

Изатулин Антон Владимирович

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ  
В УСЛОВИЯХ ТОКСИКОСТРЕССОРНОЙ РЕАКЦИИ  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор **Лебединский Владислав Юрьевич**

**Научный консультант:**

Заслуженный врач РФ,

доктор медицинских наук, профессор **Голуб Игорь Ефимович**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор **Мичурин Светлана Викторовна**

(НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск, главный научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы)

доктор медицинских наук, доцент **Сажина Татьяна Вениаминовна**

(Новосибирский государственный медицинский университет, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии педиатрического факультета)

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Барнаул)

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2013 года в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.05, созданного на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, Новосибирск, Красный проспект, д.52. тел: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета (630091. г. Новосибирск, Красный проспект. д. 52).

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2013г.

Ученый секретарь диссертационного совета

А.В. Волков

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Известно, что острые экзогенные отравления сопровождаются токсико-стрессорной реакцией. (Шкурупий В.А. 1986; Провадо А.И. 2007, Шашкова О.Н., Колесников С.И., и др. 2009), которая приводит к поражению многих внутренних органов и изменениям в системе крови. Несмотря на изученность проблемы, на сегодняшний день нет исследований, посвященных морфофункциональным изменениям органов эндокринной системы.

Одним из основных органов, реализующих ответ на действие стрессора, являются надпочечники (Силье Г. 1977; Меерсон Ф.З., 1979; Подвигина Т.Т. с соавт, 1992;). Они посредством глюкокортикоидов осуществляют адаптацию организма к факторам внешней среды (Филоретов А.А. с соавт., 1990; Pangey G,N. et al., 2002). Однако, нет исследований, посвященных изучению морфофункциональных изменений надпочечников, которые они претерпевают при непосредственном воздействии токсиканта на фоне предшествующего стресса. Следовательно, изучение изменений их структуры может существенно расширить и дополнить роль железы в реализации ответной реакции организма на химическую агрессию.

**Цель исследования.** Изучить морфофункциональные изменения надпочечников в условиях токсикострессорной реакции (отравления уксусной кислотой).

### **Задачи исследования**

1. Изучить морфофункциональное состояние надпочечников при остром и хроническом стрессах.
2. В эксперименте, на модели острого отравления уксусной кислотой, изучить характер и динамику морфофункциональных изменений в надпочечниках.
3. Провести сравнительный анализ поражения надпочечников при различных моделях отравления уксусной кислотой и определить основные закономерности морфофункциональных изменений.

**Научная новизна.** Впервые в эксперименте показаны морфофункциональные изменения в надпочечниках при отравлении уксусной кислотой. Установлено, что выраженность этих изменений обусловлена не только воздействием токсиканта, но и сопутствующей отравлению стресс-реакцией.

Впервые исследовано влияние прижигающей жидкости на примере

отравления уксусной кислотой на структуру и функцию надпочечников.

Новыми являются данные о том, что кратковременный стресс, предшествующий отравлению, способствует снижению повреждения надпочечников и быстрейшему восстановлению их структуры и функции.

Наибольшие поражения надпочечников наблюдаются при отравлении после предшествующего продолжительного преморбидного стресса. Это проявляется в большей деструкции как паренхимы, так и стромы надпочечников, нарушении их функциональной активности.

**Теоретическая и практическая значимость** работы определяется тем, что изучена патогенетическая роль преморбидного состояния организма на клиническую картину отравления и степень нарушения функции надпочечников при отравлении уксусной кислотой. Показано, что при отравлении уксусной кислотой поражаются не только органы-мишени, но и надпочечники: за счет стресс-индуцированной альтерации в преморбидный период и токсикострессорной альтерации в период поступления токсиканта в организм. Результаты экспериментального исследования показали, что любое отравление, в том числе и уксусной кислотой, следует рассматривать как один из вариантов острого стресса, а токсическое вещество – стрессором. Полученные теоретические сведения о патогенезе острых отравлений уксусной кислотой могут служить теоретической базой для изменения схемы лечения этой токсикологической патологии, а также использоваться в лекционных курсах: «Гистология, эмбриология и цитология», «Патологическая физиология», «Патологическая анатомия», «Судебная медицина», «Клиническая токсикология».

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Характер морфофункциональных изменений надпочечников на токсикострессорное воздействие (отравление уксусной кислотой) в значительной степени определяется их исходным состоянием. Наиболее выраженные морфофункциональные изменения надпочечников происходят при отравлении уксусной кислотой на фоне хронического стресса.

2. Наибольшая токсикострессорная альтерация надпочечников наблюдается при отравлении уксусной кислотой на фоне хронического стресса в пучковой зоне коркового вещества и проявляется в виде мелкоочагового поражения.

