

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА НА МОРФОЛОГИЮ НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС-САМЦОВ

Ключевые слова: надпочечники, селен, кортизол, тучные клетки, морфометрия, иммуногистохимия.

Актуальность исследования и научная новизна. Селен является важным микроэлементом, регулирующим работу репродуктивной, эндокринной и иммунной систем. Он обладает антиоксидантным и антиканцерогенным действием, защищает клетки и их мембраны от воздействия свободных радикалов. Употребление селена приводит к усилению защитно-приспособительных реакций организма. Надпочечники первыми реагируют на различные воздействия путем повышенного синтеза катехоламинов при остром стрессе и кортикостероидов – при хроническом.

Целью данного исследования явилось изучение структуры интактных надпочечников и реакции надпочечников на курсовое введение селена.

Материалы и методы. В работе исследованы масса тела крыс и надпочечников, уровень кортизола в крови, совокупный морфометрический показатель, проведены компьютерная морфометрия срезов, окрашенных гематоксилином и эозином и толуидиновым синим по Унна, иммуногистохимическое исследование надпочечников интактных крыс и крыс после введения селена в течение 1 месяца. Проведен корреляционный анализ.

Результаты. Выявлено, что прием селена не влияет на массу тела крыс и надпочечников и уровень кортизола в крови. Происходят снижение совокупного морфометрического показателя через 1 и 2 месяца после прекращения приема селена и уменьшение площади мозгового вещества преимущественно через 1 месяц. Ширина коркового вещества превышает аналогичный показатель интактных крыс через 1 месяц за счет клубочковой зоны и становится меньше через 3 месяца. Количество тучных клеток достоверно не увеличивается, но повышается процентное содержание дегранулированных клеток через 1 месяц после окончания приема селена. Через 3 месяца этот показатель приближается к уровню интактных крыс.

Выводы. Выявлено, что на фоне приема селена происходит морфофункциональная перестройка надпочечников, которая выражается в изменении толщины коркового, площади мозгового вещества, совокупного морфометрического показателя, пролиферативной активности тканей надпочечников и повышении количества дегранулированных тучных клеток.

Введение. Селен – микроэлемент, входящий в состав ферментов, играющих важную роль в работе репродуктивной, эндокринной, иммунной систем, метаболизме, клеточном гомеостазе и канцерогенезе [14]. Он защищает клетки и их мембраны от вредных воздействий, способствует нормальному энергетическому обмену [7]. Селен обладает мощным антиоксидантным действием [2] и оказывает антиканцерогенный эффект в отношении злокачественных заболеваний различной локализации [14]. Он защищает клетки от свободных радикалов, усиливает клеточный и гуморальный иммунные ответы за счет увеличения уровня лейкоцитов в периферической крови, образования антител, контролирующего рост различного рода опухолей, стимуляции активности естественных киллеров, повышения продукции интерлейкинов (ИЛ-1 и ИЛ-2), стимуляции фагоцитарной функции лейкоцитов и повышения реакции лимфоцитов на различные митогены [7, 10]. Уровень селена в крови коррелирует с продолжительностью жизни и функциональной активностью НК-клеток [4].

Одной из причин возникновения любого патологического процесса в организме является окислительный стресс, вызванный резким ростом свободных

радикалов. Многие патологические процессы в организме приводят к развитию хронического стресса. Известно, что надпочечники являются маркером стресса и регулятором адаптивно-приспособительных реакций [6].

Прием селенита натрия может специфически вызвать снижение секреции катехоламинов из хромаффинных клеток надпочечников за счет подавления притока Ca^{2+} [22]. Было выявлено, что прием селена в дозе 200 мкг/сут. эффективно восстанавливает функцию коры надпочечников после приема глюкокортикоидов [5]. Применение препарата «Е-селен» приводит к уменьшению действия стресса и повышает уровень адаптивных резервов организма [12]. Экспериментально доказано, что употребление продуктов питания с низким содержанием селена вызывает окислительный стресс в тканях надпочечников и приводит к воспалению по пути miR-30d-R_1/TLR4, связанному со снижением антиоксидантной способности [16], и заметному уменьшению выработки стероидных гормонов [15]. В то же время кормление крыс-альбиносов диетой с дефицитом селена в течение 75 дней приводило к повышению уровня глюкокортикоидов в плазме и надпочечниках. Последующее добавление в рацион селена в течение 30 дней привело к восстановлению уровней глюкокортикоидов в плазме и надпочечниках [17]. Выявлено, что высокий уровень кортизола может указывать на дефицит селена [9].

В настоящее время многие люди стараются добавлять в пищу микроэлементы и витамины с целью предупреждения различных заболеваний. Чаще всего их принимают в основном курсами по 1 месяцу в средних профилактических дозах. Суточная потребность в селене для человека составляет от 40 до 400 мкг/сут., в среднем – 50–100 мкг/сут. [18, 19, 23]. Однако дозы селена, необходимые для животных, отличаются от таковых у человека. В литературе встречаются разные показатели: дозы селена варьируют от 40 мкг/кг до 1,5 мг/кг массы тела в сутки, что адекватно для половозрелых крыс с точки зрения уровня их метаболизма [4, 8, 22]. С учетом длительности приема селена в течение месяца, исходной массы животных и их количества в клетках, а также согласно данным литературы нами была выбрана профилактическая доза селена 20 мкг/кг массы тела крысы в сутки, что исключает развитие селеноза у крыс.

Цель исследования – оценить изменения в морфологии надпочечников крыс-самцов после введения селена в дозе 20 мкг/кг массы в сутки в течение 1 месяца.

