

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЛОКАЛЬНОМ ТЕРМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ

ДЗЕВУЛЬСКАЯ И.В., КОВАЛЬЧУК А.И., МАЛИКОВ А.В.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE RAT ADRENAL CORTEX AFTER EXPERIMENTAL LOCAL THERMAL BURNS

DZEVUL'SKAYA I.V., KOVALCHUK A.I., MALIKOV A.V.

Кафедра анатомии человека (зав. кафедрой – профессор В.Г. Черкасов) Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев.

Изучены морфологические изменения коры надпочечников крыс после локального термического ожога. Показано, что процессы, лежащие в основе патогенеза полиорганной недостаточности, вызваны нарушением регионарной гемодинамики и микроциркуляции в органах после ожога. Гистологические изменения в коре надпочечников однонаправленны, лишь на 30 сутки после травмы отмечены восстановительные процессы.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, корковое вещество надпочечников, электронная и световая микроскопия

Izucheny morfologicheskie izmeneniya kory nadpochechnikov krys posle lokal'nogo termicheskogo ozhoga. Pokazano, chto protsessy, lezhashhie v osnove patogeneza poliorgannoj nedostatochnosti, vyzvany narusheniem regionarnoj gemodinamiki i mikrotsirkulyatsii v organakh posle ozhoga. Gistologicheskie izmeneniya v kore nadpochechnikov odnonapravlenny, lish' na 30 sutki posle travmy otmecheny vosstanovitel'nye protsessy.

Klyuchevye slova: nadpochechnik, ozhog, gistologiya.

Morphological changes in the rat adrenal cortex after local thermal burn were studied. It is shown that the processes underlying the pathogenesis of multiple organ failure caused by a disruption of regional hemodynamics and microcirculation in the organs after the burn. Histological changes in the adrenal cortex are unidirectional, only in 30 days after injury marked reduction processes.

Key words: burn disease, adrenal cortex, electronic and light microscopy.

Введение. Исследование изменений в организме при термической травме, осложнений ожоговой болезни и их лечения являются одними из самых актуальных вопросов современной трав-

матологии. Ожоги не только являются причиной комбинированных травм, но и имеют тенденцию к росту в виде бытового и производственного травматизма [4, 10, 15].

Термические поражения площадью более 10-15% кожи и глубиной более 5-6% приводят к развитию ожоговой болезни [7]. В патогенезе данного состояния выделяют четыре стадии: ожоговый шок (от нескольких часов до 3 суток), острую ожоговую токсемию (с 3 по 12 суток), стадию септикотоксемии (с 12 суток до восстановления кожных покровов) и стадию реконвалесценции [1, 3]. В стадии ожогового шока развиваются реакции иммунной и эндокринной систем. В свою очередь нейроэндокринные расстройства реализуются через нарушение соотношения гормонов стресса. Дальнейшие изменения гемодинамики, реологических свойств крови и микроциркуляции приводят к развитию тканевой гипоксии и ацидоза в железах эндокринной секреции [11, 12, 16]. Эти изменения вызывает образование в зонах некроза и стаза высоких концентраций токсичных метаболитов и противовоспалительных цитокинов [19].

Однако в современной морфологии и патофизиологии большинство исследований нацелены на изучение эндокринной дисфункции в условиях стресса, интоксикации и сопутствующих органических заболеваний, а структурно-функциональные изменения надпочечников при термических ожогах остаются недостаточно изученными [5]. Особенно мало исследований, посвященных периодизации развития ожоговой травмы, что особо актуально для фармакологов и патофизиологов в плане доклинического испытания инновационных лекарственных средств [14, 18].

Цель исследования - изучение морфологических изменений коры надпочечников крыс в разные периоды термического ожога.