**Апробация работы.** Результаты исследований доложены и обсуждены на

научно-практической конференции «Скорая медицинская помощь. Догоспитальный и госпитальный этапы. Проблемы реформирования и их решение» (Екатеринбург, 2003), на научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины» (Санкт-Петербург, 2004), на международной научно-практической конференции «Актуальные аспекты экологической, сравнительно-видовой, возрастной и экспериментальной морфологии» (Улан-Удэ, 2004), на 9-м съезде Федерации анестезиологов и реаниматологов (Иркутск, 2004), на Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины» (Чита, 2008), на 3-м съезде токсикологов России (Москва, 2008), на расширенном заседании кафедр гистологии, цитологии и эмбриологии, патофизиологии, анестезиологии и реаниматологии, ИГМУ (Иркутск, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012), на 2-й межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых «Человек, здоровье и экология» (Иркутск, 2011).

**Внедрение.** Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры судебной медицины с основами правоведения, кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии и на курсе клинической токсикологии Иркутского государственного медицинского университета.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для опубликования материалов диссертации. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации представлены в списке публикаций.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, 2-х глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Список использованной литературы состоит из 211 источников, в том числе 134 отечественных и 77 иностранных. Работа проиллюстрирована 70 таблицами и 36 рисунками.

**Личный вклад автора.** Весь материал, представленный в диссертации, собран, обработан и проанализирован лично автором.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Эксперимент выполнен на 325 беспородных белых крысах-самцах массой

180 – 220 г в осенне-зимний период. Подопытные животные были разделены на 6 групп, соответствующих следующим сериям экспериментов:

**1-я серия.** Изучение морфофункциональных изменений в надпочечниках у экспериментальных животных при остром стрессе – 60 животных.

**2-я серия.** Изучение морфофункциональных изменений надпочечников у экспериментальных животных при хроническом стрессе – 60 животных.

**3-я серия.** Изучение морфофункциональных изменений надпочечников у экспериментальных животных при отравлении уксусной кислотой – 60 животных.

**4-я серия.** Изучение морфофункциональных изменений надпочечников при отравлении уксусной кислотой после предварительного острого стресса – 60 животных.

**5-я серия.** Изучение морфофункциональных изменений надпочечников у экспериментальных животных при отравлении уксусной кислотой после предварительного хронического стресса – 60 животных.

**6-я серия.** Интактные – 25 животных.

Эксперименты выполняли согласно Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных, которых содержали в стандартных условиях вивария на полнорационной сбалансированной по содержанию питательных веществ диете (ГОСТ Р 50258-92). Экспериментальные исследования осуществляли согласно правилам лабораторной практики для проведения доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000. 4-96).

**Используемые модели отравлений.** Первая модель отравления воспроизводилась посредством одномоментного зондового введения в желудок животных 0,5 мл 30 % раствора уксусной кислоты.

Вторая модель – отравление воспроизводили одномоментным зондовым введением раствора уксусной кислоты после острого стресса (6-часовой иммобилизации ненаркотизированных животных на спине).

В третьей модели затравку животных раствором уксусной кислоты производили после хронического стресса, который воспроизводили по методике Н.С.Ким et al. (2006) посредством ежедневной 6-часовой иммобилизации крыс в горизонтальном положении на спине в течение 14 суток. Животных выводили из эксперимента на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е и 14-е сутки после токсического или стрессорного воздействия.

В качестве прижигающей жидкости использовали 30 % водный раствор уксусной кислоты в объеме 0,5 мл, что в перерасчете на чистое вещество составляет менее LD<sub>25</sub> для крыс (летальная доза для 25 % экспериментальных животных), вызывая у них отравление легкой степени тяжести (Лужников Е.А., 2000; O Neil M.J., 2001).

**Клинические и биохимические методы исследования.** Для изучения динамики содержания эозинофилов при стрессе забирали кровь, оттекающую из хвостовой вены или из декапитированной тушки. Образцы крови получали через 24, 39 часов, на 3-и, 5-е, 7-е, 10-е и 14-е сутки после иммобилизации животных или интрагастрального введения токсического вещества. Подсчет эозинофилов проводили в камере Горяева после окраски крови в меланжерах раствором Хинкельмана в течение 25 – 30 минут. Количество эозинофилов, подсчитанное в камере Горяева, пересчитывалось на 1 мкл крови (Меньшиков В.В. и соавт., 1987).

Для оценки реакции коры надпочечников определяли содержание кортикостерона в крови по методу Ботвиньева О.К. и Вельтищева Ю.Е. в модификации Малышева В.В. и соавт. (1985).

Содержание пролактина в крови экспериментальных животных определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью стандартного набора «ИФА-пролактин-01». Концентрацию кортикостерона и пролактина выражали в нмолях на 1 литр крови. Кроме того, у животных на протяжении экспериментов определяли уровень инсулина.

