

На правах рукописи

ПАРФИРЬЕВА АЛЕКСАНДРА МИХАЙЛОВНА

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ В
ДИНАМИКЕ ОБЩЕГО ПЕРЕОХЛАЖДЕНИЯ ОРГАНИЗМА**

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

14.00.24 - судебная медицина

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск-2007

Работа выполнена в ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ» (г. Томск).

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Логвинов Сергей Валентинович

кандидат медицинских наук, доцент Алябьев Федор Валерьевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Пуликов Анатолий Степанович

кандидат медицинских наук Воронковская Марина Владимировна

Ведущая организация: ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ»

Защита состоится _____ 2007 года в ___ час. на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при Сибирском государственном медицинском университете по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан _____ 2007 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Герасимов А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В формировании приспособительных реакций организма на различные факторы воздействия внешней среды существенная роль принадлежит эндокринной системе. Одним из ведущих и чрезвычайно лабильных звеньев нейроэндокринной системы являются надпочечники [Алешин Б.В., 1971; Алябьев Ф.В. и др., 2001; Падеров Ю.М., и др. 2002; Yuksel S., Akbay A., Yurekli M., 2002; Dronjak S. et al., 2004]. При слабых стрессорных воздействиях реакция надпочечников регистрируется в первую очередь в клубочковой зоне коркового вещества [Перельмутер В.М., Заматринский А.В., Диденко Н.П. и др., 1993; Zancanaro C. et al., 1997; Nachankar R.S., 2004]. При длительном действии стрессора более выражено реагируют пучковая и сетчатая зоны [Обут Т.А., 1992; Обут Т.А., 1994; Алисиевич В.И., 1995; Nachankar R.S., Juvenkar A.R., Sonawane A., 2004]. При этом эндогенная активация сетчатой зоны наблюдается только при хроническом, а не остром стрессорном воздействии [Обут Т.А., 1992]. Реакция на сильные стрессорные воздействия характеризуется практически одновременным, но различным по степени вовлечением всех морфофункциональных зон надпочечников в единую адаптивную реакцию организма [Осьминкин В.А., 1990; Алисиевич В.И., 1995; Boonstra R., McColl C.J., 2000]. При исследовании реакции на экстремальные воздействия представляется важным выделение среди всей совокупности изменений морфофункционального состояния надпочечников неспецифических признаков, отражающих силу и длительность воздействия, идентичных при действии различных стрессоров, и признаков, отражающих особенности какого-либо определенного танатогенного стрессора. Одним из наиболее сильных стрессоров является общее переохлаждение [Шамарин Ю.А., Мельчиков А.С., Майстрах Е.В., 1975; Десятов В.П., 1977; Dronjak S. et al., 2004; Liu X. et al., 2005]. В качестве ранней реакции на холод описана активация симпато-адреналовой системы [Simmonds M.A., 1971; Стабровский Е.М., 1973; Bostic J., 1978; Jessen R., 1980; Агаджанян А.М., 1991, 1993, 1994; Farrace S. et al., 2003; Panaretto B.A., 2003; Cheng S.Y. et

al., 2005]. Роль надпочечников в срочной адаптивной реакции организма на острое действие холода подтверждается тем, что адреналэктомированные животные теряют способность выживать на холоде [Augee M.Z., McDonall L.B., 1973; Korkach V.I., 1980; Bertin R., DeMarco F., Portet R., 1996; Fukuchara K., Kvetnansky R. et al., 1996].

В доступной литературе мало сведений об изучении морфологии желез при смерти от общего переохлаждения организма [Шамарин Ю.А., Мельчиков А.С., 1997; Падеров Ю.М., Алябьев Ф.В., Шамарин Ю.А., 2002], и этот факт акцентируется исследователями, работающими над проблемой холодовой смерти [Шигеев В.Б. и др., 2004]

Наименее изученным является морфофункциональное состояние надпочечников при действии холодового стрессора различной силы и продолжительности. В единичных работах описаны морфологические изменения надпочечников при многократном охлаждении животных в эксперименте, а также при смертельном переохлаждении у людей [Алябьев Ф.В., Падеров Ю.М., Шамарин Ю.А., 2001; Степанян Ю.С., 2005]. В литературе отсутствуют работы, в которых дана исчерпывающая информация об изменении состояния надпочечников в динамике холодового стресса, остаются не изученными тканевые механизмы регуляции функции надпочечников при общем переохлаждении.