Материал и методы исследования. Экспериментальное исследование проведено на 30 белых крысах-самцах в возрасте 3 месяцев с массой тела 160-180 г. Содержание и манипуляции с животными проводили в соответствии с правилами биоэтики, принятых «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых

для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

Ожог (после соответствующей премедикации пропофоловым наркозом в дозе 60 мг/кг в/в) моделировали путем приложения к боковым поверхностям туловища животных четырех медных пластинок (по 2 пластинки с каждой стороны), которые предварительно держали в течение шести минут в воде с постоянной температурой 100°C. Общая площадь ожога у крыс указанной массы составляла 21-23% при экспозиции 10 сек., что является достаточным для формирования ожога II степени - дермального поверхностного ожога (бывшая IIIA степень) и развития шокового состояния средней степени тяжести.

Через 1, 3, 7, 14, 21 и 30 суток после воспроизведения локального термического ожога животным вводили летальную дозу наркоза, после чего был взят морфологический материал (правый и левый надпочечники) для гистологического и ультраструктурного исследования. После стандартной проводки в спиртах и заливки в парафин изготавливали срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, гематоксилином и пикрофуксином.

Для электронномикроскопического исследования фрагменты коры надпочечников крыс фиксировали 2,5 % раствором глютарового альдегида на фосфатном буфере с дофиксацией в 1% забуференом растворе OsO₄. Обезвоживание проводили в спиртах возрастающей концентрации (70%, 80%, 90%, 100%) и ацетоне. Пропитывали и заливали в смесь эпон-аралдит, согласно общепринятой методике. Для прицельной ориентации полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим, после чего на ультратомах LKB III (Швеция) и Reihart (Австрия) изготавливали ультратонкие срезы. Контрастирование проводили 2% раствором уранилацетата и цитратом свинца. Препараты исследовали и фотографировали под электронным микроскопом ПЭМ-125К при увеличениях в 6-20 тысяч.

Морфометрическое исследование проведено с использованием микроскопа Olympus BX51 (Япония). Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием стандартных методов оценки результатов в пакетном редакторе Excel. Различия между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, а достоверными считались результаты с уровнем

