

В.А. Пастухова¹
Г.В. Лук'янцева¹
В.М. Титаренко²




¹ Національний університет фізичного виховання і спорту України
² Національний медичний університет імені О.О. Богомольця
Київ, Україна

Надійшла: 24.08.2023
Прийнята: 15.09.2023

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.105-111>

УДК 620.187:616.45:599.23:616-00.17

ЕЛЕКТРОНОМІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ В РАННІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ТЕРМІЧНОГО ОПІКУ

Pastukhova V.A. , Lukyantseva G.V. , Tytarenko V.M.  Electron microscopic study of adrenal glands of rats in the early stages after thermal burn. National University of Physical Education and Sports of Ukraine, National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background of the problem of thermal injuries is determined by the relatively high frequency of their occurrence in domestic and industrial conditions, the severity of burn injury, the complexity and duration of treatment of patients with burns, a sharp decrease in the quality of life, frequent disability and high mortality. **Objective** is to investigate the changes in the medulla of the adrenal glands of rats in the early stages after a thermal burn at the electron microscopic level. **Methods.** The study was conducted on white rats of reproductive age, which were simulated thermal skin burn. Pieces of adrenal glands were processed according to the generally accepted method, ultrathin sections were made, which were then examined and photographed under an electron microscope. **Results.** On the 1st day of observation, the integrity of the wall of the sinusoidal hemocapillaries was not disturbed. The endothelium was characterized by local swelling of the cytoplasm. Endotheliocytes were characterized by a relatively intact ultrastructure of the nucleus, but regression of the number of organelles was noted in the cytoplasm. On the 3rd day after the burn, the products of autolysis of cells were recorded in the lumen of some hemocapillaries, which indicates the development of dystrophic changes against the background of the burn, violation of the integrity of blood vessels. The thickness of the peripheral zone of the endothelium of hemocapillaries tended to decrease, i.e. signs of regression of hydropic dystrophy of endotheliocytes were noted. Endocrinocytes with pronounced swelling and reduction of organelles, primarily mitochondria, were recorded around affected and stagnant vessels. During the period of 7-14 days of observation, a state of synthetic exhaustion of endocrinocytes was established, as evidenced by the sharp degranulation of a significant number of epi- and norepinephric cells. Microcirculatory changes were morphologically manifested by swelling of the endothelium of hemocapillaries and, as a result, disorganization of perivascular endocrinocytes with the development of dystrophic disorders. Against the background of disorders of regional hemodynamics and energy deficit, apoptosis of individual endocrine cells was noted. Only individual elements of the endoplasmic reticulum and vesicles are observed. Endocrine activity of epinephrocytes was characterized by sharp activation of synthesis. **Conclusion.** Functional and morphological disorders develop in the medulla of rat adrenal glands after a thermal burn, which lead to dystrophy of the structural components of the gland. Functional changes at the level of microcirculation and secretory activity are noted on the 3rd day, dystrophic processes are registered on the 7th day and progress during the following observation periods.


Key words: adrenal medulla, thermal bn, ultrastructure, rats.

Citation:

Pastukhova VA, Lukyantseva GV, Tytarenko VM. [Electron microscopic study of adrenal glands of rats in the early stages after thermal burn]. Morphologia. 2023;17(3):105-11. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.3.105-111>

 Pastukhova V.A. 0000-0002-4091-913X

 Lukyantseva H.V. 0000-0002-8054-0108

 Tytarenko V.M. 0000-0003-4346-0421

✉ Pastuhova_V@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Актуальність проблеми термічних уражень визначається відносно високою частотою їх виникнення в побутових і виробничих умовах, тяжкістю опікової травми, складністю і тривалістю лікування хворих з опіками, різким зниженням якості життя, частою інвалідизацією та високою летальністю [1,2]. В Україні щороку реєструють близько 145 тис. випадків опіків різного ступеня і локалізації, що займає третє місце в структурі загального травматизму.

