

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ДАНІ ПРО РЕАКЦІЮ КОРИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ СТАРИХ ЩУРІВ-САМЦІВ НА ВВЕДЕННЯ РЕАКТИВУЮЧИХ ДОЗ АНТИТЕСТИКУЛЯРНОЇ ЦИТОТОКСИЧНОЇ СИРОВАТКИ

Ю. О. Спасокукоцький, Н. М. Коврижко, Т. М. Зеленська

*Відділ експериментальної терапії
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ;
кафедра патологічної анатомії Київського медичного інституту*

В дослідженнях, спрямованих на вивчення механізму і специфічності дії імунних цитотоксичних сироваток взагалі і особливо специфічних щодо статевих залоз, велика увага приділяється виявленню змін як в органах, до яких сироватка одержана, так і в інших взаємозв'язаних органах і системах.

Як було встановлено нами в дослідах раніше, з допомогою малих реактивуючих доз антигестікулярної цитотоксичної сироватки (АТЦС) можливе відновлення порушеної функції запліднення у старих щурів [17], стимуляція росту експлантатів сім'яників [1, 2], реактивація спермато- і стероїдогенезу у тварин з віковою гіпофункцією статевих залоз [9—12].

Одержані експериментальні дані були підтверджені клінічними дослідженнями (13), які показали, що малі дози АТЦС, специфічної щодо клітинних елементів яечок людини, нормалізують у чоловіків зі зниженою функцією статевих залоз рівень нейтральних 17-кетостероїдів, їх α - і β -фракцій. Подібні результати не були одержані ні в експерименті [1, 9], ні в клініці [13] при введенні сироватки кроликів, що не містить імунних тестикуло-цитотоксинів.

За деякими літературними експериментальними даними [6, 7, 19, 21, 22, 24], а також даними клінічної патології [3, 4, 5, 16], між гонадами і корою надниркових залоз відзначаються тісні взаємовідношення. Так, при зниженні функції статевих залоз у старості функціональна активність кори надниркових залоз компенсаторно підвищується [3, 4, 13]. Це має місце і при гормональній стимуляції гонад [27, 28, 29].

Ми вивчали реакції кори надниркових залоз на введення імунної сироватки, специфічної щодо сім'яників щурів.

Методика досліджень

Досліди проведені на 110 старих щурах-самцях, віком від 2 років і до 2 років і 3 місяців. Самцям піддослідної групи (88 тварин) внутрішньо вводили по 0,00025 $см^3$ цільної АТЦС на 100 г ваги тіла, розведеної в 1 $см^3$ фізіологічного розчину. Тваринам робили три ін'єкції сироватки з інтервалами у два дні, яку одержували імунізацією кроликів водно-сольовими екстрактами, виготовленими з тканин сім'яників статево-зрілих щурів за експресним методом Ю. О. Спасокукоцького [17]. Титр сироваток у тепловому варіанті реакції зв'язування комплементу становив 1:320, 1:400. Самцям контрольної групи (22 тварини) сироватку не вводили.

Тварин піддослідної і контрольної груп декапітували на 3-, 10-, 21 і 45-ту доби після закінчення курсу ін'єкцій АТЦС. Реєстрували абсолютну (в мг) і відносну (в %)

вагу лівої надниркової залози. За допомогою окуляр-мікрометра вимірювали товщину різних зон кори. Цифровий матеріал обробляли статистично [14].

Були використані такі гістохімічні методи: Кея і Уайтхеда [25] на ліпіди, Жиру і Леблона [23] на аскорбінову кислоту, Браше на РНК. Метод Канолькара і Кришнамурзі та ін. [26] в модифікації Зака та Науменко [8] для виявлення α -кетольних груп кортикостероїдів. Оглядові препарати фарбували гематоксиліном та еозином.

Результати досліджень

Середня абсолютна вага надниркової залози старого самця контрольної групи становить $25 \pm 0,95$ мг. На третю добу після закінчення введення АТЦС визначається статистично достовірне збільшення ваги органа — $27 \pm 0,69$ мг. До десятої доби вага надниркової залози збільшується ще більше і досягає $29 \pm 1,37$ мг. На 21-у добу відзначається зниження ваги органа до 26 ± 1 мг, що нижче, ніж на 10-у добу, але вище, ніж у контролі. На 45-у добу абсолютна вага надниркових залоз дорівнює контролю. Відносна вага органа має такі ж закономірності (див. таблицю).

