Journal of International Scientific Publications:
Materials, Methods & Technologies, Volume 5, Part 3
ISSN 1313-2539, Published at: http://www.science-journals.eu

THE FEATURES OF ENDOCRINE OSMOREGULTING STRUCTURES RESPNSE TO DIFFERENT ALCOGOLIZATION REGIMES IN EXPERIMENTAL

Valentina G. Zinchuk[1], Sergey F. Zinchuk[1], Rinat A. Muchamadiyarov[2]
[1]Department of pathology, Kemerovo medical academy, Kemerovo, Russia
650029, Russia, Kemerovo, Voroshilova-street, 22-a
[2]Scientific Institute of Heart and Vessel Diseases SB RAMS, Kemerovo, Russia
650002, Russia, Kemerovo, Sosnoviy bulvar, 6

Abstract

The response of endocrine osmoregulating structures – hypothalamus, neurohypophesis, of adrenal gland, apudglomerula aparato of kidney and cardiomyocytes secreting atrial natrium uretric polypeptide (ANP) – to alcoholization of experimental rats in 2 regimes was studied. Regimen 1 comprised a single introduction of 25% ethanol solution into the stomach through a probe (the dose – 6 mg/kg of BM), regimen 2 imitated a bout of heavy drinking by introduction 25% ethanol solution by the same route twice f day (daily dose – 8 mg/kg of BM calculated for 96% ethanol) during 7 days. The findings revealed the dynamic alteration in hormones concentration – vasopressin, aldosterone, renin, ANP in blood, ultrastructural reconstraction in the supraoptic nucleus of hypothalamus posterior lobe of hypophesis and cardiomyocytes. Active involvement of endocrine osmoregulating structures into body response to ethanol was shown. The character of alterations in single introduction of ethanol is the inhibition of secretion and production of vasopressin and activation of ANP synthesis and secretion by cardiomyocytes as well as rennin – aldosteron system activation. Chronic alcoholization followed by the increase of ultrastructural signs of biosynthesis and vasopressin secretion results in the destruction of organelles in neurosecretory cells.

Key words: *alcoholization, hypothalamus, neurohypophesis, adrenal gland, cardiomyocytes.*

1.ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в число наиболее актуальных задач медицины выдвинулись проблемы борьбы с алкоголизмом, что обусловлено, с одной стороны огромным наносимым экономическим и социальным ущербом обществу, с другой стороны нерешённостью многих медико - биологических вопросов данной проблемы. В ряде исследований показано, что регулярное потребление алкоголя ведёт к поражению жизненно-важных систем организма – сердечно-сосудистой, нервной, репродуктивной, эндокринной и иммунной. Также показано, что тяжёлые отравления этанолом, как правило, сопровождаются развитием коматозного состояния с выраженными нарушениями кислотно-щелочного равновесия и водно-электролитного баланса (Волков с соавт., 1984; Smals, 1989). Несмотря на то, что проблеме формирования алкоголизма посвящены многочисленные исследования, тонкие механизмы развития патологических процессов до сих пор изучены недостаточно, в частности и механизмы развития водно-электролитного дисбаланса.

Известно, что гормоны, вовлекающиеся в регуляцию водно-солевого обмена – вазопрессин (АВП), натрийуретический полипептид предсердий (НУПП), ренин, ангиотензин II, альдостерон обладают также и нейромодулирующими эффектами. Изменение их содержания в крови на фоне этанола приводит к эмоционально-мотивационным изменениям, что возможно

играет существенную роль в формировании алкогольной зависимости. Раскрытие механизмов токсического действия этанола на эндокринную систему и выяснение её роли в формировании защитно-приспособительных реакций при алкогольной интоксикации позволит создать патогенетически обоснованные способы коррекции постинтоксикационных состояний.

Целью работы является оценка реакции эндокринных осморегулирующих структур у крыс на введение этанола в различных режимах.

2.МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1.Программа и объекты исследования

Работа выполнена на 448 крыса-самцах линии Вистар с массой тела 190-220 граммов. Все животные содержались в стандартных условиях вивария по 5-7 особей в клетке при смешанном освещении. Потребление корма составляло не менее 40 граммов на крысу в сутки и воды - по потребности. Животные, использованные в экспериментах, были предварительно адаптированы к обстановке вивария и контакту с людьми на протяжении 30 суток.