У недостатньо вивченому патогенезі опікової хвороби та вторинного імунodefіциту важливе значення належить органам ендокринної системи. Встановлено, що на тлі опікового шоку відбуваються зміни центральної гемодинаміки, які викликають порушення обміну катехоламінів [3]. Ці гормони беруть участь не тільки в пусковому механізмі, а й у розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій і мобілізації захисних властивостей організму [4]. За таких умов система гіпофіз-надниркова залоза являє собою не тільки проміжну ланку еферентного шляху нервової регуляції, але і є периферичним ендокринним ефектором, що забезпечує регуляцію регенераторних процесів при опіковому шоці.

Мета дослідження – дослідити зміни мозкової речовини надниркових залоз щурів в ранні терміни після термічного опіку на електронномікроскопічному рівні.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на білих щурах репродуктивного віку (3,0-5,0-місячних) масою 125-230 г. В дослідженні була використана модель локального термічного опіку, що полягає у прикладанні до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по 2 пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6 хвилин у воді з постійною температурою 100°C. Перед моделюванням опіку дослідним тваринам здійснювали премедикацію шляхом введення тіопенталу натрію (40 мг/кг), попередньо видаляли шерсть в ділянці спини. Всі експериментальні маніпуляції із дослідними тваринами проведено із дотриманням положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, відповідно до протоколів “Regulations on the animal use of in research biomedical research”, “European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes”, “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”, що використовуються в експериментальних наукових дослідженнях.

Для аналізу ультраструктурних змін структурно-функціональних утворень мозкової речовини надниркових залоз невеликі фрагменти залози фіксували 2,5% розчином глутарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією у 1% розчині чотирьохокису осмію протягом 2 годин при температурі +4°C. Фрагменти тканин зне-

воднювали в розчинах етилового спирту зростаючої концентрації, в оксипропілені та ацетоні і заливали в суміш епону з арамідом згідно методики Уіклі. Ультратонкі зрізи одержували на ультратомі Райхарт (Голландія), потім їх контрастували 2% розчином уранілацетату у 70% етанолі і цитратом свинцю. Виготовлені ультратонкі зрізи на мідних сіточках досліджували та фотографували під електронним мікроскопом Tescan Mira 3 LMU (Чехія).

При статистичному аналізі морфометричних даних обчислювали середні значення величин, середнє квадратичне відхилення, похибку середнього арифметичного. Порівняння отриманих результатів проводили за допомогою параметричного критерію Стьюдента та непараметричного критерію Вілкоксона [5].

Результати та їх обговорення

При аналізі даних, що отримані методом електронної мікроскопії було встановлено розвиток значних структурних і функціональних змін в мозковій речовині надниркових залоз після опіку. На 1 добу спостереження цілісність стінки синусоїдних гемокапілярів не порушена, відмічено збільшення їх просвіту та електронної щільності плазми крові. Ендотелій характеризувався локальним набряком цитоплазми, який спричинив збільшення його товщини ендотелію. Так, товщина периферійної зони ендотелію, ділянки де реалізується основний трансендотеліальний транспорт, збільшилась з $0,21 \pm 0,02$ мкм до $0,41 \pm 0,05$ мкм, тобто на 95,2% ($p=0,003$). Ендотеліоцити характеризувалися відносно неушкодженою ультраструктурою ядра, що містило еу- та гетерохроматин, проте в цитоплазмі відмічено регрес кількості органел, зокрема мітохондрій і елементів вакуолярної системи (цистерн ендоплазматичної сітки, апарату Гольджі). Ендотелій щільно контактував з базальною мембраною, некрозу та десквамації ендотелію не спостерігали. Периваскулярний та інтерстиційний простір на ультраструктурному рівні був без проявів гідропічної дистрофії.

Зміни в навколишніх ендокринних клітинах мали поліморфний характер (рис. 1, 2). В більшості епінефроцитів міститься значна кількість секреторних гранул, відмічено окремі цистерни ендоплазматичної сітки. Епі- та норепінефроцити щільно контактували між собою та з базальною мембраною мікросудин. Встановлено зміни перерозподілу гормональних гранул: діаметр гранул епінефроцитів зменшився з $2,23 \pm 0,05$ нм до $1,85 \pm 0,05$ нм ($p < 0,001$), а за кількісним співвідношенням встановлено статистично значуще збільшення кількості малих (до $0,5$ нм) і великих гранул ($2,0-3,0$ нм).

