

5. Машталир М.А. Клинические моменты в преподавании анатомии человека: наш и зарубежный опыт // Морфология / - 2007. Т.1, №3. - С.114-116.
6. Давыдова, Л.А. Современные и традиционные подходы к обучению студентов на кафедре нормальной анатомии БГМУ / Л.А. Давыдова, Л.Д. Чайка, О.Л. Жарикова // Интеграция и повышение качества образовательных процессов как фактор модернизации экономики и промышленности союзного государства: Матер. междунаrod. науч.-практ. форума. Минск, окт. 2013 г. Том 2. Современные технологии в повышении качества образовательного процесса. – Минск: БНТУ, 2013. С.26-29.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОРТИКОСТЕРОЦИТОВ КОРЫ НАДПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПРИ РАЗНЫХ СРОКАХ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

*Кварацхелия А. Г.¹, Клочкова С. В.², Алексеева Н. Т.¹

¹Кафедра нормальной анатомии человека Воронежский государственный медицинский университет
им. Н. Н. Бурденко, Воронеж, Россия

²Кафедра анатомии человека Первый Московский медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

*Corresponding author: anna_kvar_83@mail.ru

Abstract

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF THE CELLS OF ADRENAL CORTEX OF RATS AT DIFFERENT STAGES OF ALCOHOLIZATION

Background: Adrenal glands are one of the most important elements of the regulatory system of the human body and the various exogenous and endogenous effects lead to a disruption of the structural and functional characteristics of this organ. Chronic alcohol consumption leads to violations of the complex regulatory systems of humans and animals, and questions the influence of alcohol on the adrenal glands, in spite of the long history of studying the problem of chronic alcohol intoxication until now been sanctified enough.

Material and methods: Were studied adrenal glands of 96 male rats exposed to various terms of alcohol intoxication.

Results: Identified changes that characterize the quantitative characteristics of the cells of different areas of the adrenal cortex, are in close function depending of the parameters reflecting their protein-synthetic activity. It is found that the dynamics of the size of the nucleus and the cytoplasm as well as the width of the zones of the adrenal cortex changes depending on the timing of alcoholization, which is accompanied by phase changes histochemical markers of protein-synthetic activity of cells.

Conclusions: Chronic alcohol consumption causes marked changes in the morphofunctional state of the cortex of the adrenal glands, which are caused by structural and metabolic changes in the cells of the adrenal cortex.

Key words: adrenal cortex, alcohol intoxication, metabolic processes.

Актуальность

Надпочечники являются основным эффекторным звеном гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и их структурно-функциональное состояние свидетельствует об адекватности реагирования адаптивной системы на экзогенные и эндогенные стрессорные воздействия, одним из которых является алкогольная интоксикация [1, 3, 4, 5, 7].

Исследования показали, что стероидные гормоны надпочечных желез, в частности кортикостерон, играет существенную роль в модуляции потребления алкоголя в популяции крыс [6].

Морфологические изменения надпочечников при злоупотреблениях алкоголем изучены недостаточно полно. Данные по этому вопросу неоднозначны и в определенной степени противоречивы.

Установлено, что этанол обладает способностью непосредственно влиять на конформацию белковых молекул, нарушая их способность к функционированию [8].

Несмотря на значительное число работ, посвященных исследованию действия алкоголя на клеточном, тканевом, органном и системном уровнях, недостаточно освещены вопросы влияния хронической алкогольной интоксикации на нейроэндокринную систему, в частности, на морфо-

функциональные особенности коры надпочечных желез у животных, подвергавшихся принудительной алкоголизации

Материал и методы

Исследование проведено на беспородных крысах-самцах массой 200 – 210 г (возраст 1,5 – 2 мес), в количестве 96 животных, распределенных на контрольную и 2 экспериментальные группы животных. Животные экспериментальных групп получали 15-% раствор этилового спирта в режиме свободной дотации, при этом данный источник являлся единственным источником энтерального приема жидкости.

I экспериментальная группа употребляла раствор этилового спирта в течение 60 суток, II группа – в течение 80 суток.

Выбор 15% раствора этанола был обусловлен указаниями на оптимальность данной концентрации для формирования у экспериментальных животных в течение относительно короткого периода изменений, соответствующих хронической алкогольной интоксикации [2].