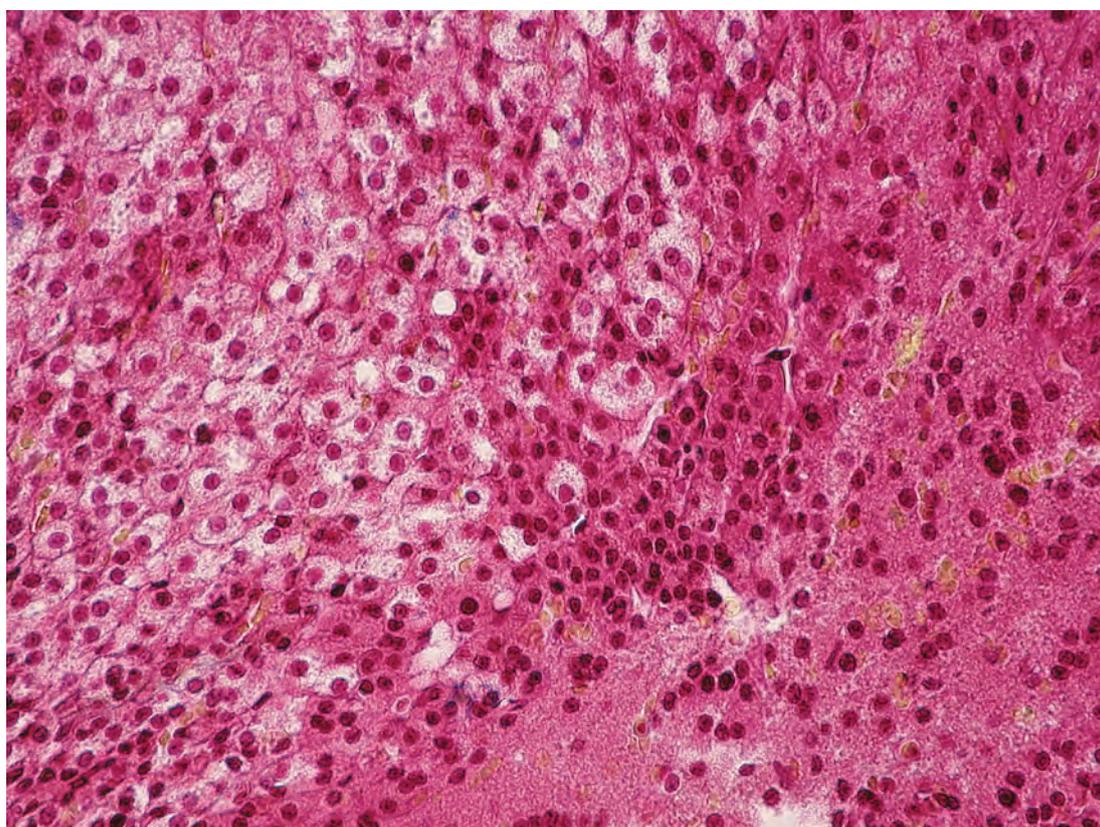


Рис. 1. Надпочечник крыс через 3 суток после ожога. Диапедез эритроцитов в ткань сетчатой зоны, эритроцитарный стаз, отек адренокортикоцитов. Окарска гематоксилином и пикрофуксином. Ув. 200.