Для изучения содержания в сыворотке крови и тканях надпочечников экспериментальных животных гидроперекисей липидов (далее – ГПЛ) использовали метод В.Б. Гаврилова и М.И. Мишкорудной (1983).

Малоновый диальдегид (далее – МДА), один из конечных продуктов перекисное окисление липидов (далее – ПОЛ), определяли по методу И.Д. Стальной и Т.Г. Гаришвили (1977) с помощью тиобарбитуровой кислоты. При расчете содержания МДА в пробе использовали коэффициент мольной экстинкции  $1,56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ . Концентрацию МДА выражали в нмоль на 1 мл крови или в нмоль на 1 г ткани. Исследование проводили на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е и 14-е сутки после начала стрессового воздействия или затравки.

**Морфологические и гистохимические методы исследования.** При выведении подопытных животных из эксперимента тушки взвешивали, после чего забирали надпочечники для исследования. Определяли их состояние и

массу. Затем надпочечники фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, проводили через спирты и заливали в парафин для получения срезов. Полученные с парафиновых блоков из средней части железы микропрепараты толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Ван\_Гизон (для изучения состояния стромы надпочечников) (Меркулов Г.А., 1969).

Морфометрические исследования проводили при увеличении в  $\times 200$ , используя сетку Автандилова (Автандилов Г.Г., 1990).

Определяли следующие гисто- и цитометрические показатели: толщину коркового вещества надпочечников, размер клубочковой, пучковой и сетчатой зон, объем цитоплазмы кортикоцитов, объем ядер в клетках коры надпочечников, ядерно-цитоплазматические соотношения в клетках коры железы, среднее количество митозов в различных зонах коркового вещества.

Определяли относительные объемы сосудов, паренхимы и стромы органа.

Содержание фосфолипидов определяли по методу Меньшика (Пирс Э., 1962). Гликоген в клетках выявляли по А.Л. Шабашу, содержание аскорбиновой кислоты определяли по методу Бакхуса (Пирс Э., 1962).

Для определения количества функционирующих капилляров была проведена реакция на пироксидазу по методу Крейбиха в модификации Р. Лилли (Ромейс Б., 1953) с избытком перекиси водорода (для получения яркой окраски эритроцитов).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica-6.1» (Stat – Soft Inc ,USA). Учитывая, что большинство полученных данных не соответствовали закону нормального распределения, исследование проведено непараметрическим методом, а все результаты представлены медианой, 25 и 75 перцентилями (Гланц С., 1999).

Анализ достоверности различий между группами осуществляли с использованием методов непараметрической статистики (U-тест Манна-Уитни) (Реброва О.Ю., 2002). За критический уровень значимости было принято значение  $p = 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Для исследования морфофункциональных изменений в надпочечниках при отравлении уксусной кислотой вначале необходимо было определить, какие изменения происходят в исследуемом органе под воздействием острого и

хронического стрессов еще до момента отравления. С этой целью проводили определение степени стрессорного воздействия и морфофункциональных изменений в надпочечниках у экспериментальных животных в стадию тревоги и стадию истощения стресс-реакции (после острого и хронического стрессов). Состояние надпочечников в модели случайного отравления уксусной кислотой изучали на контрольной группе животных, не подвергавшихся предварительному стрессу.

Для определения стадий стресс-реакции и уровня стрессорного воздействия изучали динамику изменения кортикостерона, пролактина, инсулина и эозинофилов в крови у экспериментальных животных.

Сравнительный анализ результатов исследования показал, что на момент отравления уксусной кислотой экспериментальные животные находятся в разных исходных состояниях. Причем вид стресса, предшествующего отравлению, влияет не только на степень альтерации надпочечников, но и на проявление отравления уксусной кислотой, вызывает неспецифическое повреждение органов, не подвергающихся непосредственному токсическому действию уксусной кислоты.

Так наименьший уровень кортикостерона отмечен в крови у животных при отравлении после хронического стресса 24,2 (23,51; 24,8) нмоль/л, а наибольший при отравлении в состоянии острого стресса 48,3 (47,2; 49,7) нмоль/л, что составляет превышение показателя почти в 2 раза ( $p < 0,01$ ).

Аналогичная картина выявлена и при изучении содержания пролактина. Уровень его в четвертой группе был значительно выше, чем в пятой. На момент отравления показатели различаются почти в 3,5 раза ( $p < 0,01$ ).

