

*Дзевульська І.В.*

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ КОРИ НАДНИРКОВОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

**Резюме.** В роботі представлені результати гістологічного та електронномікроскопічного дослідження змін кори надниркової залози при термічному опіку. В дослідженні встановлено зміни мікроциркуляції та ультраструктурної організації адренкортикоцитів. В перші 3 доби опікового шоку розвиваються реактивні зміни кори наднирників, функціональна активація кортикоцитів. В період 7-14 діб структурно-функціональні зміни відповідають стану резистентності, що завершується стадією виснаження на 21-30 добу опіку. Порушення регіонарної гемодинаміки та інтоксикація метаболітами спричинюють дистрофічні порушення надниркової залози.

**Ключові слова:** термічний опік, ультраструктурні зміни, кора надниркової залози.

**Вступ.** Термічні ураження є одними з частих видів травм. Опікова хвороба включає як місцеве ураження шкіри, так і складний комплекс вторинних змін з боку внутрішніх систем організму. Розвиток поліорганної недостатності часто набуває самостійного значення, визначаючи перебіг і результат термічних ушкоджень [3,8,9,13,14]. Особливе значення у хворих з опіками відіграють ускладнення з боку ендокринної системи. Гормональні зміни залучені не лише до пускових механізмів патогенезу опікової хвороби, а й до розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій і мобілізації захисних функцій організму [4,6]. Особливо важлива роль у цьому складному процесі належить системам гіпофіз-кора надниркових залоз, гіпофіз-щитовидна залоза. Вони являють собою не тільки проміжну ланку в еферентних шляхах нервової регуляції, а й є периферичними ендокринними ефекторами, що забезпечують збалансованість обмінних і регенераційних процесів [10,11,12]. У зв'язку з цим особливої актуальності набувають структурно-функціональні дослідження аденогіпофіза, кори надниркових залоз і щитовидної залози при опіках.

**Метою роботи** було дослідження структурно-функціональних змін кори надниркової залози при моделюванні опікової хвороби у щурів.

**Матеріали та методи.** Експериментальне дослідження проведено у рамках наукового співробітництва між ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» (м. Львів) і Вінницьким національним медичним

університетом імені М.І. Пирогова та між Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця і Вінницьким національним медичним університетом імені М.І. Пирогова.

Утримання та маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухваленим Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), рекомендацій “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985).

Моделювання термічного опіку здійснено на 30 білих щурах-самцях віком 3 місяці з масою тіла 195-210 г. Окрему групу склали інтактні щури, яким не моделювали опік.

Опік (після відповідної премедикації тіопенталом натрію, 50 мг/кг) моделювали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по 2 пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом шести хвилин у воді з постійною температурою 100°C. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складала 21-23% при експозиції 10 сек., що є достатнім для формування опіку II ступеня - дермального поверхневого опіку (колишній III А ступінь) та розвитку шокowego стану середнього ступеня важкості. Забій тварин проводили через 1, 3, 7, 14, 21 і 30 добу після опіку на тлі відповідної премедикації.

Наднирникову залозу щурів фіксували в 10% нейтральному формаліні для гістологічного

дослідження. Після стандартної проводки і заливки в парафін, зрізи профарбовували гематоксилін-пікрофуксином.

Для електронномікроскопічного дослідження фрагменти надниркової залози щурів фіксували 2,5% розчином глютарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією у 1% забуференому розчині чотирьохокису осмію. Зневоднювання проводили у спиртах зростаючої концентрації (70%, 80%, 90%, 100%) та ацетоні. Просочували та заливали у суміш епон-аралдит, згідно загальноприйнятій методиці. Для прицільної орієнтації напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим синім, після чого на ультратомах LKB III (Швеція) та Reihart (Австрія) виготовляли ультратонкі зрізи. Контрастування проводили 2% розчином уранілацетату та цитратом свинцю. Ультратонкі зрізи досліджували під електронним мікроскопом ПЕМ-125К.

Морфометричне дослідження було проведено із використання мікроскопу Olympus BX51 (Японія). Статистична обробка отриманих даних проводилась із використанням стандартних методів оцінки результатів у пакетному редакторі Excel. Відмінності між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, а достовірними вважались результати з рівнем значущості більше 95% ( $p < 0,05$ ).

