

---

**THE INFLUENCE OF HYPERTHERMIA ON THE CONTENT OF RNA IN THE  
ADRENAL GLANDS AT DIFFERENT DEVELOPMENTAL PERIODS IN THE WHITE  
RAT**

**Mire Spasov**

Faculty of Medical Science, University „Goce Delcev“- Stip, Republic of North Macedonia,  
mire.spasov@ugd.edu.mk

**Abstract:** Hyperthermia is a body condition in which the body creates or absorbs more heat than it can release, leading to an increase in body temperature. Hyperthermia can occur even in relatively not very hot ambient conditions when the temperature is only around 21°C, but as the temperature increases, so does the risk of heatstroke. Acute hyperthermia occurs in a short time interval, while subacute occurs during exposure to high ambient temperature for a longer period of time or during longer-term increased heat production in the body. The subject of our interest was the influence of high ambient temperature in different developmental periods in the white laboratory rat and its effect on the content of RNA in the adrenal tissue. We performed the tests on white rats that were divided into five experimental groups; a control group, which during the period of pregnancy, lactation and post-lactation up to the fiftieth day were at room temperature, a second group exposed daily for two hours to 40°C during pregnancy, and after hatching were at room temperature, a third group which only during lactation was two hours a day at 40°C, a fourth group two hours a day at 40°C in the post-lactation period and a fifth group exposed two hours a day at 40°C from birth to the fiftieth day. The working procedure was according to the protocol, and all animals were sacrificed at the end of the experiment. We performed the determination of RNA content in tissue according to Munro's method. The results show that high external temperature has a negative impact on experimental animals in all developmental stages, both in the ontogenetic and postnatal periods. Studies have confirmed the teratogenic potential of hyperthermia on them, regardless of what developmental period they are in. The constant increase in the mass of the adrenal glands is also the result of the continuous growth of the organism, but the dynamics of the growth and development of the adrenal glands in the different experimental groups shows a difference, depending on the developmental period in which they were exposed to high external temperature. The exception is animals exposed during pregnancy, where there is almost no effect of exposure. Data indicate that the adrenal mass during fetal development is much more developed, especially the cortex, compared to the rest of the glands and organs of the fetus. We can conclude that the most pronounced stimulating effect in the development of the adrenal gland is in animals that were continuously exposed to 40°C, from pregnancy to the fiftieth day. The increase in the mass of the adrenal glands is highly significant in the group of animals that received this treatment from birth to the fiftieth day of life. In order to see the change in the mass of the adrenal glands in relation to the growth of the organism, we also calculated the relative mass of the adrenal glands and the relative content of RNA in them. The obtained results are in accordance with the data of other authors. The values for the mass of the adrenal glands confirm the fact that under conditions of stress, the mass of this gland increases many times. This condition is probably due to its intensified function under stress, since the cells of the cortex of the glandulae suprarenales are target cells for ACTH in response to stress.

**Keywords:** hyperthermia, adrenal glands, white rat, RNA, immunity.

**ВЛИЈАНИЕТО НА ХИПЕРТЕРМИЈАТА ВРЗ СОДРЖИНАТА НА RNA ВО  
НАДБУБРЕЖНИТЕ ЖЛЕЗДИ ПРИ РАЗЛИЧЕН РАЗВОЕН ПЕРИОД КАЈ БЕЛИОТ  
СТАОРЕЦ**

**Мире Спасов**

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“- Штип, Република Северна  
Македонија, mire.spasov@ugd.edu.mk

**Резиме:** Хипертермија е состојба на организмот при која телото создава или апсорбира повеќе топлина отколку што може да ослободи, што доведува до зголемување на телесната температура. Хипертермијата може да се случи дури и во релативно не многу топли амбиентални услови кога температурата е само околу 21°C, но како се зголемува температурата, се зголемува и ризикот од топлотен удар. Акутната хипертермија настанува во краток временски интервал, додека субакутната настанува при изложување на висока амбиентална температура во подолг временски период или при подолготрајно зголемена продукција на