Еще один гормон, роль которого чрезвычайно важна в ответе организма на стресс, – инсулин. Он обладает ярко выраженным контрэффekten по отношению к гормонам надпочечников (Панин Л.Е., 1983). Сравнительный анализ динамики содержания инсулина показал, что его уровень на момент затравки уксусной кислотой был наиболее высоким у животных 4-й группы – 31,3 (30,3; 32,7) нмоль/л, а наиболее низкий отмечается в 5-й группе после 2-недельного хронического стресса – 9,2 (8,54; 9,85) нмоль/л.

В различном морфофункциональном состоянии находятся и надпочечники экспериментальных животных. Они существенно различаются по массе. Если вес надпочечников интактных животных в среднем составляет 61,7 (57,3; 65,2) мг., то после острого стресса их вес увеличивается на 13 %, а

после хронического стресса, напротив, уменьшился, и к последнему сроку (к 14-м суткам) был меньше по массе на 18 %.

Наиболее выраженные изменения претерпевает гистоструктура – коркового вещества железы, максимальная ширина которого достигает при остром стрессе 764,5 (761,2; 767,2) мкм., тогда как при хроническом стрессе она снижается до 644,6 (639,1; 648,4) мкм ( $p < 0,01$ ) (табл. 1). Причем наибольшие изменения ее ширины наблюдаются в пучковой зоне. Существенно изменяются и объемные соотношения основных компонентов коркового вещества надпочечников – снижается относительный объем кровеносных сосудов при увеличении относительного объема соединительнотканной стромы. При остром же стрессе, напротив, возрастает относительный объем сосудистого русла.

Таблица 1 – Ширина коркового вещества надпочечников при отравлении уксусной кислотой (мкм)

Группа	Исходный уровень	1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	15-е сутки
	Me (25;75)						
3-я	711,1 (707,8;718,2)	720,2 (715,7;725,8)	724,4 (720,1;728,3)	*663,2 (660,7;665,8)	*638,3 (635,7;641,5)	629,0 (624,2;632,5)	624,6 (620,8;630,1)
4-я	764,5 (761,2;767,2)	*#764,5 (760,2;768,9)	*#752,1 (750,1;754,8)	*#736,1 (732,7;739,9)	*#691,4 (688,5;700,3)	*#659,5 (654,8;662,8)	*645,1 (642,9;649,2)
5-я	*#644,6 (639,1;648,4)	*#636,1 (631,9;639,6)	*#657,1 (650,2;660,2)	*#643,4 (639,8;645,8)	*#620,0 (618,2;625,7)	*#613,7 (619,5;619,8)	*#587,4 (584,9;592,3)

Примечание: \* – достоверное отличие от показателей предыдущего срока; # – достоверное отличие от показателей 3-й группы

В результате стрессорной альтерации при хроническом стрессе в корковом веществе выявляется до 5,5 % кортикоцитов в состоянии некробиоза, катастрофически снижаются запасы гликогена и фосфолипидов. После острого стресса поражение паренхимы не наблюдается, а запасы пластического материала уменьшаются, но незначительно.

На основании анализа морфофункциональных изменений в надпочечниках экспериментальных животных после острого и хронического стрессов и показателей интактных животных можно констатировать, что альтерация желез наиболее выражена после хронического стресса.

Было сделано предположение о том, что при отравлении уксусной кислотой, как и при действии любого экстремального фактора, изменяется

морфофункциональное состояние надпочечников. Для проверки данной гипотезы был проведен ряд экспериментов на животных (3-й, 4-й, 5-й серии). Было установлено, что независимо от модели отравления, у животных наблюдаются выраженные изменения как функции, так и структуры органа. Причем наблюдаемые морфофункциональные изменения носят адаптивный характер и имеют различную степень выраженности.

Исследование содержания кортикостерона, пролактина и инсулина в крови у животных показало, что наиболее высокий уровень этих гормонов определяется у животных 4-й серии. Содержание кортикостерона превышало норму в 1,25 раза ( $p < 0,01$ ), уровень пролактина – в 3,5 раза ( $p < 0,01$ ), а инсулина – в 1,13 раза.

Наиболее низкие показатели исследуемых гормонов были выявлены в первые сутки отравления в 5-й серии, что связано с истощением как стресс-реализующих, так и стресс-лимитирующих систем. В последующие сроки отмечается постепенное снижение концентрации гормонов, и к 7-м суткам они практически не отличаются от результатов других серий.

На более значительное поражение надпочечников у животных в 5-й серии указывает и уровень продуктов ПОЛ. Так концентрация МДА у животных в этой серии (1 сутки отравления) превышала в 2,4 раза результаты в третьей серии, а исходный уровень – в 1,39 раза ( $p < 0,01$ ). Тогда как максимальные уровни МДА у животных 3-й и 4-й серий соответствовали 9,7 (8,87; 10,53) и 9,1 (8,8; 9,75) нмоль/г (табл. 2, табл. 3, табл. 4).