**Результати та обговорення**

В експериментальному дослідженні проведено аналіз структурно-функціональних змін кори надниркової залози щурів після локального термічного опіку впродовж шести періодів спостереження: 1-3, 7-14 і 21-30 доба, що максимально відповідає періоду опікового шоку (1-3 доби),

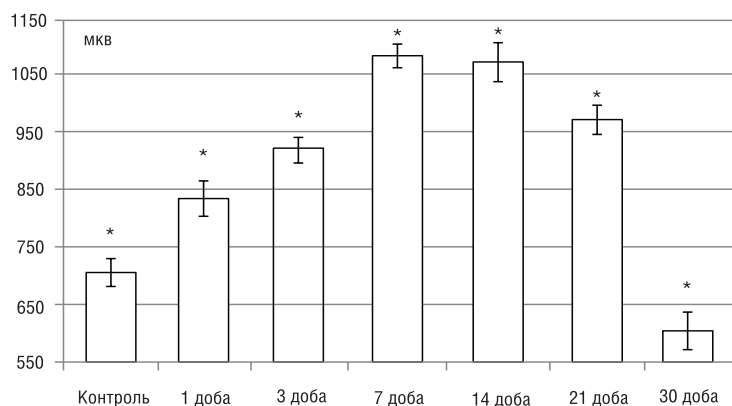
Таблиця 1. Летальність щурів після опікової травми.

Доба	Термін спостереження						Всього
	1	3	7	14	21	30	
Кількість щурів	30	27	23	18	13	7	30
n=30	-	-	1/4,3%	1/5,5%	1/7,6%	-	3/10%

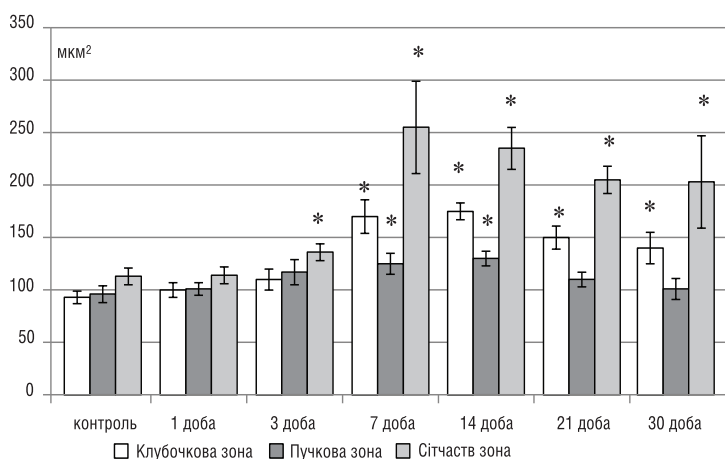
гострої токсемії (до 15 доби) і септикотоксемії (від 2 тижнів до 3 місяців) [16,17]. У дослідних щурів після опіку відмічено зниження рухової активності і набору маси щурів. За період спостереження в дослідній групі щурів середній набір маси склав лише 6,8 2,0%, в той час як контрольна група (інтактні шури) 28,6 0,9% маси тіла. За період 7-21 доби спостереження реєстрували загибель трьох дослідних щурів (30% від загальної кількості) (табл. 1), що вказує на суттєві метаболічні порушення в організмі на тлі опікового шоку.

При гістологічному дослідженні встановлено розвиток суттєвих структурних змін кори надниркової залози за весь період спостереження. Враховуючи важливу роль у регуляції адаптаційних можливостей організму клітин кори надниркових залоз, для морфометричної оцінки реактивних змін органу ми визначали ширину коркової речовини, діаметр синусоїдних гемокapілярів і зміни площі соми і ядер кортикоцитів.