топлина во телото. Предмет на наш интерес беше влијанието на високата амбиентална температура во различните развојни периоди кај белиот лабораториски стаорец и нејзиниот ефект врз содржината на RNA во адреналното ткиво. Испитувањата ги вршевме врз бели стаорци кои беа поделени на пет експериментални групи; група за контрола, која во периодот на бременост, лактација и постлактација до педесетиот ден беа на собна температура, втора група дневно експонирана по два часа на 40°C во бременост, а после окотувањето беа на собна температура, трета група која само во текот на лактацијата дневно беше по два часа на 40°C, четврта група по два часа на ден на 40°C во периодот после лактацијата и петта група експонирана по два часа дневно на 40°C од раѓањето до педесетиот ден. Процедурата за работа беше според протоколот, а сите животни на крајот од експериментот беа жртвувани. Определувањето на содржината на RNA во ткиво го вршевме по методот на Munro. Резултатите покажуваат дека високата надворешна температура има негативно влијание врз експерименталните животни во сите развојни стадиуми, како во онтогенетскиот, така и во постнаталниот период. Испитувањата го потврдија тератогениот потенцијал на хипертермијата врз нив, независно во кој развоен период се тие. Постојаното зголемување на масата кај надбубрежните жлезди е резултат и на континуираниот раст на организмот, но динамиката на растот и развојот на надбубрежните жлезди кај различните експериментални групи бележи разлика, во зависност од развојниот период во кој биле експонирани на висока надворешна температура. Исклучок се експонираните животни за време на бременоста каде речиси и да нема ефект од експозицијата. Податоците наведуваат дека адреналната маса во тек на феталниот развој е многу повеќе развиена, посебно кортексот во споредба со останатите жлезди и органи на фетусот. Можеме да заклучиме дека најизразен стимулирачки ефект во развојот на надбубрежната жлезда е кај животните кои биле континуирано експонирани на 40°C, од бременоста до педесетиот ден. Високо сигнификантно е зголемувањето на масата на надбубрежните жлезди и кај групата животни која на овој третман е од раѓањето до педесетиот ден од животот. За да се види каква е промената на масата на надбубрежните жлезди во однос на растењето на организмот ја пресметавме и релативната маса на адреналките и релативната содржина на RNA во истите. Добиените резултати се во согласност со податоците од други автори. Вредностите за масата на надбубрежните жлезди, го потврдуваат фактот дека во услови на стрес, масата на оваа жлезда многукратно се зголемува. Ваквата состојба веројатно се должи на нејзината интензивизирана функција при стрес, бидејќи клетките од кортексот на glandulae suprarenales се мета клетки за АСТН како одговор на стрес.

**Клучни зборови:** хипертермија, надбубрежни жлезди, бел стаорец, RNA, imunitet.

## 1. ВОВЕД

Хипертермијата на организмот е состојба на зголемена внатрешна температура. Настанува кога во телото се создава вишок на топлина или кога високата надворешна температура доведува до термогенетски замор и покачување на телесната температура. Освен високата надворешна температура, која ја намалува способноста на организмот да губи топлина по пат на радијација, предиспонирачки фактори за настанување на хипертермијата е и високата релативна влажност на воздухот, поради која е намалено губењето на топлината со евапорација, потоа физичката активност, дебелината, возраста, намалената способност за адаптација и аклиматизација, дехидратацијата, дијабетесот, хипертиреозата, некои лекови, алкохол, затворен простор и друго. На пример, само во 2010 година 49 деца на возраст од 2 до 6 години починале од хипертермија откако биле оставени во затворени автомобили. Прегревањето на телото настанува во две форми, акутна и субакутна. Акутната хипертермија настанува во краток временски интервал, додека субакутната настанува при изложување на висока амбиентална температура во подолг временски период или при подолготрајна висока продукција на топлина во организмот. Пациентите со тешка клиничка слика на хипертермија имаат карактеристично плитко и тешко дишење, грчеви на скелетната мускулатура и неконтактибилност. Предмет на наш интерес во овој труд беше влијанието на високата амбиентална температура во различните развојни периоди кај белиот лабораториски стаорец. Резултатите покажуваат дека таа има негативно влијание во сите развојни стадиуми, како во онтогенетскиот, така и во постнаталниот период. Испитувањата го потврдуваат тератогениот потенцијал на хипертермијата врз експерименталните животни, независно во кој развоен период е белиот стаорец. Постојаното зголемување на масата кај надбубрежните жлезди се должи и на континуираниот раст и развој на организмот, но динамиката на растот и развојот на надбубрежните жлезди кај различните експериментални групи е различен, во зависност од развојниот период во кој биле експонирани на висока надворешна температура, но сепак видно отстапуваат во однос на контролата. Испитувањата покажале дека адреналната маса во тек на феталниот развој е многу повеќе развиена во споредба со останатите жлезди и органи на фетусот, посебно кортексот. Стимулирачкиот ефект во развојот на надбубрежната жлезда е изразен кај животните кои биле експонирани на 40°C, од бременоста до педесетиот ден на животот. Високо сигнификантно е зголемувањето на масата на