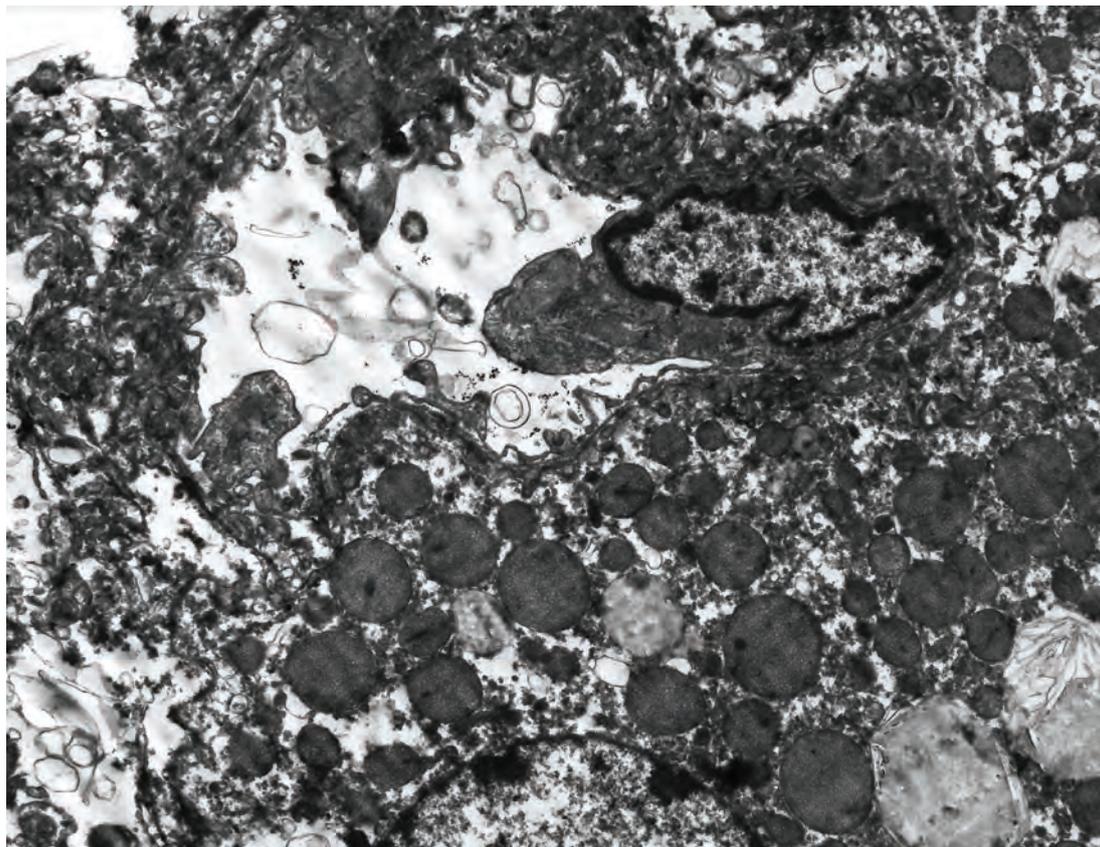


Рис. 2. Гемокапилляр коры надпочечника через 3 суток после ожога. Отек цитоплазмы эндокриноцитов, дегрануляция клеток и редукция органелл. Электронограмма. Ув. 8200.

значимости более 95% ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. При исследовании коры надпочечников установлены резко выраженные морфологические изменения со стороны сосудов и окружающей их ткани коры надпочечника в период 3-30 суток (рис. 1-3). В первые трое суток после ожога изменения заключались в развитии стрессовой реакции адренкортикоцитов. Наблюдалось лишь очаговое увеличение просвета гемокапилляров, главным образом пучковой зоны коры надпочечника. Ширина коры увеличилась на 30,5%, ширина клубочковой, пучковой и сетчатой соответственно на 28,3%, 25,2% и 42,5% (табл. 1). В этот период наблюдения отмечалось резкое полнокровие внутриорганных микрососудов с явлениями эритроцитарного стаза. Площадь поперечного сечения синусоидных гемокапилляров коры надпочечников достоверно возрастала по сравнению с показателями интактных животных в среднем на 17,3%, 21,6 и 20,3% соответственно изучаемым структурно-функциональным зонам (табл. 2). Нарушение микроциркуляции повлекли развитие дистрофических изменений в адренкортикоцитах, что особенно ярко отмечено в пучковой зоне

в виде диффузного отека адренкортикоцитов. В сетчатой зоне регистрировали микрокровоизлияния с периваскулярным отеком (рис. 1), особенно в участках, граничащих с мозговым веществом надпочечников. На уровне ультраструктуры установлено резкое увеличение интерстициального пространства, некроз адренкортикоцитов и развитие периваскулярного отека (рис. 2).

