

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ЭКВИВАЛЕНТЫ АДАПТИВНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ**Елена Владимировна КОЛДЫШЕВА***ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2*

Изучена внутриклеточная реорганизация адренокортикоцитов экспериментальных животных при действии экстремальных факторов (общего перегревания организма и гипобарической гипоксии). Показано, что внутриклеточная реорганизация адренокортикоцитов при действии экстремальных факторов определяется тремя основными событиями: генетически детерминированной адаптивно-компенсаторной перестройкой, развивающейся регенераторно-пластической недостаточностью и процессами внутриклеточной регенерации. Выделены универсальные ультраструктурные эквиваленты адаптивно-компенсаторной реорганизации адренокортикоцитов (гиперплазия агранулярной цитоплазматической сети, истощение липидных капель, усиление фенотипической гетерогенности) при экстремальных воздействиях.

Ключевые слова: гипоксия, гипертермия, посттепловая реституция, адренокортикоциты, ультраструктура.

Действие экстремальных факторов вызывает значительную структурно-функциональную перестройку органов и тканей, обусловленную развитием общего адаптационного синдрома и специфическими, свойственными для каждого конкретного воздействия, адаптивно-компенсаторными реакциями. Наиболее распространенными экстремальными воздействиями как внешнего, так и внутреннего характера являются гипоксия и гипертермия. Многокомпонентность и плеiotропность этих факторов обуславливают нерешенность множества их патогенетических аспектов ввиду широкого спектра метаболических реакций и молекулярно-клеточных механизмов, участвующих в реализации их негативных влияний [1, 2].

Вызванная стрессом активизация гипоталамо-адреналовой системы позволяет синхронизировать разнонаправленные внутренние процессы в организме для поддержания его жизнедеятельности в условиях диспропорционального расходования энергетических и пластических резервов организма со значительным преобладанием катаболических процессов над анаболическими [3–6]. При этом все звенья системы, в том числе и надпочечники, подвергаются структурно-функциональным перестройкам [7–10]. Очевидно, что степень выраженности этих перестроек на тканевом и внутриклеточном уровнях имеет значение для поддержания функционирования всех органов и систем организма, определяя его способность адекватно реагировать на повреждающее воздействие. Экспериментальное моделирование экстремальных воздействий позволяет оценить совокупность всех внутриклеточных изменений

адренокортикоцитов (АКЦ) и выделить основные, определяющие способность надпочечников как важного звена гипоталамо-адреналовой системы обеспечивать развитие общего адаптационного синдрома, отражающие развитие регенераторных процессов и их истощение.

Цель работы – изучить ультраструктурные особенности адаптивной реорганизации АКЦ пучковой и сетчатой зон коры надпочечников экспериментальных животных при действии экстремальных факторов.

Материал и методы исследования

Для выявления закономерностей и особенностей ультраструктурной реорганизации АКЦ при действии экстремальных факторов моделировали общее перегревание организма и воздействие гипобарической гипоксии. Влияние общей гипобарической гипоксии изучали на 57 крысах-самцах линии Вистар. Животных 1-й группы ($n = 33$) подвергали однократному гипоксическому воздействию, 2-й ($n = 24$) – многократным гипоксическим воздействиям. Однократное гипоксическое воздействие моделировали, помещая животных в барокамеру на «высоту» 9000 м на 1 ч. Многократные гипоксические воздействия осуществляли в той же камере, ежедневно на 1 ч «поднимая» животных на высоту 5000 м в течение 11 сут, а на 12-е сутки – на 1 ч на 9000 м. Во всех случаях скорость подъема составляла 50 м/с. В качестве контроля использованы одновозрастные крысы Вистар ($n = 12$), которых содержали в клетках, по размерам соответствующих размерам камеры.