Материалы и методы. Работа выполнена на 45 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 2 месяцев на начало эксперимента и с исходной массой 120–150 г. Условия содержания и обращения с используемыми в эксперименте животными соответствовали Директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. «О защите животных, которых используют для научных целей» (2010/63/EU). Крысы были разделены на две группы. Первая (контрольная) – интактная ($n = 21$). Вторая (опытная) – самцы с питьевым введением селена в дозе 20 мкг/кг массы тела в сутки в течение месяца ($n = 24$). Забой животных с забором надпочечников и крови проводился через 1, 2 и 3 месяца после окончания приема селена путем цервикальной декапитации с применением телазола из расчета 15 мг/кг внутримышечно. Для исключения возрастных изменений надпочечников крыс опытная группа сравнивалась с интактными животными соответствующего возраста.

Измерение массы тела крыс и массы надпочечников производили с помощью весов порционных SW-02 и весов электронных лабораторных серии «Эва» Ска-120В.

Проводили окраску гематоксилином и эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества надпочечников. Надпочечники фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 24 ч, после чего промывали их под проточной водой. Затем с помощью тканевого гистопроцессора Leica ASP 200 выполняли стандартную проводку, органы заливали в парафин и готовили парафиновые блоки. Из парафиновых блоков были получены парафиновые срезы органа толщиной 4 мкм, которые наносили на отрицательно заряженные стекла Mentzel Glasses super frost. С целью депарафинизации срезы последовательно обрабатывались в ксилоле в течение 4-5 мин и спиртах (по 2-3 мин) и промывались в дистиллированной воде. Окраска ядер гематоксилином проводилась в течение 5 мин, дифференцировку проводили 1%-ным солянокислым спиртом в течение 2 с, после чего срезы промывались в дистиллированной воде и подвергались окрашиванию в 1%-ном растворе эозина (2 мин). Промытые в дистиллированной воде срезы последовательно обрабатывались в спиртах и ксилоле и заключались в бальзам.

Уровень кортизола (нмоль/л) в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом и иммуноферментном анализаторе «ChemWell Combo» с помощью иммуноферментного анализа, набор ООО «Хема» (Россия).

Для оценки морфофункционального состояния надпочечников рассчитывали совокупный морфометрический показатель (СМП), который равен произведению относительной массы надпочечников и относительного уровня кортизола крови. Относительная масса надпочечников считалась по формуле: масса надпочечника крысы, деленная на массу тела крысы, умноженная на 100 г. Относительный уровень кортизола представляет собой уровень кортизола крови в пересчете на 100 г массы тела животного [1, 13].

Для качественной и количественной характеристики тучных клеток надпочечников окрашивали срезы полихромным толуидиновым синим по Унна. По степени дегрануляции среди тучных клеток выделяют следующие группы: недегранулированные клетки – гранулы плотно расположены в цитоплазме, ядро не визуализируется; слабо дегранулированные – гранулы не выходят за пределы клеточной мембраны, ядро хорошо просматривается; умеренно дегранулированные – гранулы частично выходят за пределы неповрежденной цитоплазматической мембраны, ядро не визуализируется; сильно дегранулированные – полностью дегранулированные тучные клетки с разорванной цитоплазматической мембраной. Общее количество и различные формы тучных клеток по степени дегрануляции подсчитывали в исследуемых тканях в каждом препарате при увеличении в 400 раз в десяти полях зрения. Высчитывали индекс дегрануляции (ИД) по формуле

$$\text{ИД} = (A \times 0 + B \times 1 + V \times 2 + G \times 3) / n,$$

где А – недегранулированные клетки; В – слабо дегранулированные; В – умеренно дегранулированные; Г – сильно дегранулированные клетки; n – суммарное количество тучных клеток [3].

В качестве статистической величины использовали частоту встречаемости отдельных форм тучных клеток в процентах от их общего количества.

Иммуногистохимическое исследование надпочечников проводили с использованием моноклональных и поликлональных антител: к кластеру дифференцировки естественных NK-киллеров – CD2 (Leika, Великобритания); к белку р53

для идентификации апоптотически измененных клеток (Leika, Великобритания); к маркеру клеточной пролиферации Ki-67 для идентификации клеток, находящихся в митотической, G1-, S- и G2-фазах клеточного цикла (Dako, Дания); к виментину – белку мезенхимального происхождения (Leika, Великобритания) – для оценки уровня фиброгенеза. Материал для исследования фиксировали 10% нейтральным формалином в течение суток, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, далее их наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре 37°C в течение 18 ч. Восстановление антигенной активности осуществлялось в цитратном буфере pH 6,0 в автоклаве при температуре 96°C в течение получаса с последующим остыванием в течение 90 мин. Для выявления иммуногистохимических реакций в работе применялась система визуализации Leica ChromoPlex™ 1 Dual Detection for BOND. С целью внутреннего контроля реакции использовали неиммунизированную кроличью сыворотку. Результаты реакций оценивали с применением микроскопа МИКРОМЕТ 3 ЛЮМ. Результаты оценивали путем подсчета позитивно окрашенных клеток в 10 полях зрения при увеличении 400x, затем их отображали в процентах и единицах в поле зрения.

Проводили компьютерную морфометрию с применением лицензионной программы «Микро-Анализ» (Россия).

Статистическую обработку полученных данных проводили по *t*-критерию Стьюдента, данные представляли в виде средней арифметической величины (*M*) и ее средней ошибки (*m*). Корреляционный анализ проводился по непараметрическому критерию Вилкоксона–Манна–Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе эксперимента было выявлено, что прием селена не влияет на массу крыс, массу надпочечников и уровень кортизола в крови (табл. 1).