В первой серии экспериментов изучали острое действие этанола: подопытным животным этанол вводили в виде 25% раствора однократно внутрижелудочно зондом в дозе 6 г/кг массы тела в пересчёте на 96% этанол. После однократного введения этанола животных декапитировали через 15, 30, 45, 60, 120 минут 1 и 2-е суток и забирали материал для исследования.

Во второй серии экспериментов изучали длительное действие этанола на организм. Для этой цели использовали метод форсированной алкоголизации крыс (Нужный с соавт., 1989). Подопытным крысам внутрижелудочно зондом вводили 25% раствор этанола в режиме – два раза в сутки с интервалом в 12 часов, при этом среднесуточная доза составляла 8 г/кг массы тела в пересчёте на 96% этанол, в течение 5 дней эксперимента. Такой режим введения позволяет поддерживать повышенную концентрацию этанола в крови животного в течение всех суток. Данный способ алкоголизации моделирует состояние запоя и в последующем вызывает развитие физической зависимости к этанолу. В этой серии материал для исследования забирали через 4, 12 часов и 1,3, 6 суток после заключительного введения этанола.

Контролем во всех сериях экспериментов служили интактные животные и крысы, которым вводили эквивалентное количество воды внутрижелудочно зондом параллельно с введением этанола подопытным животным.

2.2.Определение концентраций гормонов

Концентрацию гормонов в плазме крови определяли радиоиммунным методом с помощью коммерческих наборов – аргинин-вазопрессин (Buhlman, Швейцария), натрийуретический полипептид предсердий (Amersham, Англия), альдостерон (CIS International, Франция), активность ренина плазмы (CIS International, Франция).

2.3.Ультраструктурные исследования

Для электронно-микроскопических исследований после одномоментной декапитации извлекали мозг, выделяя супраоптическое ядро гипоталамуса, заднюю долю гипофиза и ушко правого предсердия, фиксировали в 3% растворе глютарового альдегида на какодилатном буфере и дофиксировали в 1% растворе тетраокиси осмия на фосфатном буфере. После обезвоживания в восходящих концентрациях этанола и ацетона кусочки тканей заключали в аралдит, далее ультратомировали на ультратоме LKB-Nova (Швеция), контрастировали в 2,5%

растворе уралила ацетата и цитрата свинца приготовленного по Reynolds. Просмотр и фотографирование препаратов проводили с помощью электронных микроскопах ПЭМ-100 (НПО Электрон, Украина) и JEM-100C (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кв.

3.РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При однократном введении этанола наиболее заметные изменения концентрации вазопрессина в плазме крови отмечали в течение первого часа. При сравнении с показателями контрольной группы содержание АВП интенсивно снижалось уже через 15 минут после введения этанола ($p \leq 0,01$) и достигало уровня 0,49±0,2 пг/мл, что составляло 15% от уровня в контрольной группе. Максимально низкие концентрации АВП наблюдаются через 45 минут после воздействия и составляют 0,35±0,2 пг/мл ($p \leq 0,05$). К концу первого часа опыта происходит некоторое повышение концентрации АВП в крови, хотя его уровень всё ещё статистически значимо ниже исходного (1,68±0,2 пг/мл). Через 2 часа , 1 и 2 суток после начала эксперимента концентрация нейрогормона нормализуется и не отличается от таковой у интактных животных.

Таблица 1.

Характеристика изменений концентраций гормонов и активности ренина плазмы у крыс после однократного введения этанола

Экспериментальные группы и сроки взятия материала	Концентрация АВП (пг/мл)	Концентрация НУПП (пг/мл)	Концентрация Альдостерона (пг/мл)	Активность Ренина плазмы (пг/мл/час)
	X±x	X±x	X±x	X±x
Интактные животные	2,38±0,22	141±8,4	175,0±24,9	2,90±0,6
Ложное введение этанола	2,59±0,24	134±2,13	181,0±25,0	2,74±0,72
После однократного введения этанола ч/з 15 минут	0,49±0,24**	157,5±5,8*	239,5±27,0	2,59±0,8
После однократного введения этанола ч/з 30 минут	0,63±0,33**	158,4±6,9*	327,5±60,7*	4,43±0,9
После однократного введения этанола ч/з 45 минут	0,35±0,17**	157,5±8,1*	651,4±110,5*	8,30±1,9*
После однократного введения этанола ч/з 60 минут	1,68±0,19*	158,0±3,1	630,8±114,9*	8,79±1,8*
После однократного введения этанола ч/з 120 минут	2,44±0,28	146,7±7,8	194,0±20,8	3,78±1,8
После однократного введения этанола ч/з 1 сутки	2,30±0,25	139,8±7,8	-	-
После однократного введения этанола ч/з 2 суток	2,40±0,19	143,4±5,4	-	-

