

УДК 612.1/8

ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ КОРЫ И МОЗГОВОГО СЛОЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ У КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ОГРАНИЧЕНИИ ПОДВИЖНОСТИ

Чернов Иван Петрович, доктор медицинских наук, профессор, Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 390013, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9, chervan1941@mail.ru

Воронина Раиса Константиновна, старший преподаватель, Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 390013, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9, raisa.voronina58@yandex.ru

Чернов Михаил Иванович, студент, Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 390013, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9, chervan1941@mail.ru

В эксперименте на растущих крысах – самцах изучали в динамике двухмесячного ограничения подвижности гистохимические и морфометрические показатели активности хромоаффинной ткани надпочечников. Выявленные изменения исследуемых показателей авторы связывают не только со стрессом на условия эксперимента, но и глубокими структурно-метаболическими нарушениями в мышечной ткани и в других тканях и органах обездвиженного организма.

Ключевые слова: гипокинезия, крысы, надпочечники, морфометрия, гистохимия

HYSTOPHYSIOLOGY OF THE CORTEX AND THE BRAIN LAYER OF THE ADRENAL IN RATS WITH PROLONGED LIMITATION OF MOBILITY

Chernov Ivan P., D. Sc. (Medicine), Professor, Ryazan State Medical University named after Academician I. P. Pavlov of the Ministry of Health of the Russian Federation, 9 Vysokovoltnaya St, Ryazan, 390013, Russian Federation, chervan1941@mail.ru

Voronina Raisa K., Senior Lecturer, Ryazan State Medical University named after Academician I. P. Pavlov of the Ministry of Health of the Russian Federation, 9 Vysokovoltnaya St, Ryazan, 390013, Russian Federation, raisa.voronina58@yandex.ru

Chernov Mikhail I., student, Ryazan State Medical University named after Academician I. P. Pavlov of the Ministry of Health of the Russian Federation, 9 Vysokovoltnaya St, Ryazan, 390013, Russian Federation, chervan1941@mail.ru

In an experiment on growing male rats, histochemical and morphometric indicators of the activity of chromaffin adrenal tissue were studied in the dynamics of two – month restriction of mobility. The authors associate the revealed changes in the studied parameters not only with stress on the experimental conditions, but also with deep structural and metabolic disorders in the muscle tissue and in other tissues and organs of the immobilized body.

Keywords: hypokinesia, rats, adrenal glands, morphometry, histochemistry.

Анализ данных литературы показывает, что мышечная система животных с её огромным рецепторным полем оказывает мощное воздействие на все процессы постнатального онтогенеза [1]. В то же время в современном обществе нарастает тенденция к снижению физической активности людей и возрастает влияние гипокинезии. Последняя вызывает серьёзные нарушения обмена веществ, структуры и функций большинства органов и систем организма [4; 12]. Существенную роль в развитии гипокинетического синдрома, особенно на ранних этапах, играет стресс, вызванный изоляцией и резким ограничением подвижности, активизирующих адренергические структуры головного мозга, что является причиной запуска симпато-адреналовой и гипофиз-адреналовой систем [9; 11]. С гистологической точки зрения среди данных литературы доминируют исследования системы «гипоталамус – гипофиз – надпочечники», в то время как симпато-адреналовой системе морфологи уделяли значительно меньше внимания, чем физиологи и биохимики [7; 8].

Целью данной работы было изучение структурных изменений в коре и хромаффинной ткани надпочечников крыс на этапах длительной гипокинезии.