Ці дані вказують на те, що реакцією МРНЗ на опікову травму є одночасна різка дегрануляція епінефроцитів і активація синтезу адреналіну як стресова і адаптаційна реакція наднирників.

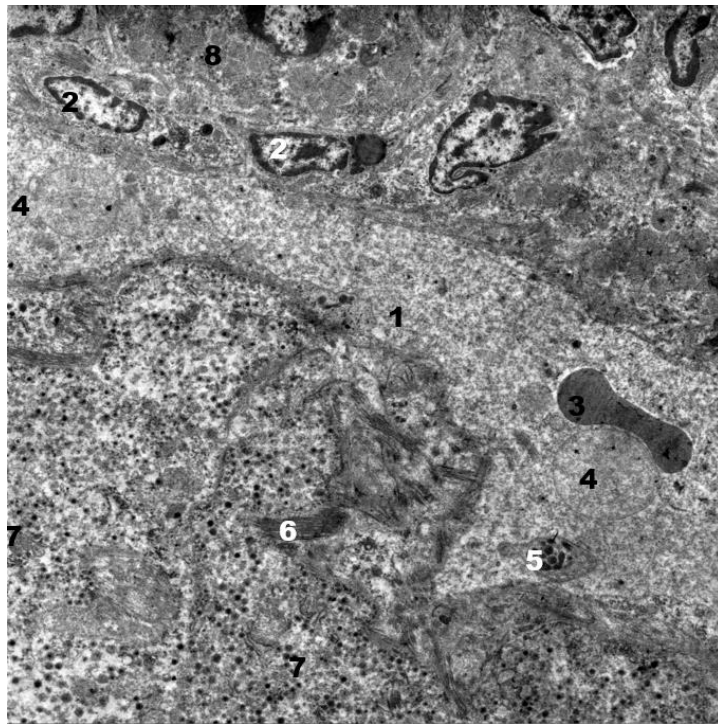


Рис. 1. Ультраструктурна організація мозкової речовини надниркової залози після опіку на 1 добу. Епінефроцити містять значну кількість секреторних гранул, окремі цистерни ендоплазматичної сітки, клітини щільно контактують без ознак перичелюлярного набряку. В різко розширеному синусоїдному гемокапілярі спостерігаються поодинокі еритроцити і тромбоцити, продукти розпаду ушкоджених клітин. Термін спостереження: 1 доба. 1 – просвіт гемокапіляра; 2 – ядро стромальних клітин капсули; 3 – еритроцит; 4 – фрагменти розпаду загблих клітин в просвіті гемокапіляра (деривати); 5 – тромбоцит; 6 – колагенові волокна; 7 – епінефроцит; 8 – адренокортикоцит. Електронорама. $\times 18000$.