На 7-14-е сутки ожога масса надпочечника была больше на 14,2%, чем у интактных крыс, ширина коры - на 54,5% ($p < 0,05$). Ширина клубочковой зоны увеличилась на 34,7%, пучковой - 17,6% и сетчатой - 15,1% ($p < 0,05$). Установлены изменения, в первую очередь, связаны с развитием дистрофических процессов в пучковой зоне и развитием отека в клубочковой зоне.

На 21-30-е сутки отмечено одновременное прогрессирование дистрофических нарушений и активации регенеративных процессов в сетчатой зоне коры надпочечника. Отмечена положительная динамика морфометрических параметров железы (табл. 1, 2), очаговая организация в межточной с клубочковой зонах, что морфологически определялось в виде увеличения плотности стромальных элементов надпочечников. Структурная

Таблица 1.

Морфометрические параметры коры надпочечников крыс при ожоговой травме

№	Показатель	Контроль	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	30 сутки
Ширина коры, мкм								
1	Ширина коры	696,5± 20,4	828,6± 34,2*	909,3± 27,5*	1076,2± 17,8*	1067,3± 28,1*	967,5± 21,3*	595,4± 27,0*
Ширина структурно-функциональных зон коры, мкм								
1	Клубочковая зона	60,8± 2,5	73,1± 6,9*	78,3± 2,4*	105,5± 4,6*	89,0± 4,2*	72,1± 4,0*	46,2± 2,9*
2	Пучковая зона	435,9± 14,6	525,1± 26,5*	545,0± 16,3*	641,3± 8,7*	646,1± 19,2*	590,8± 12,4*	376,1± 20,7*
3	Сетчатая зона	199,6± 12,2	230,3± 10,0*	285,9± 16,1*	329,4± 13,8*	332,2± 14,7*	304,5± 22,3*	190,0± 15,2*
Соотношение зон коры - клубочковая:пучковая:сетчатая зона								
1	Среднее соотношение	1:7,1:3,2	1:7,1:3,1	1:6,9:3,6	1:6,0:3,1	1:6,9:4,4	1:8,1:4,2	1:8,1:4,1

Условные обозначения: * - достоверно по отношению к показателям контрольной (интактной) группы крыс ($p < 0,05$).

