

УДК 611.451+616-008.9

ПОКАЗАТЕЛЬ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В КОРТИКОСТЕРОЦИТАХ НАДПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПРИ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

¹Кварацхелия А.Г., ¹Алексеева Н.Т., ²Никитюк Д.Б., ²Чава С.В.

¹ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко», Воронеж,
e-mail: anna_kvar_83@mail.ru;

²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова», Москва

В эксперименте исследовалось влияние алкогольной интоксикации на клетки коры надпочечных желез крыс. Установлено, что хроническая алкогольная интоксикация приводит к структурно-функциональным изменениям коры надпочечных желез, что проявляется в изменении ядерно-цитоплазматических индексов, уменьшении содержания белка в ядре клетки с увеличением его концентрации в цитоплазме, и обратная динамика РНК. По данным гистохимических и морфометрических исследований установлено, что увеличение срока алкоголизации приближает ряд исследуемых показателей к контрольным значениям, что указывает на процесс адаптации животных к хроническому приему алкоголя. Однако, пролонгированная алкогольная интоксикация приводит в комплексным необратимым изменениям в коре надпочечников.

Ключевые слова: кора надпочечных желез, стресс, алкогольная интоксикация

INDICATOR OF PROTEIN METABOLISM IN THE CELLS OF THE ADRENAL CORTEX OF RATS UNDER CONDITIONS OF ALCOHOLIZATION

¹Kvaratskheliya A.G., ¹Alexeeva N.T., ²Nikityuk D.B., ²Chava S.V.

¹Voronezh N.N. Burdenko State Medical Academy, Voronezh, e-mail: anna_kvar_83@mail.ru;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

In the experiment explored the influence of alcohol intoxication on the cells of the adrenal cortex of rats. Found that chronic alcohol intoxication leads to structural and functional changes in the cortex of the adrenal glands, which appears to change nucleocytoplasmic index decreasing the protein content in the cell nucleus with an increase in its concentration in the cytoplasm, and inverse dynamics of RNA. According to histochemical and morphometric studies have shown that increasing the period alcoholism approximates the a series the studied parameters to control values, indicating that the process of adaptation of animals to the chronic use of alcohol. However, prolonged alcohol intoxication leads to complex irreversible changes in the adrenal cortex.

Keywords: the cortex of the adrenal glands, stress, alcohol intoxication

Человек в процессе онтогенеза проходит постоянную адаптацию к изменяющимся условиям внешней среды, но его способности к ней ограничены [4]. При действии на организм факторов внешней среды его адаптация происходит в результате «адаптационного синдрома» [7]. Согласно современным данным, в адаптационном синдроме принимает непосредственное участие кора надпочечных желез [3, 6, 8]. Гормоны коры надпочечников оказывают влияние практически на все стороны жизнедеятельности организма и его системы.

В современной биологии и медицине большое значение имеет исследование влияния на организм алкогольной интоксикации. Употребление этилового спирта, в силу его физико-химических свойств и особенностей биологического и токсического действия, часто приводит к развитию патологических процессов в разных органах и тканях организма [5, 9]. Экспериментальные исследования показали, что все гормональные звенья надпочечников изменяются под действием алкоголя. По данным экспериментальных исследований экзоген-

ная однократная дотация алкоголя с одной стороны ведет к повышению активности коры надпочечников и стрессовым реакциям, в то время как хронический его прием приводит к истощению адаптационных механизмов с разнонаправленным характером изменений в различных зонах коры [1]. Несмотря на многолетнюю историю изучения проблемы хронической алкогольной интоксикации, до настоящего времени аспекты их морфофункциональных изменений освещены недостаточно.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проводили на белых беспородных крыс-самцах массой 200 – 210 г (возраст 1,5–2 мес), в количестве 96 животных, распределенных на контрольную и экспериментальные группы.

Контрольную группу составили животные, не потреблявшие алкоголь, и находившиеся в условиях вивария. Исследование включало 2 экспериментальные группы животных, получавших 15% раствор этилового спирта в режиме свободной дотации в течение 60-ти суток (I группа) и 80-ти суток (II группа), при этом данный источник являлся единственным источником энтерального приема жидкости. 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]. Первую группу составили животные, употреблявшие 15% раствор этанола в течение 60 суток. Материал получали на 60 сутки. Вторую группу составили крысы, употреблявшие раствор этанола в течение 80 суток. Забор материала проводили на 80 сутки.