Таблица 1

Масса крысы, надпочечников, уровень кортизола и СМП у интактных крыс и у крыс после введения селена

Группы животных	Срок, месяцев	Масса крысы, г	Масса надпочечников, мг	Кортизол, нмоль/л	СМП
Интактные	1	297,6±18,73	15,56±1,07	66,64±15,05	186,88±24,65
	2	245,8±14,56	15,69±0,25	66,10±10,1	245,2±24,2
	3	306,5±7,5	15,42±0,83	69,38±14,37	125,23±19,1
После курсового приема селена	1	269,16±31,37	13,9±0,97	54,92±7,67	98,55±17*
	2	267±17,97	15,07±0,78	53,45±6,15	137,49±18,04*
	3	249,8±13,73	13,58±0,73	52,25±8,57	110,47±21,44

Примечание: * $p < 0,01$ – значимость различий показателей у опытных и контрольных крыс.

По данным литературы, прирост массы животных при приеме селена возможен только при использовании его в комплексе с витаминами [11]. Изолированное введение селена не вызывает увеличения массы тела [11]. Наши результаты согласуются с литературными.

Введение селена привело к достоверному снижению СМП через 1 и 2 месяца после окончания его приема. СМП является более чувствительным для определения активности функционирования надпочечников, чем определение абсолютного уровня кортизола. В нашем эксперименте этот показатель указывает на снижение функционирования надпочечников на данных сроках исследования. Возвращение показателя к норме скорее всего связано с периодом полувыведения селена из организма (около 50–60 сут.) [18].

При обработке срезов гематоксилином и эозином в обеих группах в надпочечниках хорошо различимы мозговое и корковое вещества. В последнем отчетливо видны три зоны: клубочковая, пучковая и сетчатая. Однако в группе с селеном отмечается некоторая стертость границ между зонами коркового вещества на всех сроках исследования.

Клубочковая зона у крыс из группы с селеном шире, чем в контроле, рыхлая. Эндокриноциты клубочковой зоны светлее, более крупные, имеют включения в цитоплазме (рис. 1). Пучковая зона более многоклеточна, клетки мелкие, практически не содержат включений в цитоплазме. Клетки сетчатой зоны не отличаются от клеток интактных животных. Мозговое вещество занимает меньшую площадь на срезах у опытной группы крыс практически на всех сроках исследования по сравнению с аналогичным показателем в контрольной (табл. 2). При этом максимально она уменьшена в 1,47 раза ($p < 0,001$) через 1 месяц после курсового введения селена.

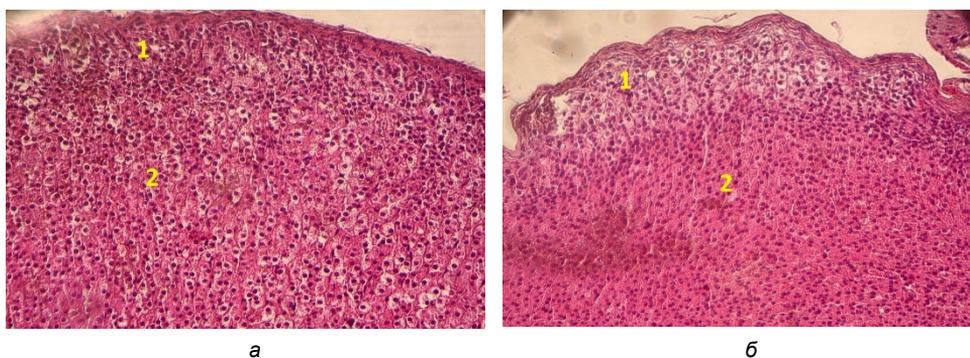


Рис. 1. Надпочечник интактных крыс (а) и крыс через 1 месяц после окончания приема селена (б): 1 – клубочковая зона; 2 – пучковая зона. Окраска гематоксилином и эозином, Микромед 3 Люм. Ув. $\times 400$

Таблица 2

Площадь мозгового вещества и ширина зон коркового вещества надпочечников у интактных крыс и у крыс после введения селена

Группа животных	Срок, месяцев	Ширина коры надпочечников, мкм M \pm m	Ширина клубочковой зоны, мкм M \pm m	Ширина пучковой зоны, мкм M \pm m	Ширина сетчатой зоны, мкм M \pm m	Площадь мозгового вещества, мкм ² $\times 10^3$ M \pm m
Интактные	1	814,81 \pm 29,31	187,28 \pm 17,58	414,79 \pm 26,8	184 \pm 11,1	2053,05 \pm 154,4
	2	921,9 \pm 34,2	169,1 \pm 19,1	454,4 \pm 35,9	197,4 \pm 19	1586,99 \pm 122,3
	3	1013,3 \pm 33	296,9 \pm 33,2	643,5 \pm 80,5	241,9 \pm 35,6	1271,19 \pm 104,92
После курсового приема селена	1	987,7\pm38,7*	358,8\pm28,4*	432 \pm 39,9	223,9 \pm 22,5	1391,25\pm116,32*
	2	979,4 \pm 47,1	285,9\pm20,9*	532,7 \pm 25,9	264,1 \pm 31,5	1603,67 \pm 127,62
	3	921,66\pm23,9 *	237,8 \pm 28,4	517,34 \pm 31,4	235,74 \pm 25,8	1318,28 \pm 53,49

Примечание: * $p < 0,01$ – значимость различий показателей у опытных и контрольных крыс.

