МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НАДПОЧЕЧНИКАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

Полина Ю.В., Наумова Л.И., Шишкина Т.А., Родзаевская Е.Б.

ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, дом 121

Контактная информация: Шишкина Т.А. — к.м.н доцент кафедры гистологии и эмбриологии. E-mail: suntata@rambler.ru

РЕЗЮМЕ: Надпочечник, относясь к гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе, не только участвует в реализации стресс-лимитирующих реакциях, но и является объектом структурных изменений. На фоне изолированного иммобилизационного стресса в течение 3 часов на протяжении 5 дней, моделированного на 176 белых крысах-самцах линии Wistar, были выявлены изменения во всех структурных компонентах как коркового, так и мозгового вещества. Для анализа морфологического состояния надпочечников гистологические срезы были окрашены гематоксилином и эозином, по Ван Гизон на соединительную ткань, Суданом на содержание липидов, кармином на содержание гликогена, по Браше на состояние синтетической функции. При окрашивании гематоксилином и эозином была выявлена выраженная дилатация стенок сосудов, проявившаяся гиперемией во всех изучаемых структурах надпочечника. Импрегнация нитратом серебра по Футу показала разволокнение и нарушение структуры стромального каркаса — капсулы и внутриорганных перегородок. Анализ состояния зон коркового вещества продемонстрировал изменения на всех участках. Так, относительно общего объема коркового вещества после 5 суток экспериментального воздействия было отмечено уменьшение клубочковой и резкое увеличение пучковой зон, сетчатая зона изменений не показала, при этом в клетках всех зон были определены признаки вакуолизации цитоплазмы, внутриклеточной гидратации и истощение запасов гликогена. При анализе мозгового вещества надпочечников отмечено изменение компонентов микроциркуляторного русла, аналогичное изменениям в корковом веществе, с выраженным полнокровием сосудов. Определена высокая функциональная активность клеточных элементов, проявившаяся эухроматизацией ядер и изменением ядерно-цитоплазматического соотношения. Биохимический анализ концентрации кортизола в крови показал его резкое увеличение по сравнению с контрольной группой, причем к концу 5 суток эксперимента увеличение достигло десятикратного размера. Таким образом, иммобилизационный стресс вызывает стереотипное изменение как структурных компонентов надпочечников, так и его синтетической функции, а степень выявленных изменений свидетельствует о значительных адаптивных ресурсах изучаемого органа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: надпочечник, корковое вещество, мозговое вещество, иммобилизационный стресс, кортизол, крысы.

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES IN THE ADRENAL GLANDS OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF AN EXPERIMENTAL MODEL OF IMMOBILIZATION STRESS

Polina J.V., Naumova L.I., Shishkina T.A., Rodzaevskaya E.B.

Astrakhan Medical State University, 414000, Bakinskaya street, 121

Contact information: Associate Professor of the Department of Histology and Embryology, Shishkina T.A. suntata@rambler.ru

ABSTRACT: The adrenal gland, referring to the hypothalamic-pituitary-adrenal system, not only participates in the implementation of stress-limiting reactions, but also is the object of structural changes. Against the background of isolated immobilization stress for 3 hours for 5 days, modeled on 176 white Wistar male rats, changes were detected in all structural components of both the cortical and medullar substances. To analyze the morphological state of the adrenal glands, histological sections were stained with hematoxylin and eosin, according to Van Gieson for connective tissue, by Sudan for lipid content, by carmine for glycogen content, and according to Brachet for the state of synthetic function. When stained with hematoxylin and eosin, a pronounced dilatation of the walls of the vessels was revealed, which was manifested by hyperemia in all the studied structures of the adrenal gland. Impregnation with silver nitrate according to Foote showed a dissociation and violation of the structure of the stromal framework — the capsule and intraorgan partitions. Analysis of the state of the zones of cortical substance demonstrated changes in all areas. So, relative to the total volume of cortical substance after 5 days of experimental exposure, there was a decrease in glomerular and a sharp increase in the bundle zones, the mesh zone did not show any changes, while signs of cytoplasm vacuolization, intracellular hydration and depletion of glycogen stores were detected in the cells of all zones. When analyzing the adrenal medulla, a change in the components of the microvasculature was noted, similar to changes in the cortical substance, with pronounced vascular congestion. The high functional activity of cellular elements, manifested by euchromatization of nuclei and a change in the nuclear-cytoplasmic ratio, was determined. A biochemical analysis of the concentration of cortisol in the blood showed a sharp increase compared with the control group, and by the end of the 5th day of the experiment the increase reached ten times the size. Thus, immobilization stress causes a stereotypic change in both the structural components of the adrenal glands and its synthetic function, and the degree of detected changes indicates significant adaptive resources of the organ under study.