Таблица 2 – Содержание продуктов ПОЛ в надпочечниках животных 3-й серии отравления уксусной кислотой (нмоль/г)

Показатель	Сроки						
	Интактные	1-е сут.	3-и сут.	5-е сут.	7-е сут.	10-е сут.	14-е сут.
	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
ГПЛ	25,4 (24,28;25,6)	*40,1 (38,7;41,8)	*53,4 (51,8;55,3)	*40,3 (39,6;41,5)	*37,4 (36,8;38,85)	*28,4 (27,95;29,23)	*25,7 (25,07;26,23)
МДА	6,2 (5,63;6,85)	*9,6 (8,5;10,2)	9,7 (8,87;10,53)	*8,5 (7,83;9,04)	8,4 (7,78;9,5)	8,4 (7,7;9,45)	*7,1 (7,03;7,45)

Примечание: \* – достоверное отличие от показателей предыдущего срока; # – достоверное отличие от показателей 3-й группы

Морфологические исследования позволили подтвердить активное участие надпочечников в ответной реакции на отравление. Так к моменту затравки

животных средняя ширина коркового вещества составляла в 3-й серии 711,1 (707,8; 718,2), в 4-й серии – 764,5 (761,2; 767,2), а в 5-й серии – 644,6 (639,1; 648,4) мкм. Гипертрофия коры железы достигала максимума у животных 3-й и 4-й серий на 1-е – 3-и сутки после затравки, тогда как у животных 5-й серии она отмечалась только на 3-и – 5-е сутки отравления, причем носила менее выраженный характер (табл.1).

Таблица 3 – Содержание продуктов ПОЛ в надпочечниках животных 4-й серии отравления уксусной кислотой (нмоль/г)

Показатель	Сроки							
	Интактные	Преморбидное состояние	1-е сут.	3-и сут.	5-е сут.	7-е сут.	10-е сут.	14-е сут.
	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
ГПЛ	25,4 (24,97;25,6)	*45,2 (43,1;46,35)	*#47,3 (46,6;48,6)	*#44,2 (43,7;45,9)	*37,4 (35,5;39,8)	*#27,5 (26,1;28,56)	*26,4 (25,5;27,4)	25,3 (24,7;26,56)
МДА	6,2 (5,63;6,85)	*#8,8 (8,15;9,48)	*#9,1 (8,8;9,75)	*#8,3 (7,2;9,6)	*#6,4 (5,97;6,9)	#6,3 (5,89;6,72)	#6,1 (5,93;6,25)	#5,9 (5,45;6,23)

Примечание: \* – достоверное отличие от показателей предыдущего срока; # – достоверное отличие от показателей 3-й группы

Таблица 4 – Содержание продуктов ПОЛ в надпочечниках животных 5-й серии отравления уксусной кислотой (нмоль/г)

Показатель	Сроки							
	Интактные	Преморбидное состояние	1-е сут.	3-и сут.	5-е сут.	7-е сут.	10-е сут.	14-е сут.
	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
ГПЛ	25,4 (24,97;25,65)	*#59,2 (57,1;61,2)	*#63,6 (61,5;66,7)	*#87,5 (86,3;88,6)	*#50,4 (48,7;51,2)	*38,2 (37,54;39,05)	*31,5 (30,9;34,33,3)	*26,2 (24,7;28,2)
МДА	6,2 (5,63;6,85)	*10,7 (9,95;11,2)	*#14,9 (13,4;15,6)	*#12,8 (11,7;13,9)	*#9,5 (7,76;10,02)	*8,3 (7,4;9,5)	*#7,1 (6,63;7,65)	*6,4 (5,6;7,7,3)

Примечание: \* – достоверное отличие от показателей предыдущего срока; # – достоверное отличие от показателей 3-й группы

Наибольшая альтерация паренхимы надпочечников в первые сутки отравления отмечалась у экспериментальных животных 5-й серии и составляла 4,7 %, что в 1,7 раза больше чем в 3-й экспериментальной группе ( $p < 0,05$ ). У 4-й группы животных признаки альтерации отсутствовали (табл. 5).

Существенные различия выявлены в надпочечниках и по содержанию

пластического материала в кортикоцитах, являющегося необходимым материалом для синтеза стероидных гормонов. Так содержание гликогена в надпочечниках животных при отравлении после хронического стресса снижается за первые сутки в 3 раза ( $p < 0,01$ ), а с 3-х по 10-е сутки они отсутствуют полностью.

