

УДК 576.3/7:591.147.6:599.323.41:533.6.013.8:616-008.9

© Г.А. Мороз, 2011.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НАДПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗАХ КРЫС ПРИ СИСТЕМАТИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК И НА ФОНЕ КОРРЕКЦИИ ГЛУТАРГИНОМ

Г.А. Мороз*ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», кафедра нормальной анатомии (зав. - проф. В.С. Пикалюк), г. Симферополь.*

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE RAT'S SUPRARENAL GLANDS ON SYSTEMATIC EXPOSURE TO HYPERGRAVITY AND UNDER CONDITION OF MANAGEMENT WITH GLUTARGIN

G.A. Moroz**SUMMARY**

Using light and electron microscopy morphofunctional changes in the suprarenal glands of 24 (6 - month) male Wistar rats were examined. Rats were subjected to systematic exposure of hypergravity (9g) during 10 days. Mild circulatory disorders were revealed, resulted to a functional stress of the cortical and medullary endocrine cells and dystrophic-destructive changes in them, which are typical for the stress response to repeated extreme conditions. Using of glutargin to normalize the metabolic and synthetic processes in the suprarenal glands of rats, exposed to systematic hypergravity, provides some corrective effect on both parenchymatous and stromal elements of the gland.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ У НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ПРИ СИСТЕМАТИЧНІЙ ДІЇ ГРАВІТАЦІЙНИХ ПЕРЕВАНТАЖЕНЬ І НА КОРЕКЦІЇ ГЛУТАРГІНОМ

Г.О. Мороз**РЕЗЮМЕ**

За допомогою світлової та електронної мікроскопії вивчено морфофункціональні зміни в надниркових залозах 24 (6-місячних) щурів-самців лінії Вістар, які впродовж 10 днів піддавалися систематичній дії гравітаційних перевантажень (9g). Виявлено помірні циркуляторні порушення, на тлі яких розвиваються як ознаки функціонального напруження кіркових і мозкових ендокриноцитів, так і дистрофічно-деструктивні зміни в них, що характерні для стресс-реакції на екстремальну дію, що повторюється. Застосування глутаргину з метою нормалізації метаболічних і синтетичних процесів у надниркових залозах щурів при систематичній гіпергравітаційній дії забезпечило певний коригуючий ефект як на паренхіматозні, так і на стромальні елементи залози.

Ключевые слова: морфологические изменения, надпочечные железы, крысы, гипергравитация, глутаргин.

Всестороннее изучение адаптации организма к действию внешних факторов, в том числе и к гравитационным перегрузкам, является актуальной медико-биологической проблемой [1, 3, 6, 7]. Известно, что одну из ведущих ролей в осуществлении приспособительных реакций организма в ответ на экстремальные воздействия выполняет эндокринная система и надпочечники, в частности. При гравитационных перегрузках надпочечные железы в тесном взаимодействии с нервной и иммунной системами участвуют в регуляции обменных и энергетических процессов в организме [2, 4, 8]. Однако, в литературе практически отсутствуют данные о морфофункциональных преобразованиях, происходящих в надпочечниках при систематическом гипергравитационном воздействии. Также, остаются не реализованными возможности фармакологической коррекции, возникающих при этом дезадаптивных мор-

фофункциональных изменений.

Цель исследования изучить морфофункциональные преобразования в надпочечниках крыс при повторяющемся воздействии гипергравитации и на фоне применения глутаргина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 24 крысах-самцах линии Вистар шестимесячного возраста. Животные были разделены на 4 серии: две контрольные (К-1 и К-2) и две экспериментальные (ГП и ГЛ), по 6 крыс в каждой. Экспериментальных крыс ежедневно на протяжении 10 дней подвергали воздействию поперечно-направленных гравитационных перегрузок величиной 9 g в виде следующих друг за другом трех "площадок" продолжительностью по 3 мин каждая. Гипергравитация моделировалась путем вращения животных в перифери-