Ширина коркового вещества надпочечников при приеме селена достоверно превышает таковую у интактных животных через 1 месяц в 1,21 раза ($p < 0,002$), через 2 месяца – не отличается от аналога в интактной группе, а через 3 месяца – меньше показателя интактной группы в 1,2 раза ($p < 0,007$).

Ширина клубочковой зоны коркового вещества надпочечников у животных с введением селена через 1 месяц больше почти в 2 раза ($p < 0,001$), через 2 месяца – в 1,69 раза ($p < 0,003$), через 3 месяца – не отличается от таковой у интактных. Ширина пучковой и сетчатой зон достоверно не отличается от таковой в интактной группе ни на одном сроке.

Через 1 месяц после окончания приема селена наблюдаются уменьшение площади мозгового вещества и увеличение ширины коркового вещества преимущественно за счет клубочковой зоны. Через 3 месяца после окончания приема селена наблюдается уменьшение ширины коркового вещества. По данным литературы, прием селена снижает уровень альдостерона в сыворотке крови, что связано с улучшением окислительного баланса [21]. Возможно, увеличение ширины клубочковой зоны через 1 и 2 месяца происходит за счет нарушения выделения гормона из клеток и скопления его во включениях или накопления в клетках липидов. Появление в этой зоне светлых и крупных эндокриноцитов с включениями в цитоплазме может указывать на снижение секреции гормона.

Корреляционный анализ в группе интактных животных выявил положительную корреляционную связь между шириной коркового вещества и уровнем кортизола ($r = 0,35$, $p < 0,049$), между шириной коркового вещества и СМП ($r = 0,37$, $p < 0,038$) через 2 месяца. Также выявлена сильная положительная корреляционная связь между СМП и уровнем кортизола: через 1 месяц ($r = 0,96$, $p < 0,0001$), через 2 месяца ($r = 0,99$, $p < 0,0001$) и через 3 месяца ($r = 0,88$, $p < 0,0003$).

В группе крыс, принимавших селен, была выявлена слабая отрицательная корреляционная связь между уровнем СМП и шириной корковой зоны через 1 месяц после введения селена ($r = -0,31$, $p < 0,048$), но через 3 месяца наблюдалась положительная корреляционная связь ($r = 0,38$, $p < 0,046$) между СМП и шириной пучковой зоны и отрицательная корреляционная связь между уровнем кортизола и шириной пучковой зоны ($r = -0,65$, $p < 0,0006$). Также выявлена положительная корреляционная связь между СМП и уровнем кортизола через 1 месяц ($r = 0,65$, $p < 0,009$) и через 2 месяца ($r = 0,98$, $p < 0,005$) после окончания приема селена. Таким образом, это указывает на прямую взаимосвязь приема селена с синтезом кортизола надпочечниками и шириной коркового вещества.

Окраска срезов надпочечников полихромным толуидиновым синим по Унна позволяет выявить тучные клетки в капсуле органа. У интактных животных по степени дегрануляции преобладают умеренно дегранулированные и сильно дегранулированные клетки, составляя 33,6% и 34,5% соответственно (рис. 2). ИД у этой группы крыс равняется 1,15.

Через 1 месяц после введения селена доля дегранулированных тучных клеток увеличивается, преобладают умеренно дегранулированные и сильно дегранулированные клетки, составляя 41,8% и 51,1% соответственно. Повышается индекс дегрануляции до 2,29.

Через 2 месяца после окончания приема селена преобладают недегранулированные – 52,9%, а сильно дегранулированные клетки составляют лишь 29,4%. ИД при этом равен 2,23.

Через 3 месяца вновь преобладают умеренно дегранулированные и сильно дегранулированные клетки – 34% и 38,3% соответственно. ИД при этом практически возвращается к значению интактных – 1,44. Количество тучных клеток достоверно не изменяется на всех сроках исследования.

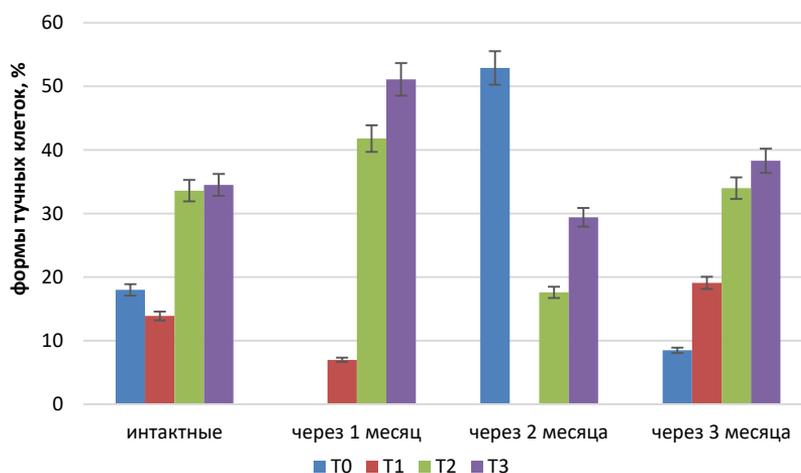


Рис. 2. Динамика распределения тучных клеток по степени дегрануляции в зависимости от срока исследования

Известно, что селен влияет на дегрануляцию тучных клеток [20], что наблюдается в нашем эксперименте через 1 месяц после окончания его приема – увеличивается количество дегранулированных тучных клеток. Однако по мере снижения концентрации селена в крови повышается число недегранулированных форм. Несмотря на то, что тучные клетки являются клетками быстрого реагирования, идентификация их на поздних сроках исследования позволяет изучить влияние селена на дегрануляцию клеток, а также определить динамику качественного состава тучноклеточной популяции при выведении селена из организма.