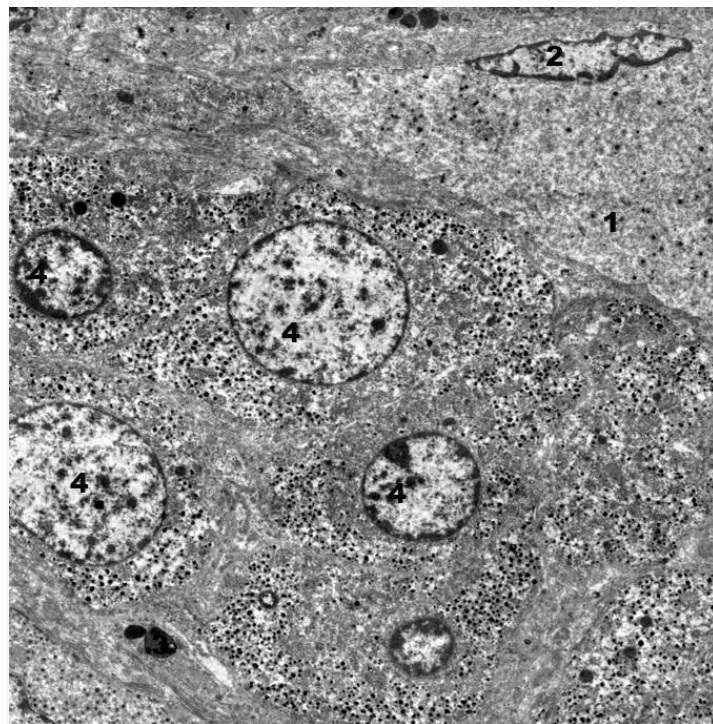


Рис. 2. Ультраструктурна організація мозкової речовини надниркової залози після опіку на 1 добу. Гемокапіляр без ознак некрозу ендотелію та розвитку периваскулярного набряку. Епінефроцити містять різну кількість секреторних гранул, що свідчить про зміни їх функціональної активності. 1 – просвіт гемокапіляра; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – фагосоми; 4 – епінефроцит. Електронорама. $\times 13600$.

На 3 добу після опіку в просвіті деяких гемокапілярів реєстрували продукти аутолізу клітин, що свідчить про розвиток дистрофічних змін на тлі опіку, порушення цілісності кровоносних судин та вихід некротизованих дериватів уражених тканин у системний кровотік, перенесення по системі мікроциркуляторних русел, гемодинамічні і дистрофічні порушення у віддалених від зони термічного опіку органах і ткани-

нах (рис. 3).

За даними морфометрії товщина периферійної зони ендотелію гемокапілярів мала тенденцію до зменшення (з $0,41 \pm 0,05$ мкм до $0,30 \pm 0,02$ мкм), тобто на 3 добу відмічені перші ознаки регресу гідропічної дистрофії ендотеліоцитів мікросудин мозкової речовини надниркової залози.

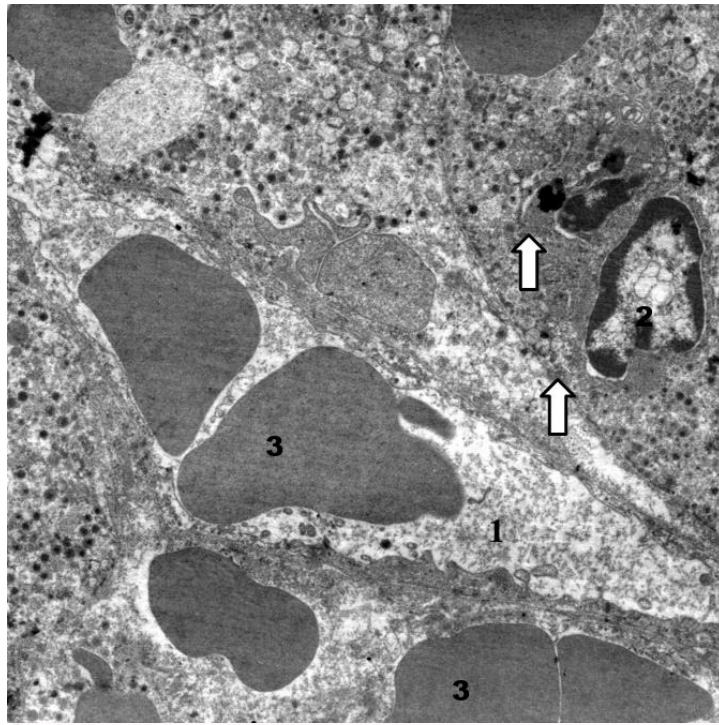


Рис. 3. Ультраструктурна організація мозкової речовини надниркової залози після опіку на 3 добу. Дегрануляція епінефроцитів після опіку. Стаз гемокапілярів, дистрофічні зміни окремих периваскулярних клітин. 1 – просвіт гемокапіляра; 2 – ядро uszkodженого епінефроцита; 3 – еритроцит; \leftarrow перинуклеарний набряк. Електроннограма. $\times 28200$.

Навколо уражених і стазованих судин також реєстрували ендокриноцити з вираженим набряком та редукцією органел. В першу чергу ці зміни встановлені на рівні набряку та перерозподілу uszkodжених мітохондрій (рис. 4).

Ультраструктурним проявом змін мітохондрій був набряк матриксу і деструкція крист, що супроводжувалося статистично значущим збільшенням діаметру органел (в середньому на 16,8%, $p < 0,001$). При цьому збільшувалася кількість мітохондрій діаметром 0,5-1,0 мкм порівняно з попереднім терміном спостереження.