Таблица 5 – Относительный объем паренхимы надпочечников в состоянии некробиоза (%)

Группа	Сроки						
	Интактные	1-е сут.	3-и сут.	5-е сут.	7-е сут.	10-е сут.	14-е сут.
	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
3-я	–	2,7 (2,56;2,83)	4,8* (4,64;5,02)	4,9 (4,56;5,34)	2,8* (2,67;2,93)	1,2* (1,06;1,35)	0,6* (0,57;0,63)
4-я	–	–	2,2*# (2,04;2,35)	2,1# (1,87;2,41)	2,2*# (2,05;2,43)	1,3* (1,21;1,45)	0,5* (0,48;0,64)
5-я	–	6,9*# (6,1;7,3)	8,3*# (7,8;8,8)	8,1# (7,5;8,6)	3,5*# (3,1;3,9)	2,0*# (1,8;2,3)	0,9*# (0,8;1,1)

Примечание: \* – достоверное отличие от показателей предыдущего срока; # – достоверное отличие от показателей 3-й группы

В серии отравления после острого стресса, несмотря на значительные траты гликогена, его запасы сохраняются (за исключением 7-х суток) на всем протяжении развития патологического процесса (табл. 6).

Таблица 6 – Динамика изменения гликогена в пучковой зоне коры надпочечников у экспериментальных животных (ГХП ед.) при отравлении уксусной кислотой.

Группа	Интактные	Преморбидное состояние	Отравление уксусной кислотой					
			1-е сут.	3-и сут.	5-е сут.	7-е сут.	10-е сут.	14-е сут.
			Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)	Me (25;75)
3-я	1,3 (1,23;1,37)	1,3 (1,23;1,37)	0,9* (0,84;0,93)	0,5* (0,46;0,53)	0,6 (0,57;0,66)	–	0,2* (0,18;0,23)	0,6* (0,58;0,63)
4-я	1,3 (1,23;1,37)	1,1* (0,97;1,23)	0,9 (0,86;0,94)	0,8# (0,78;0,82)	0,4*# (0,37;0,42)	0,3# (0,28;0,33)	0,5# (0,41;0,6)	0,8* (0,7;0,9)
5-я	1,3 (1,13;1,37)	0,3*# (0,24;0,37)	0,1*# (0,09;0,12)	–	–	–	–	0,2*# (0,17;0,24)

Примечание: \* – достоверное отличие от показателей предыдущего срока; # – достоверное отличие от показателей 3-й группы

Выявлены различия и в показателях фосфолипидов (табл 7.), которые в

5-й серии на 1-е сутки отравления снизились, а с 3-х по 10-е сутки не определялись. В исследованиях (Трунова А.И., 1979; Зайко Н.Н., Быць Ю.В., 1996; Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 1999;) показано, что с началом стресса в коре надпочечников наблюдается уменьшение содержания липидов при повышении концентрации неэстерифицированных жирных кислот в плазме крови.

Таблица 7 – Динамика изменения фосфолипидов в пучковой зоне коры надпочечников экспериментальных животных при отравлении уксусной кислотой

Группа	Интактные	Преморбидное состояние	Отравление уксусной кислотой					
			1-е сут.	3-и сут.	5-е сут.	7-е сут.	10-е сут.	14-е сут.
			Ме (25;75)	Ме (25;75)	Ме (25;75)	Ме (25;75)	Ме (25;75)	Ме (25;75)
3-я	1,3 (1,23;1,37)	1,3 (1,23;1,37)	0,9* (0,84;0,93)	0,5* (0,46;0,53)	0,6 (0,57;0,66)	–	0,2* (0,18;0,23)	0,6* (0,58;0,63)
4-я	1,3 (1,23;1,37)	1,1* (0,97;1,23)	0,9 (0,86;0,94)	0,8# (0,78;0,82)	0,4*# (0,37;0,42)	0,3# (0,28;0,33)	0,5# (0,41;0,6)	0,8* (0,7;0,9)
5-я	1,3 (1,13;1,37)	0,3*# (0,24;0,37)	0,1*# (0,09;0,12)	–	–	–	–	0,2*# (0,17;0,24)

Примечание: \* – достоверное отличие от показателей предыдущего срока; # – достоверное отличие от показателей 3-й группы

Со стиханием воспалительного процесса, а также стресса (с 5-го дня) количество липидов в коре надпочечников восстанавливается. Накопление липидов происходит с наступлением стадии «резистентности» и начинается с внутреннего слоя пучковой зоны.

Необходимой составляющей в гормоногенезе является и аскорбиновая кислота. Динамика изменения ее показателей повторяет циклические изменения содержания гликогена и фосфолипидов.

Необходимо также отметить, что наибольшие изменения ее показателей наблюдались в модели отравления уксусной кислотой на фоне хронического преморбидного стресса. Снижение ее содержания в надпочечниках А.А. Зорькин, В.И. Мунтяну (1972), А.И. Трунова (1979), А.А. Филаретов, О.А. Данилова (1994), Н.Н. Зайко, Ю.В. Быць (1996) наблюдали уже через 10 минут после травмы. Уменьшение и восстановление ее количества в течение стресса происходит одновременно с изменениями количества липидов (Чурилов Л.П., 1999).