Постановка иммуногистохимических реакций позволила определить клеточный состав надпочечников и показала, что клетки паренхимы коркового вещества дают положительную реакцию к антигену зрелых мезенхимальных клеток, прежде всего фибробластов – виментину, пролиферативной активности – Ki67, активности апоптоза – p53, и выявляются естественные NK-киллеры CD2.

Имуногистохимическое исследование надпочечников через 1 месяц после окончания приема селена выявляет повышение числа Ki67-экспрессируемых клеток в 1,51 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с аналогом у интактных животных. Через 2 месяца происходит их уменьшение в 2,96 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с таковыми у интактных и в 7 раз ($p < 0,0001$) по сравнению с таковыми в предыдущий срок исследования. Через 3 месяца, наоборот, наблюдается увеличение числа Ki67⁺-клеток по сравнению с аналогом у интактных в 1,68 раза ($p < 0,019$), а по сравнению с таковыми в предыдущий срок – в 2,47 раза ($p < 0,0004$). Динамика Ki67-позитивных клеток указывает на положительное действие приема селена на пролиферацию в надпочечниках.

Число виментин содержащих структур через 1 месяц после окончания приема селена меньше такового в интактной группе в 1,23 раза ($p < 0,0004$), через 2 месяца превышает в 3,77 раза ($p < 0,0001$) показатель интактных и не отличается от аналога в предыдущий срок исследования. Через 3 месяца количество виментин содержащих структур увеличивается в 3,8 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с таковым у интактных животных и в 1,54 раза ($p < 0,0002$) по сравнению с таковым в предыдущий срок (рис. 3). Возможно, подобные

изменения объясняются тем, что прием селена отрицательно воздействует на процессы фиброгенеза в надпочечниках. Увеличение числа виментин положительных структур через 2 и 3 месяца, вероятно, связано с элиминацией микроэлемента из организма крыс.

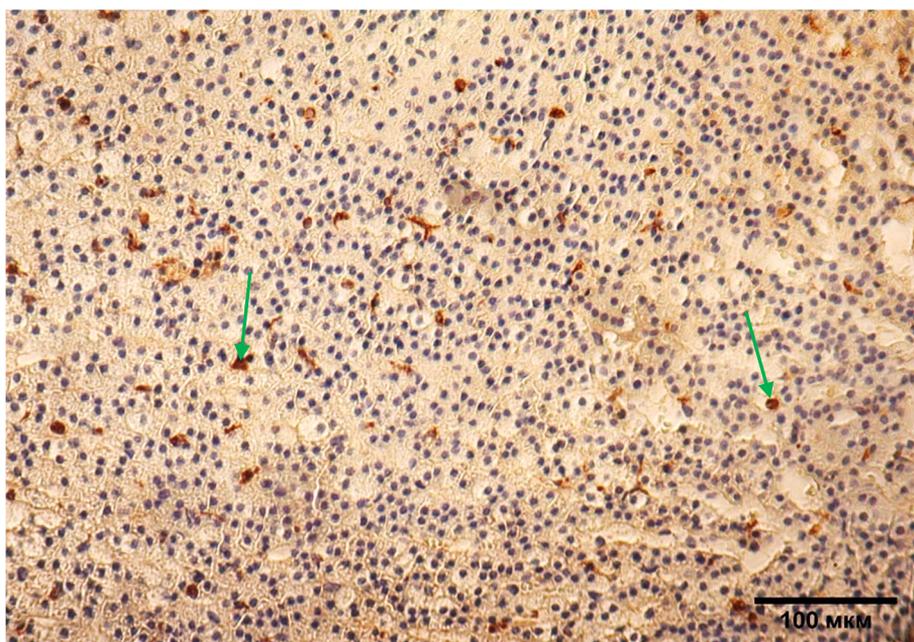


Рис. 3. Надпочечник. Через 3 месяца после окончания курсового приема селена. Экспрессия на виментин в корковом веществе надпочечника (указаны стрелками). Иммуногистохимическая реакция на виментин. Микромед 3 Люм. Ув. $\times 400$

Количество CD2⁺-клеток через 1 месяц не отличается от такового у интактных животных, через 2 месяца в 2 раза ($p < 0,003$) превышает уровень аналога у интактных и в 2 раза ($p < 0,0001$) меньше числа CD2⁺-клеток в предыдущий срок исследования. Через 3 месяца наблюдается увеличение CD2⁺-клеток в 3,56 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с таковыми у интактных крыс и в 1,91 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с аналогичным показателем в предыдущий срок. Изменения указывают на отсроченное влияние приема селена на продолжительность жизни NK-киллеров.

Количество p53 позитивных клеток не менялось через 1, 2 и 3 месяца после окончания приема селена.

Данная динамика иммуногистохимической картины, по нашему мнению, связана с воздействием селена: положительным на пролиферативные процессы, функциональную активность и продолжительность жизни NK-клеток [4], отрицательным влиянием на развитие соединительнотканых элементов и отсутствием воздействия селена на апоптоз клеток надпочечников.

Выводы. Таким образом, нами выявлено, что прием селена в течение 1 месяца приводит к морфофункциональным изменениям надпочечников. Это выражается в снижении совокупного морфометрического показателя, изменении ширины коркового и площади мозгового вещества надпочечников, качественного

состава популяции тучных клеток и иммуногистохимической картины надпочечников, что, вероятно, связано с увеличением адаптивно-приспособительных реакций на фоне приема селена. Корреляционный анализ показал прямую взаимосвязь приема селена с синтезом кортизола надпочечниками и шириной коркового вещества. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что прием препаратов селена не оказывает отрицательного действия на морфологию надпочечников. Это исследование подтверждает результаты трудов других авторов о благоприятном влиянии селена на надпочечники [5, 12, 17]. Так как любое отрицательное воздействие на организм вызывает развитие стресс-реакции, прием препаратов селена в профилактической дозе может быть рекомендован при многих патологиях.