Результати вимірювання ширини зон кори надниркових залоз показують, що найбільш значних коливань зазнає клубочкова та сітчаста зони. Так, на третю добу після закінчення ін'єкції АТЦС клубочкова зона збільшується з $69 \pm 7,9$ до $72 \pm 3,1$ мк; сітчаста з $82 \pm 5,9$ до 86 ± 8 мк. На десяту добу відзначається ще інтенсивніше збільшення як клубочкової ($72 \pm 2,3$ мк), так і сітчастої зон ($101 \pm 9,6$ мк). На 21-у добу ширина клубочкової зони становить $69 \pm 3,9$ мк, а сітчастої — $97 \pm 7,5$ мк, що нижче, ніж на 10-у добу, але вище, ніж у контролі. На 45-у добу ширина клубочкової та сітчастої зон приблизно відповідає даним контрольних тварин ($68 \pm 2,5$ мк — клубочкова зона, $82 \pm 2,1$ мк — сітчаста).

Результати гістологічних та гістохімічних досліджень показують, що на третю добу після закінчення введення АТЦС клубочкова зона розширена за рахунок гіперплазії клітинних елементів, ліпіди розташовані рівномірно по клітинах зони.

В пучковій зоні суданофілія ослаблена і менш рівномірна в порівнянні з іншими зонами. В сітчастій зоні клітин з пофарбованими ліпідами більше, ніж у контролі. Шифф-позитивні субстанції α -кетольних груп кортикостероїдів розташовані у периферичних відділах цитоплазми по всім зонам кори більш рівномірно, ніж без введення сироватки (рис. 1, а, б).

Гранули аскорбінової кислоти визначаються в усіх зонах, але в порівнянні з контролем вони крупніші і розташовані рівномірніше. Найбільша концентрація їх у внутрішній частині пучкової зони. Щодо сітчастої зони, то в ній визначаються лише поодинокі включення. Капсула надниркових залоз складається з пухко розташованих пучків волокон сполучної тканини. Капіляри капсули розширені, заповнені кров'ю.

Таким чином, на третю добу після закінчення введення реактивуючих доз сироватки у корі надниркових залоз відзначаються зміни, що свідчать про підвищення функціонального стану органа і переважання в ньому процесів біосинтезу стероїдів над їх утилізацією.

На десяту добу поряд з поширеними капілярами в капсулі відзначаються ділянки проліферації сполучнотканинних клітин і утворення в її товщі «аденом» з епітелію клубочкової зони, піронінофілія і суданофілія якої в порівнянні з контролем та іншими зонами більш виражена. Шифф-позитивні гранули кортикостероїдів у клубочковій зоні розташовані рівномірно. Кількість гранул аскорбінової кислоти невелика.

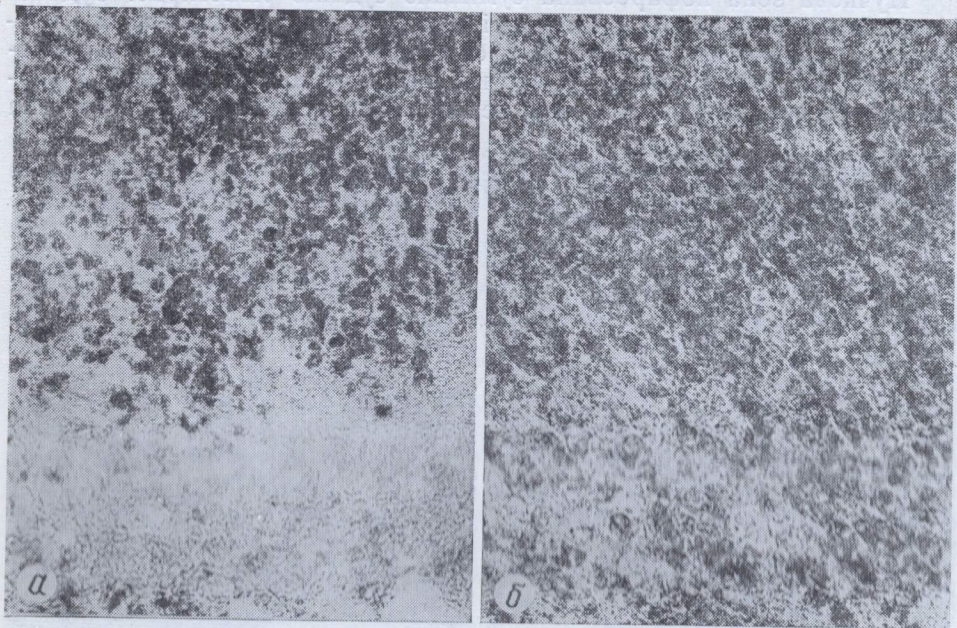


Рис. 1. Надниркові залози старих шурів-самців у нормі і на третю добу після введення реактивууючих доз АТЦС.