ческих контейнерах центрифуги Ц-2/500 (серия ГП). Крысы серии ГЛ испытывали аналогичные перегрузки на фоне внутрибрюшинного введения глутаргина в дозе 400 мг/кг массы животного [5]. Контрольные крысы серии К-1 не подвергались гравитационным перегрузкам, во время опыта они находились в однотипных пластиковых контейнерах, размещенных на наружной плоскости центрифуги. Крысы серии К-2 так же, как и животные К-1, не подвергались вращению на центрифуге, но за 30 мин до начала опыта им вводили стерильный физиологический раствор в эквивалентной дозе. Показатели серии ГП сравнивали с данными К-1, а серии ГЛ – с К-2. Животных выводили из эксперимента на следующий день после последнего сеанса гипергравитации методом декапитации под эфирным наркозом, производили забор правого надпочечника и его взвешивание. Для нивелирования влияния циркадных ритмов выведение крыс из эксперимента выполняли в одно и то же время суток. Эксперимент был проведен с соблюдением всех действующих биоэтических норм при работе с подопытными животными.

Готовили серийные срезы надпочечников толщиной 4-6 мкм. Для изучения структурных компонентов органа срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону. Для трансмиссионной электронной микроскопии кусочки фиксировали в глутаровом альдегиде на фосфатном буфере и дофиксиро-

вали в 1% растворе четырехоксида осмия. Материал заливали в эпон-812. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме УМПТ-7. Полутонкие срезы, окрашенные толудиновым синим, изучали светооптическим методом. Ультратонкие срезы (30 – 60 нм), после контрастирования по Рейнольдсу просматривали и фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-100 Сумского ПО «Электрон». Детали гистологического строения изучали с помощью цитоморфологического комплекса на базе микроскопа Olympus CX31. В среде морфометрической программы Image J производили вычисления средних величин относительных показателей структурных компонентов органа на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях. Количественные показатели обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Достоверными считали данные с погрешностью меньше 5% ($p < 0,05$ в тексте обозначено *).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После 10-дневного воздействия гравитационных перегрузок у крыс отмечали незначительное (на 11,12%) в сравнении с контролем увеличение относительной массы надпочечных желез. При этом процентное соотношение коркового и мозгового вещества изменялось несущественно, выявленные отклонения показателей от данных контроля были статистически недостоверными (табл. 1).

Таблица 1

Соотношение (в %) зон паренхимы надпочечных желез крыс ($M \pm m$)

Серия опытов	Мозговое в-во	Корковое в-во	Зоны коры		
			клубочковая	пучковая	сетчатая
К-1	12,09±0,56	87,91±1,33	8,37±0,27	77,47±1,71	14,17±0,36
ГП	11,72±0,58	88,28±1,37	7,11±0,10*	79,81±0,50	13,08±0,54
К-2	11,85±0,51	88,15±1,26	9,27±0,31	75,25±1,59	15,48±0,46
ГЛ	11,10±0,45	88,90±0,72	8,88±0,16	76,28±0,62	14,84±0,55

Таблица 1. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

В строме и паренхиме органа выявляли признаки циркуляторных расстройств в виде расширения и полнокровия кровеносных сосудов, стаза и сладжа эритроцитов в них, а в некоторых и диapedез форменных элементов крови. Базальная мембрана капилляров местами утолщена. Капсула выглядела отечной и расслоенной. Соединительнотканые прослойки между тяжами эндокриноцитов во всех слоях паренхимы несколько утолщались, отмечали увеличение в них числа клеток фибробластического дифферона. За счет отека в клубочковой зоне наблюдали дисконформацию кортикоцитов, граница с пучковой зоной стиралась, при этом относительная площадь клубочковой зоны, в сравнении с контролем, уменьшалась на 15,02%*. Адrenокортикоциты содержали эксцентрично расположенные крупные ядра, имели

неравномерно просветленную цитоплазму. Пучковая зона за счет сглаженности ее границ выглядела несколько расширенной. В популяции эпителиальных клеток преобладали темные спонгиозиты, их доля, в сравнении с контрольными данными, возрастала в 2,4 раза* (табл. 2).

