

УДК 612.592:591.445:[591.128.1+591.128.2

А.В. Шило*, Д.Г. Луценко, И.М. Карибян, В.В. Ломако

Изменения величины зон надпочечников гибернирующих и негибернирующих животных при адаптации к холоду

UDC 612.592:591.445:[591.128.1+591.128.2

O.V. Shylo*, D.G. Lutsenko, I.M. Karibian, V.V. Lomako

Adaptation to Cold Affects the Dimensions of Adrenal Gland Zones in Hibernating and Non-Hibernating Animals

Ключевые слова: надпочечник, холодовые воздействия, адаптация, гибернация, крыса, хомяк.

Ключові слова: надниркова залоза, холодові впливи, адаптація, гібернація, щур, хом'як.

Key words: adrenal gland, cold exposures, adaptation, hibernation, rat, hamster.

Согласно современным представлениям адаптация к холоду у человека может развиваться по метаболическому, инсулятивному (изоляцияционному), гипотермическому типу или их комбинации и определяться параметрами окружающей среды (интенсивность, характер, вид воздействия и др.), индивидуальными факторами (генетические, расовые, половые, возрастные, конституционные и др.) [3, 12]. Подобной классификации стратегий адаптации у других млекопитающих в доступной нам литературе обнаружить не удалось. Кроме того, в природе существует еще одна стратегия адаптации, не свойственная человеку, – гибернация.

Для приспособления к колебаниям температуры окружающей среды (ТОС) млекопитающие используют определенный набор поведенческих реакций, физиологических изменений и морфологических приспособлений, степень вовлечения которых у негибернирующих и гибернирующих животных может отличаться [4]. При этом разнообразные поведенческие и физиологические ответы, инициируемые стрессовыми воздействиями, обусловлены активацией двух основных систем – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатомедулло-адреналовой, конечным звеном которых являются надпочечники [1]. При хронических воздействиях существует определенная взаимосвязь между устойчивой активацией центральных механизмов, регулирующих секрецию гипофизарного адренкортикотропного гормона, и экстрагипофизарных механизмов, регулирующих размер надпочечников [9, цит. по 14].

According to current notions, based particularly on population studies depending on the environmental parameters (intensity, nature and type of particular impact) and individual factors (genetic, racial, sexual, age, constitutional, *etc.*) the adaptation to cold in humans can develop by metabolic, insulation, hypothermic types or their combinations. [3, 12]. The available publications do not contain any classification of adaptation strategies for other mammals. Moreover, some mammalian species are characterized by one more adaptation strategy, the hibernation, which is not peculiar to a human.

To adapt to the fluctuations in ambient temperature, the mammals use a specific set of behavioral responses, physiological adjustment and morphological changes. At the same time it is believed that the extent of their involvement in non-hibernating and hibernating animals may differ [4].

There are various behavioral and physiological responses initiated by stressors, nevertheless all they are resulted from an activation of two main systems, *i. e.* the hypothalamic-pituitary-adrenal and sympathetic-medulla-adrenal, and the final actors of them are the adrenal glands [1]. Chronic effects are often characterized by an existence of certain relationship between the steady activation of the central mechanisms regulating the secretion of pituitary adrenocorticotrophic hormone, and extrahypophysis mechanisms regulating the size of the adrenal glands [9, cited by 14].

Since the adrenal glands can be involved into the mechanisms, implementing different types of body adaptation

Відділ кріофізіології, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Department of Cryophysiology, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61016;
тел.: (+38 057) 373-74-35, факс: (+38 057) 373-59-52
електронна пошта: oleksandr.v.shilo@gmail.com

*To whom correspondence should be addressed:

23, Pereyaslavska str., Kharkiv, Ukraine 61016;
tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 5952
e-mail: oleksandr.v.shilo@gmail.com

Надійшла 23.01.2018

Прийнята до друку 19.02.2018

Received January, 23, 2018

Accepted February, 19, 2018

© 2018 O.V. Shylo et al. Published by the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Поскольку надпочечники могут вовлекаться в механизмы реализации разных типов адаптации организма, в частности к холоду, в разной степени, а влияние холодových воздействий, особенно кратковременных ритмических, на структурно-функциональное состояние надпочечников изучено недостаточно, то целью нашей работы было сравнительное изучение стереологических изменений в надпочечниках при постоянном и ритмических холодových воздействиях у гомойо- и гетеротермных животных