Исследование посттепловой реституции

проводили на 36 мышах-самцах линии СВА, подвергавшихся однократному общему перегреванию при 43°C. Время экспозиции составляло 35 мин, что соответствовало предельному сроку, после которого отмечалась массовая гибель животных. Контрольную группу составили 8 животных, находившихся при комнатной температуре. Для морфологического исследования материал брали через 30 мин, на 3, 7 и 14-е сутки после общего перегрева.

Животные всех экспериментальных и контрольных групп содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму.

Для электронно-микроскопического исследования образцы надпочечников, фиксированные в 4%-м растворе параформальдегида и постфиксированные в 1%-м растворе OsO₄, обрабатывали по стандартной методике и заливали в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие срезы получали на ультратоме «ЛКВ-III», после контрастирования уранилацетатом и цитратом свинца исследовали в электронном микроскопе «JEM-1010» при ускоряющем напряжении 40 кВ.

Результаты исследования

Гипобарическая гипоксия и общее перегревание организма как экстремальные воздействия приводили к выраженным внутриклеточным изменениям АКЦ пучковой и сетчатой зон коркового вещества надпочечников. Одним из ведущих ультраструктурных маркеров выраженности стероидогенеза считается изменение количества, формы, размеров и распределения липидных включений (капель), которые из-за динамичности и наглядности часто рассматривают в качестве ведущих событий во внутриклеточной реорганизации АКЦ. В то же время детальное ультраструктурное исследование позволяет систематизировать весь спектр ультраструктурных изменений АКЦ при экстремальных воздействиях и оценить их адаптивно-компенсаторную направленность или оценить как маркеры регенераторной недостаточности. Выявленные нами изменения затрагивали все основные компартменты АКЦ: ядерный, митохондриальный и агранулярной цитоплазматической сети (АЦС), а также липидные включения.

Характеризуя структурно-функциональную реорганизацию коры надпочечников при экстремальных воздействиях, прежде всего следует отметить усиление фенотипической гетерогенности АКЦ, что выражается в появлении «темных» и «светлых» клеток, особенно это демонстративно в пучковой и сетчатой зонах. Такая

фенотипическая гетерогенность регистрируется после гипобарических воздействий и после общего перегрева организма. К ранним событиям внутриклеточной реорганизации АКЦ следует отнести гиперплазию АЦС. Гиперплазия и расширения везикул АЦС, из-за чего цитоплазма АКЦ приобретает «пенистый» вид, выявлены уже через 30 мин после общего перегрева организма (рис. 1, а), когда в АКЦ еще не происходит заметного изменения количества и строения липидных включений. Следует отметить, что изменения АЦС встречались как в «светлых», так и в «темных» клетках, варьировала только степень расширения везикул.

Следующими по значимости были изменения липидных включений. Начало процесса посттепловой реституции характеризовалось заметным уменьшением количества липидных капель в цитоплазме АКЦ пучковой и сетчатой зон коры надпочечников, при этом обращало на себя внимание появление миелоноподобных остаточных телец в клетках и межклеточном пространстве. Мембранная трансформация и истощение липидных капель наблюдались и после однократного гипоксического воздействия (рис. 1, б), при этом количество липидных включений существенно варьировало от гроздьевидных скоплений до единичных липосом; часть клеток совсем не содержала липидных капель. В АКЦ сетчатой зоны однократное гипоксическое воздействие вызывало усиление процессов аутофагии, что манифестировало появлением вторичных лизосом и аутофагосом (рис. 1, в). Следует также отметить, что АКЦ сетчатой зоны практически не содержали липидов. Миелоноподобной трансформации подвергались не только липидные капли в цитоплазме, но и митохондрии, особенно демонстративно это было в АКЦ сетчатой зоны.

Ультраструктурные изменения митохондриального компартмента также регистрировались в ранние сроки после воздействия экстремальных факторов, проявлялись в очаговом лизисе матрикса митохондрий и уменьшении количества крист и были более выраженными в «темных» АКЦ.