Опік викликав збільшення обсягу кори надниркової залози, що супроводжується суттєвою реакцією з боку мікроциркуляторного русла. Максимальне збільшення ширини кори наднирників в площині гістологічного зрізу встановлено



**Рис. 1.** Зміна ширини кіркової речовини надниркової залози при опіковій травмі. Умовні позначення: \* - достовірно по відношенню до контрольної (інтактної) групи щурів ( $p < 0,05$ )



**Рис. 2.** Зміна площі поперечного перерізу гемокапілярів кори надниркової залози при опіку. Умовні позначення: \* - достовірно по відношенню до контрольної (інтактної) групи щурів ( $p < 0,05$ )

**Таблиця 2.** Морфометричні параметри кіркової речовини надниркової залози щурів при опіковій травмі.

№	Показник	Контроль	1 доба	3 доба	7 доба	14 доба	21 доба	30 доба
Площа ядер кортикоцитів, мкм <sup>2</sup>								
1	Клубочкової зони	53,8±1,7	56,9±1,6*	61,0±2,1*	67,5±2,2*	65,1±1,7*	64,8±2,1*	64,9±2,8*
2	Пучкової зони	56,1±1,4	56,9±1,3	58,7±2,2*	77,2±2,8*	70,8±2,0*	57,1±1,4	73,2±2,1*
3	Сітчастої зони	49,9±1,7	54,3±1,9*	65,5±2,6*	59,3±1,6*	57,5±1,5*	53,9±1,8*	51,9±1,4
Площа тіл кортикоцитів, мкм <sup>2</sup>								
1	Клубочкової зони	145,9±5,4	182,3±13,4*	217,0±11,4*	227,9±11,7*	225,7±10,9*	224,2±8,7*	239,4±12,9*
2	Пучкової зони	155,4±4,9	196,0±12,3*	250,6±21,9*	275,2±14,1*	241,3±9,0*	213,7±9,9*	248,6±12,8*
3	Сітчастої зони	102,4±3,8	115,6±4,0*	182,6±15,8*	115,8±4,3*	153,2±10,6*	159,3±8,1*	126,8±7,3*

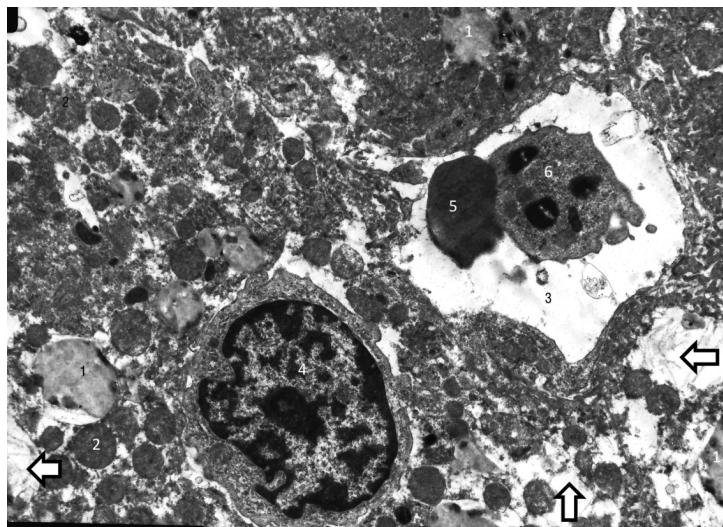
Умовні позначення: \* - достовірно по відношенню до показників контрольної (інтактної) групи щурів ( $p < 0,05$ ).

в період 7-14 доби в середньому на 76%, головним чином за рахунок реакційних змін пучкової зони (рис. 1). Діаметр гемокапілярів достовірно збільшується на 3 добу в сітчастій зоні, що прилягає до мозкової речовини, а з 7 по 30 добу відмічено виражений стаз гемокапілярів і їх дилатацію. Максимальні зміни гемокапілярів встановлено в сітчастій зоні на 130-150% в період 7-14 доби при порівнянні з інтактним контролем (рис. 2).

Для оцінки функціонального стану надниркової залози, нами був проведений морфометричний аналіз кортикоцитів структурних зон кіркової речовини надниркових залоз (табл. 2). Термічний опік одночасно викликав активацію компенсаторно-адаптаційних механізмів наднирників на клітинному рівні і розвиток гідропічної дистрофії кортикоцитів, що проявляються в достовірному збільшенні площі ядер і

соми кортикоцитів вже з 1 доби після ураження. Морфологічний аналіз цитологічних змін свідчить, що в період 1-7 доби розвиваються реакційні зміни кортикоцитів, а в наступні терміни спостереження в більшій мірі дистрофічні, що реєструються до кінця експерименту. Максимальні за обсягом порушення спостерігались в період 7-21 доби. На 30 добу нами відмічено ознаки компенсаторного відновлення, що морфологічно реєструється на межі клубочкової і пучкової зони у вигляді організаційних змін стромальних елементів і кортикоцитів кори наднирників.