а — контроль. Видно нерівномірний розподіл Шифф-позитивних гранул у корі і зменшення їх кількості в сітчастій зоні. *б* — дослід. Третя доба після введення АТЦС. Видно інтенсивний і більш рівномірний розподіл Шифф-позитивних гранул в усіх зонах кори. Фарбування Шифф-хлорним залізом. Ок. 10, об. 20.

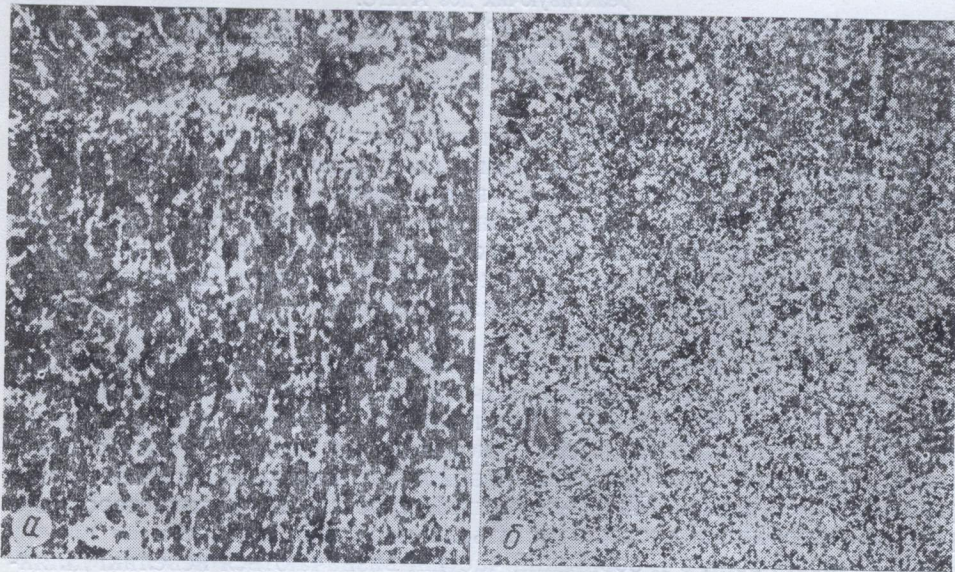


Рис. 2. Надниркові залози шурів-самців у нормі і на десяту добу після введення реактивууючих доз АТЦС.

а — контроль. Видно ліпідні субстанції в усіх зонах. *б* — дослід. На десяту добу після введення АТЦС. Ліпідні субстанції дрібні, суданофілія їх знижена. Сітчаста зона містить поодинокі вклучення. Фарбування суданом III+IV. Ок. 10, об. 20.

Пучкова зона пофарбована сумішшю суданів рівномірно. Суданофільні включення мають вигляд дрібних краплин і в порівнянні з контролем їх значно менше (рис. 2, а, б). Шифф-позитивні гранули розташовані найбільше в зовнішній частині пучкової зони, в середній і внутрішній частині зони включення не визначаються. Внутрішня третина