Для морфологических исследований надпочечных желез одну часть иссеченных тканевых блоков фиксировали в 10% нейтральном формалине, другую – в течение 24 ч в жидкости Буэна. После обезжизивания в спиртах восходящей концентрации и проводки по 1-му и 2-му диоксанам заливали в заливочную смесь «Гистомикс».

Также часть иссеченного материала замораживали в петролейном эфире с использованием жидкого азота. Указанные различия в фиксации материала были обусловлены тем, что нами проводилось как морфометрическое исследование, включавшее кариометрические измерения, изучение ядерно-цитоплазматического индекса (ЯЦИ) и ширины зон коры надпочечных желез, осуществлявшееся при изучении препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, так и исследования гистохимической активности РНК в ядрышке и цитоплазме клеток при использовании гистохимической реакции по Браше, (1942) в модификации Курника, оценка содержания белка в ядре и цитоплазме проводилась с помощью окрашивания сулема-бромфеноловым синим по D.Mazia, P.Brezer, M.Alfert (1953).

Учитывая большое значение гормонов НП в метаболизме жиров, нами проводилось изучение содержания общих липидов с помощью окраски жировым красным «О» и холестерина с помощью качественной оценки содержания в различных зонах коры НП в поляризованном свете после заключения препарата в глицерин-желатин.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1.; применялись традиционные методы описательной статистики с вычислением средних, стандартного отклонения и ошибки среднего (стандартной ошибки).

Результаты и обсуждение

При алкогольной интоксикации в течении 60-ти суток в препаратах надпочечных желез капсула представлена плотной соединительной тканью и не отличается от контроля.

Клетки клубочковой зоны имеют строение, характерное для надпочечных желез групп виварного контроля. Они округлой и неправильно округлой формы, расположены клубочками. Цитоплазма кортикостероцитов умеренно оксифильна с более интенсивной окраской в клетках пучковой зоны.

В пучковой зоне при длительной дотации алкоголя отмечалось увеличение ее ширины, наиболее выраженными данные изменения были во II группе, и данная закономерность имела достоверные отличия по отношению к виварному контролю.

Проведение изучения ширины зон коры надпочечных желез показало, что в группах животных, получавших экзогенную дотацию алкоголя на протяжении 60 и 80-ти суток, отмечалось уменьшение ширины клубочковой зоны, причем оно было более выражено во II группе экспериментальных животных, где изменения были статистически достоверными по сравнению с кон-

трольными группами. Обращает внимание прогрессивно нараставшее стирание отличий границ клубочковой и пучковой зон в обеих экспериментальных группах животных.

Изучение динамики изменения ядерно-цитоплазматического индекса (ЯЦИ) показало достаточно выраженные и статистически достоверные изменения как в I, так и во II группе животных. При этом характер выявленных изменений был разнонаправленным. При длительности приема 60 сут. (I группа) отмечалось увеличение ЯЦИ по сравнению с контрольными группами, в то время как в II группе отмечалось уменьшение ЯЦИ.

Проведение моделирования динамики зависимости ширины зоны коры, размера ядра, цитоплазмы клетки (табл. 1), ЯЦИ и гистохимических маркеров содержания белка в ядре и цитоплазме и РНК в ядрышке и цитоплазме показало, что уменьшение ширины КЗ коры у экспериментальных животных сопровождалось уменьшением площади сечения клетки с одновременным уменьшением содержания белка в цитоплазме, причем данные параметры находились в достаточно тесной корреляционной зависимости.

Кроме того, увеличение длительности приема экзогенного этанола приводило в случае КЗ к последующему уменьшению размеров ядра и ЯЦИ, сопровождавшееся также уменьшением ширины КЗ.

Таблица 1

Абсолютные и относительные показатели ширины зон, площади ядра и цитоплазмы надпочечных желез крыс при алкогольной интоксикации в течение 60-ти и 80-ти суток

Зоны коры	I группа			
	Ширина зоны М±σ (мкм)	Относительная ширина зоны (М±σ) в %	Площадь ядра мкм ²	Площадь цитоплазмы мкм ²
КЗ	75,1±3,8	8,8±1,9	24,03	61,38
ПЗ	668,4±24,2	78,4±4,1	26,6	120,23
СЗ	109,3±9,5	12,8±2,2	19,44	51,1
Ширина коры	853,1±22,6	-	-	-
Зоны коры	II группа			
	Ширина зоны М±s (мкм)	Относительная ширина зоны (М±s) в %	Площадь ядра мкм ²	Площадь цитоплазмы мкм ²
КЗ	65,8±4,0	7,2±1,8	25,08	74,05
ПЗ	742,5±46,7	81,1±4,9	27,64	91,98
СЗ	107,5±13,5	11,7±2,1	23,15	39,04
Ширина коры	915,8±52,4	-	-	-

При сопоставлении длительности экзогенной дотации алкоголя не было выявлено статистически достоверной зависимости данных объемов ядер, в то же время отмечалось статистически достоверное уменьшение ЯЦИ во II группе по сравнению с I группой.