Гістологічне дослідження показало, що на 1 добу після опіку структурні зміни наднирників розвиваються лише на клітинному рівні, що підтверджено методом електронної мікроскопії (рис. 3). Гістоархітектоніка кори наднирників залишається без порушень, в корі реєструються три



**Рис. 3.** Кора надниркової залози шурів через 1 добу після опіку. Набряк, дегрануляція і деструкція органел периваскулярних кортикоцитів. Умовні позначення: 1 – ліпідні гранули; 2 – мітохондрії; 3 – просвіт гемокапіляра; 4 – ядро ендокриноцита; 5 – еритроцит; 6 – тромбоцит;  $\leftarrow$  набряк цитоплазми. Електронорама: 10000

структурно-функціональні зони: клубочкова, пучкова і сітчаста. У клубочковій зоні дрібні кортикоцити розташовувалися у вигляді згорнутих клубочків. При переході в пучкову зону розміри клітин збільшувалися і утворювали тяжі, орієнтовані перпендикулярно поверхні наднирника і паралельно один одному. Форма клітин наближалася до кубічної або полігональної. У сітчастій зоні епітеліальні тяжі розгалужувалися, формуючи мережу дрібних клітин. Між тяжами клітин виявлялися численні гемокапіляри, частина з яким перебувала в стані еритроцитарного стазу. На клітинному рівні патологічні зміни проявлялись в порушенні стінки гемокапілярів, розвитку периваскулярного набряку. На тлі розладів гемодинаміки в кортикоцитах порушується клітинна організація: відмічено набряк цитоплазми, деструкція органел.

На 3 добу після опіку спостерігається суттєве збільшення гетерогенності кортикоцитів, значне розширення синусоїдних гемокапілярів сітчастої зони, розвиток периваскулярного набряку мозкової речовини. Цитоплазма багатьох епітеліоцитів пучкової зони кори була вакуолізована (рис. 4).

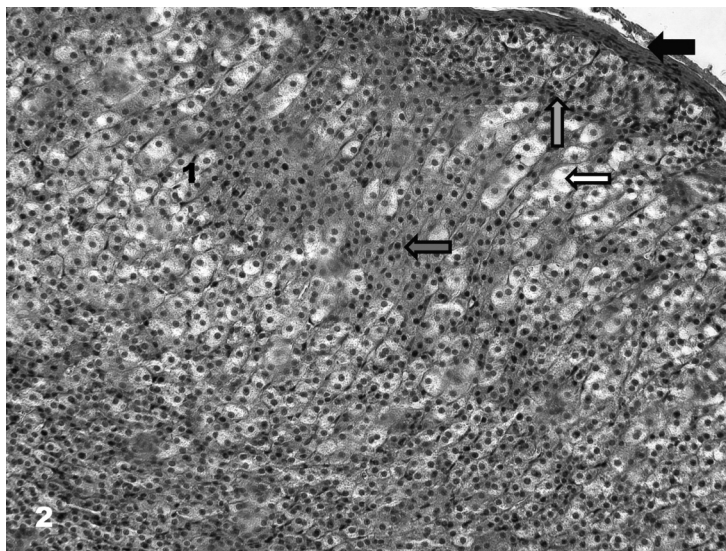
На 7 добу спостерігалось подальше збільшення площі гістологічного зрізу наднирника, в основному, за рахунок зростання ширини пучкової зони кори. В результаті цих реакційних змін співвідношення між клубочковою, пучковою і сіт-

частою зонами було спрямоване до пучкової зони. Відбувалося збільшення просвіту капілярів та стаз формених елементів крові. Ядра більшості клітин пучкової зони коркової речовини були гіпохромними (рис. 5).

