

УДК: 576.3/7:591.147.6:599.323.41:533.6.013.8:616-08.9

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ В НАДПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗАХ
КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК И ЗАЩИТЕ ОТ ИХ ДЕЙСТВИЯ**

Г.А. МОРОЗ, Е.Ю. ШАПОВАЛОВА, С.А. КУТЯ

*ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» Министерства образования
и науки Российской Федерации, бул. Ленина, д. 5/7, г. Симферополь, 295051, Россия*

Аннотация. Поиск средств смягчения патологического воздействия систематических гравитационных перегрузок на интегрирующие системы организма, такие как эндокринный орган надпочечник, является важной актуальной задачей. *Целью исследования* было изучить структурно-функциональные преобразования в надпочечниках крыс при экспериментальном регулярном влиянии гипергравитации на фоне противодействия жидкостной окружающей среды. *Материал и методы исследования:* проведены серии экспериментов, в которых участвовали 36 самцов крыс линии Вистар, достигших 2-х месячного возраста. Экспериментальную группу животных каждый день вращали в течение 10-ти минут в центрифуге (Ц-2/500) при направлении силы гравитации 9g поперечно к оси тела, сочетая с противоперегрузочной защитой жидкостью. Контрольные крысы не подвергались гравитационным перегрузкам. На 10-е, 30-е и 45-е сутки от начала сеансов вращения крыс декапитировали в условиях наркоза парами эфира. Перед фиксацией извлеченных надпочечных желез было проведено их взвешивание. Структурные особенности органа оценивали при световой микроскопии в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином и по Ван-Гизон. Ультраструктурные характеристики клеток надпочечников изучались с помощью электронного микроскопа ПЭМ-125К Сумского ПО «Электрон». *Результаты и их обсуждение.* В целом в органе наблюдаются дистрофические изменения соотношений структурных элементов и ультраструктурных компонентов клеток. Наиболее значимо эти изменения присутствуют в первые 10 суток гипергравитационных воздействий. В дальнейшем негативные структурно-функциональные преобразования уменьшаются. *Заключение.* Оценивая итоги экспериментов с механической водной защитой от систематического влияния гипергравитации, было обнаружено, что применение предложенного противоперегрузочного устройства никак не гарантирует значимого позитивного результата в поддержании нормальной структуры и функции надпочечных желез крыс.

Ключевые слова: надпочечная железа, крыса, морфологические изменения, гипергравитация, защита.

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL TRANSFORMATIONS IN THE ADRENAL GLANDS
OF THE RATS UNDER THE INFLUENCE OF GRAVITATION OVERLOADS
AND PROTECTION FROM THEIR ACTION**

G.A. MOROZ, YE.YU. SHAPOVALOVA, S.A. KUTYA

*Crimean Federal V.I. Vernadsky University of the Ministry of Science and Education
of the Russian Federation, Lenin Str., 5/7, Simferopol, 295051, Russia*

Abstract. The search for means of mitigating the pathological impact of systematic gravitation overloads on the integrative systems of the body, such as the endocrine organ of the adrenal gland, is an important actual task. The aim of the study was to study the structural and functional transformations in the adrenal glands of rats with the experimental regular effect of hypergravitation against the background of the counteraction of the liquid environment. *Material and methods.* A series of experiments were conducted in which 36 male Wistar rats who had reached the age of 2 months participated. The experimental group of animals was rotated every day for 10 minutes in a centrifuge (C-2/500) with the direction of the gravitational force 9g transverse to the axis of the body, combined with anti-overload protection of the liquid. Control rats were not subjected to gravitational overloads. On the 10th, 30th and 45th days from the beginning of rotation sessions, rats were decapitated under ether conditions with ether vapor. Before fixing the extracted adrenal glands, they were weighed. Structural features of the organ were assessed by light microscopy in sections stained with hematoxylin and eosin and by Van-Gieson. The ultrastructural characteristics of adrenal cells were studied with the help of the electron microscope PEM-125K Sumy PO "Electron". *Results.* In general, the organ is observed dystrophic changes in the ratio of structural elements and ultrastructural components of cells. Most significant, these changes are present in the first 10 days of hypergravitation effects. Further negative structural and functional transformations decrease. *Conclusion.* Estimating the results of experiments with mechanical water protection against the systematic influence of hypergravitation, it was found that the application of the proposed anti-overload device does not in any way guarantee a significant positive result in maintaining the normal structure and function of the adrenal glands in rats.

Key words: adrenal gland, rat, morphological changes, gravitation, protection.