Учитывая скудность данных литературы по указанной проблеме и ее очевидную актуальность [Шамарин Ю.А., Мельчиков А.С., 1997, Алябьев Ф.В., 2002; Шигеев В.Б. и др., 2004], изучение динамических изменений морфофункционального состояния надпочечников при общем переохлаждении организма является необходимым для более полного понимания механизмов формирования ответной системной реакции организма при воздействии чрезвычайных по силе факторов внешней среды.

Целью работы явилось установление характера изменений морфофункционального состояния надпочечников в динамике общего переохлаждения организма в эксперименте.

Задачи исследования:

1. Изучить морфологические изменения стромы и сосудов надпочечников белых крыс в динамике гипотермии при температуре атмосферного воздуха -10 и -18 градусов по Цельсию.
2. Изучить реакцию эндокриноцитов различных морфофункциональных зон левого и правого надпочечников белых крыс в динамике воздействия низкой атмосферной температуры – 10 и – 18 градусов по Цельсию.
3. Выявить хронологические различия в изменениях морфофункционального состояния надпочечников белых крыс при действии низкой атмосферной температуры – 10 и – 18 градусов в течение восьмичасового периода

Научная новизна. Впервые выполнено детальное морфологическое изучение ответной реакции надпочечников в эксперименте на животных в динамике острого однократного несмертельного воздействия низкой атмосферной температуры -10 °С и -18 °С, в ходе которого выявлено увеличение активности всех морфофункциональных зон. Выявлены морфологические изменения органа, объясняющие развитие неоднородной ответной реакции контралатеральных надпочечников на данное воздействие. Установлено, что морфологические признаки усиления активности развиваются через час воздействия при -18 °С и через два часа при температуре -10 °С.

Обнаружено, что длительное холодное воздействие не приводит к запуску генетически запрограммированной гибели клеток (апоптоза) ни в одной морфофункциональной зоне. Показано, что наибольшие изменения в динамике охлаждения происходят в пучковой и сетчатой зонах коры надпочечников, а более выраженные изменения претерпевают сосудистый аппарат, кариометрические параметры и показатели насыщения адренокортикоцитов суданофильными липидами.

Практическое значение работы. Полученные результаты о морфофункциональных изменениях надпочечников при воздействии низкой атмосферной

температуры существенно дополняют имеющиеся сведения о реакции надпочечников на внешние воздействия и детализируют динамику изменений состояния левой и правой желез при однократном восьмичасовом воздействии. Данные могут быть использованы в преподавании гистологии, патологической физиологии, судебной медицины. В практической деятельности судебно-медицинской экспертизы применение полученных знаний поможет решить вопрос о длительности холодового воздействия перед наступлением смерти от травмы. Также полученные результаты могут помочь клиницистам в совершенствовании лечебно-реанимационных мероприятий, направленных на восстановление жизнедеятельности организма после холодовой травмы.

Положения, выносимые на защиту:

1. Морфофункциональное состояние различных зон коркового и мозгового вещества надпочечников в динамике действия низкой атмосферной температуры -10°C и -18°C изменяется неодинаково по хронологии и выраженности изменений.

2. В динамике несмертельного действия низкой атмосферной температуры -18°C в адаптивную реакцию организма на стрессор правые надпочечники вовлекаются больше, чем левые, при действии температуры -10°C левый и правый надпочечники реагируют равнозначно.

3. Среди параметров морфофункционального состояния надпочечников в динамике несмертельного действия низкой атмосферной температуры -10°C и -18°C наиболее выражено изменяются: кровенаполнение различных морфофункциональных зон, размеры ядер секреторных клеток коркового вещества, удельный объем липидов и митохондрий в цитоплазме адренокортикоцитов пучковой зоны.