Эксперименты были проведены в соответствии с Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 3447-IV от 21.02.2006 г.) при соблюдении требований Комитета по биоэтике ИПКиК НАН Украины, согласованных с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Работу выполняли в осенне-зимний период на самцах золотистых хомяков (*Mesocricetus auratus*) (масса 85–95 г; $n = 20$) и беспородных белых крыс (*Rattus norvegicus*) (масса 200–300 г; $n = 20$). До начала эксперимента животных содержали по 4–5 особей при световом режиме (свет : темнота (12 : 12)), ТОС 22...24°C и на стандартном рационе *ad libitum*.

Хомяки погружались в гибернацию через 10–14 суток пребывания при ТОС ((5 ± 2)°C). Средняя длительность баута составила (3 ± 0,5) суток. Постоянное холодовое воздействие (ПХВ) проводили, выдерживая группу крыс ($n = 4$) в условиях изменяющейся ТОС от 1 до 7°C (5 недель) при свободнотекущем световом режиме и хомяков (по одному животному) в темной холодовой камере при ТОС 4°C (3–4 недели) со свободным доступом к воде и пище.

Ритмическое холодовое воздействие (РХВ) осуществляли в течение 2 суток с разной интенсивностью холодового раздражителя (–12 и 10°C) по следующей схеме [10]: первые 15 мин каждого часа (в светлое время суток) животные подвергались холодовому воздействию, последующие 45 мин – находились при 22...24°C (всего по 9 воздействий в сутки). Животных распределили по группам: 1 – контроль; 2 – после ПХВ; 3 – после РХВ (–12°C); 4 – после РХВ (10°C); 5 – гибернация и 6 – 2 ч после выхода из гибернации (только хомяки).

Серийные срезы надпочечников толщиной 6–12 мкм получали на криомикротоме «SLEE Mainz Cryostat» («SLEE Medical GmbH», Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование проводили на универсальном микроскопе «AmScope IN300T-FL» («AmScope», США), оснащенном цифровой фотокамерой «Tucsen TCC-5OICE» («Tucsen», Великобритания). Стереологические показатели (общая площадь над-

to the cold, to various degree, and the data on the effect of short-term rhythmic cold influences on the structural and functional state of adrenal glands are scanty, we performed the investigation of the stereological changes in the adrenal gland with rhythmic cold and constant cold effects in homoio – and heterothermic animals.

The experiments were carried out in accordance with the Law of Ukraine On the Protection of Animals Against Cruelty (№ 3447-IV of 21.02.2006), and in compliance with the requirements of the Bioethics Committee of the IPC&C of the NAS of Ukraine, agreed with the statements of the European Convention for the Protection of Vertebrates, for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986).

The work was performed during the autumn-winter period in male golden hamsters (*Mesocricetus auratus*) (of 85–95 g weight; $n = 20$) and males of breedless white rats (*Rattus norvegicus*) (of 200–300 g weight; $n = 20$). Before the experiment, the animals were kept in cages by 4–5 individuals in each at a controlled light: dark regime (12 hrs : 12 hrs), at an ambient temperature of 22...24°C and on a standard diet *ad libitum*.

The hamsters entered hibernation after 10–14 days of exposure at (5 ± 2)°C. The average duration of the bout was (3 ± 0.5) days. Constant cold exposure (CCE) was performed by keeping a group of rats ($n = 4$) under the conditions of varying ambient temperatures from 1 to 7°C for 5 weeks under free-running light conditions and hamsters (one animal each) in a dark cold chamber at an ambient temperature of 4°C for 3–4 weeks with free access to water and food.