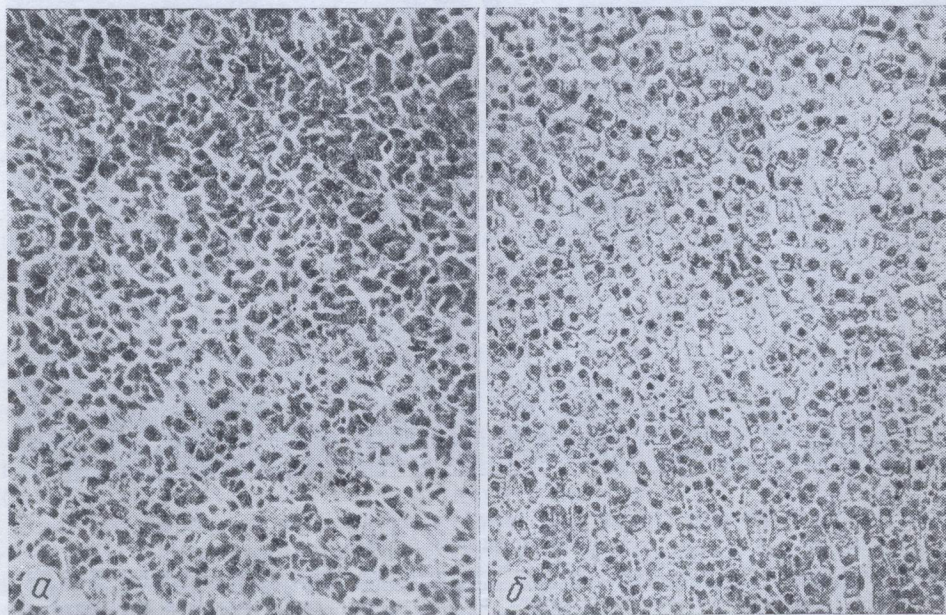


Рис. 3. Надниркові залози старих щурів-самців у нормі і на 21-у добу після введення реактивууючих доз АТЦС.

а — контроль. Видно епітеліальні клітини пучкової і сітчастої зон кори з щільною цитоплазмою.
б — дослід. Видно осередки некробіозу в пучковій зоні кори. Фарбування гематоксилином і еозином.
Ок. 10, об. 20.

пучкової зони найбільш багата гранулами аскорбінової кислоти. В деяких клітинах зони поряд з дрібними гранулами трапляються великі конгломерати, які іноді заповнюють всю клітину.

Епітелій сітчастої зони в порівнянні з контролем гіперплазований у два-три рази, відзначається також його повнокров'я. Суданами зона пофарбована рівномірно, але слабше, ніж інші зони. Шифф-позитивні включення не визначаються. Трапляються також поодинокі гранули аскорбінової кислоти.

Таким чином, на десяту добу після закінчення введення АТЦС у корі надниркових залоз переважають процеси утилізації стероїдів.

На 21-у добу, як і на 10-у, в капсулі можна бачити поширені судини та ділянки проліферації сполучнотканинних клітин. В клубочковій зоні в порівнянні з іншими зонами найбільш виражена піронінофілія і суданофілія епітелію. Шифф-позитивні субстанції кортикостероїдів і гранули аскорбінової кислоти містяться в невеликій кількості.

В пучковій зоні, в її зовнішній частині визначаються невеликі ділянки, які нагадують явища некробіозу. Цитоплазма таких клітин грудкувата, пофарбована еозином нерівномірно, оболонка клітин місцями розірвана, ядра в розірваних клітинах відсутні (рис. 3, а, б).

У внутрішній частині пучкової зони відзначаються ділянки проліферації епітеліальних клітин, які являють собою скупчення щільно роз-

ташованих клітин та зближених ядер. Поряд з проліферацією в цій зоні трапляються пікнотичні ядра, інтенсивно пофарбовані гематоксиліном. Піронінофілія і суданофілія клітин нерівномірна. Найбільш інтенсивно і рівномірно пофарбовані клітини зовнішньої частини пучкової зони, гранули аскорбінової кислоти мають пиловидний характер і розташовані в основному у внутрішній третині зони, в місцях найбільшої концентрації вони іноді зливаються в крупні грудкуваті конгломерати.

Сітчаста зона в стані повнокров'я, поряд з ділянками проліферації епітеліальних клітин в ній також трапляються клітини з пікнотичними ядрами. Піронінофілія і суданофілія клітин найменша в порівнянні з іншими зонами. Гранули аскорбінової кислоти визначаються в ній у невеликій кількості. Все це свідчить про стан гіперсекреції кори надниркової залози.

На 45-у добу зміни приблизно такі ж, як і на 21-у добу. Суданофілія клітин кори надниркових залоз незначна у всіх тварин. Найбільш інтенсивно і рівномірно сумішню суданів пофарбовані клітини клубочкової і зовнішньої частини пучкової зони. Поряд з дрібними краплями ліпідів у цих зонах можна бачити крупні однорідні краплі, які заповнюють повністю цитоплазму. Внутрішня частина пучкової зони, а також сітчаста зона пофарбовані слабше і менш рівномірно. Трапляються також зовсім непофарбовані клітини. Шифф-позитивні гранули розташовані в епітелії рівномірно по всій окружності надниркової залози. В сітчастій зоні вміст гранул кортикостероїдів найменший. Трапляються тільки поодинокі клітини або групи клітин, пофарбованих з середньою або слабкішою інтенсивністю. Наведена гістологічна картина має багато спільного з гістологічною картиною надниркових залоз молодого і середнього віку.