Выявленные в первые минуты и сутки изменения внутриклеточной организации АКЦ при действии экстремальных факторов можно отнести к адаптивно-компенсаторным и по их выраженности судить об интенсивности экстремальных воздействий. Подобные изменения, как правило, прогрессируют не только по мере увеличения времени воздействия экстремального фактора, но и в течение определенного

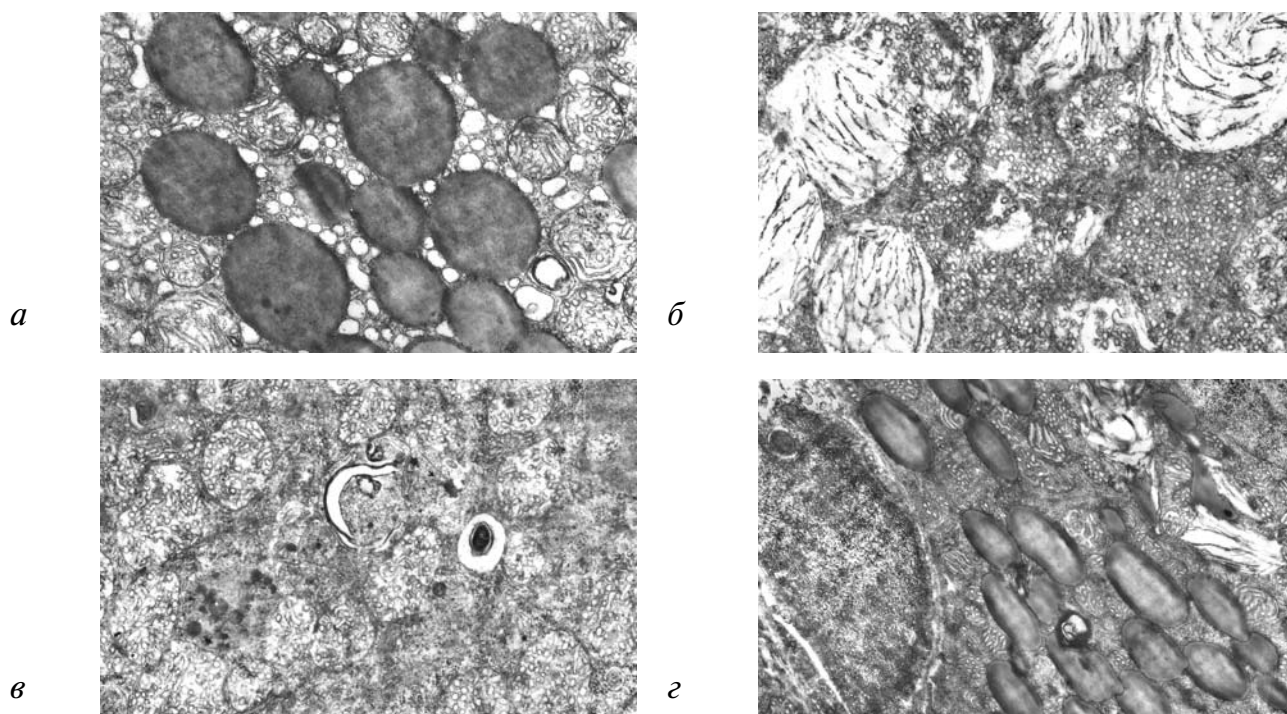


Рис. 1. Внутриклеточная реорганизация адренкортикоцитов экспериментальных животных при экстремальных воздействиях. а — расширение везикул агранулярной цитоплазматической сети в адренкортикоцитах пучковой зоны мышей через 30 мин после общего перегревания, увел. 10 000; б — мембранная трансформация и истощение липидных капель в адренкортикоцитах пучковой зоны крыс после однократного гипоксического воздействия, увел. 15 000; в — формирование вторичных лизосом и аутофагосом в адренкортикоцитах сетчатой зоны крыс после однократного гипоксического воздействия, увел. 15 000; г — частичное истощение липидных капель и формирование миелоноподобных структур через 7 сут после общего перегревания крыс, увел. 8000.