Таблица 2.

Морфометрические параметры коры надпочечников крыс при ожоговой травме

№	Показатель	Контроль	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки	21 сутки	30 сутки
Площадь ядер адренокортикоцитов, мкм ²								
1	Клубочковая зона	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	Пучковая зона	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	Сетчатая зона	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
Площадь тел адренокортикоцитов, мкм ²								
1	Клубочковая зона	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	Пучковая зона	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	Сетчатая зона	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*
Площадь поперечного сечения синусоидных гемокапилляров, мкм ²								
1	Клубочковая зона	93,5± 6,7	100,3± 7,1	110,3± 9,7*	170,9± 16,3*	175,0±8,0*	149,1± 11,4*	140,7± 15,2*
2	Пучковая зона	96,2± 8,5	101,2± 6,5	117,2± 12,2*	125,8± 10,8*	129,7± 7,1*	109,4± 7,7*	101,3± 10,0
3	Сетчатая зона	113,1± 8,7	114,9± 7,8	136,0± 7,7*	255,7± 44,1*	235,6± 19,8*	205,3± 13,2*	203,1± 44,7*

Условные обозначения: * - достоверно по отношению к показателям контрольной (интактной) группы крыс ($p < 0,05$).

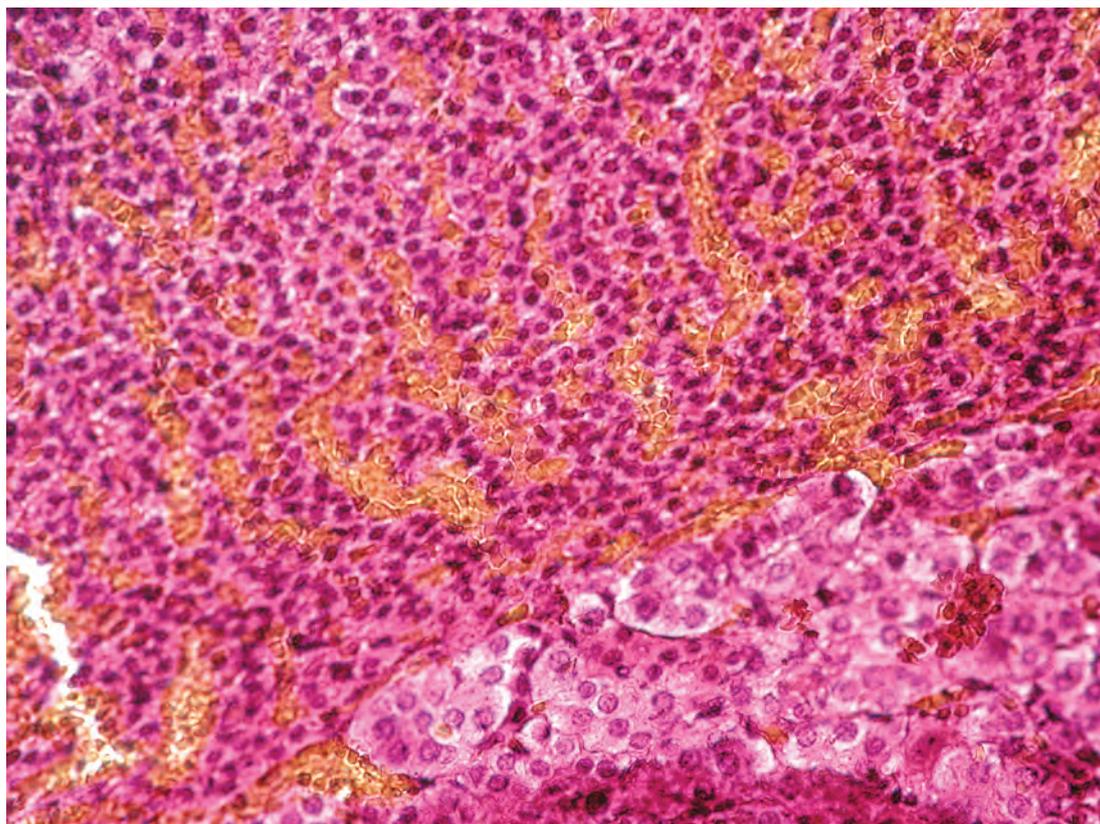


Рис. 3. Надпочечник крыс на 30 сутки после ожога. Стаз гемокапилляров сетчатой зоны, периваскулярный отек. Окраска гематоксилином и пикрофуксином. Ув. 200.

целостность коры надпочечников в определенной степени восстанавливалась за счет пролиферативных процессов, что достаточно четко прослеживается на уровне клубочковой зоны. На ультраструктурном уровне отмечено тенденцию к увеличению синтеза и накопления секреторных гранул и органелл белок-синтетической системы (полисом, митохондрий). Однако морфометрические показатели коры надпочечников были меньше, чем показатели в интактной группе крыс (ширина коры уменьшилась на 14,4%, $p < 0,05$), что вероятно связано с истощением функционирования гипоталамо-адреналовой системы.

Таким образом, изучение восстановления организма после ожоговой травмы, в том числе комбинированной, является актуальной проблемой. Термические ожоги характеризуются развитием в организме развития гиповолемии вследствие выхода плазмы из сосудистого русла и плазмопотери через ожоговые раны [2, 13]. Гиповолемия становится причиной гемодинамических расстройств, выражающихся в падении сердечного выброса, повышении общего периферического сопротивления сосудов, снижении общего системного давления, обуславливающих дальнейшее уменьшение регионарного кровотока

в почках, печени, поджелудочной железе, а также надпочечниках [9, 17]. Патогенез полиорганной недостаточности, вызванной гиповолемией и интоксикацией продуктами распада термически пораженных тканей, остается окончательно не изученным [8].