Ядра темных клеток имели неправильную (лопастную) форму за счет множественных инвагинаций ядерной оболочки. На несколько утолщенной кариолемме выявляли большое количество ядерных пор. Гетерохроматин конденсировался преимущественно вблизи внутренней ядерной мембраны. Ядрышки (1-2) располагались по периферии ядра. Цитоплазма уплотнена за счет большого количества рибосом и полисом. Выявляли большое количество округлых митохондрий. В боль-

Таблица 2

Соотношение (в %) темных и светлых эндокриноцитов в пучковой зоне коры надпочечников крыс (M±m)

Серия опытов	Темные кортикоциты	Светлые кортикоциты	К-во клеток на 4000 мкм ²
К-1	35,48±1,74	64,52±1,74	12,75±0,44
ГП	84,36±0,70*	15,64±0,70*	11,17±0,52*
К-2	39,99±1,83	60,01±1,83	12,67±0,48
ГЛ	50,35±1,42*	49,65±1,42*	12,92±0,39

Идèîâ÷àíèà. * – $\delta < 0,05$ òðèíèòààèüí èíòòðèý.

шинстве из них кристы дезориентированы и разрушены, в некоторых имели вид трубочек, которые не достигали середины органелл. Отмечали просветление митохондриального матрикса, его набухание, фрагментацию и гомогенизацию. В отдельных участках цитоплазмы митохондрии сливались между со-

бой, образуя вакуоли. Канальцы агранулярной эндоплазматической сети незначительно расширены. В сравнении с контролем, липосом визуализировалось меньше, преимущественно они были средних размеров, однако, при этом их относительная площадь возрастала на 35,71 %* (табл. 3).

Таблица 3

Относительная площадь (в %) ультраструктур спонгиоцитов пучковой зоны коры надпочечных желез крыс (M±m)

Серия опытов	Вид кортикоцита	Ядро	Цитоплазма	Липосомы
К-1	светлый	14,49±0,67	85,51±1,68	8,97±0,32
	темный	10,28±0,36	89,72±0,81	10,96±0,42
ГП	светлый	16,04±0,60	83,96±2,32	12,18±0,47*
	темный	9,58±0,35	90,42±1,27	13,16±0,63*
К-2	светлый	14,69±0,69	85,31±0,69	9,16±0,42
	темный	10,23±0,09	89,77±0,09	10,77±0,36
ГЛ	светлый	15,04±0,67	84,96±1,96	12,03±0,48*
	темный	10,82±0,44	89,18±0,90	11,79±0,48

Идèîâ÷àíèà. * – $\delta < 0,05$ òðèíèòààèüí èíòòðèý.

Между липосомами, митохондриями и эндоплазматической сетью (ЭПС) отмечали тесный контакт. Светлые кортикоциты имели ядра правильной округлой формы с просветленной кариоплазмой. Чаше ядра содержали одно ядрышко. Кариолемма имела большое количество ядерных пор. Цитоплазма большинства клеток местами просветлена за счет мелких вакуолей. Определяли большое количество свободных рибосом и полисом. Митохондрий визуализировалось меньше, чем в темных клетках, они свободно располагались по всей цитоплазме и содержали частично деструктивно измененные тубуло-везикулярные кристы. Канальцы агранулярной ЭПС и цистерны комплекса Гольджи незначительно и неравно-

мерно расширены, в некоторых участках дистрофически изменены и вакуолизированы. Так же, как и в темных эндокриноцитах, отмечали уменьшение числа липидных капель, но они были крупнее, чем в светлых спонгиоцитах и в контроле, что обеспечивало увеличение их относительной площади на 20,05 %*. Липосомы с содержимым средней и низкой электронной плотности имели немногочисленные контакты с митохондриями и канальцами ЭПС. Эндокриноциты сетчатой зоны содержали более крупные, чем в контроле, ядра (на 25,52 %*) и неравномерно просветленную цитоплазму. В митохондриях выявляли дисккомпексацию и частичную деструкцию крист. Канальцы ЭПС местами были расширены и