Материалы и методы исследования

Опыты проводили на 50 беспородных крысах-самцах массой тела в 130–150 г. Гипокинезия достигалась непрерывным длительным содержанием животных в индивидуальных клетках-пеналах из органического стекла. В течение двухмесячного эксперимента осуществляли контроль массы тела и внутренних органов. Материал для гистологических и гистохимических исследований получали при соблюдении требований гуманного отношения к животным. Сроки исследований выбраны с учётом изменений поведенческих реакций и массы тела животных. Они пришлись на 1, 3, 10, 20, 30, 45 и 60 сутки эксперимента. О динамике развития стресса в условиях ограничения подвижности судили по изменениям абсолютной и относительной массы гипофиза и надпочечников, содержанию липидов в замороженных срезах надпочечников, выявляемых люминесцентно-микроскопическим методом Берга, определению активности сукцинатдегидрогеназы по Нахласу. В мозговом слое надпочечников оценивали состояние микроциркуляторного звена кровообращения, содержание катехоламинов в хромаффинной ткани, выявляемых по методике Хилларпа и Хекфельта в модификации В. В. Яглова [13].

Активность щелочной и кислой фосфатаз определяли по Гомори [6]. Морфометрическими тестами гистофизиологической активности адреналокитов и норадреналокитов мозгового слоя надпочечников были проведены кариометрические измерения и подсчёты соотношения светлых и тёмных клеток в восьми полях зрения препаратов от каждого из шести животных в течение срока исследования. Все измерения и подсчёты обрабатывали методами вариационной статистики [10].

Результаты исследований и их обсуждение

Помещение крыс в индивидуальные клетки-пеналы вызывало у них в первые сутки признаки возбуждения. Животные становились агрессивными, пытались освободиться, не поедали корм. Позже возбуждение ослабевало и сменялось угнетением, которое наблюдалось в первые 10 суток на фоне диареи и похудения. В дальнейшем, между 10 и 30 сутками у опытных животных постепенно развивалась адаптация к новым условиям, они становились опрятными, более охотно поедали корм, прибавляли в весе. К середине второго месяца и, особенно, к его концу общее состояние опытных крыс вновь ухудшалось. Они становились вялыми, впадали в оцепенение, рефлексy их были заторможены. Изменение массы тела, гипофиза и надпочечников представлены в таблице 1.

Таблица 1

Изменения массы тела, гипофиза и надпочечников у опытных и контрольных крыс в течение двухмесячного ограничения подвижности

Сроки, наблюдения, сут.	Группы животных	Масса тела, м ± m	P	Масса гипофиза, м ± m	P	Масса надпочечников, м ± m	P
Исходный период	Опыт	150 ± 1,4	> 0,5	4,9 ± 0,06	> 0,5	15,1 ± 0,10	> 0,05
	Контроль	150 ± 1,9		4,7 ± 0,03		14,9 ± 0,21	
1	Опыт	141 ± 1,0	< 0,01	5,0 ± 0,05	< 0,01	19,8 ± 0,44	< 0,001
	Контроль	150 ± 1,7		4,7 ± 0,03		14,6 ± 0,18	
3	Опыт	133 ± 0,9	< 0,001	6,1 ± 0,22	< 0,001	21,2 ± 0,31	< 0,001
	Контроль	153 ± 1,9		4,9 ± 0,05		14,0 ± 0,11	
5	Опыт	135 ± 1,2	< 0,001	6,0 ± 0,12	< 0,001	19,3 ± 0,21	< 0,001
	Контроль	155 ± 2,3		4,7 ± 0,03		15,0 ± 0,11	
10	Опыт	149 ± 1,5	< 0,001	5,1 ± 0,07	> 0,05	18,8 ± 0,09	< 0,01
	Контроль	165 ± 1,7		4,9 ± 0,06		15,0 ± 0,11	
20	Опыт	160 ± 1,8	< 0,001	5,0 ± 0,10	> 0,05	17,0 ± 0,54	> 0,05
	Контроль	180 ± 2,0		4,9 ± 0,08		15,0 ± 0,11	
30	Опыт	167 ± 1,9	< 0,001	5,2 ± 0,05	> 0,05	16,4 ± 0,22	> 0,5
	Контроль	191 ± 2,3		4,9 ± 0,09		15,5 ± 0,18	
45	Опыт	153 ± 1,5	< 0,001	4,8 ± 0,04	> 0,01	17,1 ± 0,31	> 0,5
	Контроль	230 ± 4,2		5,1 ± 0,01		16,0 ± 0,42	
60	Опыт	148 ± 2,6	< 0,001	3,1 ± 0,21	< 0,001	12,5 ± 0,17	< 0,001
	Контроль	262 ± 5,6		5,2 ± 0,09		16,2 ± 0,27	

Примечание: P – значимость различий показателей опытных и контрольных крыс.