Апробация работы. Основные материалы исследования, были представлены на: научно-практической конференции «Проблемы теории и практики судебной медицины», посвященной 115-летию основания кафедры судебной ме-

дицины Сибирского государственного медицинского университета, Томск, ноябрь 2005 года; VIII конгрессе международной ассоциации морфологов, Орел, 15 сентября 2006 года; конференции, посвященной 70-летию Тверской государственной медицинской академии и 100-летию со дня рождения основателя кафедры анатомии человека профессора И.С. Кудрина, сентябрь, 2006 года; научно-практической конференции «Проблемы теории и практики судебной медицины», посвященной 115-летию систематического преподавания судебной медицины в Сибири, Томск, октябрь 2006 года; VIII конгрессе молодых ученых и специалистов: «Науки о человеке», Томск, май 2007 года.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 1 в изданиях, рекомендованных ВАК, в монографии.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, глав «Материал и методы исследования», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение полученных результатов», выводов и библиографического списка. Материалы диссертации изложены на 133 страницах машинописного текста, включают 17 таблиц, 36 рисунков, из них 29 фотографий. В библиографическом списке приведено 236 работ, из них 93 на русском языке и 143 на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования. Для проведения эксперимента использовали 90 беспородных половозрелых белых крыс-самцов массой 250-300 г., полученные из вивария НИИ Фармакологии ТНЦ СО РАМН. Животных содержали в клетках с опилками по 5 особей в лаборатории кафедры судебной медицины с курсом токсикологической химии СибГМУ при температуре +20 - +22 градуса по Цельсию, с равными периодами светлого (8.00 – 20.00) и темно-

го (20.00 – 8.00) времени суток при свободном доступе к воде и пище, одинаковой для всех крыс.

Таблица 1

Схема эксперимента

Время взятия материала	1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часов	6 часов	7 часов	8 часов
Группа								
Холод-10 ⁰ С	5	5	5	5	5	5	5	5
Холод-18 ⁰ С	5	5	5	5	5	5	5	5
Контроль	10							

Эксперимент проводили в осенне-зимний период с ноября 2005 по февраль 2006 года. За сутки до эксперимента животных лишали пищи. Время начала воздействия в каждой серии эксперимента - 9-00 часов. Животных подвергали экспозиции холода в клетках по 2-3 особи на открытом воздухе при температуре -10 °С и -18 °С. Крыс выводили из эксперимента в течение 8 часов с интервалом 1 час путем декапитации под эфирным наркозом (табл. 1).

Для гистологического исследования надпочечники извлекали, отпрепаровывали от окружающей ткани и рассекали напополам. Для световой микроскопии одну часть фиксировали в нейтральном 10 % формалине и проводили заливку в парафин. Срезы толщиной 5 мкм, полученные на ротационном микротоме, депарафинировали, окрашивали гематоксилин и эозином, заключали в канадский бальзам. Также проводили иммуногистохимическое исследование по стандартной методике. Препараты оценивали на светооптическом уровне с помощью микроскопа «МИКРОМЕД-5».

Для электронной микроскопии часть надпочечника фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на какодилатном буфере рН 7,4, постфиксиро-

вали в 1 % четырехоксида осмия, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в аралдит. Срезы готовили на ультратоме LKB-III. Полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Электронная микроскопия проводилась на микроскопе "JEM-100 CXII" ("JEOL", Япония) с апертурной диафрагмой 25 - 30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ. С использованием сетки проводили морфометрическое исследование: рассчитывали объемную плотность митохондрий, липидных включений, ядер и ядрышек адренокортикоцитов. Исследовали не менее 20 клеток в каждом образце.

Критериями функциональной активности надпочечников являются величина ядер, полнокровие органа, уменьшение количества липидов корковом веществе [Аруин Л.И., 1966; Богданович Н.К., 1966]. Оценка состояния клубочковой, пучковой и сетчатой зон коркового вещества и мозгового вещества была проведена по 4-балльной системе на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Количество липидов оценено на срезах, окрашенных суданом черным. В каждом случае были оценены: кровенаполнение всех морфофункциональных зон, количество в них адренокортикоцитов с пикнотичными ядрами, наличие и выраженность очаговой и диффузной мононуклеарной инфильтрации, число отдельно расположенных в зонах коркового вещества и в мозговом веществе лимфоцитов, моноцитов, плазмоцитов и фибробластов. В капсуле оценена выраженность фиброза, в сетчатой зоне выраженность и распространенность липофуциноза. В мозговом веществе оценены объем цитоплазмы адреналокортикоцитов, её базофилия и вакуолизация. Исследование липидов в пучковой зоне проведено в наружных, средних и внутренних ее отделах.

Кариометрическое исследование проводили с использованием программы Adobe PhotoShop 6.0 for Windows. Изображение поля зрения светового микроскопа после предварительной калибровки с помощью объекта-микрометра вводили в компьютер с помощью фотокамеры. На полученных фотографиях каждой зоны коркового вещества в программе Adobe PhotoShop 6.0 пользуясь опцией «лассо», позволяющей измерять площадь неправильных фигур, обводили

контуры не менее 30 ядер. Рассчитывали среднюю площадь ядер эндокриноцитов.