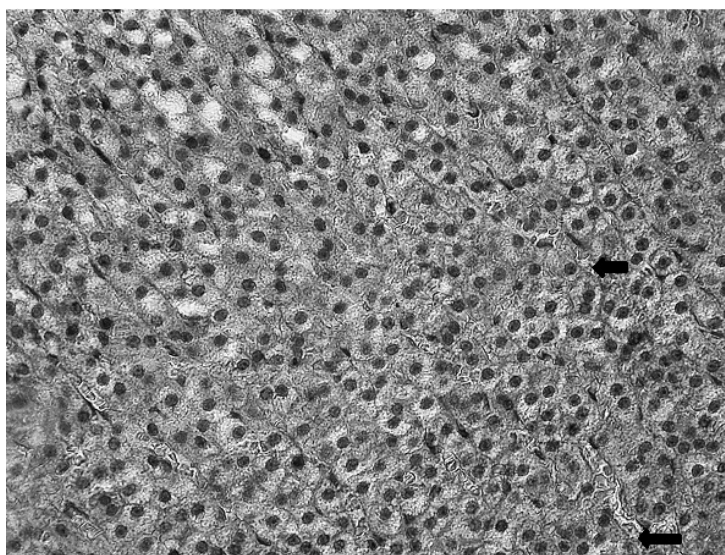
На 14 добу спостереження при електронно-мікроскопічному дослідженні продовжувались спостерігатися дистрофічні зміни у вигляді внутрішньоклітинного набряку і деструкції органел (рис. 6). В період 7-14 доби порушення судинного компонента досягали максимальних порушень, що знайшло своє відображення в діаметрі гемокапілярів (рис. 2)

На 21 добу після опіку відмічено незначний регрес середньої площі клітин пучкової зони порівняно із періодом 7-14 доби спостереження. Проміжна зона (між клубочковою і пучковою зоною), що є камбіальною, тонка, місцями переривчаста, без ознак відновних процесів. В сітчастій зоні і мозковій речовині виражений стаз гемокапілярів (рис. 7).

До кінця експерименту, тобто на 30 добу, маса шурів із опіком почала зростати (на 12,5% порівняно із 1 добою після опіку), морфометричні показники ширини кори наближались до вихідних даних або навіть зменшувались (рис. 1), що вказує на розвиток дистрофічних змін наднирників. Вищезазначені зміни підтверджуються морфометричними дослідженнями кортикоцитів: збільшення площі тіл клітин продовжує збільшуватись в



**Рис. 4.** Надниркова залоза щурів через 3 доби після опіку. Дифузний набряк адренкортикоцитів пучкової і сітчастої зони. Умовні позначення: **←** капсула; **↔** дистрофічно змінені клітини; **←** неушкоджені адренкортикоцити; **↔** клубочкова зона; 1 - пучкова зона; 2 - сітчаста зона. Гематоксилін - пікрофуксін. Об. 10, ок. 20



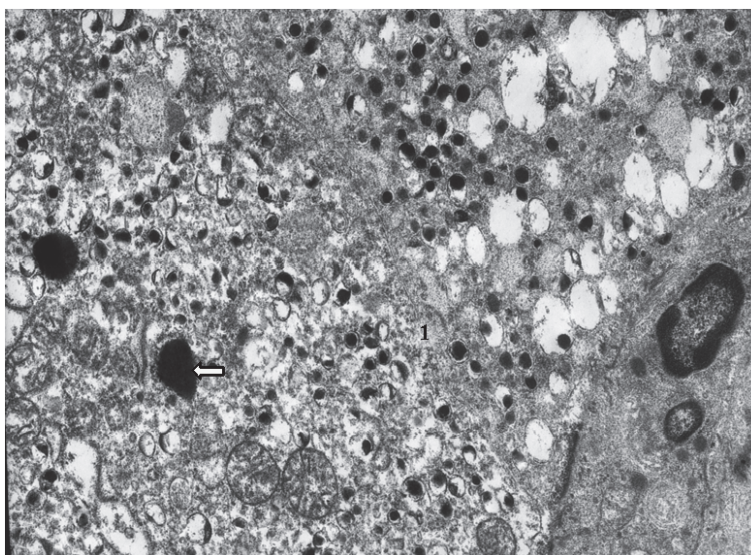
**Рис. 5.** Надниркова залоза щурів на 7 добу після опіку. Еритроцитарний стаз гемокапілярів пучкової і сітчастої зони. Умовні позначення: **←** еритроцитарний стаз. Гематоксилін - пікрофуксін. Об. 10, ок. 20