Примечание: при сравнении с показателями у интактных животных

* - Различия статистически значимы $P \leq 0,05$

* - Различия статистически значимы $P \leq 0,01$

Также однократное введение этанола довольно быстро приводит к статистически значимому существенному увеличению НУПП в крови (до 120% по сравнению с контрольной группой). В последующие сроки эксперимента, уровень НУПП сохраняется довольно высоким, хотя эти изменения, не являются статистически значимыми. Сходным с НУПП образом изменяются концентрация альдостерона и активность ренина в плазме крови. Увеличение уровня НУПП, альдостерона в крови и активизации ренин-ангиотензиновой системы направлены на преодоление последствий ингибиции секреции АВП этанолом.

После однократного введения этанола в супраоптическом ядре гипоталамуса наблюдается полиморфная и мозаичная картина структурных изменений. Изменения ультраструктуры нейросекреторных клеток супраоптического ядра регистрируются уже через 45 минут. Большинство клеток имеют электронноoптически прозрачную цитоплазму, ядра подавляющего количества клеток имеют немногочисленные инвагинации. Часто наблюдаются признаки набухания митохондрий идущие, зачастую с процессом дезорганизации крист. В немногочисленных тёмных клетках следует отметить увеличение числа лизосом и появление вакуолей. Спустя 2 часа после воздействия алкоголя чаще встречаются ультраструктурные признаки дегенеративных изменений нейросекреторных клеток. В цитоплазме тёмных нейронов определяются множественные вакуоли, достигающие порой гигантских размеров. Для этих клеток характерно выраженное обеднение гранулярных компонентов (рибосом, полисом), митохондрии в подавляющем большинстве набухшие. В сохранённой цитоплазме множественное количество полиморфных везикул комплекса Гольджи и лизосом. На 2 и 3 сутки данные изменения нарастают и к ним присоединяются изменения в ядрах клеток: расширяется перинуклеарное пространство, ядра имеют глубокие инвагинации. ядра обеднены хроматином. Суммируя характер изменений в нейронах супраоптического ядра гипоталамуса можно сказать, что тормозится биосинтез нейросекрета в первые часы после приёма алкоголя и активируются нейроны к концу первых и во вторые сутки эксперимента.

После однократного введения этанола уже через 15 минут отмечаются ультраструктурные изменения в кардиомиоцитах. Появлятся набухание части митохондрий с просветлением их матрикса и деструкцией крист. Наблюдаются признаки интенсификации выведения секреторных гранул (гранулы смещаются к сосудистому полюсу клетки). Через сутки наряду с ранее отмеченными изменениями отмечается разволокнение миофибрилл. К концу вторых суток наряду с признаками активации секреции нарастают признаки активации синтеза секреторных гранул в кардиомиоцитах.

Представленные в таблице 2 результаты свидетельствуют, что форсированная алкоголизация приводит к супресии секреции вазопрессина, которая сохраняется и на ранних сроках после отмены. Далее к исходу 1 суток после отмены этанола секреция АВП статистически значимо возрастает, и устойчиво сохраняет высокой уровень к 3 суткам, приходя к норме лишь к 6 суткам. Сходным образом изменяются альдостерон, НУПП и активность ренина после отмены этанола. По-видимому, массированное хроническое введение этанола угнетает все звенья эндокринной регуляции водно-солевого обмена и приводит к грубым его нарушениям.

При форсированной алкоголизации на ранних сроках появляется множество тёмных пикноморфных нейронов у которых обычно расширено перинуклеарное пространство, зернистая эндоплазматическая сеть имеет расширенные цистерны, уменьшено количество на них рибосом. В цитоплазме этих клеток наблюдается значительное количество липидных капель.К третьим суткам дегенеративные изменения уменьшаются, увеличивается количество

светлых клеток и к шестым суткам морфологическая структура нейронов не отличается от контрольной группы.

В питуицитах задней доли гипофиза к концу первых суток отмечается дегрануляция с признаками активации секреции, которая нарастает к третьим суткам. К шестым суткам после отмены алкоголя наблюдаются процессы восстановления структуры нейрогипофиза. Но полного восстановления не происходит.