Rhythmic cold exposure (RCE) was performed for 2 days with different intensity of the cold stimulus (–12°C and 10°C) according to the following protocol [10]: first 15 min of each hour (day-light hours), the animals were exposed to cold, the following 45 minutes they were kept at 22...24°C (total of 9 exposures per day). The animals were divided into the following groups: 1 – control; 2 – after CCE; 3 – after RCE (–12°C), 4 – after after RCE (10°C), 5 – hibernation and 6 – 2 hrs after around from hibernation (only hamsters).

Serial sections of 6–12 μm were obtained by means of the cryomicrotome SLEE Mainz Cryostat (SLEE Medical GmbH, Germany) and stained with hematoxylin-eosin. Microscopical study was carried out by means of the AmScope IN300T-FL universal microscope (AmScope, USA) equipped with a digital camera Tucsen TCC-5OICE (Tucsen, Great Britain). Stereological indices (total area of adrenal gland, cortical and medullary zones) were obtained using the image analysis software Aim-Image Examiner (Carl Zeiss, Germany).

The experimental data were statistically processed using a single-factor analysis of variance (ANOVA) with the Excel software package (Microsoft, USA).



почечника, площади корковой и медуллярной зон) оценивали, используя программное обеспечение «Aim-Image-Examiner» («Carl Zeiss AG», Германия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и программы «Excel» («Microsoft», США).

Применяемые холодовые воздействия не оказывали значимого влияния на стереологические показатели надпочечников крыс (таблица). Однако у хомяков РХВ (–12°C) приводили к значимому увеличению общей площади надпочечника и площади его корковой зоны (таблица). Постоянное холодовое воздействие, наоборот, приводило к значимому уменьшению общей площади надпочечника и площади его корковой зоны, площадь мозгового слоя не изменялась. Гибернация вызывала редукцию коркового слоя и гипертрофию надпочечников при выходе из нее.

Известно, что надпочечники вовлекаются в ответ организма на различные виды стресса через продукцию гормонов медуллярного (адреналин/норадреналин) и кортикального веществ (минералокортикоиды (в основном альдостерон) клубочковой зоны, глюкокортикоиды пучковой и андрогены сетчатой зон) [9, 14, 15]. Каждая из кортикальных зон, имея собственный специфический механизм регуляции, отвечает на стимуляцию адренокортикотропного гормона [15].

Нарушение структуры и функции надпочечников в ответ на острое и хроническое действие различных стрессовых факторов может происходить из-за изменений относительных размеров любой из зон. Так, хроническая холодовая экспозиция или изоляция приводят к временной активации гипофизарно-адреналовой системы, увеличению размера надпочечников и уровня кортикостерона в плазме крови крыс [цит. по 14]. При ожирении на фоне увеличенного стероидогенеза отмечается гипертрофия коркового слоя надпочечников [11]. Тепловое воздействие индуцирует уменьшение коркового слоя (пучковой зоны) [6, 9]. Физические нагрузки приводят к гипертрофии корковой и медуллярной зон, что свидетельствует об увеличении функциональной активности железы [2]. Хроническое воздействие шума приводит к значимому уменьшению объема пучковой и сетчатой зон надпочечников крыс [8]. После иммобилизации отмечается высокая корреляция между уровнем кортикостерона в плазме и массой надпочечника [7].

Полученные ранее данные [10] о повышении уровня тиреоидных гормонов в крови и отсутствие значимых изменений в надпочечниках (таблица) после ПХВ в целом согласуются с результатами O. Negrox [5] и могут свидетельствовать об адаптации крыс к

Стереологические показатели надпочечников после холодовых воздействий ($\times 10^6 \text{ мкм}^2$) ($M \pm SD$)

Stereological indices of adrenal glands after cold effects ($\times 10^6 \text{ }\mu\text{m}^2$) ($M \pm SD$)