образовывали небольшие вакуоли. Липидных капель визуализировалось меньше, они имели небольшие размеры. Хромаффинные клетки мозгового вещества содержали достаточно крупные ядра с одним эксцентрично расположенным ядрышком. Кариолемма некоторых эпинефроцитов имела неровные очертания за счет неглубоких инвагинаций. Цитоплазма характеризовалась наличием митохондрий с просветленным матриксом, большинство из них имели частично или полностью дезориентированные и разрушенные кристы. Отмечали расширение и вакуолизацию канальцев гранулярной ЭПС, уменьшение содержания на их внешней мембране рибосом. В цитоплазме выявляли как опустошенные секреторные гранулы, так и гранулы средней и высокой электронной плотности.

В опытах воздействия гравитационных перегрузок на фоне введения глутаргина относительная масса надпочечных желез крыс увеличивалась и превышала контрольные значения на 15,90%*. В паренхиме железы отмечали недостоверное, в сравнении с контролем, перераспределение соотношения коркового и мозгового вещества, а также структурных зон коры (см. табл. 1). Такая морфометрическая характеристика надпочечников положительно отличалась от данных крыс, испытывавших гравитационные перегрузки без применения глутаргина.

Микроскопическое исследование надпочечных желез выявило менее выраженные циркуляторные расстройства, чем в серии опытов с воздействием гравитационных перегрузок без фармакоррекции. Микроциркуляторное русло было полнокровным. Сосуды выглядели расширенными, в некоторых мелких венах и капиллярах отмечали стаз и сладж форменных элементов крови. Капсула органа и соединительнотканые прослойки за счет расслоения и дезориентации волокон были утолщены. Отмечали увеличение в них числа фибробластов. Эндокриноциты клубочковой зоны, в целом, сохраняли аркадное расположение, за исключением субкапсулярной области, где отек сглаживал очертания клубочков. В пучковой зоне коры выявляли фактически равное количество темных и светлых клеток, при этом отклонения от контроля в их соотношении были наименьшими, в сравнении с данными серий опытов гипергравитационного воздействия без защиты и с физической защитой (см. табл. 2). Ядра спонгиоцитов в большинстве своем имели неправильную форму, содержали крупные ядрышки. В цитоплазме возрастало число полисом, выявляли большое количество округлых митохондрий с утолщенной внешней мембраной и преобладанием в них тубулярных крист. Встречали органеллы с дезориентированными и частично разрушенными кристами. Профили канальцев агранулярной ЭПС имели более плотное расположение, местами отмечали расширенные участки. Содержание липидов в цитоплазме адренокортикоцитов воз-

растало. Так, относительная площадь липосом в светлых кортикоцитах превышала контрольные данные на 31,38%* (см. табл. 3). Липосомы имели разные размеры и электронную плотность. В эндокриноцитах сетчатой зоны также отмечали накопление липидных включений. В мозговом веществе снижалось количество дегранулировавших эпинефроцитов, в норэпинефроцитах секреторные гранулы характеризовались большей электронной плотностью, чем в опытах без фармакоррекции.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что в надпочечных железах молодых (6-месячных) крыс при систематическом воздействии гипергравитации развиваются умеренные циркуляторные расстройства (расширение и полнокровие кровеносных сосудов, стаз и сладж эритроцитов, невыраженный отек окружающих тканей), носящие преимущественно компенсаторно-приспособительный характер. Наряду с гемодинамическими сдвигами эпителиальная ткань надпочечников претерпевает морфофункциональные преобразования характерные для стресса. Так, в корковых и мозговых эндокриноцитах присутствуют как признаки функционального напряжения, так и дистрофическо-деструктивные изменения в виде расширения и просветления ядер, увеличения в кариолемме количества ядерных пор, вакуолизации цитоплазмы, дезориентации и деструкции крист митохондрий, расширения канальцев ЭПС, вариабельности количества и размеров липосом. При этом в коре возрастает количество молодых клеток.