периода после завершения такого воздействия. В частности, через 3 сут после общего перегревания животных начавшиеся внутриклеточные изменения АКЦ становились более выраженными. Сохранялась высокая степень гетерогенности АКЦ пучковой и сетчатой зон (рис. 2, а), в «темных» клетках наблюдалась плотная «упаковка» органелл — митохондрий, везикул и трубочек гранулярной и агранулярной цитоплазматической сети, большое количество гранул гликогена. В «светлых» клетках цитоплазма выглядела более разреженной, в основном за счет значительно расширенных везикул АЦС, здесь же можно отметить меньшее количество гранул гликогена. В АКЦ обоих типов в результате миелоноподобной трансформации митохондрий и липидных капель происходило активное формирование аутофагосом (рис. 2, б), которые в значительном количестве наблюдались также в межклеточных пространствах и просветах синусоидов. Необходимо отметить, что в сетчатой зоне отмечались участки, практически не содержавшие АКЦ, особенно на границе с мозговым веществом.

Изменения цитоплазматических органелл

сопровождались выраженным полиморфизмом ядер АКЦ, которые часто были лишены гетерохроматина и содержали только эухроматин, при этом ядрышки в них имели кольцевидную форму. Последнее обстоятельство считается ультраструктурным эквивалентом снижения синтеза рРНК и угнетения биосинтетических процессов в клетках [11]. Регистрируемая в ядрах АКЦ кольцевидная трансформация ядрышек и усиление аутофагоцитоза свидетельствуют о развивающейся регенераторно-пластической недостаточности клеток, ультраструктурные эквиваленты которой «сосуществуют» с ультраструктурными маркерами адаптивно-компенсаторных реакций (гиперплазией АЦС, трансформацией и истощением липидных включений).

Усиление адаптивно-компенсаторной реорганизации АКЦ (например, через 7 сут. пост-тепловой реституции) сопровождалось увеличением полиморфизма АКЦ прежде всего пучковой зоны. АКЦ значительно различались по содержанию и ультраструктурным характеристикам липидных включений («истощающиеся» липидные капли, мембранозная