Снижение исходной массы тела у опытных крыс было максимальным на 3 сут., к 10 сут. она восстанавливалась до начального уровня и удерживалась на этом показателе до конца первого месяца ограничения подвижности. В группе контрольных животных масса тела увеличивалась непрерывно. На втором месяце эксперимента масса тела повторно уменьшалась по отношению к исходному уровню (45, 60 сут. наблюдения), в то же время масса тела контрольных крыс продолжала увеличиваться и почти вдвое превысила показатели опытных животных.

При анализе изменений массы гипофиза и надпочечников существенное увеличение этих показателей наблюдаем в первые 5 сут. опыта, затем отмечали тенденцию к нормализации (10–30 сут.) и последующее понижение к конечному сроку исследования.

Кариометрический анализ клеток пучковой зоны коры и мозгового слоя надпочечников представлен в таблице 2.

Таблица 2

Изменения средних значений объема ядер (в $\mu\text{м}^3$) у обездвиженных и интактных крыс в течение двухмесячного эксперимента ($M \pm m$)

Сроки наблюдения, сут.	Группы животных	Пучковые зоны	P	Мозговой слой	P
1	Опыт	$72,8 \pm 3,05$	< 0,05	$96,4 \pm 2,25$	< 0,05
	Контроль	$61,9 \pm 1,14$		$86,7 \pm 1,10$	
3	Опыт	$87,3 \pm 1,56$	< 0,001	$110,0 \pm 3,15$	< 0,001
	Контроль	$61,9 \pm 1,14$		$86,0 \pm 1,10$	
5	Опыт	$78,2 \pm 2,16$	< 0,001	$98,4 \pm 3,50$	< 0,001
	Контроль	$61,9 \pm 1,14$		$86,0 \pm 1,10$	
10	Опыт	$67,0 \pm 0,86$	< 0,05	$89,7 \pm 0,43$	< 0,05
	Контроль	$62,3 \pm 0,42$		$86,3 \pm 0,15$	
20	Опыт	$62,6 \pm 3,12$	> 0,5	$88,1 \pm 2,50$	> 0,5
	Контроль	$63,5 \pm 0,64$		$87,2 \pm 1,62$	
30	Опыт	$65,9 \pm 2,35$	> 0,5	$90,1 \pm 2,75$	> 0,5
	Контроль	$63,5 \pm 0,64$		$85,9 \pm 3,30$	
45	Опыт	$57,1 \pm 0,26$	< 0,01	$113,5 \pm 3,26$	< 0,001
	Контроль	$62,0 \pm 1,35$		$86,4 \pm 1,40$	
60	Опыт	$43,7 \pm 0,86$	< 0,001	$99,7 \pm 0,54$	< 0,001
	Контроль	$61,9 \pm 1,14$		$85,6 \pm 2,06$	

Примечание: P – значимость различий показателей опытных и контрольных крыс.

На начальном этапе ограничения подвижности происходило увеличение объема ядер как в пучковой зоне коры, так и в мозговом слое. Особенно существенным это увеличение наблюдалось в первые трое суток опыта. Затем значения объема ядер в исследуемых структурах надпочечников приближались к исходным показателям, а на 20 и 30 сут. опыта они существенно не отличались от контроля. На втором месяце ограничения подвижности изменения ядер в корковых и медулярных клетках были разноплановыми. На 45 и 60 сут. ядра пучковых клеток уменьшались в объеме, в то время как в клетках мозгового слоя они достоверно увеличивались.