Литература

1. Абдуллаходжаева М.С., Дон А.И., Исраилов Р.И. Состояние надпочечников при постнатально приобретенном иммунодефиците у детей // Журнал теоретической и клинической медицины. 2000. № 1. С. 1–3.
2. Варламова Е.Г. Роль селена и селенопротеинов млекопитающих в регуляции процессов, связанных с раком простаты и функциональными нарушениями яичка // Успехи современной биологии. 2018. № 5. С. 451–461.
3. Линднер Д.П., Поберин И.А., Розкин М.Я., Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток // Архив патологии. 1980. № 6. С. 60–64.
4. Механизмы действия модифицированной наночастицами селена минеральной воды «Красноармейский новый» / А.В. Абрамцова, Г.В. Саагрян, Л.А. Пигунова и др. // Курортная медицина. 2016. № 1. С. 26–34.
5. Опыт применения селена для восстановления функции коры надпочечников у больных, длительно получающих кортикостероиды / Ю.Г. Войцеховская, Г.А. Орликов, Н. Воскресенская и др. // Терапевтический архив. 2013. Т. 85(10). С. 76–78.
6. Полина Ю.В., Наумова Л.И., Шишкина Т.А., Родзаевская Е.Б. Морфофункциональные изменения в надпочечниках крыс в условиях экспериментальной модели иммобилизационного стресса // FORCIPE. 2021. Т. 3(2). С. 32–35.
7. Полубояринов П.А., Елистратов Д.Г., Швец В.И. Метаболизм и механизм токсичности селеносодержащих препаратов, используемых для коррекции дефицита микроэлемента селена // Тонкие химические технологии. 2019. Т. 14(1). С. 5–24.
8. Синдирева А.В., Майданюк Г.А., Голубкина Н.А. Влияние селена на содержание микроэлементов в печени крыс линии Wistar // Вестник Нижневартковского государственного университета. 2018. № 3. С. 103–109.
9. Состояние гипофизарно-тиреоидно-кортикальной системы и морфологической картины щитовидной железы у акклиматизируемых белых немецких улучшенных коз, как диагностические показатели гипомикроэлементоза / П.А. Полковниченко, А.П. Полковниченко, В.И. Воробьев и др. // Ветеринарный врач. 2020. № 1. С. 63–67.
10. Территориальное распределение микроэлемента селена в центральном Тянь-Шане и мониторинг иммунитета / К.А. Собуров, А.А. Вишневецкий, Н.Б. Тюмонбаева и др. // Медицина Кыргызстана. 2015. № 3. С. 39–43.
11. Ушаков С.С., Шманай В.В., Белявский В.Н. Влияние различных препаратов селена на физиологический статус крыс // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2007. № 4. С. 23–25.
12. Федотов Д.Н., Кучинский М.П. Гистохимические аспекты распределения концентрации аскорбиновой кислоты в надпочечнике и коррекция в нем морфологических перестроек у цыплят-бройлеров при применении селеносодержащего препарата // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2016. Т. 52, № 1. С. 95–99.
13. Чумаченко П.А. О совокупном морфометрическом показателе щитовидной железы // Архив патологии. 1980. № 8. С. 84–85.
14. Шестакова Т.П. Использование селена в медицинской практике (обзор литературы) // Российский медицинский журнал. 2017. № 22. С. 1654–1659.
15. Chanoine J.P., Compagnone N.A., Wong A.C., Mellon S.H. Modulation of steroidogenesis by selenium in a novel adrenal cell line developed using targeted tumorigenesis. *Biofactors*, 2001, vol. 14(1–4), pp. 229–238. DOI: 10.1002/biof.5520140129.

16. Kaixin Z., Xuedie G., Jing L et al. Selenium-deficient diet induces inflammatory response in the pig adrenal glands by activating TLR4/NF- κ B pathway via miR-30d-R_1. *Metallomics*, 2021, vol. 13(7):mfab037. DOI: 10.1093/mtomcs/mfab037.
17. Kukreja R., Khan A. Effect of experimental selenium deficiency and its supplementation on lymphoid organs. *Indian J Exp Biol*, 1997, vol. 35(9), pp. 952–956.
18. Minich W.B. Selenium Metabolism and Biosynthesis of Selenoproteins in the Human Body. *Biochemistry*, 2022, vol. 87, pp. 168–177. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297922140139>.
19. Rayman M.P. Selenium intake, status, and health: a complex relationship. *Hormones (Athens)*, 2020, vol. 19(1), pp. 9–14. DOI: 10.1007/s42000-019-00125-5.
20. Safaralizadeh R., Nourizadeh M., Zare A. et al. Influence of selenium on mast cell mediator release. *Biol Trace Elem Res*, 2013, vol. 154(2), pp. 299–303. DOI: 10.1007/s12011-013-9712-x.
21. Sobrino P., Ojeda M.L., Nogales F. et al. Binge drinking affects kidney function, osmotic balance, aldosterone levels, and arterial pressure in adolescent rats: the potential hypotensive effect of selenium mediated by improvements in oxidative balance. *Hypertens Res*, 2019, vol. 42(10), pp. 1495–1506. DOI: 10.1038/s41440-019-0265-z.
22. Uezono Y., Toyohira Y., Yanagihara N. et al. Inhibition by selenium compounds of catecholamine secretion due to inhibition of Ca²⁺ influx in cultured bovine adrenal chromaffin cells. *J Pharmacol Sci*, 2006, vol. 101(3), pp. 223–229. DOI: 10.1254/jphs.fp0060204.
23. Winkel L.H., Johnson C.A., Lenz M. et al. Environmental selenium research: from microscopic processes to global understanding. *Environ Sci Technol*, 2012, vol. 46(2), pp. 571–579. DOI: 10.1021/es203434d.