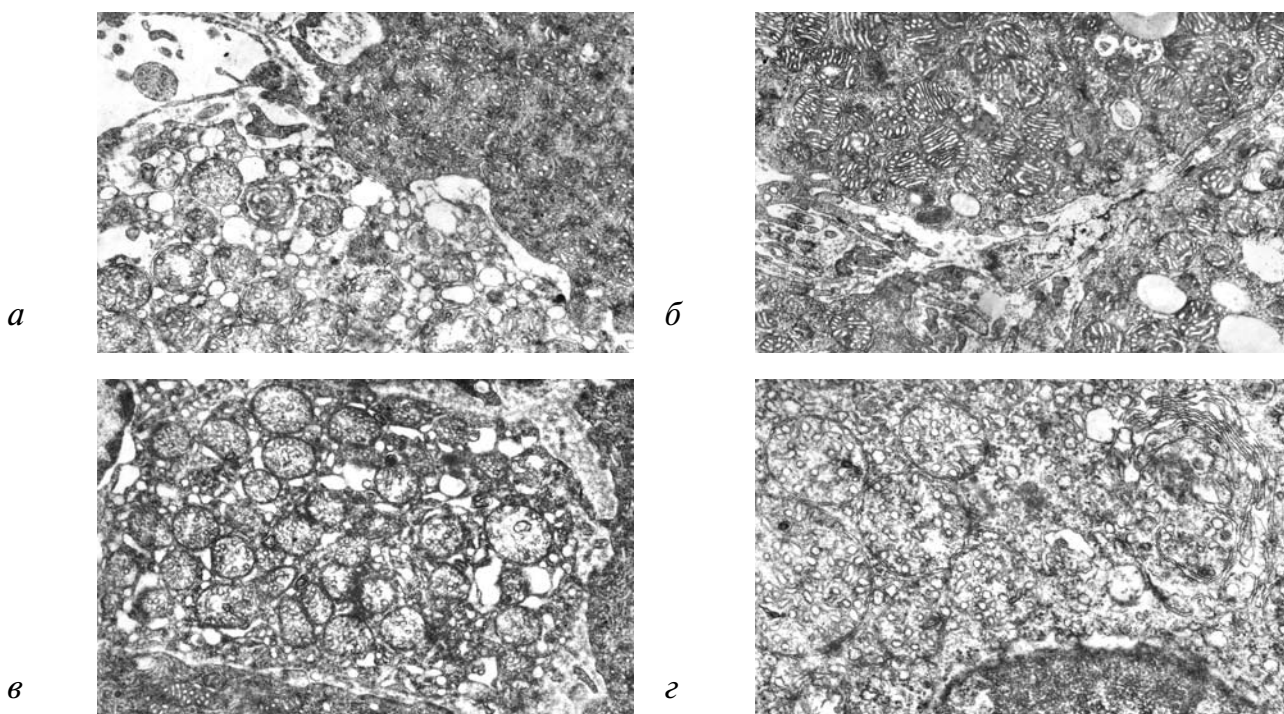


Рис. 2. Ультраструктура адренокортикоцитов экспериментальных животных при действии экстремальных факторов. а — фрагменты «темного» и «светлого» адренокортикоцитов сетчатой зоны через 3 сут. после общего перегревания мышей, увел. 10 000; б — формирование аутофагосом в адренокортикоцитах сетчатой зоны мышей через 3 сут. после общего перегревания, увел. 10 000; в — выраженное расширение везикул агранулярной цитоплазматической сети в адренокортикоцитах пучковой зоны мышей через 14 сут. после общего перегревания, увел. 10 000; г — гиперплазия структурных элементов комплекса Гольджи в адренокортикоците пучковой зоны крысы после многократных гипоксических воздействий, увел. 15 000.

трансформация), количеству содержащихся миелиноподобных и мембранных структур (рис. 1, г). Одновременно во многих АКЦ продолжались процессы деградации внутриклеточных органелл, при этом наблюдался выраженный аутофагоцитоз. В основном популяция паренхиматозных клеток состояла из АКЦ с конденсированной, электронно-плотной цитоплазмой, с плотно упакованными органеллами, среди которых обращали на себя внимание митохондрии с деструктивными изменениями: очаговым лизисом матрикса, редукцией или концентрической трансформацией крист.

Расширенные везикулы АЦС продолжали оставаться характерной чертой внутриклеточной реорганизации АКЦ и через 14 сут. после общего перегревания (рис. 2, в). В цитоплазме АКЦ пучковой и сетчатой зон практически отсутствовали липидные включения, при этом содержались многочисленные мелкие митохондрии и комплекс Гольджи. Последний в части клеток характеризовался значительно расширенными диктиосомами и нарушением целостности составляющих его мембран. Необходимо отметить меньшую выраженность, по сравнению с предыдущими сроками, процессов

аутофагоцитоза, хотя остаточные тельца отмечались в межклеточных пространствах и в просвете капилляров. Несмотря на то, что в АКЦ начинали манифестировать ультраструктурные признаки усиления процессов внутриклеточной регенерации (гиперплазия элементов комплекса Гольджи, появление мелких митохондрий, снижение процессов аутофагоцитоза), процесс элиминации АКЦ на границе сетчатой зоны и мозгового вещества, начало которого было зафиксировано в предыдущий срок, продолжался и на данном этапе посттепловой реституции. В ядрах некоторых АКЦ присутствовали ядрышки кольцевидной формы, отмечалась также сегрегация гранулярного и фибриллярного компонентов нуклеолонемы.