Использование глутаргина с целью нормализации метаболических и синтетических процессов в надпочечниках крыс при систематическом гипергравитационном воздействии выявило определенный корригирующий эффект как на паренхиматозные, так и на стромальные элементы железы. Снижается степень регресса морфометрических показателей надпочечников. Укрепляется стенка сосудов. В корковом веществе увеличивается число молодых клеток, в эндокриноцитах возрастает сохранность митохондрий, уменьшается объемная плотность ЭПС, накапливаются липидные включения. Такой характер морфофункциональных преобразований органелл, отвечающих за энергопродукцию и стероидогенез, на фоне увеличения сохранности секреторных гранул в хромаффинных клетках свидетельствует о повышении функциональных резервов эндокриноцитов надпочечных желез и формировании состояния адаптации.

ВЫВОДЫ

1. Циркуляторные расстройства и морфофункциональные признаки функционального напряжения эндокриноцитов надпочечников крыс являются проявлениями компенсаторно-приспособительной реакции организма, вызванной систематическими гравитационными перегрузками.

2. С целью коррекции структурно-функциональных преобразований в надпочечных железах крыс при систематическом гипергравитационном воздействии возможно применение глутаргина.

В перспективе планируется изучение морфо-функциональных особенностей реактивности надпочечников крыс на систематические гравитационные перегрузки в зависимости от возраста животных и кратности воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов В.В. Стресс: Морфобиология коры надпочечников / В.В. Виноградов. – Мн.: Белорусская наука, 1998. – 319 с.
2. Гаевый М.Д. Ишемия головного мозга, вызванная гравитационной перегрузкой / М.Д. Гаевый, Л.М. Аджиенко, Л.М. Макарова [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. – 2000. – Т. 63, № 3. – С. 63-64.
3. Длусская И.Г. Функциональное состояние красной крови при систематическом воздействии перегрузок $+G_z$ / И.Г. Длусская, Р.К. Киселев, Р.А. Вартбаронов [и др.] // Авиакосмич. и экологич. медиц. – 1993. – Т. 27, № 2. – С. 25-31.
4. Краснов И.Б. Роль эндокринных желез в механизме дивергенции пластических процессов и энер-

гетического обмена у крыс при длительном воздействии гипергравитации. Цитологическое исследование / И.Б. Краснов, Е.И. Алексеев, В.И. Логинов // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2006. – Т. 40, № 3. – С. 29–34.

5. Пат. на корисну модель 35792 Україна, МПК А61В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень в експерименті / Пикалюк В.С., Кутя С.А., Мороз Г.О., Коняєва О.І.; винахідники і власники В.С. Пикалюк, С.А. Кутя, Г.О. Мороз, О.І. Коняєва. – № u 200803985; заявл. 31.03.2008; опубл. 10.10.2008, Бюл. № 19, 2008 р.

6. Пашенко П.С. Изменения структуры поджелудочной железы после воздействия на организм гравитационных перегрузок / П.С. Пашенко, И.В. Захарова / Морфология. – 2006. – Т. 129, № 1. – С. 62–67.

7. Стельникова И.Г. Морфологические изменения в надпочечниках при действии на организм многократных двигательных нагрузок / И.Г. Стельникова // Морфологические ведомости. – 2007. – № 1–2. – С. 130–132.

8. Petrak J. Hypergravity-induced increase in plasma catecholamine and corticosterone levels in telemetrically collected blood of rats during centrifugation / J. Petrak, B. Mravec, M. Jurani [et al.] // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2008, N 1148. – P. 201-208.