KEY WORDS: adrenal gland, cortical substance, brain substance, immobilization stress, cortisol, rats.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Термин «стресс» был впервые употреблен канадским физиологом и исследователем Гансом Селье для описания определенного состояния организма, формирующегося на фоне действия различных факторов, выводящий это состояние из равновесия. Было отмечено, что несмотря на разную природу, силу и продолжительность действия стрессоров, в организме возникают однонаправленные однотипные изменения со стороны таких органов, как гипофиз, надпочечники и органы центрального и периферического иммунопоэза. Позже все перечисленные органы вошли в состав так называемой «триады Селье».

Для стресса, как процесса, носящего одновременно и компенсаторно-приспособительный, и патологический характер, абсолютно все органы и клетки нашего организма являются мишенями [2]. Начиная с возбуждения корковых центров, стрессовые факторы повышают активность компонентов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, приводя к формированию комплексного стереотипного изменения во всех без исключения структурах нашего организма, при этом надпочечник является не только органом, мобилизуя энергетические ресурсы орга-

низма и включающим адаптивно-приспособительные реакции, но и, входя в «триаду Селье», одним из морфологических маркеров стресса.

Целью нашего эксперимента явилось исследование гистофункционального состояния надпочечников крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В нашей работе использовалась модель 5-ти дневного 3-х часового иммобилизационного стресса [1, 3]. Эксперимент был проведен на 176 белых крысах самцах линии Wistar в осенне-зимний период. Животные содержались в виварии, в стандартных условиях, при наличии свободного доступа к воде и пище. Было выделено две группы животных: контрольная и экспериментальная. Иммобилизацию проводили на специальной иммобилизационной доске путем растягивания и фиксации конечностей животных в течение 3 часов на протяжении пяти дней. Содержание животных в виварии и проведение экспериментов было выполнено в соответствии ГОСТ 33215–2014 и 33216–2014 — «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений

и организации процедур» и «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Были изучены гистологические срезы надпочечников, окрашенных гематоксилином и эозином, по Ван Гизон на соединительную ткань, Суданом на содержание липидов, кармином на содержание гликогена, по Браше на состояние синтетической функции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В надпочечниках на уровне микроструктурных изменений наблюдалась выраженная дилатация стенок сосудов, проявляющаяся полнокровием всех зон коркового и мозгового вещества. Толщина соединительно-тканной капсулы была статистически достоверно тоньше по сравнению с показателями в контрольной группе, определялись признаки разволокнения и дезорганизации структурных компонентов. При окрашивании нитратом серебра по Футу в аргирофильном стромальном каркасе из ретикулярных волокон выявлялись участки с нарушением и разволокнением изучаемых структур, а также усиление рисунка в сетчатой зоне коркового вещества надпочечников. Было отмечено изменение соотношения зон коры. Во всех зонах коркового вещества клетки имели признаки гидропической дистрофии и вакуолизации.

Толщина клубочковой зоны по сравнению со значениями в контрольной группе имела значительно меньшие показатели, при этом в кортикоцитах этой зоны определялись признаки выраженной вакуолизации цитоплазмы. Было выявлено увеличение относительного объема пучковой зоны как за счет процессов гиперплазии, то есть нарастания количества суданофобных клеток, так и за счет процессов внутриклеточной гидратации. Клеточные элементы пучковой зоны

определялись в состоянии функционального истощения, что проявилось увеличенным по сравнению с контрольной группой содержанием гетерохроматина в ядрах и признаками кариопикноза. Между тяжами вакуолизированных клеток пучковой зоны определялись дилатированные, резко расширенные капилляры с явлениями периваскулярного отека, краевого стояния лейкоцитов и эритродиapedеза. В сетчатой зоне между тяжами glanduloцитов отмечены мелкоточечные кровоизлияния, обнаружены признаки вакуолизации цитоплазмы различной степени выраженности.