ТИМОФЕЕВА НАТАЛЬЯ ЮРЬЕВНА – старший преподаватель кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (bla11blabla@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7596-0132>).

Natalia Yu. TIMOFEEVA

THE EFFECT OF SELENIUM ON THE MORPHOLOGY OF THE ADRENAL GLANDS IN MALE RATS

Key words: adrenal glands, selenium, cortisol, mast cells, morphometry, immunohistochemistry.

The relevance of the research and its scientific novelty. Selenium is an important trace element that regulates the functioning of the reproductive, endocrine and immune systems. It has an antioxidant and anti-carcinogenic effect, protects cells and their membranes from the effects of free radicals. The use of selenium leads to an increase in the adaptive-adaptive reactions of the body. The adrenal glands are the first to react to various effects by increased synthesis of catecholamines in acute stress and corticosteroids in chronic stress.

The purpose of this research was to study the structure of intact adrenal glands and the reaction of the adrenal glands to the course administration of selenium.

Materials and methods. The study examined the body weight of rats and adrenal glands, the level of cortisol in the blood, the cumulative morphometric index; the study included computer morphometry of sections stained with hematoxylin and eosin and toluidine blue by Unna, immunohistochemical examination of the adrenal glands in intact rats and rats after selenium administration during 1 month. A correlation analysis was carried out.

Results. Selenium intake was found not to affect the body weight of rats and adrenal glands and the cortisol level in the blood. There is a decrease in the cumulative morphometric index in 1 and 2 months after discontinuation of selenium intake and a decrease in the area of the medulla mainly in 1 month. The width of the cortical substance exceeds the same indicator of intact rats in 1 month due to the glomerular zone and becomes smaller in 3 months. The number of mast cells does not significantly increase, but the percentage of degranulated cells increases 1 month after discontinuation of selenium intake. In 3 months, this indicator approaches the level of intact rats.

Conclusions. It was revealed that against the background of selenium intake, morphofunctional restructuring of the adrenal glands occurs, which is expressed in a change in the thickness of the cortical substance, the area of the medullary substance, the total morphometric index, the proliferative activity of the adrenal tissues and an increase in the number of degranulated mast cells.