Проведенное экспериментальное исследование подтвердило стадийность течения структурно-функциональных изменений коры надпочечников после ожога, которые включают нарушения микроциркуляции с последующим развитием дистрофических изменений адренкортикоцитов. Увеличение массы надпочечников в течение 3-14 суток после термического ожога происходит за счет одновременного развития стрессовой активации и отека ткани железы, что впоследствии вызывает дистрофические процессы в адренкортикоцитах. Регресс установленных морфологических нарушений наблюдается лишь на 30 сутки, что в некоторых случаях сопровождается регенерационными процессами со стороны адренкортикоцитов клубочковой зоны. Выявленные изменения морфологического состояния надпочечников свидетельствуют о сохранении достаточно высокого уровня функциональной активности коркового вещества после ожога.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ожоговая инфекция. Этиология, патогенез, профилактика и лечение: монография / А.А. Алексеев [и др.] - Вузовская книга, 2010. - 416 с.
2. Афонин А. Н. Тяжелая сочетанная травма и её осложнения. Современное состояние проблемы / А.Н. Афонин // Медицина неотложных состояний. - 2006. - №1(2). - С. 50-53.
3. Алексеев А.А., Крутиков М.Г. Местное лечение ожоговых ран / А.А. Алексеев, М.Г. Крутиков // Рос. мед. журн. 2000. - №5. - С. 51-53.
4. Атясов Н.И. Система активного лечения тяжело-обожженных (к 40-летию метода) / Н.И. Атясов // Вестник хирургии. - 2002. - № 3. - С. 53-58.
5. Базелюк Л.Т. Оценка цитоморфологических изменений в эндокринных органах экспериментальных животных при комплексном воздействии угольно-природной пыли и физической нагрузки / Л.Т. Базелюк // Токсикологический вестник. - 2006. - №1. - С. 27-30.
6. Прогнозирование гнойно-инфекционных осложнений у больных с термической травмой / Т.Н. Обыденникова [и др.] // Тихоокеан. мед. журн. - 2003. - № 4. - С. 68-70.
7. Современные аспекты активного хирургического лечения пациентов с термической травмой / В.В. Усов [и др.]. - Владивосток: Медицина ДВ, 2005. - 167 с.
8. Al-Kaisy A. A., Sahib A.S. Role of the antioxidant effect of vitamin E with vitamin C and topical povidone-iodine in the treatment of burns / A.A. Al-Kaisy, A.S. Sahib // Ann. Burns Fire Disasters. - 2005. - Vol. 18, № 1. - p. 19-30.
9. The implementation and evaluation of therapeutic touch in burn patients: an instructive experience of conducting a scientific study within a non-academic nursing setting / M. Busch [et al] // Patient Educ Couns. - 2012. - Vol. 89, № 3. - P. 439-46.
10. Measurement of tissue cortisol levels in patients with severe burns: a preliminary investigation / J. Cohen [et al] // Crit Care. - 2009. - Vol. 13, № 6. - P. 189.
11. Regulation of glucocorticoid sensitivity in thymocytes from burn-injured mice / M. D'Elia [et al] // Am J Physiol Endocrinol Metab. - 2009. - Vol. 296, № 1. - P. 97-104.
12. Cortisol in severely burned patients: investigations on disturbance of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis / P.Ch. Fuchs // Shock. - 2007. - Vol. 28, № 6. - P. 662-667.
13. Sclerosis therapy of bronchial artery attenuates acute lung injury induced by burn and smoke inhalation injury in ovine model / A. Hamahata // Burns. - 2010. - Vol. 36, № 7. - P. 1042-1049.
14. Phenylephrine tumescence in split-thickness skin graft donor sites in surgery for burn injury - a concentration finding study / R.T. Mitchell // J Burn

- Care Res. - 2011. - Vol. 32, № 1. - P. 129-134.
15. Phelan H.A. Venous thromboembolism after traumatic brain injury / H.A. Phelan // Semin Thromb Hemost. - 2013. - Vol. 39, № 5. - P. 541-548.
16. Low molecular weight heparin induced pharmacological modulation of burn wound healing / T. Ravikumar [et al] // Ann. Burns Fire Disasters. - 2006. - Vol. 19, № 3. - P. 123-129.
17. Acute burn induced coagulopathy / P.B. Sherren [et al] // Burns. - 2013. - Vol. 39, № 6. - P. 1157-1161.
18. Neuroendocrine system response modulates oxidative cellular damage in burn patients / X.Q. Xie [et al] // Tohoku. J. Exp. Med. - 2007. - Vol. 211, № 2. - P. 161-169.
19. Changes in circulating levels of an anti-inflammatory cytokine interleukin 10 in burned patients / F.L. Yeh [et al] // Burns. - 2000. - Vol. 26, №5. - P. 454-459.

REFERENCES:

1. Ozhogovaya infektsiya. Ehtiologiya, patogenez, profilaktika i lechenie: monografiya / A.A. Alekseev [i dr.] - Vuzovskaya kniga, 2010. - 416 s.
2. Afonin A. N. Tyazhelaya sochetannaya travma i eyo oslozhneniya. Sovremennoe sostoyanie problemy / A.N. Afonin // Meditsina neotlozhnykh sostoyanij. - 2006. - №1(2). - S. 50-53.
3. Alekseev A.A., Krutikov M.G. Mestnoe lechenie ozhogovykh ran / A.A. Alekseev, M.G. Krutikov // Ros. med. zhurn. 2000. - №5. - S. 51-53.
4. Atyasov N.I. Sistema aktivnogo lecheniya tyazheloozhzhennykh (k 40-letiyu metoda) / N.I. Atyasov // Vestnik khirurgii. - 2002. - № 3. - S. 53-58.
5. Bazelyuk L.T. Otsenka tsitomorfologicheskikh izmenenij v ehndokrinnykh organakh ehksperimental'nykh zhivotnykh pri kompleksnom vozdejstvii ugol'no-prirodnoj pyli i fizicheskoy nagruzki / L.T. Bazelyuk // Toksikologicheskij vestnik. - 2006. - №1. - S. 27-30.
6. Prognozirovaniye gnojno-infektsionnykh oslozhnenij u bol'nykh s termicheskoy travmoj / T.N. Obydennikova [i dr.] // Tikhookean. med. zhurn. - 2003. - № 4. - S. 68-70.
7. Sovremennyye aspekty aktivnogo khirurgicheskogo lecheniya patsientov s termicheskoy travmoj / B.B. Usov [i dr.]. - Vladivostok: Meditsina DV, 2005. - 167 s.
8. Al-Kaisy A. A., Sahib A.S. Role of the antioxidant effect of vitamin E with vitamin C and topical povidone-iodine in the treatment of burns / A.A. Al-Kaisy, A.S. Sahib // Ann. Burns Fire Disasters. - 2005. - Vol. 18, № 1. - p. 19-30.
9. The implementation and evaluation of therapeutic touch in burn patients: an instructive experience of conducting a scientific study within a non-academic nursing setting / M. Busch [et al] // Patient Educ Couns. - 2012. - Vol. 89, №3. - P. 439-46.
10. Measurement of tissue cortisol levels in patients

- with severe burns: a preliminary investigation / J. Cohen [et al] // *Crit Care*. - 2009. - Vol. 13, № 6. - P. 189.
11. Regulation of glucocorticoid sensitivity in thymocytes from burn-injured mice / M. D'Elia [et al] // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. - 2009. - Vol. 296, № 1. - P. 97-104.
12. Cortisol in severely burned patients: investigations on disturbance of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis / P.Ch. Fuchs // *Shock*. - 2007. - Vol. 28, № 6. - P. 662-667.
13. Sclerosis therapy of bronchial artery attenuates acute lung injury induced by burn and smoke inhalation injury in ovine model / A. Hamahata // *Burns*. - 2010. - Vol. 36, № 7. - P. 1042-1049.
14. Phenylephrine tumescence in split-thickness skin graft donor sites in surgery for burn injury- a concentration finding study / R.T. Mitchell // *J Burn Care Res*. - 2011. - Vol. 32, № 1. - P. 129-134.
15. Phelan H.A. Venous thromboembolism after traumatic brain injury / H.A. Phelan // *Semin Thromb Hemost*. - 2013. - Vol. 39, № 5. - P. 541-548.
16. Low molecular weight heparin induced pharmacological modulation of burn wound healing / T. Ravikummar [et al] // *Ann. Burns Fire Disasters*. - 2006. - Vol. 19, № 3. - P. 123-129.
17. Acute burn induced coagulopathy / P.B. Sherren [et al] // *Burns*. - 2013. - Vol. 39, № 6. - P. 1157-1161.
18. Neuroendocrine system response modulates oxidative cellular damage in burn patients / X.Q. Xie [et al] // *Tohoku. J. Exp. Med*. - 2007. - Vol. 211, № 2. - P. 161-169.
19. Changes in circulating levels of an anti-inflammatory cytokine interleukin 10 in burned patients / F.L. Yeh [et al] // *Burns*. - 2000. - Vol. 26, №5. - P. 454-459.

Авторская справка:

1. Дзевульская Ирина Викторовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, г. Киев, проспект Победы 34, тел. +380974232625, E-mail: irun4ik@ua.fm
2. Ковальчук Александр Иванович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, г. Киев, проспект Победы 34, тел. +380674416833, E-mail: kofa@i.ua
3. Маликов Александр Вячеславович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, г. Киев, проспект Победы 34, тел. +380963449753, E-mail: ovmalikoff@i.ua