надбубрежните жлезди кај групата животни која на овој третман е од раѓањето до педесетиот ден од животот. За да се види каква е промената на масата на надбубрежните жлезди во однос на растењето на организмот ја пресметавме и релативната маса на адреналките и релативната содржина на RNA во истите. Добиените резултати се во согласност со некои исти такви досегашни сознанија. Резултати за масата на надбубрежните жлезди, го потврдуваат констатираниот факт дека во услови на стрес, масата на оваа жлезда многукратно се зголемува. Ваквата состојба веројатно се должи на нејзината интензивизирана функција во услови на стрес, бидејќи клетките на кортексот се мета клетки за АСТН како еден од одговорните хормони при стрес.

## 2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Испитувањата ги вршевме врз бели Wistar стаорци кои беа поделени на пет експериментални групи и тоа:

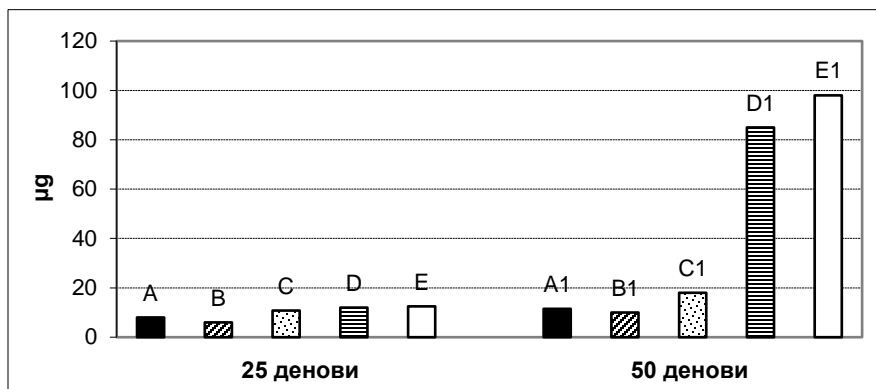
- контролна група, која во периодот на бременост, лактација и постлактација до педесетиот ден престојуваше на собна температура,
- втора група дневно експонирана по два часа на 40°C во бременост, а после окотувањето истите беа на собна температура,
- третата група дневно беше експонирана по два часа на 40°C само во текот на лактацијата,
- четвртата група беа експонирани по два часа на ден на 40°C во периодот после лактацијата и
- петтата група експонирана по два часа дневно на 40°C од раѓањето до педесетиот ден.

