

УДК 616.45-053.31-091.8

О.О. Піга, І.В. Сорокіна

Харківський національний медичний університет

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ У НОВОНАРОДЖЕНИХ З НЕСПРИЯТЛИВИМИ НАСЛІДКАМИ

Представлено дані морфофункціонального дослідження надниркових залоз у новонароджених з летальними кінцями. Встановлено, що у новонароджених мають місце різні варіанти відповіді на стрес: стадії спокою, напруження та виснаження. Відносна маса надниркових залоз зменшується зі збільшенням маси тіла дитини. Несприятливі антенатальні чинники призводять до різних типів ремоделювання тканини надниркових залоз.

Ключові слова: новонароджені, надниркові залози.

У функціональній системі мати-плацента-плід має місце загальна взаємодія надниркових залоз плоду, направлена на пролонгацію вагітності та розвиток і дозрівання органів і систем плоду. Відомо, що фетальна надниркова залоза продукує дегідроепіандростендіону сульфат, який є попередником естрогенів матері і опосередковано зумовлює пролонгацію вагітності та дозрівання плоду [1–5]. В той же час надниркова залоза плоду може продукувати гормон стресу — кортизол, але відомості про те, з якого тижня вагітності та в яких кількостях він синтезується, досить суперечливі [1, 5–7]. Незважаючи на те що морфогенез надниркових залоз та їхня гістофізіологія вивчені достатньо [8], залишається доволі багато складних питань для остаточного їх вивчення [1, 2, 9–11], а саме: синхронність розвитку надниркових залоз, активність аденогіпофізу в регуляції їх розвитку, роль морфологічних структур тканини надниркових залоз у перебігу неонатального періоду життя та ін. Не менш цікавим для дослідників в останні роки є вивчення морфофункціонального стану надниркових залоз у немовлят у ракурсі концепції загального адаптаційного синдрому Selye в біології новонародженої дитини, особливо від критичності стану.

Мета дослідження — дослідження морфофункціонального стану надниркових залоз у новонароджених з несприятливими виходами і вдосконалення діагностики критичних станів у них.

Матеріал і методи. Досліджено морфофункціональний стан 40 надниркових залоз у померлих новонароджених дітей різного гестаційного віку в неонатальному періоді життя, які були розподілені на групи: 1-ша група (контрольна) включала 10 доношених мертвонароджених дітей у терміні гестації 37–40 тижнів, що померли від гострої асфіксії під час пологів унаслідок гострого порушення матково-плацентарного кровообігу; 2-га група — 30 вказаних органів дітей гестаційного віку 28 тижнів (min — 23, max — 40) та масою тіла 1150 г (min — 620, max — 3600), що померли в неонатальному періоді. Термін між народженням та летальними кінцями у них становив 4 доби (min — 1, max — 21). Проспективне спостереження за новонародженими дозволило у 14 немовлят з летальними кінцями дослідити рівень вільного кортизолу в добовій сечі. Дані морфологічного дослідження 14 померлих новонароджених було розподілено в залежності від рівня секреції вільного кортизолу з сечею: 2-А група — підвищена секреція кортизолу (4 спостереження), 2-Б група — нормальна секреція кортизолу (6 спостережень), 2-В група — зменшена секреція кортизолу (4 спостереження). Рівень вільного кортизолу в сечі у новонароджених дітей визначали імуноферментним методом за допомогою імуноферментного аналізатора «Lab-line-90» (Австрія) з використанням комерційних тест-систем фірми DiaMetra (Італія). Мікротомні зрізи надниркових залоз померлих новонароджених забарвлювали гема-

© О.О. Піга, І.В. Сорокіна, 2011

токсиліном і еозином, використовували ШИК-реакцію з контролем амілазою слини для ідентифікації нейтральних мукополісахаридів. Для світлооптичного вивчення мікропрепаратів використовували мікроскоп Olympus BX-41 (Японія). Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах товщиною 3–5 мкм імунофлюоресцентним методом за методикою Brosman (1979). Клітини, що містили кортизол у надниркових залозах, диференціювали за допомогою моноклональних антитіл до кортизолу фірми AbD Serotec (США) за допомогою мікроскопа «Axioskop 40» (Німеччина). Для статистичної обробки даних використовували програму STATISTICA 7.

