

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭПИТЕЛИЕВ ОКОЛОУШНОЙ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗ И АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА

Были изучены различные возможности к адаптации и функциональным изменениям эпителия околоушной и поджелудочной желез в условиях острого эмоционально-болевого стресса. Эти изменения зависят от состояния нейротрансмиттерной регуляции.

Изучены реактивные изменения и диапазон гисто- и органотипических возможностей секреторного эпителия околоушной и поджелудочной желез в условиях острого эмоционально-болевого стресса с одновременной анализом состояния их моноамин- и холинергической иннервации.

Известно, что стрессовые реакции выступают как общее неспецифическое звено адаптации организма к многообразным факторам внешней среды [1] и осуществляются при взаимодействии различных систем, среди которых ведущее место занимает нервная система [2]. Также очевидно, что возникающие повреждения различных органов и систем формируются как результат усиления адаптивного эффекта стресса [3]. Изучение этих вопросов имеет важное значение для обоснования применения коррегирующих воздействий, направленных на повышение компенсаторно-приспособительных возможностей тканевых и клеточных структур организма.

Моделирование эмоционально-болевого стресса проводили на 45 беспородных крысах-самцах массой 180-230 г по методике Desiderato et al. (1974). В специальной камере животных подвергали воздействию тока силой 4 мА, избежать которого животные могли только путем ухода на платформу, расположенную в центре камеры. Это приводило к выработке условного рефлекса избегания, проявлявшегося в постоянном нахождении крыс на платформе. Последующее нанесение коротких сильных ударов тока (6 мА в течение 2 секунд) через пол платформы сопровождалось формированием стрессорной реакции у животных, обусловленной как наличием конфликта между выработанным условным рефлексом избегания и безусловным болевым раздражителем, так и постоянным напряженным ожиданием электроболевого раздражения. В камере животные находились 5 часов. Материал для исследования (фрагменты околоушной и поджелудочной желез) брали в различные сроки после завершения стрессорных воздействий (через 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 14 сут.), фикси-

ровали в смеси Буэна и заливали в парафин. Контролем служили интактные крысы (10 животных), находившиеся в условиях вивария. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином-эозином. Гистохимически выявляли вещества углеводной природы, суммарный белок с соответствующими контролями [4]. Активность ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы определяли по методике Карновского. Автореферат диссертации на соискание ученой степени. Рутса [5]. Катехоламины выявляли с помощью люминесцентной микроскопии по методике Фалька [6] с количественным анализом по показаниям спектрофотометрической насадки (ФМЭЛ-1а). Репродуктивную способность эпителия желез и изменения интенсивности синтеза белка в нем изучали с помощью ^3H -тимидина и ^3H -лейцина [7]. Для проведения электронно-микроскопических исследований материал фиксировали в 2,5% глутаровом альдегиде на S-коллиндиновом буфере (pH 7,2-7,4), обрабатывали в 2% растворе OsO_4 , дегидратировали в ацетоне возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 [8,9]. Ультратонкие срезы подвергали двойному контрастированию уранилацетатом и цитратом свинца [10]. Срезы просматривали в электронном микроскопе ЭМВ 100 АК. В работе применялся метод морфометрии [11,12]. При выполнении исследований соблюдались правила проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Оценивая реактивные изменения glanduloцитов пищеварительных желез в условиях эмоционально-болевого стресса, следует отметить, что в 1 сутки после однократного действия стрессорного фактора происходит значительная активизация деятельности секреторных клеток, особенно панкреатоцитов, в которых усиливаются гистохимические реакции на выявление белка, нуклеиновых кислот. В железистых клетках интенсифицируется поглощение ^3H -лейцина.

Данные морфометрического исследования панкреатоцитов и сероцитов показали увеличение суммарной площади цитоплазмы и размеров ядер, за

исключением деструктивно измененных зон, где они уменьшены. Явления гиперфункции, связанные с гипертрофией секреторных клеток пищеварительных желез, хорошо обнаруживаются при электронно-микроскопическом изучении. При этом картина цитологических изменений более выражена в ацинарных клетках поджелудочной железы. Отмечается увеличение размеров и количества органелл клетки: мембран гранулярной эндоплазматической сети, комплекса Гольджи, митохондрий, что свидетельствует об усилении синтетических процессов в glanduloцитах. Происходит увеличение числа секреторных гранул в их цитоплазме на фоне расширения канальцев эндоплазматической сети, увеличения количества рибосом, а также крист в митохондриях, располагающихся под прямым углом к длинной оси органеллы. Митохондрии преимущественно имеют округлую форму. Их матрикс электронно плотный с участками просветления.