Сите животни на крајот од експериментот беа жртвувани. Процедурата за работа беше според протоколот. Определувањето на содржината на RNA во ткиво се вршеше по методот на Munro. После жртвувањето на животното, најбрзо што може, се зема парче од ткивото и се става во ладна дестилирана вода во однос 1:20. Парчето се мацерира до потполна хомогенизација на ткивото. Од хомогенатот се земаат 5 ml, што одговара на околу 250 mg свежа маса на ткиво во епрувета за центрифугирање од 15 ml и се додава 2,5 ml мраз-ладен 0,6N раствор на HClO<sub>4</sub>, внимателно се промешува и стои 10 минути на 0°C, па се центрифугира, супернатантната фракција, во киселина растворлива фракција се собира, а преципитатот се исперува уште два пати со мраз-ладен 0,2N HClO<sub>4</sub>. После центрифугирањето, вишокот преку филтер-хартија, се префрла во одмерна колба, во киселина растворливата фракција. На преципитатот се додава 4 ml 0,3N KOH, содржината се промешува и се остава да се инкубира 60 минути на 37°C во водена или воздушна бања. После инкубацијата на целата содржина се додаваат 2,5 ml 1,2N HClO<sub>4</sub> и се остава да стои 10 минути на ладно. Содржината се центрифугира, по што DNA и протеините преципитираат, додека RNA останува во супернатантот. Супернатантот со RNA се собира, а преципитатот се измива уште два пати со по 5 ml 0,2N раствор на HClO<sub>4</sub>. Измениот супернатант се собира заедно со претходно одвоената RNA фракција во која, потоа, се додава уште 10 ml од 0,6N раствор на HClO<sub>4</sub> и во одмерна колба до 100ml се дополнувана со дестилирана вода. На овој начин се добива раствор од рибонуклеотиди во 0,1N раствор на HClO<sub>4</sub>. Со мерење на апсорпцијата на 260nm на рибонуклеотидниот раствор може да се пресмета содржината на RNA, ако се знае дека екстинција од 1.000 на 260nm одговара на 32µg RNA на 1ml. Добиените вредности за концентрацијата на RNA во ткивото ги пресметувавме како mg RNA/100 mg ткиво (mg%), или како вкупна содржина на RNA во органот. Добиените поединечни вредности на резултатите ги сведувавме на средни вредности, по соодветна формула, пресметувајќи ја и стандардната грешка. Сигнификантноста ја одредувавме со Student-овиот t-test, при што, за споредување на групи со ист број на животни користевме соодветната формула, додека при споредување на групи со различен број на животни користевме друга формула. Отчитувањето се врши во специјална табела каде вредностите помали од p<.050 се сметаат како сигнификантни.

## 3. РЕЗУЛТАТИ

Добиените резултати за ефектот од интермитентното експонирање на висока надворешна температура од 40°C, врз содржината на RNA во најраните развојни стадиуми кај белиот стаорец во надбубрежните жлезди се прикажани на граfiците подолу. Апсолутните вредности на оваа нуклеинска киселина, добиени на крајот од лактацискиот период, односно на 20иот ден од животот, и на крајот од експериментот на педесетиот ден, покажуваат дека експонирањето на 40°C во текот на бременоста е речиси без ефект врз содржината на RNA во надбубрежните жлезди кај породот (Сл.1,А:В,n.s.). Високата амбиентална температура во текот на лактациониот период предизвикува сигнификантно зголемување на RNA во овие жлезди, кое се манифестира како за време на третманот, така и во периодот на опоравување до 50иот ден. (Сл.1,А:С,p<.001). Слични ефекти од хипертермичкиот стрес се регистрирани и во постнаталниот период кај групата на животни кои се третирани од бременоста или од раѓањето до крајот на експерименталниот период. Промените кои ги предизвикува континуираниот хипертермички стрес во текот на целиот

експеримент се многу поизразени. Тие се манифестираат со високо сигнификантно зголемување на содржината на RNA во надбубрежните жлезди на овие животни во споредба со контролата, особено на педесетиот ден од животот (Сл.1, A<sub>1</sub>:D<sub>1</sub>; A<sub>1</sub>:E<sub>1</sub>, p < .001).



Слика бр. 1. Ефектот на висока амбиентална температура врз содржината на RNA во адrenalките од породот на 25иот и 50иот ден.

A/A1 - контролна група, континуирано на собна температура од бременост до 50-тиот ден.

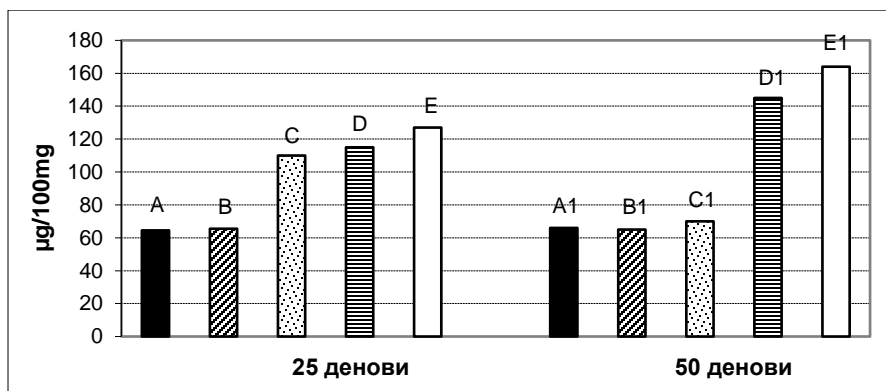
B/B1 - пород од мајките кои само во текот на бременоста се експонирани на 40°C.