Выведение животных из эксперимента производили в одно и то же время суток под эфирным наркозом путем декапитации. Для морфологических исследований надпочечных желез одну часть иссеченных тканевых блоков фиксировали в 10% нейтральном формалине, другую – в течение 24 ч в жидкости Буэна. Проводилось как морфометрическое исследование, включавшее кариметрические 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).

Стереометрические измерения проводили с использованием инструмента «линейка» в программе Adobe PhotoShop CS5, при этом проводилось не ме-

нее 300 измерений ядер и цитоплазмы клеток, два наибольших взаимно перпендикулярных значения. В дальнейшем для расчета объемов использовалась формула эллипсоида вращения.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1.

Результаты исследования и их обсуждение

При алкогольной интоксикации в течение 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 (рис. 1), наиболее выраженными данные изменения были в II группе, и данная закономерность имела достоверные отличия по отношению к виварному контролю.

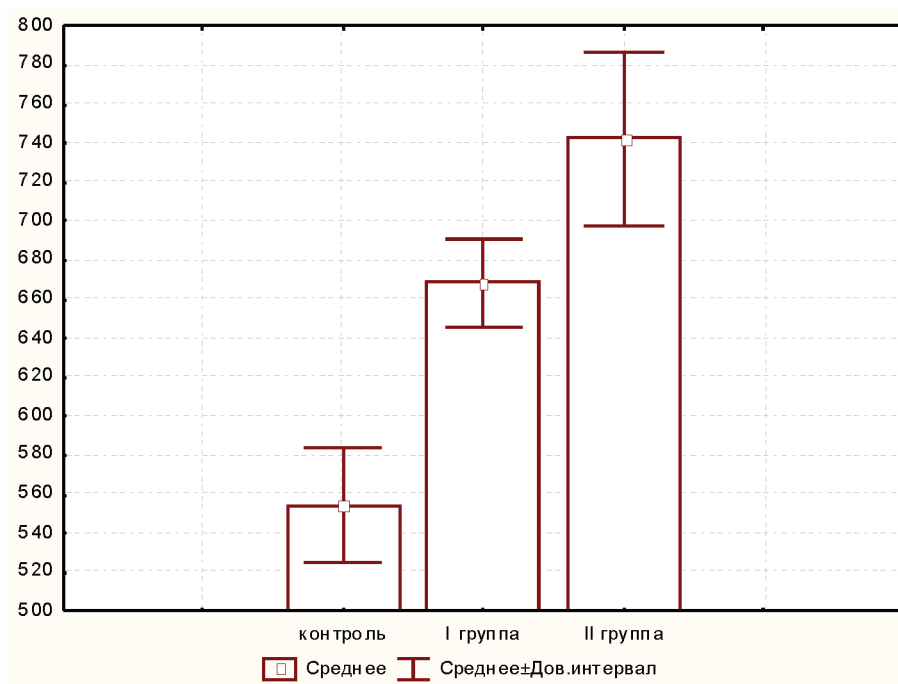


Рис. 1. Ширина пучковой зоны в контрольных и экспериментальных группах животных

Проведение изучения ширины зон коры надпочечных желез показало, что в группах животных, получавших экзогенную дотацию алкоголя на протяжении 60 и 80 суток, отмечалось уменьшение ширины клубоч-

ковой зоны, причем оно было более выражено во II группе экспериментальных животных, где изменения были статистически достоверными по сравнению с контрольной группой. Обращает внимание прогрессив-

но нараставшее стирание отличий границ клубочковой и пучковой зон в I и II группах животных.

Изучение динамики изменения ЯЦИ (рис. 2) показало достаточно выраженные и статистически достоверные изменения в I и II группах животных, получавших

изолированную экзогенную алкогольную дотацию. 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.