Таблица2.

Характеристика изменений концентраций гормонов и активности ренина плазмы у крыс после форсированной экспериментальной алкоголизации

Экспериментальные группы и сроки взятия материала	Концентрация АВП (пг/мл)	Концентрация НУПП (пг/мл)	Концентрация Альдостерона (пг/мл)	Активность Ренина плазмы (пг/мл/час)
	X±x	X±x	X±x	X±x
Интактные животные	2,38±0,3	141,8±15,4	181,0±25,0	1,89±0,7
Ложное введение этанола	2,59±0,3	132,0±4,1	175,0±24,9	1,75±0,4
Форсированная алкоголизация ч/з 4 часа после заключительного введения	1,94±0,40	141,3±4,8	-	-
Форсированная алкоголизация ч/з 12 часов после заключительного введения	2,44±0,31	150,1±14,4	256,1±26,4	3,41±0,3*
Форсированная алкоголизация ч/з 1 сутки после заключительного введения	3,78±0,58*	139,8±8,1	217,8±33,8	2,58±0,6
Форсированная алкоголизация ч/з 3 суток после заключительного введения	3,27±0,34*	169,5±19,2*	393,3±24,9**	3,34±0,4*
Форсированная алкоголизация ч/з 6 суток после заключительного введения	2,95±0,44	150,7±5,7	190,0±18,7	2,39±0,4

Примечание: при сравнении с показателями у интактных животных

* - Различия статистически значимы $P \leq 0,05$

** - Различия статистически значимы $P \leq 0,01$

Через 4 часа после отмены этанола при форсированной алкоголизации в кардиомиоцитах наблюдаются грубые морфологические изменения – отёк саркоплазмы, множество дегранулированных клеток с набухшими или разрушенными митохондриями, комплекс Гольджи выражен слабо. Через сутки изменения нарастают, идёт процесс агрегации митохондрий. Процесс восстановления структуры кардиомиоцитов начинается лишь к 6 суткам после окончания форсированной алкоголизации.

5.ВЫВОДЫ

5.1. Эндокринное звено осморегуляции активно вовлекается в реакцию организма на введение этанола и принимает участие в восстановлении водно-электролитного баланса.

5.2. Однократное введение этанола вызывает торможение функциональной активности вазопрессин-продуцирующих центров гипоталамуса, о чём свидетельствует характер ультраструктурных изменений нейросекреторных клеток супраоптического ядра гипоталамуса и их терминальных отделов в задней доле гипофиза, а также быстрое понижение концентрации иммунореактивного вазопрессина в периферической крови с последующей нормализацией изучаемых показателей в течении 2 часов после воздействия.

5.3. При однократном введении в организм этанола наблюдается активация ренин-альдостероновой системы. При длительном введении этанола и его последующей отмене также наблюдается активация ренин-альдостероновой системы.

5.4.Однократное введение этанола активирует процессы биосинтеза и секреции секреторных гранул предсердными кардиомиоцитами, что приводит к увеличению концентрации в периферическом кровотоке предсердного натрийуретического полипептида.

5.5. Хроническая алкоголизация параллельно с усилением ультраструктурных признаков биосинтеза и секреции вазопрессина приводит к деструктивным изменения органелл нейросекреторных клеток и их отростков, сохраняющимися до 6 суток после отмены этанола.

5.6. Период отмены этанола после алкоголизации крыс сочетается с выраженными субмикроскопическими изменениями в предсердных кардиомиоцитах во все сроки наблюдения, включающие как активацию биосинтетических процессов, так и деструкцию клеточных органелл, свидетельствующую о возможном развитии посталкогольной миокардодистрофии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков В.Н., Соколова Р.И., Вихерт А.М. Состояние ренин-ангиотензиновой системы при внезапной сердечной смертности лиц с различной степенью алкогольной интоксикации//Терапевтический архив, 1984, №4, с. 128-132.

2. Smals A.G. Alcogol and heartendocrine system//Fijdschr. Alcogol drugs and endere psychotrope stiffen, 1989, №4, p.121-124.

1. Нужный В.Т., Тезиков Е.В., Забирова И.Г., Угрюмов А.И. Повреждение миокарда и симпато-адреналовая система при синдроме отмены этанола у крыс//Вопросы мед. Химии, 1989; №4, с.16-20.

2. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих.-М., Мир, 1975, 324 с.

.