Результаты проведенного исследования позволили разработать концептуальную схему морфофункциональных изменений надпочечников при отравлении уксусной кислотой с учетом роли преморбидного и токсического стрессов в патогенезе острых отравлений. Из нее видно, что значимым звеном в их развитии является исходное состояние органа (интактное, или состояние после острого и хронического стрессов).

Острый и хронический стрессы влияют на гипоталамо-гипофиз-надпочечниковую и адренэргическую систему, в результате чего изменяются уровни стрессорных и стресслимитирующих гормонов в плазме крови, обуславливая морфофункциональные изменения и первичную альтерацию структур железы. Принципиально картина отличается тем, что острый стресс за счет морфофункциональной перестройки повышает функциональное состояние надпочечников, тем самым усиливает резистентность организма к воздействию экстремальных факторов агрессии. Хронический стресс, напротив, за продолжительный период воздействия опустошает запасы пластического материала в результате чего снижается резистентность организма к экстремальным факторам. Кроме того, происходит альтерация части коркового вещества железы.

Следовательно, воздействие токсиканта на надпочечники происходит при его разных морфофункциональных состояниях, что находит своё отражение разными по характеру изменениями структур органа.

В то же время отравление уксусной кислотой сопровождается специфическим и неспецифическим действием – токсическим стрессом. Поэтому совокупное действие этих факторов обуславливает комбинированный токсикострессорный эффект, вызывающий вторичную альтерацию надпочечников.

Поэтому клинические проявления и исход патологического процесса во многом зависят от исходной готовности организма и железы в частности противостоять воздействию экстремального фактора.

Выше изложенное нашло подтверждение и в исходах патологического процесса при отравлении прижигающими ядами. Если в контрольной группе (отравление уксусной кислотой без преморбидного стресса) за период эксперимента погибло 4 животных (6,6 %), в серии с преморбидным острым стрессом летальных исходов не было. То в 5-й серии (отравления на фоне хронического преморбидного стресса) гибель животных отмечалась в более

ранние сроки и составляла 15,0 % (9 крыс), что в 2,25 раза больше, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$ ).

## ВЫВОДЫ

1. Независимо от экспериментальных моделей отравления уксусной кислотой наиболее значимые изменения структур надпочечников выявляются в пучковой зоне коркового вещества, проявляющиеся в виде мелкоочагового поражения, но степень их выраженности имеет различный характер (наименьшие поражения после острого стресса и наибольшие – после хронического стресса).

2. Острый стресс вызывает адаптивнокомпенсаторные изменения в надпочечниках, которые выражаются в увеличении массы органа (на 13 %), гипертрофии коркового вещества, в изменении паренхиматозно-стромальных соотношений, увеличении объема сосудистого русла, увеличении размеров кортикоцитов и их ядер, активизацией синтеза гормонов, снижением пластического материала и митотической активности клеток.

3. При хроническом стрессе происходят значительные морфофункциональные изменения: масса надпочечников снижается на 10 %, наблюдается гипотрофия коркового вещества, уменьшается объем сосудистого русла, угнетается митотическая активность клеток. Поражается от 3,5 % до 5,5 % паренхимы органа, истощаются энергетические и пластические резервы, что сопровождается резким снижением уровня кортикостерона (в 1,5 раза).

4. Отравление уксусной кислотой сопровождается снижением массы надпочечников, гипотрофией коркового вещества, увеличением объема сосудов, поражением кортикоцитов (которое достигает максимума 4,8 % – 4,9 % на 3-и – 5-е сутки отравления). Уменьшается содержание гликогена, фосфолипидов и аскорбиновой кислоты, что сопровождается снижением уровня кортикостерона в плазме крови с 3-х суток процесса.

5. Острый предшествующий стресс перед отравлением прижигающими жидкостями вызывает увеличение массы надпочечников, сохраняя относительный объем сосудистого русла железы. Снижает запасы пластического материала в них (на 1-е сутки отравления содержание гликогена уменьшается в 2,5 раза, фосфолипидов в 1,4 раза, а аскорбиновой кислоты существенно не изменяется). Это происходит на фоне повышения уровня стрессреализующих и стресслимитирующих гормонов, обеспечивающих повышением резистентности организма.

6. Отравление на фоне хронического предшествующего стресса сопровождается наиболее выраженным повреждением структур надпочечников, возникающих вследствие вторичной альтерации развивающейся на фоне стойкого угнетения адаптивных и компенсаторных механизмов. В 1-е сутки отравления при сравнении с аналогичными показателями при отравлении без предварительного стрессирования уровень кортикостерона был ниже в 1,15 раза, пролактина – в 1,4 раза, инсулина – в 3 раза, содержание гликогена уменьшилось в 15 раз, фосфолипидов – в 5,25 раза, аскорбиновой кислоты – в 1,3 раза, альтерация паренхимы увеличилась в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ).