Статистическая обработка результатов была проведена с использованием пакета STATISTICA 6.0 с применением непараметрического теста Манна-Уитни, регрессионного и корреляционного анализов. Статистически значимыми результаты считались при $p < 0,05$, о выраженной тенденции судили при $p < 0,1$.

Результаты собственных исследований и их обсуждение. Для надпочечников крыс контрольной группы характерно умеренное кровенаполнение всех морфофункциональных зон. Наиболее богаты липидами наружные отделы пучковой зоны, а также клубочковая зона. По насыщению липидами цитоплазмы секреторных клеток среднего отдела пучковой зоны доминирует левый надпочечник. Характерно доминирование правого надпочечника по доли сосудистого компонента в пучковой, сетчатой зон коркового вещества и мозгового вещества, по размерам ядер адренокортикоцитов сетчатой зоны. Одиночные лимфоциты располагаются преимущественно в просвете сосудов, среди секреторных клеток встречаются редко.

Экспозиция крыс при низкой атмосферной температуре $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ вызывает в надпочечниках следующие изменения. Увеличивается кровенаполнение всех морфофункциональных зон с параллельным снижением содержания липидных включений в клубочковой, пучковой и сетчатой зонах. Причем при холодовом воздействии $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ в секреторных клетках средних отделов пучковой зоны наблюдается выход везикулярных крист из митохондрий в цитоплазму эндокриноцитов. Так как известен факт того, что биосинтез кортикостероидов начинается в митохондриях, где от поступающего холестерина под влиянием Р 450_{ssc} (холестерин 20, 22-гидроксилаза: 20, 22-десмолаза) происходит отщепление боковой цепи холестерина и образование прегненолона. А также, что образовавшийся из холестерина в кристах митохондрий прегненолон является предшественником для большинства кортикостероидов, секретирующихся в

надпочечниках человека, можно предположить, что выход крист из митохондрий связан с повышенной функциональной нагрузкой этих органелл при действии холодого стрессора [Балаболкин М.И., 1998].

Отмечается появление под воздействием данного стрессора (-18°C) деструктивных форм данных органелл в единичных адренкортикоцитах пучковой зоны, а также почкование функционирующих митохондрий. Ядра адренкортикоцитов, преимущественно пучковой и сетчатой зон, увеличиваются в размерах.

Признаки, отражающие усиление активности различных зон при воздействии низкой атмосферной температуры -10°C появляются только через два часа холодого воздействия, причем с постепенным увеличением параметров в течение всего периода гипотермии. А при воздействии низкой атмосферной температуры -18°C морфологические признаки усиления активности различных отделов обеих желез появляются через 1 час от начала экспозиции. Морфофункциональная активность пучковой и сетчатой зон коркового вещества при действии данного стрессора (-18°C) выражена в правом надпочечнике больше, чем в левом. Обнаруженная повышенная минералокортикоидная активность надпочечников связана с развивающейся в динамике гипотермии гипотонией [Mitsuki I., 1960; Буков Е.А., Егоров Ю.Н., Ласси Н.И., 1961]. Минералокортикоиды при действии почечного (юкстагломерулярный аппарат) и центрального механизмов (вазопрессин) регуляции клубочковой зоны способствуют задержке ионов натрия и соответственно воды в организме с повышением давления. Выявленное повышение морфофункциональной активности пучковой зоны, несомненно, связано с ее глюкокортикоидной функцией. Учитывая многогранное влияние глюкокортикоидов на обменные процессы в организме, активацию пучковой зоны при холодом воздействии вполне можно объяснить с позиций их физиологического действия. Во-первых, эти гормоны, запускают процессы глюконеогенеза и расщепления триглицеридов, что приводит к повышению в крови уровня глюкозы и свободных жирных кислот [Jungermann K., Mohler H., 1980], обеспечивают организм энергетическим материалом, рас-

щепление которого даст организму нужное тепло. Другой важной функцией глюкокортикоидов является выполнение пермиссивной роли в действии катехоламинов на гладкую мускулатуру сосудов [Шмидт Р., Тевс Г., 1996], что наряду с минералокортикоидной функцией будет способствовать повышению артериального давления. В результате повышения сосудистого тонуса происходит перераспределение кровотока с увеличением поступления крови, богатой кислородом и питательными веществами к жизненно важным органам ядра тела.