Результати дослідження. Медіаною маси тіла при народженні померлих дітей 2-А групи було значення 1575 г (min — 1100 г, max — 2060 г), 2-Б групи — 1345 г (min — 800 г, max — 3100 г), 2-В групи — 1405 г (min — 710 г, max — 3600 г) ($p_{2-А,2-Б}=1,00$; $p_{2-А,2-В}=1,00$; $p_{2-Б,2-В}=0,56$). Медіанами гестаційного віку були відповідно значення: 32 тижні (min — 27, max — 35), 29 тижнів (min — 25, max — 34), 30 тижнів (min — 23, max — 40) ($p_{2-А,2-Б}=0,33$; $p_{2-А,2-В}=0,88$; $p_{2-Б,2-В}=0,83$). Достовірно значущою була різниця в секретії вільного кортизолу в сечі в померлих новонароджених обстежуваних груп: 1417,00 нг/мл (min — 588,71 нг/мл, max — 3908,43 нг/мл), 473,25 нг/мл (min — 367,37 нг/мл, max — 545,36 нг/мл), 251,50 нг/мл (min — 225,48 нг/мл, max — 371,25 нг/мл) ($p_{2-А,2-Б}=0,01$; $p_{2-А,2-В}=0,02$; $p_{2-Б,2-В}=0,02$). З урахуванням динамічної змі-

ни розмірів і маси надниркових залоз під час ембріофетогенезу вимірювали відносну масу надниркових залоз (ВМНЗ) з подальшою будовою кривої залежності маси надниркових залоз від маси тіла. Для визначення ВМНЗ складали масу обох надниркових залоз (г), ділили на масу тіла (г) та множили на 100 (%). При збільшенні маси тіла ВМНЗ зменшується, що узгоджується з даними вітчизняних та закордонних дослідників [2, 13].

Морфометричні й імуногістохімічні дані надниркових залоз у новонароджених, які померли в неонатальному періоді життя, в залежності від рівня вільного кортизолу в сечі подано в таблиці.

Виявлено, що відносний об'єм пучкової зони, де саме відбувається продукція кортизолу, значуще збільшується у дітей, які виділяли його з сечею в надмірній кількості. У решти цей морфометричний показник був зменшений у порівнянні з контролем, що свідчило про виснаження її або недорозвиненість даної структури надниркових залоз. Така ж картина спостерігається при аналізі оптичної щільності пучкової зони. Отже, морфометричні й імуногістохімічні дані надниркових залоз померлих дітей показали, що є група дітей, яка має надмірну реакцію на дистрес під час вагітності у матері та пологів, але ці діти мають досить зрілі структурні складові залоз. Водночас у дітей з нормальним та зниженим вмістом кортизолу в сечі за відсутності різниці між розмірами спонгіоцитів та їхніх ядер спостерігається достовірне зменшення оптичної щільності як пучкової зони кори, так і феталь-

Морфометричні й імуногістохімічні дані надниркових залоз у групах спостережень ($M \pm m$)

Показник	Групи			
	1-ша	2-А	2-Б	2-В
Відносний об'єм, %				
постійної кори	40,14±4,50	40,05±0,91	34,72±0,53	34,03±0,24
клубочкової зони	3,36±0,20	3,93±0,03*	4,24±0,27	4,30±0,29*
пучкової зони	36,49±3,10	37,36±0,68 [#]	30,12±0,65*	29,50±0,25*
фетальної кори	45,12±3,90	46,11±0,78	48,40±0,71	48,01±0,44
Діаметр спонгіоцитів, $\times 10^{-6}$ м	14,23±0,50	14,98±0,05 [^]	14,25±1,38 [^]	12,03±0,14*
Діаметр ядра спонгіоцитів, $\times 10^{-6}$ м	6,14±0,39	6,13±0,01	6,23±0,30	5,83±0,12
Оптична щільність імунофлюоресценції, у. о.				
пучкової зони	2,11±0,07	2,89±0,01 ^{*#}	1,13±0,25*	0,91±0,04*
фетальної кори	1,21±0,08	1,86±0,03 ^{*#}	1,04±0,04*	1,02±0,03*

Примітка. Достовірна різниця за t-критерієм Стьюдента на рівні $p < 0,05$ при порівнянні з показником: * контролю; # 2-Б групи; ^ 2-В групи.