References

1. Abdullakhodzhaeva M.S., Don A.I., Israilov R.I. *Sostoyanie nadpochechnikov pri postnatal'no priobretennoy immunodefitsite u detei* [The state of the adrenal glands in postnatally acquired immunodeficiency in children]. *Zhurnal teoreticheskoi i klinicheskoi meditsiny*, 2000, vol., pp. 1–3.
2. Varlamova E.G. *Ro' selena i selenoproteinov mlekoopitayushchikh v regulyatsii protsessov, svyazannykh s rakom prostaty i funktsional'nymi narusheniyami yaichka* [The role of selenium and selenocysteine-containing proteins in mammals in the regulation of processes associated with prostate cancer and functional testicular disorders]. *Uspekhi sovremennoi biologii*, 2018, vol. 5, pp. 451–461.
3. Lindner D.P., Poberin I.A., Rozkin M.Ya., Efimov V.S. *Morfometricheskii analiz populyatsii tuchnykh kletok* [Morphometric analysis of the mast cell population]. *Arkhiv patologii*, 1980, vol. 6, pp. 60–64.
4. Abramtsova A.V., Sagradyan G.V., Piguonova L.A. et al. *Mekhanizmy deistviya modifitsirovannoi nanochastitsami selena mineral'noi vody «Krasnoarmeiskii novyi»* [Action mechanisms of mineral water "Krasnoarmeyskiy new" modified by selenium nanoparticles]. *Kurortnaya meditsina*, 2016, vol. 1, pp. 26–34.
5. Voitsekhovskaia Iu.G., Orlikov G.A., Voskresenskaia N. et al. *Opyt primeneniya selena dlya vosstanovleniya funktsii kory nadpochechnikov u bol'nykh, dlitel'no poluchayushchikh kortikosteroidy* [Experience with selenium used to recover adrenocortical function in patients taking glucocorticosteroids long]. *Ter Arkh.* 2013, vol. 85(10), pp. 76–78.
6. Polina Yu.V., Naumova L.I., Shishkina T.A., Rodzaevskaya E.B. *Morfofunktsional'nye izmeneniya v nadpochechnikakh krysa v usloviyakh eksperimental'noi modeli immobilizatsionnogo stressa* [Morphofunctional changes in the adrenal glands of rats under experimental model of immobilization stress]. *FORCIPE*, 2021, vol. 3(2), pp. 32–35.
7. Poluboyarinov P.A., Elistratov D.G., Shvets V.I. *Metabolizm i mekhanizm toksichnosti selensoderzhashchikh preparatov, ispol'zuemykh dlya korrektsii defitsita mikroelementa selena* [Metabolism and mechanism of toxicity of selenium-containing supplements used for optimizing human selenium status]. *Tonkie khimicheskie tekhnologii*, 2019, vol. 14(1), pp. 5–24.
8. Sindireva A.V., Maidanyuk G.A., Golubkina N.A. *Vliyanie selena na sodержание mikroelementov v pecheni krysa linii Wistar* [Influence of selenium on the content of microelements in the liver of Wistar rats]. *Vestnik Nizhnevartovskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2018, vol. 3, pp. 103–109.
9. Polkovnichenko P.A., Polkovnichenko A.P., Vorob'ev V.I. et al. *Sostoyanie gipofizarno-tireoidno-kortikal'noi sistemy i morfologicheskoi kartiny shchito-vidnoi zhelezy u akklimatiziruemykh belykh nemetskikh uluchshennykh koz, kak diagnosticheskie pokazateli gipomikroelementoza* [The state of the pituitary-thyroid-cortical system and the morphological picture of the thyroid gland in acclimatized white german improved goats as diagnostic indicators of hypomicroelementosis]. *Veterinarnyi vrach*, 2020, vol. 1, pp. 63–67.
10. Soburov K.A., Vishnevskii A.A., Tyumonbaeva N.B. et al. *Territorial'noe raspredelenie mikroelementa selena v tsentral'nom Tyan'-Shane i monitoring immuniteta* [Territorial distribution of the microelement selenium in the central Tien Shan and monitoring of immunity]. *Meditsina Kyrgyzstana*, 2015, vol. 3, pp. 39–43.
11. Ushakov S.S., Shmanai V.V., Belyavskii V.N. *Vliyanie razlichnykh preparatov selena na fiziologicheskii status krysa* [Effect of various selenium supplements on the physiological status of rats]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 2007, vol. 4, pp. 23–25.
12. Fedotov D.N., Kuchinskii M.P. *Gistokhimicheskie aspekty raspredeleniya kontsentratsii askorbinovoi kisloty v nadpochechnike i korrektsiya v nem morfologicheskikh perestroek u tsyplyat-broilerov pri primeneniі selensoderzhashchego preparata* [Histochemical aspects of ascorbic acid concentration distribution in the adrenal gland and correction of its morphological changes in broiler chickens upon application of selenium-containing supplement]. *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoi meditsiny*, 2016, vol. 1(52), pp. 95–99.
13. Chumachenko P.A. *O sovokupnom morfometricheskom pokazatele shchitovidnoj zhelezy* [On the cumulative morphometric index of the thyroid gland]. *Arkhiv patologii*, 1980, vol. 8, pp. 84–85.
14. Shestakova T.P. *Ispol'zovanie selena v meditsinskoj praktike (obzor literatury)* [The use of selenium in medical practice (literature review)]. *Russian Medical Journal*, 2017, vol. 22, pp. 1654–1659.
15. Chanoine J.P., Compagnone N.A., Wong A.C., Mellon S.H. *Modulation of steroidogenesis by selenium in a novel adrenal cell line developed using targeted tumorigenesis*. *Biofactors*, 2001, vol. 14(1–4), pp. 229–238. DOI: 10.1002/biof.5520140129.
16. Kaixin Z., Xuedie G., Jing L. et al. *Selenium-deficient diet induces inflammatory response in the pig adrenal glands by activating TLR4/NF-κB pathway via miR-30d-R_1*. *Metallomics*, 2021, vol. 13(7):mfab037. DOI: 10.1093/mtomcs/mfab037.
17. Kukreja R., Khan A. *Effect of experimental selenium deficiency and its supplementation on lymphoid organs*. *Indian J Exp Biol*, 1997, vol. 35(9), pp. 952–956.
18. Minich W.B. *Selenium Metabolism and Biosynthesis of Selenoproteins in the Human Body*. *Biochemistry*, 2022, vol. 87, pp. 168–177. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297922140139>.

19. Rayman M.P. Selenium intake, status, and health: a complex relationship. *Hormones (Athens)*, 2020, vol. 19(1), pp. 9–14. DOI: 10.1007/s42000-019-00125-5.
20. Safaralizadeh R., Nourizadeh M., Zare A. et al. Influence of selenium on mast cell mediator release. *Biol Trace Elem Res*, 2013, vol. 154(2), pp. 299–303. DOI: 10.1007/s12011-013-9712-x.
21. Sobrino P., Ojeda M.L., Nogales F. et al. Binge drinking affects kidney function, osmotic balance, aldosterone levels, and arterial pressure in adolescent rats: the potential hypotensive effect of selenium mediated by improvements in oxidative balance. *Hypertens Res*, 2019, vol. 42(10), pp. 1495–1506. DOI: 10.1038/s41440-019-0265-z.
22. Uezono Y., Toyohira Y., Yanagihara N. et al. Inhibition by selenium compounds of catecholamine secretion due to inhibition of Ca²⁺ influx in cultured bovine adrenal chromaffin cells. *J Pharmacol Sci*, 2006, vol. 101(3), pp. 223–229. DOI: 10.1254/jphs.fp0060204.
23. Winkel L.H., Johnson C.A., Lenz M. et al. Environmental selenium research: from microscopic processes to global understanding. *Environ Sci Technol*, 2012, vol. 46(2), pp. 571–579. DOI: 10.1021/es203434d.

NATALIA Yu. TIMOFEEVA – Senior Lecturer, Department of Instrumental Diagnostics Department with a Course of Phthysiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (bla11bla-bla@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7596-0132>).

Формат цитирования: Тимофеева Н.Ю. Влияние селена на морфологию надпочечников крыс-самцов [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. – 2023. – № 2. – С. 73–84. – URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2023/2/8>. DOI: 10.47026/2413-4864-2023-2-73-84.