Выявленная при действии атмосферной температуры -18°C положительная взаимосвязь содержания липидов в секреторных клетках наружных отделов пучковой зоны и размеров ядер адренокортикоцитов пучковой зоны ($r=0,83$ в правом надпочечнике, $r=0,84$ в левом надпочечнике) на первый взгляд может быть либо парадоксальной, либо случайной. Однако, как известно, адренокортикоциты для синтеза стероидов используют холестерин крови, который, поступая в клетку, служит исходным материалом для синтеза гормонов, которые затем выводятся в кровь. Если же в результате адаптации к холоду за исследованный восьмичасовой промежуток захват холестерина будет преобладать над синтезом стероидов, то избыток вполне может быть депонирован в цитоплазме секреторной клетки. Данное предположение можно считать вполне допустимым хотя бы потому, что в проведенном эксперименте за весь период воздействия от холода не погибло ни одно животное, то есть воздействие не было татогенным, и организм не воспринял внешний фактор как экстремальный и пусковой для мобилизации внутриклеточных депо гормонов в наружных отделах пучковой зоны.

Обнаруженное повышение активности сетчатой зоны при воздействии мягкого стрессора (-10°C), подтвержденное кариометрическим и гистохимическим исследованиями на первый взгляд противоречат некоторым литературным данным. Авторы этих исследований [Akwa Y., Young J. et al., 1991; Orchinik M., McEwen K., 1993; Обут Т.А., 1998], утверждают, что эндогенная активация сетчатой зоны коры надпочечников наблюдается только при хроническом, а не

при остром стрессорном воздействии. При этом эффект секретлируемых адреналовых андрогенов, опосредуемый через центральные опиатные, β -адренергические и адренкортикотропные механизмы регуляции активности, необходим в качестве «щита» при продолжительном высоком уровне глюкокортикоидов, способных вызвать неуправляемые катаболические процессы в организме. Однако в проведенном исследовании атмосферная температура -10°C вызывала постепенное нарастание активности пучковой зоны, что, несомненно, влекло увеличение выброса в сосудистое русло вырабатываемых ее секреторными клетками глюкокортикоидов. Кроме того, учитывая роль половых гормонов в метаболизме белков и жиров, специфика которого составляет биохимическую основу для формирования холодовой адаптации, роль половых гормонов в относительно краткосрочных адаптивных реакциях [Чепурненко Н.Б. и др., 1983; Шварева Н.В., 1988] можно считать доказанной. Также половые гормоны обладают вазоактивным действием [Караченцев А.Н., Сергеев П.В., 1997]. Возможно, совместно с альдостероном клубочковой зоны и катехоламинами мозгового вещества они представляют механизм эффективной поддержки артериального давления, так как при гипотермии с течением времени неизбежно развивается гипотония [Mitsuki I., 1960].

Различный темп нарастания в динамике гипотермии морфофункционального ответа коры надпочечников, вероятно, связан с силой воздействующего фактора. Чем сильнее стрессор, тем активнее и быстрее даст ответ стрессуемый орган. Однако это может привести и к более быстрому истощению. Подтверждением начинающегося истощения адаптивных возможностей является обнаружение в конечных экспериментальных точках воздействия низкой температурой -18°C в единичных секреторных клетках сетчатой зоны обоих надпочечников липофусцина.

Большинство исследователей полагают, что пигменты липидной природы образуются в результате аутоокисления ненасыщенных жирных кислот и последующей полимеризации продуктов окисления. Окисление ненасыщенных жирных кислот ведет к появлению гидроперекисей, которые могут цикли-