клубочковій і пучковій зонах, в основному, за рахунок інтрацелюлярного набряку. В деяких щурів на межі цих зон спостерігалися крововиливи (рис. 8). Натомість в пучковій зоні відмічаються ознаки відновних процесів: зменшується набряк клітин, відновлення їх цитологічної будови. При цьому

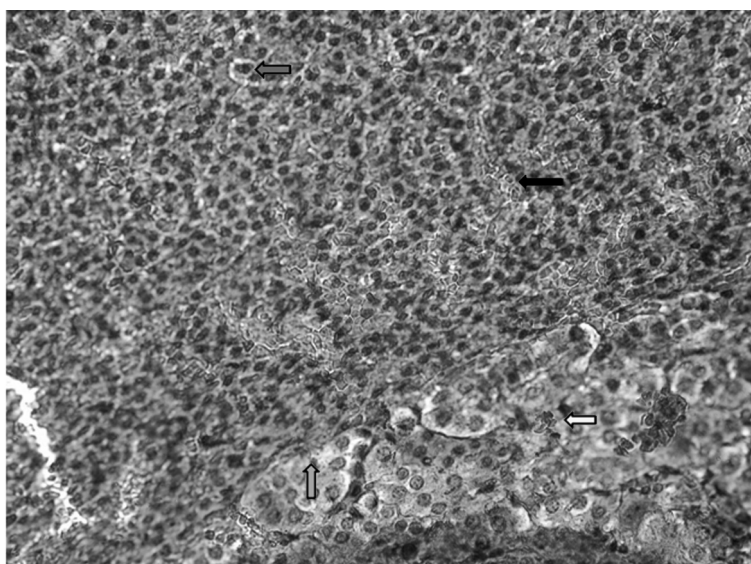
судинний компонент залишається суттєво змінений, діаметр стазованих гемокапілярів збільшений на 80-100% порівняно із контролем.

#### Аналіз та обговорення

При моделюванні локального опіку у щурів встановлено виражені структурно-функціональні



**Рис. 6.** Кора надниркової залози шурів через 14 днів після опіку. Дегрануляція кортикоцитів, розвиток набряку цитоплазми клітин. Умовні позначення: 1 – мітохондрії;  $\leftarrow$  набряк цитоплазми. Електронोगрама: 12000

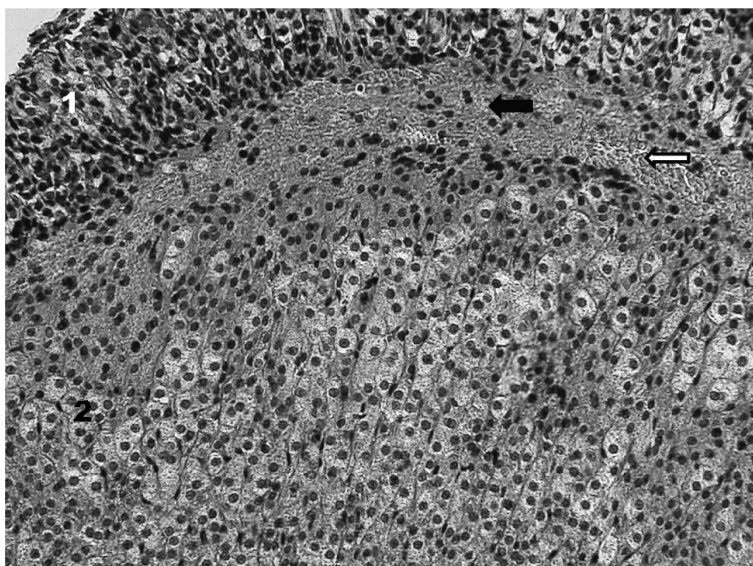


**Рис. 7.** Надниркова залоза шурів на 30 добу після опіку. Стаз гемокапілярів сітчастої зони і власної капсули мозкової речовини, прояви периваскулярного набряку. Умовні позначення:  $\leftarrow$  еритроцитарний стаз,  $\leftarrow$  дистрофічні аденокортикоцити,  $\leftarrow$  мозкова речовини. Гематоксилін - пікрофуксін. Об. 10, ок. 40

зміни кори надниркових залоз у відповідь на стрес. При опіку відбувається порушення мікроциркуляції [5,15] та розвиток периваскулярного набряку, що спричинює значні дистрофічно-деструктивних зміни у аденокортикоцитах.