В цитоплазме сероцитов околоушной железы наряду с аналогичными изменениями снижается в небольших пределах электронная плотность секреторных гранул, что не обнаруживается в панкреатоцитах.

В увеличенном ядре функционально активной ацинарной клетки поджелудочной железы по сравнению с околоушной железой отмечается хорошо выраженное ядрышко и наблюдается преобладание эухроматиновых зон над гетерохроматиновыми участками, в кариолемме определяется большее количество поровых комплексов. Размеры ядер клеток с выраженными гипертрофическими изменениями варьировали в пределах 71-100 мкм³. С другой стороны, отмечаются железистые клетки с секреторными гранулами, но с узкими канальцами эндоплазматической сети и неизменными по сравнению с интактными животными органеллами. Размеры ядер таких клеток варьировали в пределах 31-71 мкм³. Кроме того, нами обнаружены glanduloциты с единичными секреторными гранулами, деструктивными изменениями органелл и уменьшенными в размере ядрами до 30 мкм³. В ядрах таких клеток более выражены гетерохроматиновые зоны и в кариолемме определялись в меньшем числе поровые комплексы. Необходимо отметить, что в паренхиме околоушной железы чаще встречались glanduloциты с размерами ядер до 30 мкм³ и признаками деструктивных изменений и сохраненные в структурном отношении по сравнению с контролем клетки (размеры ядер 31-70 мкм³), а в поджелудочной железе преимущественно гипертрофированные (размеры ядер 71-100 мкм³) и сохраненные формы (размеры ядер 31-70 мкм³).

Аналогичная цитологическая реорганизация нами обнаружена и в клетках выводных протоков исследуемых желез.

Возникновение железистых клеток с различными структурно-функциональными характеристиками может свидетельствовать о гетероморфном ответе эпителия пищеварительных желез на стрессорные воздействия.

Исследование адренергической и холинергической медиации секреторных клеток показало, что по сравнению с контрольной серией у опытных животных отмечается повышение флюоресценции адренергических структур и средняя активность (визуально определяемая) ацетилхолинэстеразы в нервных волокнах вокруг секреторных отделов, но более высокая вокруг выводных протоков. Сопоставляя уровни адрен- и холинергической медиации в изучаемых пищеварительных железах, необходимо отметить, что они не имели достоверных различий.

Через 3-4 суток после действия стрессорного фактора в активизированных железистых клетках отмечается уменьшение количества секреторных гранул в цитоплазме. Это сопровождается увеличением размеров митохондрий, канальцев эндоплазматической сети. Отмечается набухание и аутолиз митохондрий. Необходимо отметить, что на данной стадии эксперимента, особенно в поджелудочной железе, наблюдаются glanduloциты, содержащие в своей цитоплазме большое количество секреторных гранул. Причем гранулы таких ацинарных клеток занимают периферическое положение, близкое к апикальной части клетки, а канальцы гранулярной эндоплазматической сети располагаются главным образом в парануклеарной зоне цитоплазмы. Просветы канальцев резко расширены.

Нами также отмечено, что по сравнению с ранними сроками опыта в паренхиме поджелудочной железы больше, чем в околоушной, определяются клетки с сохраненной структурной организацией и активным функционированием. В ацинарных клетках поджелудочной железы интенсивность включения ³H-лейцина достоверно определялась больше, чем в околоушной железе. На этой стадии эксперимента мы отмечаем возрастание показателей интенсивности включения ³H-тимидина у железистых эпителиоцитов, освободившихся от секреторных гранул. При этом индекс меченых ядер glanduloцитов были выше в околоушной железе, чем в поджелудочной железе.

Спектрофотометрическое выявление катехоламинов в адренергических нервных волокнах вок-

руг концевых отделов определило тенденцию к уменьшению их содержания без достоверных различий количественных показателей в изучаемых железах. Холинергические терминалы равноценно в исследуемых железах сохраняли свою структурную организацию. Уровень определяемой активности ацетилхолинэстеразы вокруг ацинусов желез был выше среднего и более высоким вокруг выводных протоков по сравнению с контролем и ранней стадией эксперимента.