зоваться с последующим образованием полимеров [Dillard C.J., Tappel A.L., 1971]. In vivo в этот процесс включаются белки. Непосредственной причиной образования липофусцина считают повреждение липидной пероксидацией мембран клеточных органелл [Strehler B.L, 1962; Tappel A.L et al., 1973]. Полагают, что химический состав липофусцина не исключает функциональной роли его предшественников в биологических процессах [Strehler B.L, 1964; Cuyton A.C., 1986]. Исходя из этих литературных данных, можно предположить, что такой стрессор как $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ способен запускать свободнорадикальные механизмы в секреторных клетках сетчатой зоны надпочечников. На это косвенно указывает выявление в единичных эндокриноцитах пучковой зоны деструктивных митохондрий, мембрана которых имеет классическую билипидную структуру. Причем в литературных источниках имеются данные о том, что в гранулах липофусцина обнаруживаются фрагменты мембран [Perkins E.G., 1960], а результаты колоночной хроматографии липидной фракции возрастного пигмента показывают, что она на 75% состоит из фосфолипидов. Некоторыми исследователями было обнаружено [Vertushkoff V.T. et al, 1976], что добавление к олеиновой кислоте, окисляющейся при относительно невысокой температуре ($75\text{ }^{\circ}\text{C}$, в присутствии ионов Fe^{++} и кислорода воздуха), биогенных аминов - катехоламинов, серотонина, гистамина приводит к быстрому накоплению окрашенных полимерных продуктов. Эксперименты на мышах показали [Vertushkoff V.T. et al., 1976; Vertushkoff V.T., 1977], что полимеры, извлеченные из олеиновой и линолевой кислот, обладают выраженным физиологическим действием, сходным с действием тех биогенных аминов, под влиянием которых эти полимеры образовались. Внутривентрикулярная инъекция мышам в дозе 250 мг/кг полимеров, образовавшихся в олеиновой кислоте под влиянием адреналина, приводила животных в состояние сильного возбуждения, сопровождающегося судорогами всего тела. Увеличение дозы до 750 мг/кг вызывало мгновенную гибель мышей. Видимо, под влиянием катехоламинов мозгового вещества происходит запуск перекисного окисления с отложением гранул липофусцина в эндокриноцитах сетчатой зоны, находящихся в

непосредственной близости с адреналоцитами мозгового вещества. Несмотря на это в совокупности с низким содержанием липидных включений, являющихся субстратом для стероидогенеза, наличие липофусцина в цитоплазме этих адренокортикоцитов кроме как об истощении свидетельствовать не может. Обнаруженная положительная корреляционная взаимосвязь содержания гранул «пигмента старения» с длительностью воздействия низкой температуры указывает на развитие напряженного адаптивного ответа на выраженный по силе стрессор, что согласуется с литературными данными о прямой взаимосвязи выраженности липофусциноза и силы стрессорного воздействия [Рыжавский Б.Я., 1992].

Участие адреналоцитов мозгового вещества в защитной реакции организма на охлаждение при температуре атмосферного воздуха -10°C и -18°C морфологически подтверждается уменьшением по сравнению с таковыми в контроле объема их цитоплазмы и уменьшением количества и размеров вакуолей с параллельным увеличением кровенаполнения мозгового вещества обоих надпочечников. Это, скорее всего, обусловлено резким снижением в клетках количества катехоламинов [Tigyí A., Puppy A., Lissak K., 1959] и выделением их в кровеносное русло. Известно, что повышение секреции катехоламинов является важным фактором поддержания температуры тела в условиях холода [Майстрах Е.В., В.П. Шейнис, 1968]. Именно катехоламины обеспечивают быструю мобилизацию углеводов из депо для несократительного термогенеза [Майстрах Е.В., 1975].

Особого внимания заслуживает аспект межзонального взаимодействия надпочечников при действии низкой атмосферной температуры. Воздействие атмосферной температуры -10°C и -18°C практически одинаково влияет на межзональное взаимодействие, увеличивая количество корреляций в левой железе в 4 и 4,5 раза, в правой в 2 и 2,5 раза соответственно (табл. 2).

Количество корреляционных связей в надпочечниках
контрольной и экспериментальных групп

	Левый НП	Правый НП	Оба НП
Контроль	2	4	19
- 10	9	8	21
- 18	8	10	117

Такое однонаправленное воздействие на надпочечники может быть связано с тем, что холодовой стресс активирует аутокринные и паракринные механизмы регуляции функциональной активности желез, среди которых наибольшее значение, вероятнее всего, принадлежит образованию ангиотензина и убаина адренкортикоцитами клубочковой зоны [Gallo-Payet N., 1993; Szalay K.S., 1993], а также влиянию эндотелиальных регуляторных веществ и катехоламинов мозгового вещества [Vizi E.S. et al., 1992].