Структурно-функціональні зміни епінефроцитів на 3 добу після моделювання термічного опіку характеризувалися прогресуючим зменшенням середнього діаметру гормональних гранул (з $1,85 \pm 0,05$ нм $\times 10^2$ до $1,55 \pm 0,04$ нм $\times 10^2$, $p < 0,01$) і зменшенням кількості гранул 2,0-3,0 нм $\times 10^2$ ($p < 0,01$). Зазначені дані переконливо свідчать про прогресування післяопікової стресової реакції МРНЗ у терміні опікового шоку.

В період 7-14 доби спостереження встановлено стан синтетичного виснаження ендокриноцитів МРНЗ, про що свідчить різка дегрануляція значної кількості епі- та норепінефроцитів. Мікроциркуляторні зміни морфологічно проявлялися набряком ендотелію гемокапілярів і, як наслідок, дезорганізацією периваскулярних ендокриноцитів із розвитком дистрофічних порушень (рис. 4). Одночасно з цим реєстрували і відносно неушкоджені гемокапіляри без ознак некрозу, еритроцитарного стазу та периваскулярного набряку. На тлі розладів регіонарної гемодинаміки та енергетичного дефіциту відмічено апоптоз окремих ендокринних клітин (рис. 5).

При морфометричному аналізі змін товщини периферійної ділянки ендотелію гемокапілярів встановлений регрес гідропічної дистрофії ендотеліоцитів, а зміни кількісних показників були у межах статистичної похибки контрольної групи.

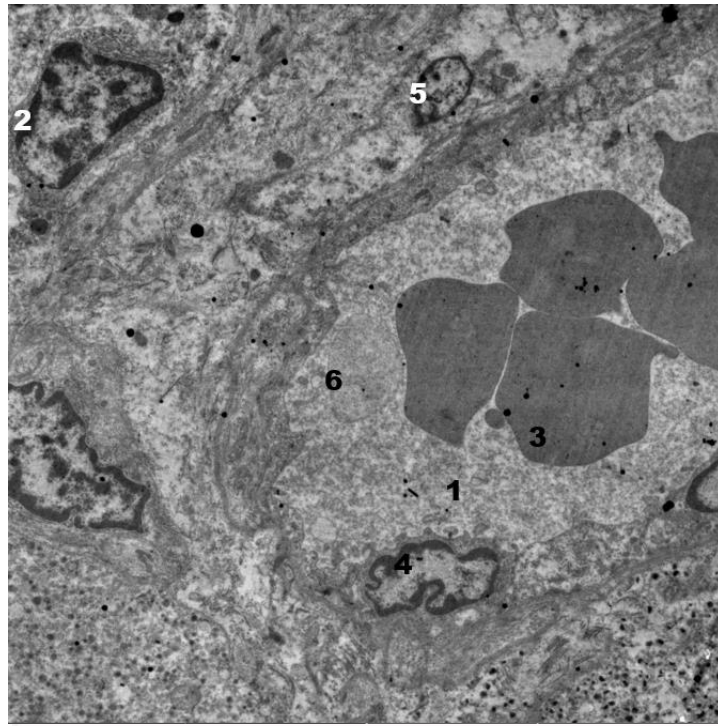


Рис. 4. Ультраструктурна організація мозкової речовини надниркової залози після опіку на 3 добу. Стаз гемокапілярів, дистрофічні зміни окремих периваскулярних клітин. 1 – просвіт гемокапіляра; 2 – ядро ушкодженого епінефроцита; 3 – еритроцит; 4 – ядро ендотеліоцита; 5 – ядро фібробласта; 6 –фрагменти гемолізованих еритроцитів. Електроннограма. $\times 20500$.