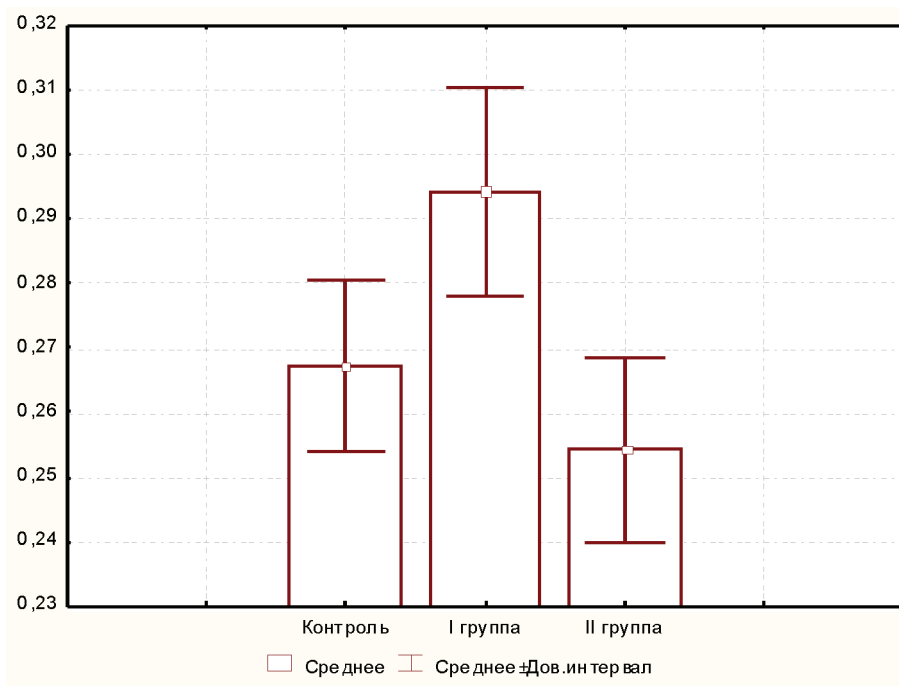


Рис. 2. Ядерно-цитоплазматический индекс в клубочковой зоне в контрольной и экспериментальных группах

Проведение моделирования динамики зависимости ширины зоны коры, размера ядра, цитоплазмы клетки, 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.

В пучковой зоне при сопоставлении площади ядра, ЯЦИ и содержания общего белка в цитоплазме наблюдается четкая 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.

Указанные изменения морфометрических параметров при сопоставлении их с данными гистохимического исследования показали, что в группах животных, получавших изолированную дотацию алкоголя, выявлялось 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 приема 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 в II группе, при этом значение коэффициентов регрессии свидетельствует о фазном характере изменений с тенденцией к истощению при более длительном приеме алкоголя (рис. 3, 4).