Группы животных Groups of animals	Общая площадь надпочечника Total area of adrenal gland	Площадь коркового слоя Cortical layer area	Площадь мозгового слоя Medullar layer area
Крысы Rats			
Контроль Control	5,80 \pm 1,25	4,87 \pm 1,06	0,93 \pm 0,35
ПХВ (4°C) CCE (4°C)	5,49 \pm 1,47	4,66 \pm 1,16	1,03 \pm 0,47
РХВ (–12°C) RCE (–12°C)	6,05 \pm 1,75	5,02 \pm 1,28	1,03 \pm 0,56
РХВ (10°C) RCE (10°C)	5,62 \pm 1,17	4,66 \pm 0,99	0,96 \pm 0,33
Хомяки Hamsters			
Контроль Control	3,69 \pm 1,34	3,0 \pm 1,0	0,69 \pm 0,46
ПХВ (4°C) CCE (4°C)	1,75 \pm 0,16*	1,22 \pm 0,16*	0,52 \pm 0,06
РХВ (–12°C) RCE (–12°C)	4,58 \pm 1,16*	3,73 \pm 0,67*	0,85 \pm 0,62
РХВ (10°C) RCE (10°C)	3,36 \pm 1,10 #	2,62 \pm 0,80 #	0,56 \pm 0,24 #
Гибернация Hibernation	3,97 \pm 0,24	2,42 \pm 0,25*	1,52 \pm 1,14
Гибернация + 2 ч Hibernation + 2 hr	5,64 \pm 1,20*.*	4,23 \pm 0,95*	1,41 \pm 0,62*.*

Примечания: различия статистически значимы по сравнению с контролем (*), РХВ (–12°C) (#) и гибернацией (®), $p < 0,01$.

Note: Differences are statistically significant if compared with the control (*), RCE (–12°C) (#) and hibernation (®), $p < 0.01$.

The cold exposures used in the study had no significant effect on the stereological parameters of adrenal glands of rats (Table). However in hamsters (Table) the RCE (–12°C) resulted in a significant increase in the total area of adrenal gland and the area of cortical zone. Constant cold exposure (CCE) on the contrary resulted in a strong decrease in the total area of adrenal gland and the area of cortical zone, the area of the medulla layer was not changed. Hibernation caused a reduction in the cortical layer and hypertrophy of the adrenal glands after rewarming of hamsters.

The adrenal glands are involved in the body's response to various kinds of stress, through the production of medullary (adrenaline / norepinephrine) and cortical hormones (mineralocorticoids, actually only aldosterone (*zona glomerulosa*), glucocorticoids (*zona fasciculata*) and androgens (*zona reticularis*) [9, 14, 15]. Each

холоду. Для группы РХВ (10°C) холодовой стимул, вероятно, оказался слабым, а отсутствие значимых изменений при РХВ (-12°C) может быть связано с габитуацией – наиболее общим ответом организма, развивающимся на повторяющиеся воздействия [3].

Хомяки оказались более восприимчивы к РХВ и ПХВ: отмечались увеличение/уменьшение общей площади и коркового слоя (при неизменной площади медуллярного слоя) надпочечника (таблица).

Обнаруженные нами различия в реакции хомяков на холодовые воздействия (таблица) могут быть связаны как с разной массой тела по сравнению с крысами (минимум в два раза), так и неодинаковыми механизмами холодовой адаптации у гибернирующих и негибернирующих животных [4]. Кроме того, согласно М. Trefna и соавт. [13] выдерживание хомяков на холоде для инициирования гибернации в 50% случаев приводит к их гибели, что может быть связано с потерей гибернационного фенотипа из-за длительной селекции лабораторных золотистых (сирийских) хомяков.

Работа выполнена в рамках темы отдела криофизиологии Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины «Особенности физиологических и патофизиологических механизмов регуляции гомеостаза организма гомойо- и гетеротермных животных при различных видах охлаждения».

Авторы благодарят за консультативную и методическую помощь ст. н. с., д. б. н. Г.А. Божок и ст. н. с., к. б. н. И.Ф. Коваленко.