Приспособления организма к длительному воздействию повышенной силы тяжести изучено сравнительно мало и считается важной медико-биологической задачей [5]. При гравитационных перегрузках происходит изменение функционирования органов обоих интегрирующих систем организма, среди которых и надпочечники. Вместе они обеспечивают важные метаболические и катаболические процессы, а также выработку энергии [1, 6]. Нашими предшествующими трудами подтверждено, то что под влиянием регулярных перегрузок в надпочечниках лабораторных грызунов происходит морфологическая перестройка коркового вещества, заключающегося в дистрофии эндокринных клеток при патологическом изменении кровотока в снабжающих орган кровеносных сосудах за счет развившейся стрессовой реакции. Присутствие таких изменений, их выраженность и последовательность напрямую зависит от повторяемости экспериментальных гравитационных воздействий и сроков постнатальной жизни крыс [2, 3]. Но не проясненными остаются характерные черты трансформации надпочечных желез на повторяющиеся гравитационные перегрузки в условиях применения различных видов защиты и в частности физического способа.

Цель исследования – изучить структурно-функциональные преобразования в надпочечниках крыс при экспериментальном регулярном влиянии гипергравитации на фоне противодействия жидкостной окружающей среды.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели были проведены серии экспериментов, в которых участвовали 36 самцов крыс линии Вистар, достигших 2-х месячного возраста. Они составили две группы – *контрольную группу* (КГ) и *экспериментальную группу* (ЭГ). Опытных животных каждый день вращали в течение 10-ти минут в центрифуге (Ц-2/500) при направлении силы гравитации 9 g поперечно к оси тела, сочетая с противоперегрузочной защитой жидкостью. Устройство для противоперегрузочной защиты было разработано в нашей лаборатории, основываясь на принципах эффективной защиты развивающегося плода в матке от механических и компрессионных травм амниотической жидкостью [4]. Контрольные крысы не подвергались гравитационным перегрузкам. На 10-е, 30-е и 45-е сутки от начала сеансов вращения крыс декапитировали в условиях наркоза парами эфира, что согласуется с принципами гуманного обращения с лабораторными животными.

Перед фиксацией извлеченных надпочечных желез было проведено их взвешивание. Для световой микроскопии железу фиксировали 10% формалином, заливали в парафин и нарезали на микротоме серии срезов толщиной 5-6 мкм. Окраску производили сочетанием красителей гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизон, что позволило оценить структурные особенности органа.

Для трансмиссионной электронной микроскопии кусочки фиксировали в глютаровом альдегиде на фосфатном буфере и дофиксировали в 1% растворе четырехокси осмия. Материал заливали в эпон-812. Полутонкие срезы, окрашенные толуидиновым синим, изучали светооптическим методом. Ультратонкие срезы (30-60 нм), после контрастирования по Рейнольдсу просматривали и фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-125К Сумского ПО «Электрон». Элементы гистологических структур измеряли при поддержке цитоморфологического ансамбля на основе микроскопа *Olympus SX31*. На основе компьютерной программы *ImageJ* 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. Уже после десяти дней регулярных гравитационных перегрузок с противоперегрузочной защитой относительный вес надпочечников возрастал в 2,3 раза*, по отношению к контролю.

При микроскопическом исследовании надпочечников обнаруживали небольшое плетора, расширение сосудов микроциркуляторного русла и стаз в подкапсулярных венулах и посткапиллярах. Около небольших артериол и капилляров отмечали отек и присутствие эритроцитов, свидетельствующих о диапедезном их пропотевании через стенку сосудов. Капсула железы рыхлая, волокнистые структуры набухшие, лежат хаотично, имеются признаки плазматического пропитывания. Рыхлая соединительная ткань между эпителиальными тяжами коркового вещества надпочечника также рыхлая и отечная.

На срезах железы площадь коркового вещества возросла на 7,31%*, мозгового вещества – уменьшалась на 50,24%* (табл. 1).

Площадь клубочковой зоны надпочечника стала больше на 21,05%*, а пучковой зоны – на 11,19%*, в то время как сетчатая зона уменьшилась на 40,95%*. Архитектоника клубочковой зоны нарушилась благодаря нерезкому отеку и потери четких очертаний клубочков. Клеточные ядра стали неправильной формы с инвагинациями кариолеммы. Соотношение светлых и темных клеток пучковой зоны коры сдвинулось в сторону светлых клеток. Их количество увеличилось в 2,89 раза* по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Ультраструктурные характеристики светлых клеток также значительно отличаются от контроля. Так в цитоплазме присутствуют митохондрии в признаках отека и разрушения крист, много липидных включений (табл. 3), расширены каналцы эндоплазматической сети. Относительная площадь их ядер уменьшалась на 33,11%*. Гетерохроматин преимущественно локализуется в

виде глыбок неправильной формы под кариолеммой. Эухроматин светлый и занимает почти весь объем ядер. Ядрышки единичны, компактны и имеют овально-округлую форму.