а

б

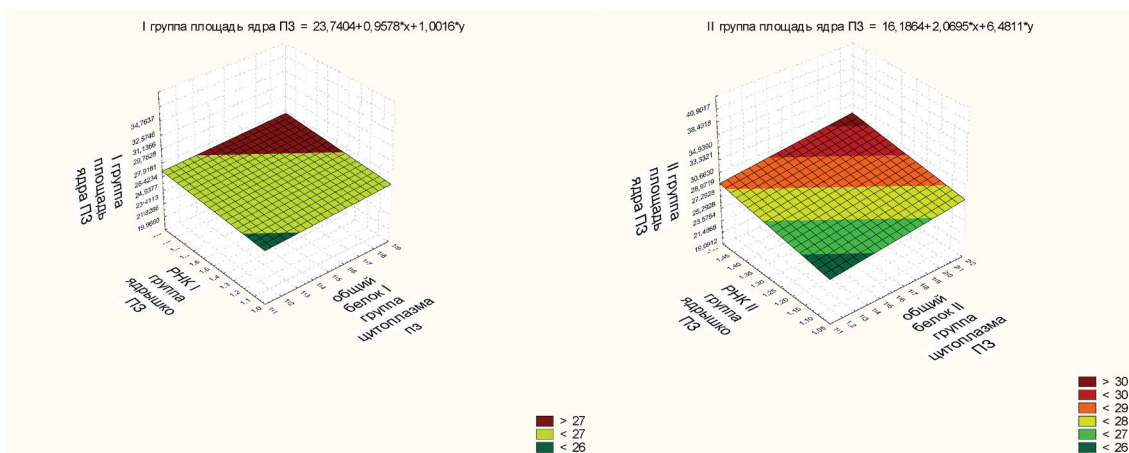


Рис. 3. Динамика изменений содержания РНК в ядрышке, белка в цитоплазме клеток и объема ядра клеток пучковой зоны надпочечников в зависимости от срока алкогольной интоксикации в I (3 а) и II (3 б) группах

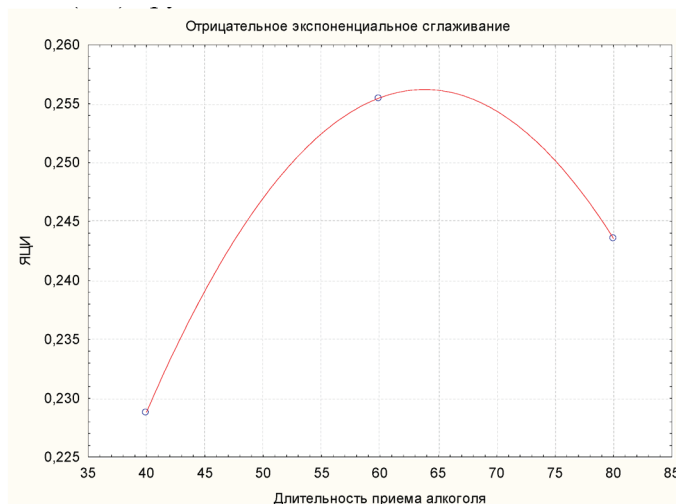


Рис. 4. Результаты регрессионного анализа изменения ЯЦИ от длительности приема алкоголя

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 установлено, что ширина СЗ достоверно не изменялась у животных, получавших экзогенную дозацию алкоголя, при этом обращает внимание тенденция увеличения ее ширины в I и II группах экспериментальных животных на 10,8 и 11,3%, а также отмечалось увеличение вариабельности данного показателя в II группе животных как по сравнению с контролем, так и по сравнению с I группой.

В сетчатой зоне при сопоставлении данных кариометрии, ЯЦИ и содержания

белка в ядре установлено, что увеличение длительности приема экзогенного алкоголя сопровождалось уменьшением величины оптической плотности белка в ядре при сравнении ядер близкого поперечного сечения (рис. 5).

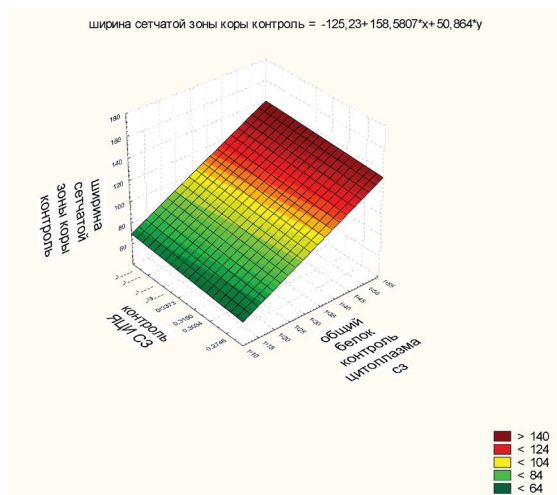
Сравнительный анализ данных гистохимического и морфометрического исследования позволяет предположить нарастание дистрофических процессов на фоне явлений кариопикноза при длительном приеме этанола.

