

стическую (преобразование в желтые тела) и гормональную (продуцирование прогестерона) функции.

При функционирующих желтых телах полового цикла рост фолликулов не прекращается, однако они не достигают овуляционной зрелости, а подвергаются атрезии. Следовательно, созревание фолликулов и реализация овуляционного эффекта определяются потенциальными возможностями соединительнотканых элементов яичников.

Выводы. 1. В яичниках коз, независимо от сезона года и состояния половой функции, наблюдается постоянное формирование примордиальных фолликулов и их рост. Созревание фолликулов, их овуляция и формирование желтых тел зависит от сезона года и определяется морфогенной потенциальностью мезенхимных элементов коркового вещества яичников и текальной ткани фолликулов. 2. Установлено, что в летний сезон в текальной ткани растущих фолликулов снижается васкуляризация, и они приходят в состояние гипоплазии, что исключает возможность их созревания и овуляции. С наступлением случного сезона (осень) эти процессы активизируются, завершаются созреванием фолликулов, их овуляцией и формированием желтых тел. Такая же закономерность в фолликуло- и лютеогенезе яичников проявляется на фоне инволюции желтых тел полового цикла.

УДК 611.018:611.453

ОКТАМЕР-СВЯЗЫВАЮЩИЙ ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РЕГУЛЯТОР ТКАНЕВОГО ГОМЕОСТАЗА КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС

Обернихин С.С., Яглов В.В., Назимова С.В., Яглова Н.В.

ФГБНУ «НИИ морфологии человека», г. Москва,
Российская Федерация

Физиологическая регенерация органов в постнатальном развитии и репаративная регенерация основаны на самообновлении различных клеточных популяций. Это требует наличия и поддержания пула плюрипотентных клеток для структурных перестроек, необходимых для их нормального функционирования. Одним из ключевых регуляторов в поддержании плюрипотентности эмбриональных клеток является октамер-связывающий транскрипционный фактор Oct4 [1]. Его роль в постнатальном морфогенезе и регенерации практически не изучена. Цель исследования – изучить экспрессию транскрипционного фактора Oct4 в кортикостероцитах клубочковой зоны надпочечников крыс в процессе постнатального развития.

Исследование проводили на самцах крыс Вистар. Животных выводили из эксперимента передозировкой золетила в возрасте 42-суток (n=10), что соответствует пубертатному периоду, и после достижения половой зрелости (n=10) в возрасте 70-дней, когда надпо-

чечники крыс достигают своего максимального развития [2].

Морфометрическое исследование экваториальных срезов надпочечников, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили с помощью программы «ImageScope» («Leica Microsystems», Германия). Экспрессию транскрипционного фактора Oct4 в кортикостероцитах определяли методом иммуногистохимии с помощью поликлональных кроличьих антител («Abcam» США). Пролиферацию кортикостероцитов изучали методом иммуногистохимии с помощью антител к Ki-67 («Cell Marque», США). Результаты иммуногистохимических исследований выражали в виде количества иммунопозитивных клеток в 1мм^2 площади среза клубочковой зоны. В сыворотке крови крыс определяли концентрацию альдостерона методом ИФА с помощью наборов («Cusabio», Китай). Статистическую обработку данных производили с помощью программы Statistica 7.0 («Statsoft Inc.», США). Центральные тенденции и рассеяние признаков, имеющих нормальное распределение, описывали средним значением и стандартной ошибкой среднего значения ($M \pm m$). Анализ ассоциаций проводили с помощью критерия Пирсона. Сравнение независимых групп проводили с помощью t-критерия Стьюдента с учетом значений критерия Левена о равенстве дисперсий. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

В клубочковой зоне крыс пубертатного возраста выявлялись фокально расположенные Oct4-положительные клетки с ядерной локализацией. В промежуточной зоне Oct4-положительные клетки отсутствовали. В клубочковой зоне выявлялись Ki-67-позитивные клетки, хотя их численность не коррелировала с количеством Oct4-позитивных клеток. Была обнаружена сильная обратная зависимость между числом Oct4-позитивных клеток в клубочковой зоне и уровнем альдостерона в сыворотке крови ($R = -0,98$ $p = 0$).