Таблица 1

Средняя площадь зон коркового вещества надпочечников крыс ($M \pm m$) в мкм

Группы экспериментов	Мозговое вещество	Корковое вещество	Зоны коры		
			клубочковая	пучковая	сетчатая
10 суток					
КГ	12,59±0,14	86,41±1,15	9,37±0,27	68,99±0,93	22,02±0,47
ЭГ	5,98±0,22*	93,85±0,71*	11,13±0,50*	76,68±0,40*	13,42±0,51*
30 суток					
КГ	9,69±0,12	90,11±1,25	9,36±0,13	77,02±1,57	14,84±0,43
ЭГ	8,44±0,41*	91,67±0,78	8,45±0,22*	80,75±1,10*	11,03±0,36*
45 суток					
КГ	10,94±0,16	88,55±0,20	10,97±0,54	78,01±0,92	19,95±0,64
ЭГ	12,36±0,26	87,93±0,69	15,46±0,38*	73,75±1,09*	12,99±0,57

Примечание: * – $p < 0,05$ относительно контроля

Таблица 2

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

Серия опытов	Темные кортикоциты	Светлые кортикоциты	К-во клеток на 4000 мкм ²
10 дней			
КГ	74,15±1,28	26,32±1,26	18,44±0,46
ЭГ	25,23±0,55*	74,73±0,61*	19,28±0,71
30 дней			
КГ	63,24±1,16	36,27±1,62	11,39±0,54
ЭГ	57,03±1,60*	41,63±0,46*	14,81±0,18*
45 дней			
КГ	54,88±0,69	45,78±0,84	12,53±0,29
ЭГ	53,21±0,35	46,51±0,39	12,77±0,25

Примечание: * – $p < 0,05$ относительно контроля

Эндокринные клетки сетчатой зоны коры морфофункционально напряжены и демонстрируют ультраструктурные признаки дистрофических изменений. В глубоких слоях сетчатой зоны граничащих с мозговым веществом синусоидные гемокapилляры полнокровны, расширены, вокруг них межклеточное вещество дезорганизовано за счет отека.

Мозговое вещество менее всего затронуто воздействием перегрузок. Однако на электроннограммах изредка присутствуют сосуды микроциркуляторного русла без кровяных элементов. В светлых и темных медуллярных клетках имеются признаки нарушения организации канальцев гранулярной ЭПС и пластинчатого комплекса, что свидетельствует о депрессии секреторной функции.

По завершении 30-дневного эксперимента в надпочечных железах развивались циркуляторные расстройства компенсаторно-приспособительного характера. Однако, при этом, относительная масса надпочечника стала больше (в 2,9 раза*), если сравнивать с контрольной группой. Скорее всего это произошло из-за более медленного набора веса экспериментальными крысами, подвергавшимися систематическому влиянию гипергравитации. Вместе с тем, корреляции между основными структурными компонентами надпочечника по сравнению с предыдущим экспериментальным сроком в 10 суток подверглись меньшему изменению относительно контроля (табл. 1). Доля темных аденокортикоцитов пучковой зоны стала больше (табл. 2), а светлые потеряли часть липидных включений (табл. 3). Причиной обеднения светлых клеток липидными гранулами может быть как увеличение секреции стероидных гормонов, так и усиление реакции перекисного окисления липидов в результате гравитационного стресса.

Относительная площадь (в %) ультраструктур спонгиозитов пучковой зоны коры надпочечных желез крыс ($M \pm m$)

Серия опытов	Вид кортикоцита	Ядро	Цитоплазма	Липосомы
10 дней				
КГ	светлый	21,55±1,12	78,42±1,83	2,88±0,06
	темный	14,71±0,45	85,29±2,73	4,58±0,12
ЭГ	светлый	14,32±0,11*	85,94±0,26*	7,36±0,75*
	темный	13,49±0,22	86,41±0,48	6,29±0,14*
30 дней				
КГ	светлый	10,78±0,44	89,03±1,35	5,22±0,16
	темный	7,57±0,22	92,28±1,56	5,43±0,21
ЭГ	светлый	18,81±0,14*	81,47±1,44*	5,07±0,09
	темный	11,16±0,32*	88,69±0,77	6,89±0,16*
45 дней				
КГ	светлый	13,73±0,47	86,31±1,03	5,61±0,26
	темный	9,85±0,24	90,02±1,22	6,49±0,06
ЭГ	светлый	12,43±0,27	87,29±1,63	6,27±0,04
	темный	9,08±0,13	90,78±0,54	7,10±0,11

Примечание: * – $p < 0,05$ относительно контроля

После 45-дневного эксперимента относительная масса надпочечных желез крыс недостоверно снижалась в сравнении с контролем (на 9,04%). При этом циркуляторные сдвиги и морфофункциональные преобразования структурных компонентов паренхимы органа по направленности и степени выраженности были близкими изменениям в надпочечниках крыс 30-дневной серии опытов.