В пучковой зоне при сопоставлении площади ядра, ЯЦИ и содержания общего белка в цитоплазме наблюдается четко выраженная тенденция, подтвержденная данными регрессионного анализа ($r=0,55$, $p=0,04$), к уменьшению ЯЦИ за счет увеличения площади ядра при уменьшении срока алкогольной дотации (рис. 1).

Указанные изменения морфометрических параметров при сопоставлении их с данными гистохимического исследования выявили разнонаправленное изменение содержания общего белка в цитоплазме и ядрах клеток: при увеличении длительности приема алкоголя выявлялось снижение концентрации белка в ядре и увеличение его концентрации в цитоплазме клеток, при этом установлена выраженная тесная корреляционная зависимость между длительностью прие-

ма алкоголя, концентрацией белка и ЯЦИ. Сопоставление значений оптической плотности РНК ядрышка и белка в цитоплазме клеток и ядре показало, что увеличение содержания РНК сопровождалось одновременным увеличением объема ядер и в I группе указанные изменения были менее выраженными, чем во II группе.

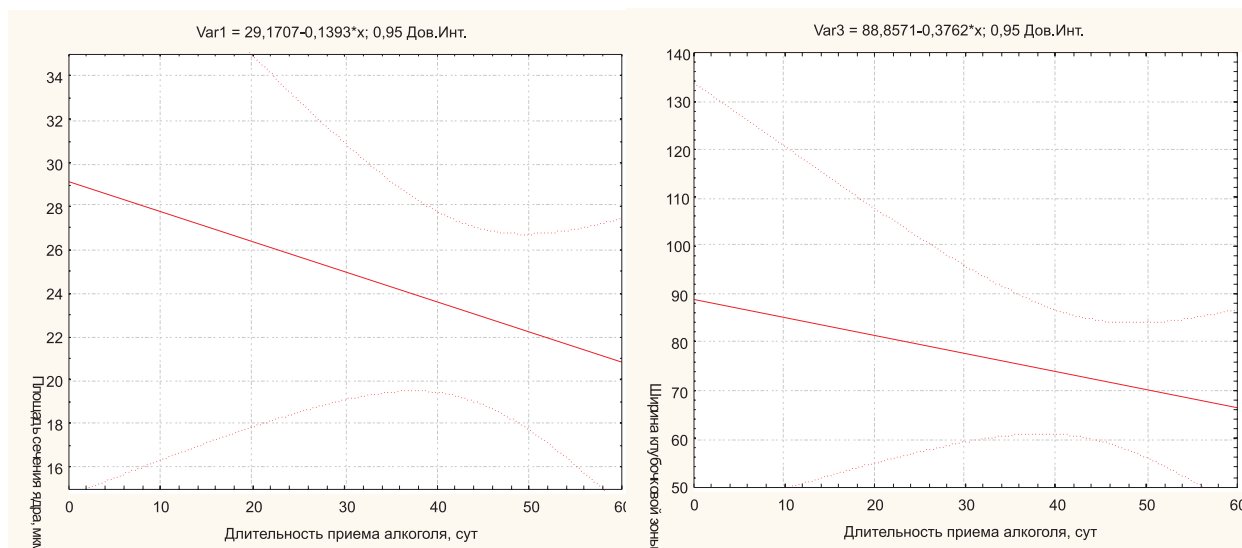


Рис. 1. Результаты моделирования морфометрических параметров клеток клубочковой зоны и ширины клубочковой зоны коры надпочечников от длительности приема алкоголя.

Указанные изменения в определенной степени подтверждались соответствием фазного характера динамики гистохимических параметров оптической плотности РНК и общего белка в структурах ядра и цитоплазмы.