Як відомо стрес складається з трьох послідовних стадій: реакції тривоги, стадії резистентності

(опору) і стадії виснаження. Реакція тривоги визначає негайну мобілізацію захисних сил організму. Вона складається з фази шоку і протишоку [7]. Згідно з нашими дослідженнями, морфологічні зміни у фазі термічного шоку (1-3 доба) є ознакою підвищення активності клітин кори наднирників [2]. На 3 добу експерименту цьому



**Рис. 8.** Надниркова залоза шурів 30 добу після опіку. Сполучнотканинна організація, геморагічне просочування субгермінативної зони, окремі дистрофічні зміни кіркової речовини. Умовні позначення:  $\leftarrow$  крововилив;  $\blackleftarrow$  явище сполучнотканинної організації; 1 - клубочкова зона; 2 - пучкова зона. Гематоксилін - пікрофуксін. Об. 10, ок. 20

відбувається різке збільшення ширини кори надниркових залоз на 25%, в основному, за рахунок активованої пучкової зони.

У стадії резистентності (опору) відбувалася гіпертрофія всієї кіркової речовини надниркових залоз. Наслідком цього було збільшення ширини кори органа на 42% в період 7-14 доби, посилення їх секреторної активності. Як свідчать наші дані, стадія резистентності переходила в стадію виснаження, що спостерігалась на 21-30 добу експерименту у вигляді зменшення структурно-функціональних зон кори надниркової залози, розвитку дистрофічних змін, а в деяких шурів розвитку крововиливів і некрозу.

Одночасно з цим на 30 добу виявляється збільшена проміжна зона. Як відомо [1], проліферація камбіальних клітин відбувається для поповнення активно функціонуючих і виснажених (дистрофічних) кортикоцитів. Тобто можна припустити, що у тварин після опіку на 30 добу відбувається активація відновних процесів. Проте у частини шурів є ознаки зменшення клітинного ресурсу камбіальної зони кори, прогресуюча дистрофія кори наднирників.

#### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Морфологічні зміни кори надниркових залоз на тлі експериментального термічного опіку виражаються у розвитку регіонарних гемодинамічних розладів, що спричинили дистрофічні порушення ураженої залози.
2. В перші 3 доби опікового шоку розвиваються реактивні зміни кори наднирників, функціональна активація кортикоцитів. В період 7-14 діб структурно-функціональні зміни відповідають стану резистентності, що завершується стадією виснаження на 21-30 добу опіку.

Перспектива подальших досліджень у даному напрямку полягає у вивченні віддалених наслідків опікової хвороби та їх фармакологічної корекції.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*И.В. Дзевульська*

**Резюме.** В работе представлены результаты гистологического и электронномикроскопического исследования изменений коры надпочечников при термическом ожоге. В исследовании установлены значительные изменения микроциркуляции и ультраструктурной организации адренокортикоцитов. В первые 3 суток ожогового шока развиваются реактивные изменения коры надпочечников, функциональная активация кортикоцитов. В период 7-14 суток структурно-функциональные изменения соответствуют состоянию резистентности, которая завершается стадией истощения на 21-30 сутки ожога. Нарушение регионарной гемодинамики и интоксикация метаболитами вызывают дистрофические нарушения надпочечников.

**Ключевые слова:** термический ожог, ультраструктурные изменения, кора надпочечников.

## STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES OF THE ADRENAL CORTEX FOR BURN INJURIES IN EXPERIMENT

*I.V. Dzevulska*

**Abstract.** This paper presents the results of histological and electron microscope study of changes in the adrenal cortex during thermal burn. The study found significant changes in microcirculation and ultrastructural organization of adrenocortical cells. During the first 3 days of burn shock developing reactive changes of the adrenal cortex, functional activation adrenocortical cells. At 7-14 days of structural and functional changes responsible state resistance, culminating stage of depletion at 21-30 day after burn. Violation of regional hemodynamic and metabolic intoxication cause dystrophic changes in adrenal gland.