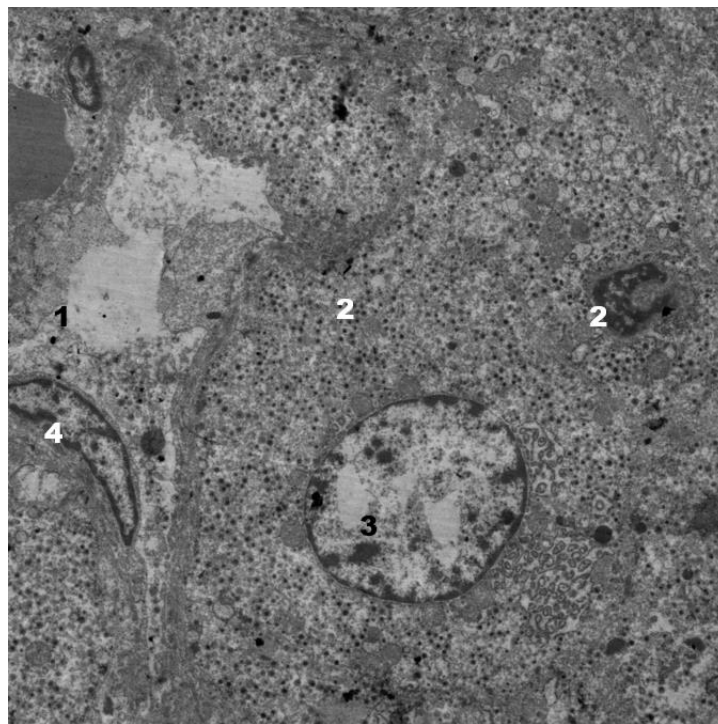


Рис. 5. Ультраструктурна організація мозкової речовини надниркової залози після опіку на 14 добу. Дистрофічні зміни мозкової речовини надниркової залози після опіку. Набряк ендотелію гемокапіляра, редукція органел з вакуолізацією цитоплазми епінефроцитів. 1 – просвіт гемокапіляра; 2 – деформація ядра епінефроцита з ознаками апоптозу; 3 – ядро вакуолізованого епінефроцита; 4 – ядро ендотеліоцита. Електроннограма. $\times 16700$.

Епінефроцити характеризуються розвитком набряку цитоплазми та редукцією органел. Спостерігаються лише окремі елементи ендоплазматичної сітки та везикули. Встановлено збільшення ступеню набряку мітохондрій та числа атипових гіпертрофованих органел. Середній діаметр ушкоджених мітохондрій збільшився щодо контрольних показників на 19,4-24,6% ($p < 0,001$). На 7 добу встановлено збільшення кількості мітохондрій діаметром 1,0-1,5 мкм до 48% від їх загальної кількості, а на 14 добу – зменшилась до 30,0% ($p < 0,05$) (у контрольній групі кількість таких органел у межах 2,0%).

Ендокринна активність епінефроцитів характеризувалася різкою активацією синтезу та накопиченням електроннощільних гормональних гранул. Діаметр гранул статистично значимо збільшився щодо контрольного показника у 2,6 разів ($5,86 \pm 0,35 \text{ нм} \times 10^2$ проти $2,23 \pm 0,05 \text{ нм} \times 10^2$, $p < 0,001$), а порівняно до 1-3 доби експерименту у 3,1-3,6 разів ($p < 0,001$). Функціональна активація супроводжувалася збільшенням кількості гранул великого діаметру.

Узагальнюючи результати досліджень можна стверджувати про розвиток стресової реакції у мозковій речовині в терміни 1-3 доби і розвитку подальшої адаптації на 7-14 доби після термічного ураження.

Підсумок

Таким чином, в мозковій речовині надниркових залоз щурів після локального термічного опіку розвиваються виражені функціональні і морфологічні порушення, які призводять до дистрофії структурних компонентів ендокринної залози. Функціональні зміни на рівні мікроциркуляції та секреторної активності відмічаються на 3 добу, дистрофічні процеси реєструються на 7 добу і прогресують впродовж наступних періодів спостереження.

Перспективи подальших досліджень

В подальших роботах планується висвітлити електронномікроскопічні дослідження надниркових залоз щурів в пізні терміни після термічного опіку та після корекції.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота проведена в рамках науково-дослідної теми «Створення нових комплексних колоїдних кровозамінників поліфункціональної дії та розчинів для ресуспендування еритроцитів, лабораторно-експериментальне обґрунтування їх застосування в трансфузіології» (номер державної реєстрації 0107U001132).