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, доминирующей тенденцией

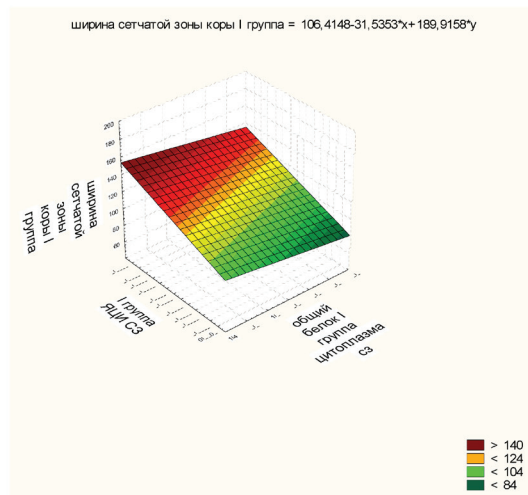
являлось уменьшение размеров ядра при увеличении срока приема этанола. Гистохимически установлено уменьшение содержания белка в ядре клетки на фоне увеличения

его концентрации в цитоплазме, и обратная динамика РНК, что вероятно отражает процесс адаптации животных к хроническому приему алкоголя.

а



б



в

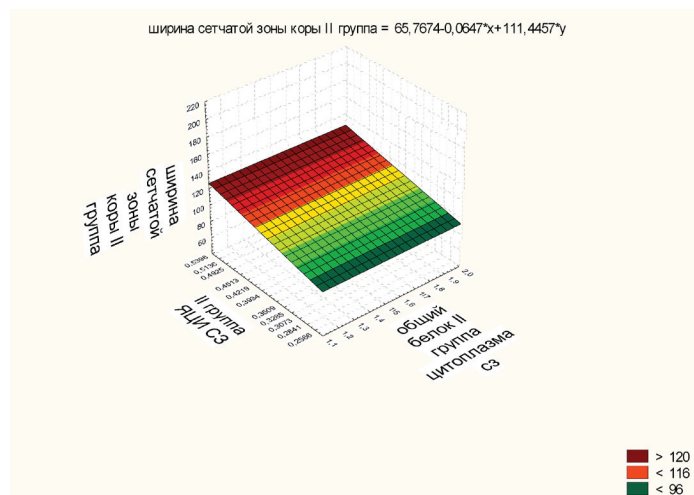


Рис. 5. Результаты моделирования соотношения морфометрических и гистохимических параметров в сетчатой зоне коры надпочечных желез у животных контрольной (а), I (б) и II (в) экспериментальных групп

Список литературы

- Алексеева Н.Т. Модифицирующее действие антиоксиданта α -токоферола на надпочечные железы хронически алкоголизованных крыс / Н.Т. Алексеева, А.Г. Кварацхелия // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – Иордания, 2013. – №5. – С. 156 – 158.
- Буров Ю.В. Нейрохимия и фармакология алкоголизма / Ю.В. Буров, Н.Н. Ведерникова. – М.: Медицина, 1985. – 240 с.
- Колдышева Е.В. Морфогенез адаптивно-компенсаторных реакций в надпочечниках мышей в процессе посттепловой реституции / Е.В. Колдышева, Е.Л. Лушникова, Л.М. Непомнящих, Ю.В. Торнуев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 140, № 10. – С. 467 – 471.
- Лазыко М.В. Системы «кора надпочечников» и транспорта газов в норме и при воздействии газообразных серосодержащих поллютантов: дис... докт. биол. наук / М.В. Лазыко. Астрахань, 2004. – 243 с.
- Лужников Е.А. Злоупотребление алкоголем в России и здоровье населения. Острые отравления этиловым алкоголем и его суррогатами. Соматическая патология при хронической алкогольной интоксикации / Е.А. Лужников. – М. – РАОЗ, 2000. – С.53–61.
- Обут Т.А. Дегидроэпиандростерон, сетчатая зона коры надпочечников и устойчивость к стрессовым воздействиям и патологиям / Т.А. Обут // Вестник Российской АМН. – 1998. – №10. – С. 18 – 22.
- Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М.: Наука, 1960. – 248 С.
- Семенова М.Г. Морфофункциональные изменения надпочечников в ходе развития постстрессорных депрессий крыс/ М.Г.Семенова, В.В.Раитсая, В.Г.Шалапина // Российский физиологический журнал. – 2005. – №5. – С.551 – 557.
- Colantoni A. Influence of sex hormonal status on alcohol-induced oxidative injury in male and female rat liver / A. Colantoni, N. La Paglia, N. De Maria [et al.] // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2000. – 24. – P. 1467–1473.