В отличие от однократных экстремальных воздействий, при многократном действии экстремального фактора (в данной работе — многократных гипоксических воздействий) АКЦ не проявляли заметной структурно-функциональной гетерогенности. Цитоплазма АКЦ была в основном умеренной электронной плотности, в ней хорошо различались внутриклеточные органеллы. К особенностям внутриклеточной реорганизации АКЦ пучковой зоны

при длительном действии экстремального фактора можно отнести усиление полиморфизма и деструктивных изменений митохондрий. В целом количество митохондрий в АКЦ пучковой зоны было увеличено. В то же время было значительно уменьшено количество липидных капель, при этом они часто были истощены или подвергались мембранной трансформации. В результате аутофагических изменений липидов и других внутриклеточных структур формировались остаточные тельца, которые встречались в расширенных пространствах между латеральными мембранами кортикоцитов, в просветах синусоидов.

Ядра в большинстве АКЦ пучковой и сетчатой зон содержали в основном эухроматин, глыбки гетерохроматина располагались маргинально. Ядрышки были довольно крупными, часто с сегрегированными гранулярным и фибриллярным компонентами. В большинстве клеток отмечалось неравномерное расширение пространства между ядерными мембранами, вблизи ядра часто наблюдался пластинчатый комплекс Гольджи, часто с гиперплазией своих структурных компонентов (рис. 2, г).

Структурным преобразованиям при адаптивной перестройке коры надпочечников подвергались и эндотелиоциты синусоидов в пучковой и сетчатой зонах. В некоторых случаях наблюдался их выраженный отек, практически тотальный лизис цитоплазмы и органелл; сохранялись лишь единичные пиноцитозные везикулы.

Таким образом, для внутриклеточной реорганизации АКЦ при действии гипоксии и гипертермии характерны как общие (универсальные) для обоих факторов, так и специфические изменения ультраструктур, которые отражают развитие адаптивно-компенсаторных реакций, регенераторных процессов, а при их недостаточности – регенераторно-пластической недостаточности. Прежде всего, на действие экстремальных факторов АКЦ реагируют фенотипическим разделением своей популяции на «темные» и «светлые» клетки. Это явление может отражать как разную чувствительность клеток к повреждающим воздействиям, так и увеличение структурно-функциональной специализации АКЦ при неблагоприятных воздействиях, имеющей адаптивно-компенсаторную направленность, а также изменение активности регенераторных процессов [11, 12]. Отсутствие такого структурно-функционального разделения АКЦ в надпочечниках животных, подвергнутых многократным гипоксическим воздей-

ствиям, определяется, очевидно, уменьшением стрессорной мобилизации клеточных ресурсов и переходом органа на стабильное функционирование в новом, адаптированном, состоянии.

Другой общей чертой внутриклеточной адаптивно-компенсаторной реорганизации АКЦ при действии различных экстремальных факторов является феномен гиперплазии АЦС и значительного истощения липидных капель (в которых находятся основные компоненты для синтеза стероидных гормонов). В обеих экспериментальных моделях во все сроки наблюдения количество липидных капель в АКЦ было уменьшено по сравнению с контролем, что отражает напряженность функционирования адреналовых желез как при остром воздействии (однократной гипоксии, общего перегревания), так и при развитии адаптивной перестройки после многократных гипоксических воздействий.

Деструктивные изменения митохондрий, кольцевидная трансформация ядрышек и сегрегация нуклеолонемы на гранулярный и фибриллярный компоненты, усиление процессов аутофагоцитоза, наблюдаемые преимущественно в более поздние сроки экспериментов, отражают развитие регенераторно-пластической недостаточности АКЦ. Вероятно, эти ультраструктурные изменения можно также считать критериями истощения адаптивно-компенсаторных реакций в надпочечниках. Вместе с тем появление полисом в цитоплазме АКЦ, особенно после многократных гипоксических воздействий, свидетельствует о возобновлении регенераторных процессов, в результате чего тонкая структура клеток в значительной степени восстанавливается.