Фазовые изменения в надпочечниках обездвиженных животных, отмечались нами и при гистохимических исследованиях. В первые часы и сутки опыта наблюдался эффект делипоидизации в пучковой зоне надпочечников в виде значительного снижения интенсивности флюоресценции и суданофилии, а реакция на щелочную фосфатазу в эти сроки значительно повышалась. Наиболее высокий её уровень обнаруживали в стенках расширенных капилляров пучковой зоны.

К 10 сут. опыта содержание липидов в пучковой зоне восстанавливалось до исходного уровня, а реакция на щелочную фосфатазу оставалась более высокой, нежели в контроле. На 20 и 30 сут. наблюдения содержание липидов в коре и активность щелочной фосфатазы в ней не отличались от данных контроля. В мозговом слое надпочечных желез у опытных крыс также отмечали разнонаправленный характер изменений гистохимических реакций на кислую фосфатазу и сукцинатдегидрогеназу. В первые 3 сут. в хромаффинной ткани содержание ферментов увеличивалось, к 10 сут. оно уже соответствовало контролю. Не было существенных различий в отличии реакций на сукцинатдегидрогеназу и кислую фосфатазу в медуллярных клетках опытных и контрольных животных также на 20 и 30 сут. наблюдения. На втором месяце эксперимента реакция хромаффинных клеток надпочечников на ферменты существенно снижалась у опытных крыс по отношению к контрольным.

Содержание катехоламинов в надпочечниках контрольных животных было высоким примерно у трети клеток мозгового вещества и более низкая у остальных клеток, содержащих множество мелких вакуолей. К концу первых суток ограничения подвижности почти все хромаффинные клетки были заполнены крупными и мелкими вакуолями, а содержание катехоламинов в них существенно уменьшилось. На 3 сут. опыта реакция медуллярных клеток на катехоламины резко возросла и превысила уровень контроля, причём вакуолизация в них практически отсутствовала. На 10–20 сут. опыта характер содержания и распределения катехоламинов в клетках мозгового слоя у обездвиженных крыс мало отличался от контрольных животных. На втором месяце эксперимента у опытных крыс гистохимическая реакция медуллярных клеток на катехоламины была схожей с реакцией после первого дня наблюдений. Хромаффинные клетки в своём большинстве заполнены вакуолями разной величины при выраженном расширении сосудов микроциркуляторного русла, особенно венозных синусов.

Сопоставляя результаты гистохимических реакций мозгового слоя надпочечников у опытных крыс с данными подсчёта количества тёмных и светлых клеток можно отметить некоторые закономерности (табл. 3).

Количество светлых клеток (адреналокитов) возрастало в периоды масштабной вакуолизации хромаффиннокитов (на 1, 45, 60 сут.) и высокой активности реакции этих клеток на кислую фосфатазу и сукцинатдегидрогеназу. Именно в эти сроки наблюдения происходило увеличение объёма ядер в клетках мозгового слоя надпочечников. Поскольку обнаруженные колебания

объёма ядер в надпочечниках не выходили за пределы диплоидного класса, то их можно трактовать как функциональные.

Таблица 3

Соотношение (в %) тёмных и светлых клеток в мозговом слое надпочечников у обездвиженных и контрольных крыс