Однако, нельзя исключить возможности активации при переохлаждении таких механизмов как местное влияние ангиотензина на рост пучковой и сетчатой зон [Clyne C.D. et al., 1993; Peng J.F. et al., 1998], влияние на функциональную активность коры надпочечников гамма-интерферона [Conti Bet al., 1997], ИЛ-1 [Cambronero J.C., Borrel J.C, 1989; Gwosdow A.R. et al., 1992]. Выявленное при действии более сильного стрессора (-18 °С) увеличение уровня взаимодействия контралатеральных желез по сравнению с исходным в 6 раз связано, вероятно, с тем, что в регуляции активности надпочечников наибольшее влияние оказывают центральные гуморальные механизмы. В результате чего в различных зонах левого и правого надпочечников происходят однообразные изменения. А при мягкой гипотермии (-10 °С) для поддержания необходимого уровня функционирования надпочечников достаточно активации центральных гу-

моральных, а также аутокринных и паракринных механизмов, описанных выше.

Особенного внимания заслуживает выявленное в исследовании присутствие лимфоцитов в различных морфофункциональных отделах левого и правого надпочечников. При воздействии низкой атмосферной температуры

– 10°C лимфоциты в капиллярах занимают пристеночное положение, плотно контактируя с эндотелиоцитами. Причем эритроциты в сосудах располагаются в виде монетных столбиков. При воздействии низкой атмосферной температуры – 18°C, уже к третьему часу наблюдения лимфоциты начинают мигрировать в паренхиму желез. Некоторыми исследователями данный морфологический факт именуется как феномен лимфоцитарной инфильтрации надпочечников [Падеров Ю.М., Алябьев Ф.В., 2004]. Обозначение данного явления как феномена вполне допустимо, так как в надпочечниках выявлены только мононуклеарные агранулярные лейкоциты, тогда как в периферической крови среди лейкоцитов доминируют сегментоядерные. При обнаружении соответствующих соотношений агранулярных и гранулярных лейкоцитов в сосудистом русле надпочечников можно было бы объяснить их простой механической задержкой. Но так как этого нет, то наличие лимфоцитов как в просвете сосудов, так и в различных зонах обеих желез можно рассматривать как требующий своей оценки параметр морфофункционального состояния надпочечников.

Можно допустить несколько причин появления мононуклеарных лейкоцитов в надпочечниках. Самой очевидной причиной наличия лимфоцитов в адреналовых железах, на первый взгляд, может явиться повреждение клеточных мембран секреторных клеток в ответ на выраженное стрессорное воздействие. В этом случае лимфоидная инфильтрация будет являться ответом иммунной системы на повреждение. Однако в исследуемых органах не было найдено морфологических подтверждений альтерации. Кроме того, имеющиеся литературные данные [Bossenmeyer-Pourie C., Koziel V., Daval J.-L., 2000] указывают на протективное действие гипотермии на развивающиеся альтеративные постгипоксические изменения в тканях. Кроме того, необходимо учитывать имму-

нодепрессивное действие глюкокортикоидов, концентрация которых в сосудах надпочечников может превышать концентрацию их в периферической крови в сотни раз [Cuyton A.C., 1986; Филаретов А.А., 1992]. Второй причиной может явиться то, что длительное холодное воздействие провоцирует организм на повышенную выработку надпочечниковых гормонов для адекватного реактивного ответа. При этом центральная стимуляция синтеза этих гормонов либо не реализуется, либо реализуется недостаточно. Учитывая доказанный факт, что лимфоциты могут вырабатывать АКТГ [Buzzetti R. et al., 1989; Bukigham J.C., 1987] и IL-6 [Walker D. et al., 2002; Judd A.M. et al., 2000; Path G. et al., 2000], можно допустить, что они стимулируют синтез гормонов коры надпочечников прямо на месте, помимо действующих центральных механизмов. Таким образом, полученные результаты демонстрируют многогранные изменения морфофункционального состояния различных отделов левого и правого надпочечников, вовлеченных в адаптивную реакцию организма на общее переохлаждение. Описанная динамика структурных изменений различных морфофункциональных отделов желез открывает следующие закономерности функционирования надпочечников: при общем действии низкой температуры – 10 °С в адаптивную реакцию вовлекаются одинаково правый и левый надпочечники, причем признаки усиления морфофункциональной активности различных отделов надпочечных желез проявляются через два часа холодного воздействия, нарастая плавно в течение всего периода наблюдения. При – 18 °С в большей степени зависит изменение морфофункционального состояния правого надпочечника, причем признаки усиления активности различных морфологических отделов надпочечников появляются в течение первого часа гипотермии, являясь максимальными в течение всего периода наблюдения. Это способствуют более полному пониманию хронологии и механизмов развития адаптивных изменений надпочечников при изучаемом воздействии.