ної, що свідчить про виснаження синтезу гормонів стресу. В новонароджених з низьким рівнем вільного кортизолу в сечі має місце не лише зменшення оптичної щільності пучкової зони кори, яка продукує гормон стресу, а й значуще зменшення діаметрів спонгіоцитів. Можна також припустити процеси порушень клітинного дизембріогенезу або структурного ремоделювання надниркових залоз. При мікроскопічному дослідженні тканини надниркових залоз у померлих новонароджених виявили порушення співвідношення відносних об'ємів дефінітивної та фетальної кори як у бік збільшення їх, так і в бік зменшення відносного об'єму дефінітивної кори з наявністю кіст у фетальній та дефінітивній зонах. Клубочкова зона дефінітивної кори була представлена дрібними клітинами овальної та округлої форми, цитоплазма яких характеризувалась слабо базофілією, була зернистою з невеликим вмістом глікогену (ШИК-реакція слабопозитивна, контроль з амілазою слини). Цитоплазма клітин помірно вакуолізована. Ядра клітин помірно базофільні, ядерця виявлялися не в кожному ядрі. В деяких клітинах спостерігалось по 2 ядерця. Клітини, як правило, розташовувалися компактно, рідше — пухко. Мозаїчність клубочкової зони була помірно вираженою. В деяких полях зору були клітини з гіпертрофованими ядрами. Пучкова зона кори надниркових залоз при мікроскопії була представлена великими призматичними спонгіоцитами зі слабобазофільною цитоплазмою. Клітини розташовувалися серед тонких прошарків сполучної тканини у вигляді стовпчиків, орієнтованих перпендикулярно до поверхні органа. «Колончатість» будови була порушеною. В пучковій зоні кори мозаїчність була виражена різною мірою. Мікроскопічні зміни виявлені й у фетальній зоні кори надниркових залоз. Як правило, клітини були великі, багатокутні, зі світлою еозинофільною, слабою ШИК-позитивною цитоплазмою. Ядра їх округлі, великі, містять 1–2 ядерця та брилики хроматину. Мозаїчність будови фетальної зони була виражена по-різному — від вираженої до слабкої. В різних зонах кори надниркових залоз мікроскопічно мали місце явища цитолізу з резорбцією клітин з формуванням мікрокіст (рис. 1).

Не менш цікавою морфологічною знахідкою поряд з мікрокістами була аденоматозна трансформація тканини надниркових залоз (рис. 2), які є компенсаторною гіпер-

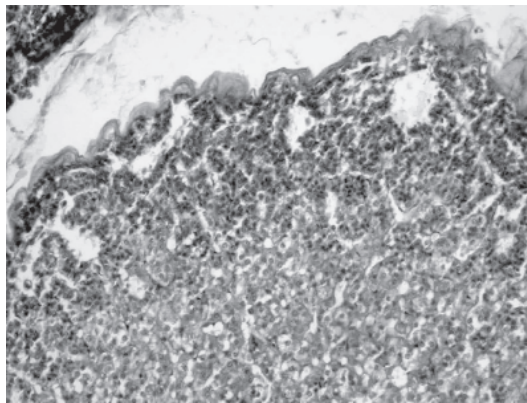


Рис. 1. Кістоподібна структура в клубочковій зоні кори надниркових залоз у померлого новонародженого Г., 7 днів, гестаційний вік 28 тижнів, маса тіла 1060 г. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$

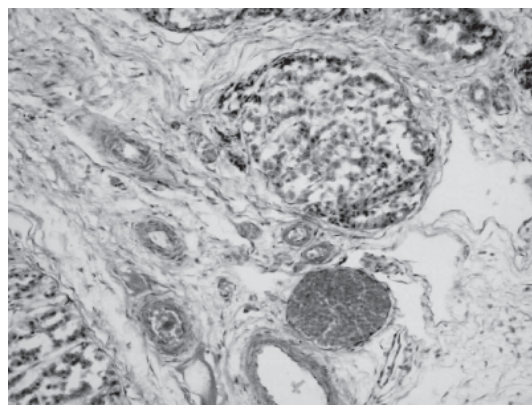


Рис. 2. Субкапсулярна аденома надниркової залози у померлого новонародженого Х., гестаційний вік 32 тижні, маса тіла 1300 г, постнатальний вік 2 доби. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$

плазією тканини надниркових залоз на тривалій дистрес.