Литература

1. Лукьянова Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: Понятие, механизмы и способы коррекции // Бюлл. exper. биол. 1997. 124. 9. 244-254.
2. Сеферова Р.И., Маненкова И.Д., Аветисова Н.Л. Внутриклеточные окислительно-восстановительные процессы в тканях при гипертермии // Пат. физиология. 1993. 2. 25-27.
3. Сеферова Р.И., Маненкова И.Д., Аветисова Н.Л. Intracellular redox processes in tissue at hyperthermia // Pat. fiziologiya. 1993. 2. 25-27.
4. Кириллов О.И. Стрессовая гипертрофия надпочечника М.: Наука. 1994. 176.
5. Кириллов О.И. Stress hypertrophy of adrenal gland. М.: Nauka. 1994. 176.
6. Озернюк Н.Д. Механизмы адаптации. М.: Наука. 1992. 272.

- Ozernyuk N.D. Mechanisms of adaptation. M.: Nauka. 1992. 272.
5. Pacak K., Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders // *Endocrine Rev.* 2001. 22. 502-548.
6. Ostrander M.M., Ulrich-Lai Y.M., Choi D.C. *et al.* Hypoactivity of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis during recovery from chronic variable stress // *Endocrinology.* 2006. 147. 4.
7. Koko V., Djordjevic J., Cvidoviae V., Davidoviae V. Effect of acute heat stress on rat adrenal glands: a morphological and stereological study // *J. Exper. Biol.* 2004. 207. 4225-4230.
8. Lorente M., Mirapeix R.M., Miguel M. Ostrander M.M. Hypoxia induced ultrastructural changes in the rat adrenal zona glomerulosa // *Histol. Histopathol.* 2002. 17. 185-190.
9. Ulrich-Lai Y.M., Helmer F.F., Ostrander M.M. *et al.* Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006. 291. E965-E973.
10. Aguilera G., Kiss A., Lu A., Camacho C. Regulation of adrenal steroidogenesis during chronic stress // *Endocrinol. Res.* 1996. 22. 4. 433-443.
11. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца. М.: Из-во РАМН. 2003. 255.
- Непотныаских Л.М., Лushnikova E.L., Semenov D.E. Regenerator plastic heart failure. M.: Izd-vo RAMN. 2003. 255.
12. Каширина Н.К. Регенерация сетчатой зоны коры надпочечников при гипертермии // *Бюлл. экс-пер. биол.* 1999. 127. 4. 468-472.
- Kashirina N.K. Regeneration of reticular zone of adrenal cortex at hypothermia // *Byul. eksper. biol.* 1999. 127. 4. 468-472.

ULTRASTRUCTURAL EQUIVALENTS OF ADAPTIVE REORGANIZATION OF ADRENAL CORTEX UNDER EXTREMAL FACTORS

Elena Vladimirovna KOLDYSHEVA

*SI RI for regional pathology and pathomorphology of SB RAMS
2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117*

Ultrastructural reorganization of adrenal gland after extremal factors effect on experimental animals' organism has been investigated. It has been shown that after a single total superheating intracellular changes of adrenocorticocytes developed by ring-shaped transformation of nucleolus, nucleolonema segregation, destructive changes of mitochondrions and canalicular Golgi complex are protractedly registered in cells and testify to adaptive-compensatory reactions lowering. Ultrastructural changes caused by acute hypoxic influence have reflected strengthening of steroidogenesis expressed by decrease in liptosomes' number and their electron density, and catabolic processes prevalence which lead to substantial destructive changes of cellular organelles. It has been shown that reaction of adrenal gland to extremal effects is determined by two main events: genetically determined reaction to stress and oppression of regenerative-plastic reactions, which depends on redistribution of plastic resources between organs and tissues.

Key words: adrenocorticocytes, ultrastructure, hypoxia, hyperthermia, postthermal restitution.

*Koldysheva E.V. – candidate of Biological Sciences, senior researcher of laboratory of functional morphology,
e-mail: pathol@soramn.ru*