**Keywords:** thermal burn, ultrastructural changes, adrenal cortex.

### Список використаної літератури

1. Губіна-Вакулик Г.І., Денисенко С.А. Електромагнітне випромінювання як чинник цивілізації, який прискорює процес старіння на прикладі надниркових залоз потомства // Буковинський медичний журнал. - 2009. - Т. 13, № 4. - С. 100-104.
2. Гончарова Н.Д. Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система и ферменты глутатионзависимой антиоксидантной системы при стрессе и старении / Н.Д. Гончарова, А.В. Шмалый, В.Ю. Маренин, С.А. Смелкова // Бюлл. эксп. биол. и медицины. - 2007. - Т. 144. - № 11. - С. 574-577.
3. Козинец Г.П., Слесаренко С.В., Шейман Б.С. Ожоговая интоксикация. Дифференцированные подходы к детоксикационной терапии // Комбустиология. - 2003. - № 16-17.
4. Кухар І.Д., Клімас Л.А. Морфометричні зміни ядер клітин клубочкової зони кори надниркових залоз після опіків і кріодеструкції шкіри тварин // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2002. - Т.1, №2. - С. 37-40.
5. Моррисон В.В., Божедомов А.Ю., Захарова Н.Б., Подгорнова А.В. Диагностическое значение маркеров повреждения эндотелия сосудов при термической травме // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2011. - Т. 7, № 3. - С. 629-632.
6. Поликарпова А.В. Динамика содержания гормонов гипофизарно-надпочечниковой системы при ожогах кожи различной природы / А.В. Поликарпова // Вісник Харківського національного університету ім.В.Н.Каразіна. - 2011. - №947: Серія: Біологія. Вип.13. - С. 19-22.



7. Щербатых Ю.В. Психология стресса и методы коррекции / Ю.В. Щербатых. – СПб: Питер, 2007. – 256 с.
8. Alencar de Castro R.J., Leal P.C., Sakata R.K. Pain management in burn patients // *Rev Bras Anesthesiol.* – 2013. – Vol. 63(1). – P. 149-158.
9. Barrow R.E., Jeschke M.G., Herndon D.N. Early fluid resuscitation improves outcomes in severely burned children // *Resuscitation.* – 2000. – Vol. 45. – P. 91-96.
10. Deeb S.A., Rosenberg R.B., Wilkerson R.J., Griswold J.A. Adrenal hemorrhage in a pediatric burn patient // *Burns.* – 2001. – Vol. 27(6). – P. 658-661.
11. Kallinen O., Koljonen V. Prevalence of adrenal haemorrhage in non-surviving patients with burns // *Burns.* – 2011. – Vol. 37(7). – P. 1140-1144.
12. Murphy JF, Purdue GF, Hunt JL. Acute adrenal insufficiency in the patient with burns // *J Burn Care Rehabil.* – 1993. – Vol. 14. – P. 155-157.
13. Shvacha M.G. The contribution of operate analgesics to the development of infectious complications in burn patients / M.G. Shvacha, G. McGwin, C.B. Hutchinson et al // *Am. J. Surgery.* – 2006. – Vol. 4, № 192. – P. 82-86.
14. Wassermann D. Systemic complications of extended burns // *Ann. Chir. Plast. Esthet.* – 2001. – Vol. 46, № 3. – P. 196-209.
15. Zhang C., Sheng Z.Y., Hu S., Gao J.C., Yu S., Liu Y. The influence of apoptosis of mucosal epithelial cells on intestinal barrier integrity after scald in rats // *Burns.* – 2002. – Vol. 28, № 8. – P. 731-737.
16. Zhang C, Yang JC, Feng YQ, Wang HT, Li X, Chen NJ. Clinical observations of negative pressure wound therapy and basic fibroblast growth factor in the treatment of intractable pressure ulcer // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2012. – Vol. 92(40). – P. 2862-2864.
17. Zhou B., Zhou X., Ouyang L.Z., Huang X.Y., Zhang P.H., Zhang M.H., Ren L.C., Liang P.F. An epidemiological analysis of paediatric burns in urban and rural areas in south central China // *Burns.* – 2013. – S0305-4179(13)00141-1.