7. Наиболее выраженные изменения в надпочечниках при химической агрессии и наивысшая напряженность адаптивных и компенсаторных механизмов в организме животных наблюдается на 3-и – 4-е сутки отравления. Это подтверждается содержанием стрессреализующих и стресслимитирующих гормонов крови, данными изучения перекисного окисления липидов, результатами цитологического, гистохимического и морфометрического методов исследования.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При отравлениях необходимо учитывать предшествующее состояние организма с целью своевременной и целенаправленной коррекции комплексного лечения.

2. Для предупреждения и ограничения повреждающего действия токсикострессорной реакции в комплексной терапии целесообразно применять стресслимитирующие препараты.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Стресс-индуцированная альтерация паренхиматозных органов при острых экзогенных отравлениях / О.Н. Шашкова, В.Г. Изатулин, Ю.С. Воймова, А.И. Провадо, **А.В. Изатулин**, Н.И. Провадо // **Сиб. мед. журн.** – 2004. – № 7. – С. 19-21.

2. Адаптивно-компенсаторные морфофункциональные изменения в надпочечниках в преморбидный период суицидальных отравлений / В.Г. Изатулин, И.Е. Голуб, **А.В. Изатулин**, О.Н. Шашкова // **Фундаментальные исследования.** – 2005. – № 9. – С.87-88.

3. Морфофункциональные изменения надпочечников при отравлении уксусной кислотой / В.Г. Изатулин, В.Ю. Лебединский, И.Е. Голуб, **А.В. Изатулин**,

О.Н. Шашкова // **Бюл. ВСНЦ СО РАМН.** – 2008. – № 6 (64). – С. 37-39.

4. Адаптивно-компенсаторные изменения в структуре надпочечников при отравлении уксусной кислотой / **А.В. Изатулин** // **Бюлл. ВСНЦ СО РАМН.** – 2011. – № 3 (79). Часть 1. – С.199-202.

5. Закономерности токсикострессорного поражения коры надпочечников при отравлении прижигающими жидкостями / А.В. Изатулин, В.Ю. Лебединский, И.Е. Голуб, Н.И. Арсентьева // **Бюл. ВСНЦ СО РАМН.** – 2011. – № 4 (80). Часть 2. – С.237-242.

6. Особенности течения острых экзогенных отравлений на фоне эмоционального стресса / В.Г. Изатулин, О.Н. Шашкова, Ю.С. Войманова, А.И. Провадо, **А.В. Изатулин** // Общероссийский съезд анатомов, гистологов и эмбриологов : тезисы // Морфологические ведомости (приложение).–2004.–№ 1-2.–С. 42.

7. Адаптивно-компенсаторные изменения в структуре надпочечников при остром отравлении этиленгликолем / В.Г. Изатулин, О.Н. Шашкова, А.В. Изатулин // Общероссийский съезд анатомов, гистологов и эмбриологов : тезисы // Морфологические ведомости (приложение). – 2004. – №1-2. – С. 43.

8. **Изатулин А.В.** Морфофункциональные изменения в надпочечниках при остром отравлении уксусной кислотой / **А.В. Изатулин** // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины : мат. Всерос. научн.-практ. конф. – Чита, 2008. – С.179-180.

9. Патогенетическое обоснование применения комплекса препаратов цитопротекторного, антиоксидантного и стресс-лимитирующего действия в лечении острых отравлений уксусной кислотой / О.Н. Шашкова, В.Г. Изатулин, **А.В. Изатулин**, А.И. Провадо, И.П. Провадо // 3-й съезд токсикологов России : тезисы докладов. – М., 2008. – С.459-461.

10. Адаптивно-компенсаторные изменения в надпочечниках при отравлении уксусной кислотой / **А.В. Изатулин**, В.Ю. Лебединский, О.Н. Шашкова, И.Е. Голуб // Роль токсикологических центров в обеспечении химической безопасности на региональном уровне : тез. науч.-практ. конф. Уральского федерального округа по клинической токсикологии с международным участием. – Екатеринбург, 2011. – С.68–69.

11. Морфофункциональные изменения в надпочечниках экспериментальных животных при хроническом иммобилизационном стрессе / И.Е. Голуб, В.Ю. Лебединский, А.В. Изатулин, О.Н. Шашкова // Новые медицинские технологии (электронный ресурс) // Заочная электронная конференция. – 2009. – 3 с. <http://www.econf.rae.ru/article/4525>.