Заключение. Оценивая итоги экспериментов с механической водной защитой от систематического влияния гипергравитации, было обнаружено, что применение предложенного противоперегрузочного устройства никак не гарантирует значимого позитивного результата в поддержании нормальной структуры и функции надпочечных желез крыс.

Литература

1. Краснов И.Б., Алексеев Е.И., Логинов В.И. Роль эндокринных желез в механизме дивергенции пластических процессов и энергетического обмена у крыс при длительном воздействии гипергравитации. Цитологическое исследование // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2006. Т. 40, № 3. 29–34.
2. Мороз Г.А. Ультраструктурные изменения в пучковой зоне коры надпочечников крыс при систематическом воздействии гипергравитации // Галицкий лікарський вісник. 2010. Т. 17, № 2, ч. 2. С. 78–80.
3. Мороз Г.А., Пикалюк В.С., Кирсанова Н.В. Морфологические изменения в надпочечниках крыс под воздействием поперечно-направленных гравитационных перегрузок // Таврич. медико-биол. вестн. 2005. Т. 8, № 3. С. 81–84.
4. Пикалюк В.С., Мостовой О.С. Устройство для защиты биологических объектов при гравитационных перегрузках. Патент Украины № 200509257 заявл. 3.10.2005; опубл. 15.03.2006.
5. Пащенко П.С., Захарова И.В. Изменения структуры поджелудочной железы после воздействия на организм гравитационных перегрузок // Морфология. 2006. Т. 129, № 1. С. 62–67.
6. Petrak J., Mravec B., Jurani M. Hypergravity-induced increase in plasma catecholamine and corticosterone levels in telemetrically collected blood of rats during centrifugation // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2008. № 1148. P. 201–208.

References

1. Krasnov IB, Alekseev EI, Loginov VI. Rol' jendokrinnih zhelez v mehanizme divergencii plasticheskikh processov i jenergeticheskogo obmena u krysv pri dlitel'nom vozdejstvii gipergravitacii. Citologicheskoe issledovanie [The role of endocrine glands in the mechanism of divergence of plastic processes and energy metabolism in rats with prolonged exposure to hypergravity. Cytological study]. Aviakosmicheskaja i jekologicheskaja medicina. 2006;40(3):29-34. Russian

2. Moroz GA. Ul'trastrukturnye izmeneniya v puchkovej zone kory nadpochechnikov kryс pri sistemati-cheskom vozdeystvii gipergravitacii [Ultrastructural changes in the fascicular zone of the adrenal cortex of rats with systematic exposure to hypergravity]. Galic'kij likkars'kij visnik. 2010;17(2, 2):78-80. Russian

3. Moroz GA, Pikaljuk VS, Kirsanova NV. Morfologicheskie izmeneniya v nadpochechnikah kryс pod vozdeystviem poperechno-napravlennyh gravitacionnyh peregruzok [Morphological changes in the adrenal glands of rats under the influence of transversely directed gravitational overloads]. Tavrich. mediko-biol. vestn. 2005; 8(3):81-4. Russian

4. Pikaljuk VS, Mostovoj OS. Ustrojstvo dlja zashhity biologicheskikh ob#ektov pri gravitacionnyh peregruzkah [Device for protecting biological objects during gravitational overloads]. Patent of Ukraine №200509257 zajavl. 3.10.2005; opubl. 15.03.2006. Russian

5. Pashhenko PS, Zaharova IV. Izmeneniya struktury podzheludochnoj zhelezy posle vozdeystvija na organizm gravitacionnyh peregruzok [Changes in the structure of the pancreas after an impact on the body of gravitational overloads]. Morfologija. 2006; 129(1).62-7. Russian

6. Petrak J, Mravec B, Jurani M. Hypergravity-induced increase in plasma catecholamine and corticosterone levels in telemetrically collected blood of rats during centrifugation. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2008;1148:201-8.

Библиографическая ссылка:

Мороз Г.А., Шаповалова Е.Ю., Кутя С.А. Структурно-функциональные преобразования в надпочечных железах крыс под влиянием гравитационных перегрузок и защите от их действия // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2018. №6. Публикация 3-14. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-6/3-14.pdf> (дата обращения: 13.12.2018). *

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-6/e2018-6.pdf>