Сроки наблюдения, сут.	Вид клеток	Опыт	Контроль	P
1	Тёмные	13,6 ± 3,1	36,8 ± 2,5	< 0,001
	Светлые	86,4 ± 1,2	63,2 ± 1,9	< 0,001
3	Тёмные	79,2 ± 4,0	36,8 ± 2,5	< 0,001
	Светлые	20,8 ± 0,5	63,2 ± 1,9	< 0,001
5	Тёмные	45,4 ± 1,6	36,8 ± 2,5	> 0,05
	Светлые	54,6 ± 2,8	63,2 ± 1,9	> 0,05
10	Тёмные	38,7 ± 3,1	31,6 ± 1,4	> 0,05
	Светлые	61,3 ± 2,4	68,4 ± 2,7	> 0,05
20	Тёмные	34,3 ± 1,6	31,6 ± 1,4	> 0,05
	Светлые	65,7 ± 2,0	68,4 ± 2,7	> 0,05
30	Тёмные	23,4 ± 1,1	33,1 ± 3,6	< 0,05
	Светлые	84,6 ± 2,3	66,9 ± 4,1	< 0,05
45	Тёмные	11,0 ± 0,6	33,1 ± 3,6	< 0,001
	Светлые	89,0 ± 3,3	66,9 ± 4,4	< 0,001
60	Тёмные	17,0 ± 1,8	33,1 ± 3,6	< 0,001
	Светлые	83,0 ± 3,1	66,9 ± 4,4	< 0,05

Примечание: P – значимость различия количества тёмных и светлых клеток в течение эксперимента.

С гистофизиологических позиций полученные данные гистохимических и морфометрических исследований надпочечников в пучковой зоне коры доминируют признаки повышения секреции клеток в первые 5 сут., затем ослабление её до исходного уровня (10–30 сут.) и последующее длительное и стойкое понижение их функциональной активности. Такой характер изменений активности коры надпочечников и её пучковой зоны отмечали и другие авторы [2; 3]. В мозговом веществе мы наблюдали признаки усиления функции хромаффинной ткани не только в первые дни ограничения подвижности, но и более длительный их период на втором месяце опыта. Согласно современной трактовке, значение физиологических сдвигов при стрессе, быстрые и глубокие изменения в гормональном гомеостазе вряд ли целесообразны при отсутствии активной физической деятельности [5]. Поэтому стресс-реакцию в этих условиях следует рассматривать как реакцию неадекватную. Однако стадия временной адаптации, развивающаяся при ограничении подвижности, задерживает на определенное время такие негативные явления как стойкое снижение обмена веществ и атрофию.

Список литературы

1. Аршавский, И. А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития / И. А. Аршавский. – Москва : Наука, 1982. – 270 с.
2. Воротникова, Е. В. Особенности морфологических проявлений острой стрессовой реакции в коре надпочечников у крыс на фоне гипокинезии / Е. В. Воротникова // Космическая биология и авиакосмическая медицина. – 1984. – Т. 16, № 1. – С. 4–12.
3. Григорьев, Ю. Г. Неспецифическая реактивность организма и индивидуальная радиочувствительность / Ю. Г. Григорьев // Успехи физиологических наук. – 1984. – Т. 15, вып. 33. – С. 64–82.
4. Коваленко, Е. А. Гипокинезия / Е. А. Коваленко, Н. Н. Гуровский. – Москва : Медицина, 1980. – 320 с.
5. Меерсон, Ф. З. О цене адаптации / Ф. З. Меерсон // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1986. – № 3. – С. 9–19.
6. Пирс, Э. Гистохимия: Теорет. и прикладная / пер. под ред. В. В. Португалова. – Москва : Иностранная литература, 1962. – 962 с.
7. Пшенникова, М. Т. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М. Т. Пшенникова // Патфизиология. – 2001. – № 2. – С. 26–30.
8. Тапбергенов, С. О. Функциональные и метаболические эффекты симпатoadреналовой системы / С. О. Тапбергенов, Т. С. Тапбергенов, Б. С. Советков // Наука и здравоохранение. – 2019. – № 1. – С. 62–65.
9. Тигранян, Р. А. Метаболические аспекты проблемы стресса в космическом полете / Р. А. Тигранян. – Москва : Наука, 1985. – 224 с.
10. Урбах, В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В. Ю. Урбах. – Москва : Медицина, 1975. – 296 с.
11. Федоров, И. А. Обмен веществ при гиподинамии / И. А. Федоров. – Москва : Наука, 1982. – 254 с.
12. Хлущевская, О. А. Механизмы адаптации организма при гипокинезии / О. А. Хлущевская, Г. З. Химич // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2014. – № 6. – С. 110–113.
13. Яглов, В. В. Цитофизиология хромаффинной клетки мозгового вещества надпочечников / В. В. Яглов // Железы, их гистофизиологическая и нервная регуляция. – Москва : Наука, 1966. – С. 130–137.