Литература

1. Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: what can it tell us about stressors? *CNS Neurol Disord – Drug Targets* 2006; 5(5): 485–501.
2. Bartalucci A., Ferrucci M., Fulceri F. et al. High-intensity exercise training produces morphological and biochemical changes in adrenal gland of mice. *Histol Histopathol* 2012; 27(6): 753–769.
3. Castellani J.W., Young A.J. Human physiological responses to cold exposure: Acute responses and acclimatization to prolonged exposure. *Auton Neurosci* 2016; 196: 63–74.
4. Deveci D., Egginton S. Differing mechanisms of cold-induced changes in capillary supply in m. tibialis anterior of rats and hamsters. *J Exp Biol* 2002; 205(Pt 6): 829–840.
5. Heroux O. Comparison between seasonal and thermal acclimation in white rats. V. Metabolic and cardiovascular response to noradrenaline. *Can J Biochem Physiol* 1961; 39: 1829–1836.
6. Koko V., Djordjevic J., Cvije G., Davidovic V. Effect of acute heat stress on rat adrenal glands: a morphological and stereological study. *J Exp Biol* 2004; 207(Pt 24): 4225–4230.
7. Marquez C., Nadal R., Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal and glucose responses to daily repeated immobilisa-

of the cortical zones, having its own specific regulatory mechanism, responds to the stimulation of adrenocorticotrophic hormone [15].

Numerous studies indicate the perturbations in the structure and function of the adrenal gland in response to acute and chronic effects of various stress factors, moreover structural disturbances can occur due the changes in the relative dimensions of any of the zones. In particular, chronic exposure to cold or isolation leads to a temporary activation of the pituitary-adrenal system and an increase in the dimensions of the adrenal glands and level of corticosterone in the plasma in rats [cited by 14]. The animals with obesity, having an increased steroidogenesis, represent a hyperplasia of the cortical layer of adrenal glands [11]. Heat exposure induced a decrease in the cortical layer dimensions (*zone fasciculata*) [6, 9]. Various physical loads led to hypertrophy of the cortical and medullar structures of adrenal gland, which indicated an increase in functional activity of the gland [2]. The effect of chronic noise on rats resulted in a significant decrease in the volume of the fasciculate and reticular zones [8]. After immobilization a high correlation was found between plasma levels of corticosterone and the relative weight of adrenal glands [7].

The absence of significant changes in the adrenal glands of rats after CCE (Table) along with the our previous data on an increased level of thyroid hormones in blood [10], is generally consistent with the data of O. Heroux [5] and may indicate the development of adaptation to cold. For the RCE (10°C) group, the cold stimulus was apparently insignificant, and the absence of significant changes with RCE (-12°C) may be due to the development of a habitation to cold stimulus, *i. e.* the most common response of a body, developing in response to the repeated effects [3].

The hamsters were more susceptible both to RCE and to CCE: either the increase/decrease in total area and cortical layer (with a constant area of the medullary layer) was noted (Table).

The observed differences in the responses of hamsters to cold influences (Table) can be related either to just a difference in mass between hamsters and rats (at least 2 times the weight of the latter is higher), and to the various mechanisms of cold adaptation in non-hibernating and hibernating animals [4]. It should also be noted that M. Trefna *et al.* [13] reported that keeping the hamsters in the cold to initiate hibernation in 50% of cases resulted in the death of animals. These authors believe that, this might result from the loss of hibernation phenotype due to the long term breeding in captivity of laboratory Syrian hamsters. This fact should also be taken into account in future to conduct such studies.

The studies were carried out within the framework of the research project at the Cryophysiology Department of the Institute of Problems of Cryobiology and



- tion stress in rats: individual differences. *Neuroscience* 2004; 123(3): 601–612.
8. Oliveira M.J.R., Monteiro M.P., Ribeiro A.M. et al. Chronic exposure of rats to occupational textile noise causes cytological changes in adrenal cortex. *Noise & Health* 2009; 11(43): 118–123.
 9. Petrovic-Kosanovic D., Velickovic K., Koko V. et al. Effect of acute heat stress on rat adrenal cortex – a morphological and ultrastructural study. *Cent Eur J Biol* 2012; 7(4): 611–619.
 10. Shylo A.V., Ventskovskaya E.A., Semenchenko A.Yu., Babychuk G.A. Effect of cold exposures on thyroid activity and low-molecular weight polypeptides spectrum in rats. *Probl Cryobiol* 2012; 22(1): 3–13.
 11. Swierczynska M.M., Mateska I., Peitzsch M. et al. Changes in morphology and function of adrenal cortex in mice fed a high-fat diet. *Int J Obes* 2015; 39(2): 321–330.
 12. Taylor N.A.S. Ethnic differences in thermoregulation: genotypic versus phenotypic heat adaptation. *J Therm Biol* 2006; 31(1–2): 90–104.
 13. Trefna M., Goris M., Thissen C.M.C. et al. The influence of sex and diet on the characteristics of hibernation in Syrian hamsters. *J Comp Physiol B* 2017; 187(5–6): 725–734.
 14. Vernikos J., Dallman M.F., Bonner C. et al. Pituitary-adrenal function in rats chronically exposed to cold. *Endocrinology* 1982; 110(2): 413–420.
 15. Vinson G.P. Functional zonation of the adult mammalian adrenal cortex. *Frontiers in Neuroscience* 2016; 10: 238. Available online <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2016.00238/full>.

Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, ‘Peculiarities of physiological and pathophysiological mechanisms of homeostasis regulation of the organism of homoio- and heterothermic animals under various types of cooling’.

The authors are grateful to Dr. G.A. Bozhok and Dr. I.F. Kovalenko for advisory and methodical assistance.

References

1. Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: what can it tell us about stressors? *CNS Neurol Disord – Drug Targets* 2006; 5(5): 485–501.
2. Bartalucci A., Ferrucci M., Fulceri F. et al. High-intensity exercise training produces morphological and biochemical changes in adrenal gland of mice. *Histol Histopathol* 2012; 27(6): 753–769.
3. Castellani J.W., Young A.J. Human physiological responses to cold exposure: Acute responses and acclimatization to prolonged exposure. *Auton Neurosci* 2016; 196: 63–74.
4. Deveci D., Egginton S. Differing mechanisms of cold-induced changes in capillary supply in m. tibialis anterior of rats and hamsters. *J Exp Biol* 2002; 205(Pt 6): 829–840.
5. Heroux O. Comparison between seasonal and thermal acclimation in white rats. V. Metabolic and cardiovascular response to noradrenaline. *Can J Biochem Physiol* 1961; 39: 1829–1836.
6. Koko V., Djordjevic J., Cvije G., Davidovic V. Effect of acute heat stress on rat adrenal glands: a morphological and stereological study. *J Exp Biol* 2004; 207(Pt 24): 4225–4230.
7. Marquez C., Nadal R., Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal and glucose responses to daily repeated immobilisation stress in rats: individual differences. *Neuroscience* 2004; 123(3): 601–612.
8. Oliveira M.J.R., Monteiro M.P., Ribeiro A.M. et al. Chronic exposure of rats to occupational textile noise causes cytological changes in adrenal cortex. *Noise & Health* 2009; 11(43): 118–123.
9. Petrovic-Kosanovic D., Velickovic K., Koko V. et al. Effect of acute heat stress on rat adrenal cortex – a morphological and ultrastructural study. *Cent Eur J Biol* 2012; 7(4): 611–619.
10. Shylo A.V., Ventskovskaya E.A., Semenchenko A.Yu., Babychuk G.A. Effect of cold exposures on thyroid activity and low-molecular weight polypeptides spectrum in rats. *Probl Cryobiol* 2012; 22(1): 3–13.
11. Swierczynska M.M., Mateska I., Peitzsch M. et al. Changes in morphology and function of adrenal cortex in mice fed a high-fat diet. *Int J Obes* 2015; 39(2): 321–330.
12. Taylor N.A.S. Ethnic differences in thermoregulation: genotypic versus phenotypic heat adaptation. *J Therm Biol* 2006; 31(1–2): 90–104.
13. Trefna M., Goris M., Thissen C.M.C. et al. The influence of sex and diet on the characteristics of hibernation in Syrian hamsters. *J Comp Physiol B* 2017; 187(5–6): 725–734.
14. Vernikos J., Dallman M.F., Bonner C. et al. Pituitary-adrenal function in rats chronically exposed to cold. *Endocrinology* 1982; 110(2): 413–420.
15. Vinson G.P. Functional zonation of the adult mammalian adrenal cortex. *Frontiers in Neuroscience* 2016; 10: 238. Available online <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2016.00238/full>.