Обговорення результатів досліджень

Аналіз результатів досліджень показує, що на введення старим щурам-самцям реактивуючих доз імунної антитестикулярної цитотоксичної сироватки, специфічної щодо сім'яників, надниркові залози відповідно реагують. На третю добу після закінчення введення АТЦС починається підвищення її абсолютної та відносної ваги. Максимальне збільшення визначається на десяту добу, а потім поступово знижується, досягаючи до 45-ї доби рівня ваги надниркових залоз контрольних тварин. Відзначено підвищення ваги надниркових залоз після введення малих доз АТЦС є показником посилення їх функціональної активності. Про це свідчить також той факт, що разом зі збільшенням ваги залози настає поширення клубочкової і сітчастої зони коркового шару. Якщо виходити з того, що сітчаста зона доповнює гормональну функцію статевих залоз або при зниженні їх життєдіяльності бере на себе їх роль, то збільшення об'єму цієї зони слід розглядати як прояв підсилення функціональної активності кори надниркової залози. Ділянки некробіозу, які визначаються в корковій частині залоз на 21-у добу, є результатом інтенсифікації голокринової секреції кортикостероїдів.

Підтвердженням посилення процесів гормоноутворення в епітеліальних клітинах кори надниркових залоз є більш інтенсивні гістохімічні реакції на ліпіди, кортикостероїди, аскорбінову кислоту в ранні строки після закінчення введення АТЦС. Встановлене ослаблення цих реакцій після десятої доби вказує на віддачу гормонів з епітеліальних клітин кори органа в кров. Оскільки, як показали біохімічні дослідження Панченко [15], проведені в нашому відділі, вміст 17-ОКС в сечі морських свинок збільшується при введенні малих доз АТЦС, специфічної

Зміни абсолютної і відносної ваги лівої надниркової залози старих щурів-самців після введення малих доз АТЦС

Статистичні показники	Абсолютна вага, мг				
	Контроль	Доби досліджень			
		3	10	21	45
<i>n</i>	22	19	18	29	22
<i>M</i>	25	27	29	26	25
$\pm m$	0,95	0,69	1,37	1	0,8
<i>p</i>		<0,001	<0,02	<0,5	<0,5

Статистичні показники	Відносна вага, %				
	Контроль	Доби досліджень			
		3	10	21	45
<i>n</i>	22	19	18	29	22
<i>M</i>	0,0080	0,0105	0,0100	0,0085	0,0071
$\pm m$	0,0004	0,0008	0,0005	0,0003	0,0003
<i>p</i>		<0,001	<0,2	<0,5	<0,1

щодо сім'яників цього виду тварин, тобто функціональний стан органа підвищується. Введення взятої як контроль нормальної кролячої сироватки, що не містить антитіл, не викликає подібних змін.

Аналіз даних вказує на те, що в основі змін у корі надниркових залоз в умовах нашого експерименту лежать кілька механізмів. По-перше, АТЦС викликає реактивацію гормонуотворювальної функції сім'яників, які за принципом «позитивного» зворотного зв'язку, що існує між статевими залозами і передньою частиною гіпофіза у старих тварин, викликають стимуляцію аденогіпофіза [18]. Останній за рахунок тропного для кори надниркової залози гормона приводить до підвищення його функціонального стану. По-друге, АТЦС поряд з переважною кількістю тестисулоцитотоксинів (антитіл), специфічних щодо комплексу спеціалізованих клітинних елементів сім'яників, містить в невеликому титрі і неспецифічні антитіла, спільні, як до сім'яників, так і до надниркових залоз [13], за рахунок яких може відбуватися активація кори надниркових залоз.

Одержані дані свідчать про те, що імунна антитестискулярна цитотоксична сироватка є біологічно активним препаратом, з допомогою якого можливо направлено впливати на сім'яники, викликаючи в них детерміновані зміни, які сприяють відновленню їх функції і водночас активують морфо-функціональний стан кори надниркових залоз.

