-3). – P. 9-17.
20. Taupenot L. The chromogranin-secretogranin family / L. Taupenot, K.L. Harper, D.T. O'Connor // N Engl J Med. – 2003. – Vol. 348 (12). – P. 1134-1149.
21. Totzauer I. Early expression of chromogranin A and tyrosine hydroxylase during prenatal development of the bovine adrenal gland / I. Totzauer, W. Amselgruber, F. Sinowatz, M. Gratzl // Anat Embryol (Berl). – 1995. – Vol. 191 (2). – P. 139-143.
22. Wang J.M. Localization of neurokinin A and chromogranin A immunoreactivity in the developing porcine adrenal medulla / J.M. Wang, E.F. De Ridder, W.P. De Potter, A.L. Weyns // Histochem J. – 1994. – Vol. 26 (5). – P. 431-436.
23. Yamamoto M. Study of migration of neural crest cells to adrenal medulla by three-dimensional reconstruction / M. Yamamoto, R. Yanai, K. Arishima // J Vet Med Sci. – 2004. – Vol. 66 (6). – P. 635-641.

УДК: 576.382.086:612.451:612.64.

ЗМІНА ЕКСПРЕСІЇ ХРОМОГРАНІНУ А В НАДНИРНИКАХ ПОРОСЯТ НА РІЗНІ ТЕРМІНИ НЕОНАТАЛЬНОГО РОЗВИТКУ

Плаксіна К. М., Сидоренко О. С., Легач Є. І., Бондаренко Т. П., Божок Г. А.

Резюме. У статті наведені дані про перерозподіл клітин, що містять хромогранін А (ХрА), в різних зонах надниркових залоз у свиней у різні терміни неонатального розвитку. Показано, що основна маса ХрА-позитивних клітин зосереджена в мозковій речовині. Крім того, поодинокі клітини або агрегати з декількох ХрА-позитивних клітин спостерігаються в субкапсулярній області кори, а також розташовані радіально у вигляді тяжів, спрямованих від периферії органа до мозкової речовини. Встановлено, що з віком у свиней зменшується площа поперечного перерізу мозкової речовини відносно площі поперечного перерізу всього органа, а також зменшується площа, яку займають екстрамедулярні ХрА-позитивні клітини.

Ключові слова: наднирники, хромогранін А, екстрамедулярні хромафінні клітини, неонатальний період, поросята.

УДК: 576.382.086:612.451:612.64.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ХРОМОГРАНИНА А В НАДПОЧЕЧНИКАХ ПОРОСЯТ НА РАЗНЫЕ СРОКИ НЕОНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Плаксина Е. М., Сидоренко О. С., Легач Е. И., Бондаренко Т. П.,
Божок Г. А.

Резюме. В статье приведены данные о перераспределении клеток, содержащих хромогранин А (ХрА), в различных зонах надпочечника у свиней на разные сроки неонатального развития. Показано, что основная масса ХрА-позитивных клеток сосредоточена в мозговом веществе. Кроме того, одиночные клетки или агрегаты из нескольких ХрА-позитивных клеток наблюдаются в субкапсулярной области коры, а также расположены радиально в виде тяжей, направленных от периферии органа к мозговому веществу. Установлено, что с возрастом у свиней уменьшается площадь поперечного сечения мозгового вещества относительно площади поперечного сечения всего органа, а также уменьшается площадь, занимаемая экстрамедуллярными ХрА-позитивными клетками.

Ключевые слова: надпочечники, хромогранин А, экстрамедуллярные хромоаффинные клетки, неонатальный период, поросята.

UDC: 576.382.086:612.451:612.64.

CHANGING OF CHROMOGRANIN A EXPRESSION IN THE PIG ADRENAL GLANDS AT DIFFERENT TERMS OF NEONATAL DEVELOPMENT

Plaksina K. M., Sidorenko O. S., Legach E. I., Bondarenko T. P., Bozhok G. A.

Abstract. The article presents data about the redistribution of cells containing chromogranin A (CgA) in various zones of the adrenal gland in pigs for different periods of neonatal development. The adrenal glands were obtained from piglets at 1, 7, 14, and 28 days after birth. The expression of CgA was studied by the immunohistochemical staining of cryosections of the adrenal glands. To identify the CgA-positive cells the primary rabbit polyclonal antibodies to CgA (dilution 1:200, Abcam, UK) and goat polyclonal secondary antibodies to rabbit IgG – H&L (AlexaFluor 488, dilution 1:400, Abcam) were used.

It was shown that the bulk of the CgA-positive cells is concentrated in the adrenal medulla. In addition, single cells or aggregates of several CgA-positive cells are observed in the subcapsular region of the cortex and also located radially in the form of strands directed from the periphery of the organ to the adrenal medulla.

During the entire period of pig neonatal development a change of adrenal cross-sectional area (S_{cs}) is observed. At first 24 hours after birth the S_{cs} of the adrenal glands was $4.5 \pm 0.5 \text{ mm}^2$. By the 28th day after birth the total S_{cs} of the organ increases by 3.3 times. Moreover when assessing the comparative area of the adrenal medulla (S_m) it is noticeable that it decreases from 7th day. At the 1st day of neonatal development S_m constitutes 25% of the total adrenal gland S_{cs} , on the 7th day it is 18%, on the 14th and 28th – 10 and 13%, respectively.

With the morphometric analysis we estimated the comparative area of CgA-positive extramedullary cells. The decrease of this parameter with age is established. At the 1st day it was 1.1% of the total adrenal S_{cs} , 7th – 1%, at the 14th – 0.5% and at the 28th – 0.2%.

In summary we have shown that anatomical and physiological changes, which touch on the cortex as well as the medulla, occur in the pig adrenal glands during neonatal development. They consist of an increase of cortex S_{cs} , decrease of medulla S_m , as well as a decrease in the number of extramedullary CgA-positive cells.

Keywords: adrenal, chromogranin A, extramedullary chromaffin cells, neonatal period, piglets.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 12.06.2017 року