Літературні джерела

References

1. Valvis SM, Waithman J, Wood FM, Fear MW, Fear VS. The Immune Response to Skin Trauma Is Dependent on the Etiology of Injury in a Mouse Model of Burn and Excision. *Invest Dermatol.* 2015;135(8):2119-2128.
2. Chen X, Feng X, Xie J, Ruan S, Lin Y, Lin Z, Shen R, Zhang F. Application of acellular dermal xenografts in full-thickness skin burns. *Exp Ther Med.* 2013;6(1):194-198.
3. Lu X, Costantini T, Lopez NE, Wolf PL, Hageny AM, Putnam J, Eliceiri B, Coimbra R. Va-

gal nerve stimulation protects cardiac injury by attenuating mitochondrial dysfunction in a murine burn injury model. *Cell Mol Med.* 2013;17(5):664-671.

4. Akmayev IG. [Neuro-immune-endocrine interactions: their role in dysregulatory pathology]. *Patologicheskaya fiziologiya.* 2001;4:3-10. Ukrainian.

5. Oprya AT, author. *Statystyka [Statistics]*. Kyiv: Tsentr uchbovoyi literatury; 2012. 448 p. Ukrainian.

Пастухова В.А., Лук'янцева Г.В., Титаренко В.М. Електронномікроскопічне дослідження надниркових залоз щурів в ранні терміни після термічного опіку.

РЕФЕРАТ. Актуальність проблеми термічних уражень визначається відносно високою частотою їх виникнення в побутових і виробничих умовах, тяжкістю опікової травми, складністю і тривалістю лікування хворих з опіками, різким зниженням якості життя, частою інвалідизацією та високою летальністю. **Мета** - дослідити зміни мозкової речовини надниркових залоз щурів в ранні терміни після термічного опіку на електронномікроскопічному рівні. **Методи.** Дослідження проведено на білих щурах репродуктивного віку, яким моделювали термічний опік шкіри. Шматочки надниркових залоз обробляли по загальноприйнятій методиці, виготовляли ультратонкі зрізи, які потім досліджували та фотографували під електронним мікроскопом. **Результати.** На 1 добу спостереження цілісність стінки синусоїдних гемокапілярів не порушена. Ендотелій характеризувався локальним набряком цитоплазми. Ендотеліоцити характеризувалися відносно неушкодженою ультраструктурою ядра, проте в цитоплазмі відмічено регрес кількості органел. На 3 добу після опіку в просвіті деяких гемокапілярів реєстрували продукти аутолізу клітин, що свідчить про розвиток дистрофічних змін на тлі опіку, порушення

цілісності судин. Товщина периферійної зони ендотелію гемокапілярів мала тенденцію до зменшення, тобто відмічені ознаки регресу гідропічної дистрофії ендотеліоцитів. Навколо уражених і стазованих судин реєстрували ендокриноцити з вираженим набряком та редукцією органел, в першу чергу мітохондрій. В період 7-14 доби спостереження встановлено стан синтетичного виснаження ендокриноцитів, про що свідчить різка дегрануляція значної кількості епі- та норепінефроцитів. Мікроциркуляторні зміни морфологічно проявлялися набряком ендотелію гемокапілярів і, як наслідок, дезорганізацією периваскулярних ендокриноцитів із розвитком дистрофічних порушень. На тлі розладів регіонарної гемодинаміки та енергетичного дефіциту відмічено апоптоз окремих ендокринних клітин. Спостерігаються лише окремі елементи ендоплазматичної сітки та везикули. Ендокринна активність епінефроцитів характеризувалася різкою активацією синтезу. **Підсумок.** В мозковій речовині надниркових залоз щурів після термічного опіку розвиваються функціональні і морфологічні порушення, які призводять до дистрофії структурних компонентів залози. Функціональні зміни на рівні мікроциркуляції та секреторної активності відмічаються на 3 добу, дистрофічні процеси реєструються на 7 добу і прогресують впродовж наступних періодів спостереження.

Ключові слова: мозкова речовина надниркових залоз, термічний опік, ультраструктура, щури.