C/C1 - пород кој во тек на лактација се експонирани на 40°C, заедно со своите мајки.

D/D1 - пород кои само после лактацијата се експонирани на 40°C, без мајки.

E/E1 - пород кој континуирано од раѓањето до 50иот ден престојува на 40°C

Резултатите за релативната содржина на RNA во надбубрежните жлезди се прикажани на сликата бр. 2. Истите ги отсликуваат добиените вредности за апсолутната содржина на RNA, при поставените експериментални услови.



Слика бр. 2. Ефектот на висока амбиентална температура врз релативната содржина на RNA во адrenalките од породот на 25иот и на 50иот ден. (Легендата е иста како на слика 1).

#### 4. ДИСКУСИЈА

Хипертермијата е состојба на зголемена телесна температура над горната физиолошка граница од околу 36,5 до 37°C. Артифициелната хипертермија е покачена телесна температура предизвикана од хемиски и физички методи имплементирани при лечење. При услови на зголемена амбиентална температура има и зголемување на телесната температура како резултат на дисбалансот од загревањето на организмот и неможноста за оддавање на вишокот топлина од телото. При оваа состојба нервниот и ендокриниот систем имаат посебна важност, особено хормоните излачени од некои ендокрини жлезди. Рибонуклеинската киселина претставува важна и незаменлива алка во процесите кои условуваат синтеза на протеините во клетките. Затоа во нашиот експеримент, како една од поставените цели беше да ја испитаме и содржината на RNA кај надбубрежните жлезди во експериментални хипертермички услови. Синтезата на истата се врши главно во нуклеолусот, а распоредот на рибонуклеотидите зависи од структурата на еден од

полинуклеотидните синцири на DNA, кој служи како матрица за синтеза при процесот на транскрипцијата. Добиените резултати за релативната содржина на RNA во надбубрежните жлезди, наведуваат на заклучок дека се скоро исти со оние кои се добиени при апсолутната содржина на оваа нуклеинска киселина, односно се бележи сигнификантно зголемување на нејзината содржина во ткивото од надбубрежните жлезди. Ефектот се гледа и преку високо сигнификантното зголемување на содржината на RNA во надбубрежните жлезди кај сите групи на животни, во споредба со контролата, особено на педесетиот ден од животот ( $A_1:D_1;A_1:E_1,p<.001$ ). Зголемената содржина на RNA во надбубрежните жлезди во услови на хипертермичен стрес, веројатно е резултат на зголемена активност при хипертермички услови, за што постојат голем број на литературни податоци. Имено, во услови на стрес, меѓудругото и при хипертермичен стрес, се зголемува концентрацијата на АСТН, кој делува врз кората на надбубрежните жлезди, од каде се синтетизираат и излучуваат гликокортикоидите. За континуирана и нормална синтеза на овие хормони, неопходна е постојана и зголемена синтеза на RNA.

## 5. ЗАКЛУЧОЦИ

Од испитувањата и резултатите кои се добиени после интермитентното експонирање на надворешна температура од 40°C, во различни развојни стадиуми кај белиот стаорец врз апсолутната и релативната концентрација на RNA во адреналките, можеме да констатираме дека:

- високата надворешна температура во тек на бременоста е со мал ефект врз нивото на RNA во адреналките,
- експозицијата на 40°C во тек на лактацијата доведува до зголемување на масата на адреналките, но и на содржина на RNA во нив, како и во сите фази од експозицијата,
- во периодот на опоравување состојбата скоро да се враќа на нивото како кај контролната група.