Окрашивание кармином показало, что запасы внутриклеточного гликогена резко снижены, что может свидетельствовать об истощении энергетического потенциала клетки и, как следствие, адаптивно-компенсаторных возможностей организма.

При морфологическом анализе мозгового вещества также были выявлено выраженное полнокровие венозных синусов по сравнению с группой контроля. При анализе клеточных элементов мозгового вещества определялись резко эухроматизированные ядра светлых хромафиноцитов. Было отмечено увеличение их ядерно — цитоплазматического соотношения.

Определение уровня кортизола в крови показало его резкое возрастание по сравнению с контрольной группой. Определение взаимосвязи морфофункциональных изменений в надпочечниках с уровнем кортизола в крови лабораторных животных показало, что нарастание относительной массы надпочечников в группах животных с моделированием иммобилизационного стресса по сравнению с контрольной группой соответствует увеличению концентрации гормона при стрессе (табл. 1). Особое внимание было обращено на то, что нарастание относительной массы органа на 25–30% сопровождалось увеличением концентрации кортизола при стрессе в 10 раз.

Таблица 1

Соотношение относительной массы надпочечников (мг/100г) и концентрации кортизола в сыворотке крови (нмоль/л) в контрольной и экспериментальной группах животных.

Параметр	Контрольная группа (n=)	Экспериментальная группа (n=)
Концентрация кортизола в сыворотке крови (нмоль/л)	39±2,70	395±22,83*
Масса надпочечников (Мг/100г)	18,5±1,25	23,2±1,21*

Примечание: * $p \leq 0,05$ относительно контроля

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, иммобилизационный стресс, как стрессовый фактор, вызвал формирование как морфологических, так и функциональных изменений в структурных компонентах надпочечников, соответствующих адаптивным изменениям надпочечников в фазу крайнего напряжения. Учитывая, что действие иммобилизационного стресса, как фактора агрессии, сопровождалось увеличением продукции кортизола в десять раз, при этом относительная масса органа выросла, в среднем, на 30%, (преимущественно за счет пучковой зоны — 11,8% относительно контрольных значений), можно судить о значительных адаптивных и функциональных ресурсах органа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полина Ю.В., Тупикин В.Д., Родзаевская Е.Б., Наумова Л.И. Почки и надпочечники при стрессе и в условиях влияния электромагнитного излучения: морфологические аспекты / Монография. — Саратов, 2012. — С.64.

2. Судаков, К.В. Новые аспекты классической концепции стресса / К.В. Судаков // Бюлл. эксп. биол. мед. — 1997. — Т.123, №2. — С.124–130.
3. Margues, C. The hypothalamic-pituitary-adrenal and glucose responses to daily repeated immobilization stress in rats: individual differences / C.Marguers, R. Nadal, A. Armario // Neuroscience. — 2004. — №3. — P.601–612.

REFERENCES

1. Polina YU.V., Tupikin V.D., Rodzayevskaya Ye.B., Naumova L.I. Pochki i nadpochechniki pri stresse i v usloviyakh vliyaniya elektromagnitnogo izlucheniya: morfologicheskiye aspekty / Monografiya. — Saratov, 2012. — S.64.
2. Sudakov, K.V. Novyye aspekty klassicheskoy kontseptsii stressa / K.V. Sudakov // Byull. eksp. biol. med. — 1997. — T. 123, №2. — S.124–130.
3. Margues, C. The hypothalamic-pituitary-adrenal and glucose responses to daily repeated immobilization stress in rats: individual differences / C.Marguers, R. Nadal, A. Armario // Neuroscience. — 2004. — №3. — R.601–612.