В залежності від рівня екскреції вільного кортизолу з сечею спостерігалась різна оптична щільність спонгіоцитів при обробці мікропрепаратів моноклональними антитілами до кортизолу (рис. 3, 4).

У новонароджених з низьким рівнем вільного кортизолу в сечі не лише зменшена оптична щільність пучкової зони кори, яка продукує гормон стресу, а й суттєво зменшені діаметри спонгіоцитів. З урахуванням того, що відносні об'єми дефінітивної та фетальної зон не мають відмінностей у дітей різних груп, ми не можемо стверджувати існування первинної гіпоплазії надниркових залоз і припускаємо процеси порушень клітинного дизембріогенезу або структурного ремоделювання надниркових залоз на тлі несприятливого перебігу вагітності.

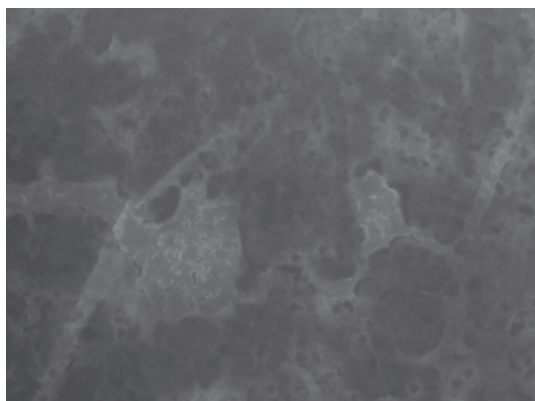


Рис. 3. Яскраве освітлення спонгіоцитів пучкової зони при імунофлюоресцентному дослідженні препарату надниркової залози моноклональними антитілами до кортизолу у померлого новонародженого З., гестаційний вік 40 тижнів, маса тіла 4200 г, $\times 400$

Висновки

1. У новонароджених спостерігаються різні стадії відповіді на стрес (стадії спокою, напруги і виснаження), про що свідчать морфометричні показники та дані функціональної активності клітин надниркових залоз.

2. Відносна маса надниркових залоз зменшується при збільшенні маси тіла немовля.

3. Несприятливі антенатальні чинники призводять до структурного remodelювання тканини надниркових залоз у новонароджених з несприятливим перебігом неона-

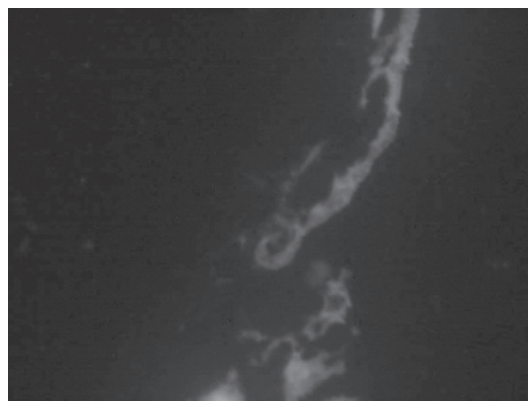


Рис. 4. Слабе освітлення спонгіоцитів пучкової зони при імунофлюоресцентному дослідженні препарату надниркової залози моноклональними антитілами до кортизолу у померлого новонародженого Л., гестаційний вік 27 тижнів, маса тіла 800 г, постнатальний вік 1 доба, $\times 400$

тального періоду: як вторинної гіпоплазії органа, так і його гіпертрофії.

4. Знання морфофункціональних особливостей розвитку, морфології надниркових залоз протягом перинатального періоду життя людини сприяє більш достовірній діагностиці критичних станів та оптимізує прогнозування перебігу неонатального періоду.

Перспективами подальших досліджень є вивчення морфофункціонального стану гіпофізарно-наднирковозалозної системи у новонароджених.