## ЛИТЕРАТУРА

- Aehlert, B.R.N. (1998). EMT Basic, Williams and Wil-kins pub.
- Bertelsen, B.E., Kellmann, R., Viste, K., et al. (2020). An ultrasensitive routine LC-MS/MS method for estradiol and estrone in the clinically relevant sub-picomolar range. *J Endocr Soc.* 4 (6):bvaa047.
- Bruserud, I.S., Roelants, M., Oehme, N.H.B., et al. (2020). References for ultrasound staging of breast maturation, tanner breast staging, pubic hair, and menarche in Norwegian girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 105 (5):1599-607.
- Carlson, L., Flores Poccia, V., Sun, B.Z., et al. (2019). Early breast development in overweight girls: does estrogen made by adipose tissue play a role?. *Int J Obes (Lond).* 43 (10). 1978-1987.
- Crosby, L.A., Lewallen, D.G. (1995). *Emergency Care and Transportation of the Sick and Injured*, 6th ed. Rosemont II, American Academy of Orthopedic Surgeons.
- Dimovska, J., Gjorgoski, K.I., Stojkovski, V. (1991). Влјанието на акутната експозиција на висока надворешна температура и рестриктивната исхрана врз содржината на DNA и протеините во хепарот, слезената и тимусот кај белиот лабораториски стаорец. Год. зб. Биологија 43: 125-135.
- Eckert-Lind, C., Busch, A.S., Petersen, J.H., et al. (2020). Worldwide secular trends in age at pubertal onset assessed by breast development among girls: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 174 (4): e195881.
- Fassler, C.S., Gutmark-Little, I., Xie, C., et al. (2019). Sex hormone phenotypes in young girls and the age at pubertal milestones. *J Clin Endocrinol Metab.* 104 (12): 6079-6089.
- Frederiksen, H., Johannsen, T.H., Andersen, S.E. (2020). Sex-specific estrogen levels and reference intervals from infancy to late adulthood determined by LC-MS/MS. *J Clin Endocrinol Metab.* 105 (3):754-768.
- Gormasova, N. L. (1967). Плацентарное кровообращение. Л. 243 с.
- Guyton, C.A., Hall, J.E. (2008). *Medicinska fiziologija, jedanaesto izdanje*, Beograd, Savremena Administracija.
- Harri, Lindholm. (2014). Article ID: ebm00377 (018.063) ©. Duodecim Medical. Publications Ltd.
- Hafen, B.Q., Karren, K.J., Mestovich, J.J. (2020). *Prehospital Emergency Care*, 5th ed.
- Hendrix, A.G., Stone, G.W., Matayoshi, K. (1979). Teratogenic effects of hyperthermia in the bonnet monkey (*Macaca radiata*). *Teratology*, 19: 177-182.
- Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. (2021). Leksikografski zavod Miroslav Krleža.*
- Lambert, E., Lammerant, J., Kolanowski, J. (1983). The stimulatory effect of corticotropin on cortisol biosynthetic pathway in guinea-pig adrenocortical cells. *J. Steroid. Biochem.*, 18: 731.
- Lasarev, M.R., Bialk, E.R., Allen, D.B., Held, P.K. (2020). Application of principal component analysis to newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 105 (8):dgaa371. doi:10.1210/clinem/dgaa371.

- Nazarova, L. A. (1991): Влияние экспериментальной лихородки у самок кролика на температурный гемостаз их плодов. *Арх. Анат. Хистол. Ембриол.* 77: 3-10.
- Napier, C., Pearce, S.H. (2020). „Current and emerging therapies for Addison's disease“. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity.* 21 (3): 147–53
- Pugacev, M.K. (1977). К вопросу об утолщении корь надпочечника при остром тепловом стресса. *Арх. Анат.* 5: 73.
- Pudney, J., Sweat, P.R., Vinson, G.P., Whitehous, B.J. (1981). Morphological correlates of hormone secretion in the rat adrenal cortex and the role of filopodia. *Anat. Rec.*, 201, 537.
- Petrova, O.P., Ivanov, K.P. (1991). Общая энергетика и терморегуляция у гомеотермного организма в онтогенезе. *Физиол. журн.* 4: 1-15.
- Wang, X., Jin, Z.Y., Xue, H.D., Liu, W., Sun, H., Chen, Y. & Xu, K. (2023). Evaluation of normal adrenal gland volume by 64-Slice CT. *Chin. Med. Sci. J.*, 27(4):220-4.