При анализе морфометрических показателей сетчатой зоны (СЗ) установлена тенденция увеличения ее ширины в I и II группах экспериментальных животных на 10,8 и 11,3%, а также отмечалось увеличение вариабельности данного показателя во II группе животных как по сравнению с контролем, так и по сравнению с I группой.

В СЗ при сопоставлении данных кариометрии, ЯЦИ и содержания белка в ядре установлено, что увеличение длительности приема алкоголя сопровождалось уменьшением величины оптической плотности белка в ядре при сравнении ядер близкого поперечного сечения.

Таким образом, сравнительный анализ данных гистохимического и морфометрического исследования позволяет предположить нарастание дистрофических процессов на фоне явлений кариопикноза при длительном приеме этанола.

При изучении характера распределения холестериновых гранул в коре надпочечных желез установлено, что при увеличении длительности приема алкоголя отмечалось изменение характера распределения гранул холестерина по сравнению с контрольной группой. Выявлена тенденция к группировке указанных оптических феноменов с формированием микроглыбок, преимущественно локализовавшихся в клетках пучковой и сетчатой зон. Учитывая отмечавшиеся ранее гистохимические и морфометрические изменения, можно предположить, что в данном случае мы сталкиваемся с накоплением метаболитических предшественников гормонов, которые вследствие нарушенных синтетических процессов в клетке на фоне хронической алкоголизации не претерпели метаболитических изменений из-за отрицательной динамики биохимических процессов.

Распределение общих липидов указывает на появление в I и II экспериментальных группах зон снижения содержания липидов на границе клубочковой и пучковой зон. Вероятно, выявленные изменения свидетельствуют о нарушении репаративных процессов в коре надпочечников за счет снижения функциональной активности зон росткового слоя. Необходимо также подчеркнуть, что сопоставление локализации указанных изменений согласуются с выявленной размытостью границы клубочковой и пучковой зон, отмеченной ранее.

Выводы

Таким образом, хроническая алкогольная интоксикация приводит к значительным стереометрическим изменениям коры надпочечных желез в виде изменений ядерно-цитоплазматических индексов, за счет изменения, как размеров ядра, так и цитоплазмы, причем преобладающей тенденцией являлось уменьшение размеров ядра при увеличении срока приема этанола. В тоже время выявлялись уменьшение содержания белка в ядре клетки с увеличением его концентрации в цитоплазме, и обратная динамика РНК, по данным гистохимических исследований, что вероятно отражает процесс адаптации животных к хроническому приему алкоголя.

Литература

1. Бузуева И. И. Влияние хронического стресса на структуру надпочечника крыс гипертензивной линии нисаг после превентивного лечения теразолином / И.И. Бузуева [и др.] // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2010. – Т. 30, № 4. – С. 56–61.
2. Буров Ю.В. Нейрохимия и фармакология алкоголизма / Ю.В. Буров, Н.Н. Ведерникова. – М.: Медицина, 1985. – 240 с.
3. Колдышева Е.В. Ультраструктурная реорганизация коры надпочечников крыс после общего перегревания организма / Е.В. Колдышева, Е.Л. Лушникова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145, № 5. – С.591–596.
4. Мамедов В.К. Гистохимические изменения в гипоталамусе, гипофизе и надпочечниках при отравлении этиловым спиртом / В.К. Мамедов, Е.Ю. Морозов // Судебно-медицинская экспертиза. – 2004. – Т. 47, № 3. – С. 23–26.
5. Кварацхелия А.Г. Структурная реорганизация коры надпочечников при пероральной принудительной алкогольной интоксикации в сочетании с введением витамина Е / А.Г. Кварацхелия [и др.] // *Журнал анатомии и гистопатологии*. – 2014. Т. 3, № 1. – С. 27 – 32.
6. Климачевский А.В. Патоморфологические изменения надпочечников при алкогольной интоксикации: автореф. дис... канд. мед. наук / А.В. Климачевский. – Новосибирск, 2009. – 26 с.
7. Beishuizen A. Endotoxin and the hypothalamo-pituitary adrenal (HPA) axis / A. Beishuizen, L.G. Thijs // *J.Endotoxin Res.* – 2003. – Vol. 9, № 1. – P. 3–24.
8. Sarkola T. Acute effect of alcohol on androgens in premenopausal women / T. Sarkola [et al.] // *Alcohol Alcohol.* – 2000. – 35(1). – P.84–90.