Література

1. Барченко Л. І.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1965, XI, 6, 775.
2. Барченко Л. І.— Патол. фізіол. и експер. терапия, 1965, 4, 38.
3. Беккер В. И., Свечникова Н. В.— В кн.: Фізіол. и патол. эндокринной системы, Харьков, 1964, 224.
4. Беккер В. И., Свечникова Н. В.— Фізіол. и патол. эндокринной системы, Харьков, 1965, 412.
5. Беккер В. И., Свечникова Н. В., Похолодчук Ю. Т.— В кн.: Фізіол., биохим. и патол. эндокринной системы, К., 1969, 163.
6. Богомолец А. А.— К вопросу о микроскопич. строении надпочечников в связи с их отделительной деятельностью, Одесса, 1905.

7. Богомолец А. А.— К вопросу о микроскопич. строении и функц. значении надпочечных желез в здоровом и больном организме, Дисс., СПб, 1909.
8. Зак К. П., Науменко Н. И.— Пробл. эндокринологии, 1969, XV, 66.
9. Зеленская Т. М.— Влияние антиовар. и антигестикаляр. цитотоксич. сывороток на функц. сост. и морфол. структуры яичников и семенников крыс в возраст. аспекте, Автореф. дисс., К., 1967.
10. Зеленская Т. М.— Цитотоксины в соврем. мед., К., 1969, 5, 65.
11. Зеленская Т. М.— В сб.: Труды I Междунар. симпоз. по иммунол. размнож. Варна, Болгария, 27—29 сент., 1967, София, 1969, 539.
12. Зеленська Т. М.— В сб.: Труды II Междунар. симпоз. по иммунол. размнож. Варна, Болгария, 13—16 сент., София, 1971.
13. Нищименко О. В.— Влияние иммунной антигестик. цитотоксич. сывор. на мужские половые железы при наруш. их гормон. функции, Автореф. дисс. К., 1969.
14. Ойвин И. А.— Патол. физиол. и exper. терапия, 1960, 4, 76.
15. Панченко Н. И.— Изменение функц. сост. корковой и мозговой частей надпоч. под влиянием антикортико- и антимозговой супраренальных цитотоксич. сывороток, Автореф. дисс., К., 1970.
16. Смолянский Б. Л.— Функц. сост. коры надпоч. в связи с процессами старения и воздействием аскорбин. кислоты, Автореф. дисс., Л., 1963.
17. Спасокукоцкий Ю. О.— Физиол. журн. АН УРСР, 1964, X, 6, 709.
18. Спасокукоцкий Ю. О., Зеленська Т. М., Нищименко О. В.— Физиол. журн. АН УРСР, 1970, XVI, 1, 24.
19. Феодосьев Н. В.— Русский врач, 1906, 5, 135.
20. Эскин И. А.— Основы физиол. эндокринных желез, 1968, М., Изд-во «Высшая школа», 5.
21. Dorfman R., Gardner W.— Endocrinology, 1944, 34, 6, 421.
22. Gardner W.— Recent Progr. Hormone Res., 1947, 1, 217.
23. Giroud A., Leblond C.— Anat. Res., 1937, 68.
24. Frants M., Kirschbaum A.— Cancer Res., 1949, 9, 5, 257.
25. Kay W., Whitehead R.— J. path. Bact., 1934, 39, 449.
26. Khanolkar V., Krishnamurthi, A., Bagul C., Sahasrabudhe M.— Indian J. Path. Bact., 1958, 1, 84.
27. Korenchevsky V., Dennison M.— J. Path. Bact., 1935, 41, 323.
28. Vogt M.— J. Physiol., 1945, 104, 60.
29. Vogt M.— J. Physiol., 1955, 130, 601.

Надійшла до редакції
28.V 1973 р.

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL DATA ON REACTION OF ADRENAL GLANDS CORTEX IN OLD MALE RATS TO ADMINISTRATION OF REACTIVATING DOSES OF ANTITESTICULAR CYTOTOXIC SERUM

Yu. A. Spasokukotsky, N. M. Kovrizhko, T. M. Zelenskaya

Department of Experimental Therapy, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev; Department of Pathologic Physiology, Medical Institute, Kiev

Summary

The experimental studies performed on 110 old male rats at the age from two years to two years and three months showed that antitesticular cytotoxic serum having an effect on the specialized cellular elements of the old rats testicles evokes a response of the morphological and functional structures of the adrenal glands cortex as well which is manifested in an increase in the organ functional activity.