References

1. Arshavskiy, I. A. *Fiziologicheskie mekhanizmy i zakonomernosti individualnogo razvitiya* [Physiological mechanisms and patterns of individual development]. Moscow, Nauka Publ. House, 1982, 270 p.
2. Vorotnikova, E. V. *Osobennosti morfologicheskikh proyavleniy ostroy stressovoy reaktsii v kore nadpochechnikov u kryys na fone gipokinezii* [Features of morphological manifestations of acute stress reaction in the adrenal cortex in rats against the background of hypokinesia]. *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina* [Space Biology and Aviakosmic Medicine], 1984, vol. 16, no 1, pp. 4–12.
3. Grigorev, Yu. G. *Nespetsificheskaya reaktivnost organizma i individualnaya radiochuvstvitelnost'* [Nonspecific reactivity of the organism and individual radiosensitivity]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* [Advances in Physiological Sciences], 1984, vol. 15, iss.33, pp. 64–82.
4. Kovalenko, E. A., Gurovskiy, N. N. *Gipokineziya* [Hypokinesia]. Moscow, Meditsina Publ. House, 1980, 320 p.
5. Meerson, F. Z. *O tsene adaptatsii* [About the cost of adaptation]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya* [Pathological physiology and experimental therapy], 1986, no 3, pp. 9–19.

6. Pirs, Ye. *Gistokhimiya: Teoreticheskaya i prikladnaya* [Histochemistry: Theoretical and Applied]. Ed. by V. V. Portugalov. Moscow, Inostrannaya literature Publ. House, 1962, 962 p.
7. Pshennikova, M. G. Fenomen stressa. Emotsionalnyy stress i ego rol v patologii [The phenomenon of stress. Emotional stress and its role in pathology]. *Patfiziologiya* [Pathophysiology], 2001, no 2, pp. 26–30.
8. Tapbergenov, S. O., Tapbergenov, T. S., Sovetkov, B. S. Funktsionalnye i metabolicheskie efekty simpato-adrenalovoy sistemy [Functional and metabolic effects of the sympathoadrenal system]. *Nauka i zdravoohranenie* [Science and healthcare], 2019, no 1, pp. 62–65.
9. Tigranyan, R. A. *Metabolicheskie aspekty problem stressa v kosmicheskom polete* [Metabolic aspects of the problem of stress in space flight]. Moscow, Nauka Publ. House, 1985, 224 p.
10. Urbakh, V. Yu. *Statisticheskiy analiz v biologicheskikh i medicinskikh issledovaniyakh* [Statistical analysis in biological and medical research]. Moscow, Meditsina Publ. House, 1975, 296 p.
11. Fedorov, I. A. *Obmen veshchestv pri gipodinamii* [Metabolism in hypodynamia]. Moscow, Nauka Publ. House, 1982, 254 p.
12. Khlushchevskaya, O. A., Khimich, G. Z. Mekhanizmy adaptatsii organizma pri gipokinezii [The mechanisms of adaptation of the body during hypokinesia]. *Aktualnye problem gumanitarnykh i estestvennykh nauk* [Actual problems of the humanities and natural sciences], 2014, no 6, pp. 110–113.
13. Yaaglov, V. V. Tsitofiziologiya khromaffinnoy kletki mozgovogo veshchestva nadpochechnikov [Cytophysiology of the chromaffin cell of the adrenal medulla]. *Zhelezy, ikh gistofiziologicheskaya i nervnaya regulyatsiya* [Glands, their histophysiological and nervous regulation]. Moscow, Nauka Publ. House, pp. 130–137.