Список літератури

1. *Ishimoto H.* Development and function of the human fetal adrenal cortex: a key component in the fetoplacental unit / H. Ishimoto, R. B. Jaffe // *Endocrine Reviews*. — 2011. — № 32. — P. 317–355.
2. *Mesiano S. B.* Developmental and functional biology of the primate fetal adrenal cortex / S. B. Mesiano, R. B. Jaffe // *Endocrine Reviews*. — 1997. — V. 18 (3). — P. 378–403
3. *Watterberg K.* Fetal adrenal development implications for lung development and postnatal disease / K. Watterberg // *NeoReviews*. — 2006. — V. 7, № 3. — P. e135–e142.
4. *Miwa M.* Late-onset circulatory collapse in very low-birthweight infants: a Japanese perspective / M. Miwa, S. Kusuda, K. Ikeda // *NeoReviews*. — 2009. — V. 10, № 8. — P. e381–e386.
5. *Bizzarro M. J.* Effects of hormones on fetal lung development / M. J. Bizzarro // *Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.* — 2004. — V. 31 (4). — P. 949–961.
6. *Tegethoff M.* Effects of intrauterine exposure to synthetic glucocorticoids on fetal, newborn, and infant hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in humans: a systematic review / M. Tegethoff, C. Pryce, G. Meinschmidt // *Endocrine Reviews*. — 2009. — V. 30 (7). — P. 753–789.
7. Assessing cortisol production in preterm infants: do not dispose of the nappies / M. Heckmann, M. F. Hartmann, B. Kampschulte [et al.] // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* — 2006. — Nov. — V. 19 (11). — P. 1299–1302.
8. *Кихтенко Е. В.* Морфофункціональна характеристика гіпофізарно-надпочечникової системи плодів і новонароджених, виношених в умовах хронічної внутрішньорічної гіпоксії / Е. В. Кихтенко, А. В. Андреев // *Вісник морфології*. — 2009. — № 15 (1). — С. 21–24.
9. The periphery of the human fetal adrenal gland is a site of angiogenesis: zonal differential expression and regulation of angiogenic factors / H. Ishimoto, K. Minegishi, T. Higuchi [et al.] // *The J. of Clinical Endocrinology & Metabolism*. — 2008. — V. 93 (6). — P. 2402–2408.
10. *King P. J.* Shh signaling regulates adrenocortical development and identifies progenitors of steroidogenic lineages / P. J. King, A. Paul, E. Laufer // *PNAS USA*. — 2009. — V. 106 (50). — P. 21185–21190.

11. Effect of dose on response to adrenocorticotropin in extremely low birth weight infants / K. Watterberg, M. Shaffer, J. Garland [et al.] // The J. of Clinical Endocrinology & Metabolism. — 2005. — V. 90 (12). — P. 6380–6385.

12. Watterberg K. L. Adrenocortical function and dysfunction in the fetus and neonate / K. L. Watterberg // Semin. Neonatol. — 2004. — V. 9. — P. 13–21.

13. Хмара Т. В. Розвиток та становлення топографії надниркових залоз в ранньому періоді онтогенезу людини : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.01 «Нормальна анатомія» / Т. В. Хмара. — Тернопіль, 1999. — 19 с.

Е.А. Рига, И.В. Сорокина

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ У НОВОРОЖДЕННЫХ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМИ ИСХОДАМИ

Представлены данные морфофункционального исследования надпочечников у новорожденных с летальными исходами. Установлено, что у новорожденных имеются различные варианты ответа на стресс: стадии покоя, напряжения и истощения. Относительная масса надпочечников уменьшается по мере увеличения массы тела ребенка. Неблагоприятные антенатальные причины приводят к различным типам ремоделирования ткани надпочечников.

Ключевые слова: новорожденные, надпочечники.

O.O. Riga, I.V. Sorokina

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF ADRENAL GLANDS IN NEWBORNS WITH POOR OUTCOMES

The morphological and functional investigation of adrenal glands data in newborns with lethal outcomes are shown. It is determined, that the difference types of responsiveness to stress take place in neonates: rest stage, potential stress and exhaustion one. The relative weight of adrenal gland decreases appropriate increasing of the infant's body weight a remodelling was determined. There are direction and intensity of compensatory and adaptive processes. The disadvantageous antenatal causes lead to difference types of adrenal remodelling tissue.

Key words: neonates, adrenal glands.

Поступила 30.06.11