К 5-6 суткам эксперимента отмечались явления адаптации, а затем процессы возврата к нормализации функциональной деятельности секреторных элементов пищеварительных желез. Нами отмечено возрастание интенсивности гистохимических реакций на выявление белка в цитоплазме, особенно в сероцитах околоушной железы, и снижение при этом интенсивности реакции на определение ШИК-позитивных субстратов секреторных гранул до уровня таковых у интактных животных. Причем процесс смены характера секреции более отчетливо прослеживается в ацинарных клетках околоушной железы, чем в поджелудочной железе. Отмечено также снижение интенсивности включения радиоактивной метки ^3H -лейцина одновременно как в сероцитах, так и в панкреатоцитах до показателей контрольной серии.

При электронно-микроскопическом исследовании железистых клеток определено, что электронная плотность и характер расположения секреторных гранул в цитоплазме, размеры мембран эндоплазматической сети и пластинчатого комплекса Гольджи, количество связанных рибосом становятся такими же, как и у интактных животных. Тем не менее, у активированных клеточных форм митохондрии увеличены, локально набухшие, кристы их в центральной части органелл разрушаются. В ядрах соотношение эу- и гетерохроматиновых зон и число поровых комплексов кариеолеммы не имеют досто-

верных различий по сравнению с контролем. Необходимо отметить, что в панкреатоцитах наблюдаемое восстановление ультраструктурной организации после действия стрессорного фактора происходит быстрее, чем в сероцитах слюнной железы.

На данной стадии опыта мы определили также снижение интенсивности включения радиоактивной метки ^3H -тимидина до контрольных показателей в ядрах железистых клеток.

Адренергические нервные волокна вокруг секреторных отделов приобретают изумрудно-зеленое свечение и имеют варикозные расширения по своему ходу. Уровень определения моноаминов в адренергических структурах не отличается от такового у интактных животных. Холинергические терминалы в исследуемых железах сохраняли свою структурную организацию. Активность ацетилхолинэстеразы вокруг ацинусов визуально определялась как средняя и была более высокой вокруг выводных протоков.

Полученные результаты свидетельствуют о различных возможностях адаптации и компенсации нарушенных функций клеток пищеварительных желез экто- и энтодермального происхождения, возникающих при действии стрессорных факторов. Реорганизация эпителия околоушной железы проявлялась в выраженности процессов смены характера секреции (белкового на слизистый). Определен больший объем процессов реактивной структурной перестройки клеток в поджелудочной железе. Изученные в ходе эксперимента реактивные изменения и диапазон гисто- и органотипических потенциалов эпителия пищеварительных желез связаны с процессами структурных изменений адрен- и холинергической медиации в исследуемых объектах. В своей совокупности приведенные факты дополняют и уточняют существующую в нейробиологии концепцию о двойном моноамин- и холинергическом контроле клеточного и тканевого гомеостаза.

Список использованной литературы:

1. Selye H. The story of the adaptation syndrom. Montreal. 1952. 225 p.
2. Анохин П.К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. М.: Медицина, 1968. 547 с.
3. Меерзон Ф.З. Защитные эффекты адаптации и некоторые перспективы развития адаптационной медицины // Усп. физиол. наук, 1991, Т. 22. N2. – С. 52-89.
4. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М.: Изд-во иностр. литературы, 1962. 962 с.
5. Karnovsky M.J. Roots L. A «direct-colloring» Thiocholine method for cholinesterase // J. Histochem. Cytochem. – 1964. vol. 12. – p. 219-221.
6. Falck B.N. Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method // Acta physiol. Scand. 1962. vol. 56, suppl. 197. – p. 1-25.
7. Жинкин Л.Н. Применение радиоактивных изотопов в гистологии // Радиоактивные индикаторы в гистологии. Л.: Изд-во ИЭМ АМН СССР, 1959. – С. 5-33.
8. Millonig G. The advantages of a phosphate buffer for 0s04 solutions in fixation // J. appl. physics. 1961. vol.32. – p. 1637-1638.
9. Sato T., Shamoto M. A simple rapid polychrome stain for epoxyembedded tissue. Stain Technol., 1973. v. 48. – p. 223.
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy // J. Cell Biol. 1963. vol. 17. – p. 203-213.
11. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с.
12. Ташке К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию. Бухарест: Изд-во Академии СРР, 1980. 191 с.