ВЫВОДЫ:

1. При общем воздействии низкой атмосферной температуры (-10°C и -18°C) в динамике восьмичасового периода повышается морфофункциональная активность всех зон левого и правого надпочечников, о чем свидетельствуют увеличение размеров ядер эндокриноцитов, повышение кровенаполнения различных морфофункциональных зон и снижение количества липидных включений в корковых адренокортикоцитах.
2. В динамике адаптивной реакции на действие низкой атмосферной температуры межзональное взаимодействие параметров морфофункциональной активности надпочечников одинаково выражено в левых и правых надпочечниках.
3. От длительности воздействия низкой атмосферной температуры -10°C и -18°C , судя по количеству корреляционных связей, морфофункциональное состояние правых надпочечников зависит больше, чем левых.
4. Значимое усиление морфофункциональной активности надпочечников при воздействии атмосферной температуры -10°C регистрируется через два часа воздействия. При этом вовлечение различных морфофункциональных отделов надпочечников в адаптивную реакцию происходит постепенно в течение восьмичасового периода.
5. Морфологические признаки усиления функциональной активности различных структурных отделов надпочечников при экспозиции температуры -18°C регистрируются уже через один час воздействия. При этом в течение первого часа воздействия скорость нарастания морфофункциональной активности наибольшая.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Выживаемость экспериментальных животных в зависимости от гипотермии и алкогольной интоксикации /Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, А.А. Климачевский// Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики / под ред. В.П. Новоселова, Б.А. Сарикисяна, В.Э. Янковского. - Новосибирск: Меж-

региональная ассоциация «Судебные медики Сибири», 2006. - выпуск 11.-С. 234 – 236.

2. Морфология надпочечников при смертельной гипотермии на фоне алкогольной интоксикации /Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, С.В. Логвинов, А.А. Климачевский // Морфология.- т. 129, № 4, 2006. – с. 8 – 9.

3. Особенности строения коры надпочечников в динамике общей гипотермии и алкогольной интоксикации / Ф.В. Алябьев, С.В. Логвинов, А.М. Парфирьева, А.А. Климачевский // Морфология.- т. 129, № 5, 2006. – с. 24.

4. Сравнительная морфология надпочечников при отравлении этиловым алкоголем, общем переохлаждении организма и несовместимой с жизнью механической травме /Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, А.А. Климачевский // Вестник Томского государственного университета. Бюллетень оперативной научной информации «Проблемы теории и практики судебной медицины». 2006. № 93. Октябрь. – С. 5 – 23.

5. Зависимость морфофункционального состояния надпочечников от длительности гипотермии при действии атмосферной температуры – 10°С /А.М. Парфирьева, Ф.В. Алябьев //Науки о человеке: материал VIII конгресса молодых ученых и специалистов/ под ред. Л.М. Огородовой и Л.В. Капилевича – Томск: СибГМУ. – 2007. – С. – 245 - 246.

6. Межзональные взаимосвязи параметров морфофункционального состояния надпочечников при действии низкой атмосферной температуры -10°С /Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева/ Науки о человеке: материал VIII конгресса молодых ученых и специалистов/ под ред. Л.М. Огородовой и Л.В. Капилевича – Томск: СибГМУ. – 2007. – С. – 246 - 247.

7. Морфология надпочечников при общем переохлаждении организма/Алябьев Ф.В., Парфирьева А.М., Логвинов С.В., Шамарин Ю.А. -Томск: Томск.гос.ун-т. систем упр. и радиоэлектроники, 2007, 228 с.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АДГ – антидиуретический гормон

АКТГ – адренкортикотропный гормон

ГГНС (ГГА) – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (гипоталамо-гипофизарно-адреналовая система)

ГГТ – гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная система

Г-Э – гематоксилин - эозин

ИЛ-6 – интерлейкин - 6

КВ – корковое вещество

КЗ – клубочковая зона

ЛН – левый надпочечник

МВ – мозговое вещество

НП – надпочечник, надпочечники

ОПО – общее переохлаждение организма

ПЗ – пучковая зона

ПН – правый надпочечник

СЗ – сетчатая зона