На 70-сутки постнатального развития, когда корковое вещество достигает своего максимального развития, у крыс контрольной группы отмечалось уменьшение клубочковой зоны надпочечников. Количество Oct4-позитивных кортикостероцитов увеличилось почти вдвое. Они характеризовались диффузным распределением, в отличие от предыдущего срока исследования. Следует отметить, что цитоморфология Oct4-позитивных и окружающих Oct4-негативных клеток не отличалась ни в пубертатном, ни в постпубертатном периодах.

В клубочковой зоне выявлено закономерное снижение пролиферативной активности кортикостероцитов, при этом наблюдалась прямая зависимость между числом Oct4 и Ki-67-позитивных клеток ($R = 0,94$ $p = 0,00013$), а также обратная зависимость между количеством позитивных Oct4 клеток и уровнем альдостерона в сыворотке крови ($R = -0,83$ $p = 0,0058$).

Активно экспрессирующийся в эмбриональных клетках Oct4 входит в четвёрку так называемых факторов Яманаки (Oct3 / 4, Sox2, Klf4, c-Myc) [1], которые в совокупности регулируют сеть, состоящую из 16 сигнальных путей, и контролируют пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клетки [3]. Было высказано предположение, что

клетки промежуточной зоны, находящейся между клубочковой и пучковой у крыс, которые не продуцируют ни альдостерон, ни кортико-стерон, являются стволовыми прогениторными клетками надпочечников, функциональное значение которых заключается в поддержании функциональной зональности коркового вещества у крыс, в отличие от человека, где эту роль выполняют субкапсулярно расположенные клетки. Однако мы не обнаружили экспрессию Oct4 в клетках промежуточной зоны. Более того, цитоморфология Oct4-позитивных клеток не имела отличий от окружающих их Oct4-негативных клеток. Сопоставление индивидуальных показателей экспрессии Oct4 в клубочковой зоне и уровня альдостерона в сыворотке крови показало наличие сильной отрицательной связи между этими параметрами, указывающей на готовность клеток к самообновлению. То обстоятельство, что численность Ki-67-позитивных кортикостероцитов не коррелировала с числом Oct4-позитивных клеток в пубертатном периоде, свидетельствует о том, что корковое вещество ещё окончательно не сформировалось в этом возрасте. К 10-неделям, произошло изменение соотношения морфофункциональных зон надпочечника. Размеры клубочковой зоны уменьшились и, несмотря на это, количество Oct4-позитивных кортикостероцитов в единице ее площади увеличилось. Это свидетельствует о наличии плюрипотентного потенциала у дифференцированных клеток.

Таким образом, впервые выявлена способность дифференцированных кортикостероцитов клубочковой зоны надпочечников экспрессировать транскрипционный фактор Oct4 в постнатальном онтогенезе. Увеличение экспрессии Oct4 после завершения роста органа способствует формированию пула клеток, готовых к переходу в плюрипотентное состояние, необходимых для физиологической регенерации органа, что подтверждает прямая зависимость с пролиферацией клеток и обратная – с их функциональной активностью.

Литература. 1. Olariu V., Lövkvist C., Sneppen K. *Nanog, Oct4 and Tet1 interplay in establishing pluripotency* // *Sci. Rep.* 2016. No. 6, 25438. 2. Pignatelli D., Xiao F., Gouvtia A., Ferreira J., et al. *Adrenarche in the rat* // *Journal of Endocrinology.* 2006. Vol.191 No.1 P.301-308. 3. Vierbuchen T., Ostermeier A., Pang Z. Kokubu Y., Südhof T., Wernig M. *Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors* // *Nature.* 2010. Vol. 463. No. 7284. P. 1035–1041.