

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛОКАЛЬНОГО ОПІКУ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Резюме. В роботі представлені результати електронномікроскопічного дослідження змін кори надниркової залози при гострому термічному опіку та їх фармакокорекція гіперосмолярними інфузійними розчинами. В результаті дослідження встановлено значні зміни мікроциркуляції та ультраструктурної організації адреноркортикоцитів. Відмічено інтрацелюлярний та периваскулярний набряк кори надниркової залози, що спричинює дистрофічно-деструктивні зміни клітин. Курсове застосування лактопротейну-С і HAES-LX-5% зменшує розвиток структурних змін гемокапілярів та гідропічної дистрофії клітин надниркової залози.

Ключові слова: термічний опік, ультраструктурні зміни, кора надниркової залози, HAES-LX-5%, лактопротейн-С.

Вступ

Опіки є одним з найпоширеніших видів травм, що виникають у побуті і навиробничстві. Протікання цього виду ранового процесу характеризується досить високим ступенем тяжкості. У зв'язку з цим дослідження деструктивних змін в уражених тканинах, процесів репарації опіків і розробка ефективних методів лікування є на сучасному етапі надзвичайно актуальним [1,2].

Згідно сучасних уявлень глибокі й великі за площею опіки викликають значні структурно-функціональні порушення життєво важливих органів, що призводить до виникнення важкого захворювання – опікової хвороби, що зумовлюють високу вірогідність летального наслідку [6,8]. Однією з основних причин високої летальності серед постраждалих від важких опіків є відсутність єдиної концепції лікування важкохворих, єдиного підходу до профілактики і лікування поліорганної недостатності і опікового сепсису.

Проте досліджень присвячених морфології органів ендокринної системи при термічних ураженнях присвячено недостатню кількість робіт [3,5], особливо з застосуванням ультрамікроскопічних методів досліджень та оцінці ефективності лікарських засобів [9], що застосовують при опіковій хворобі.

В зв'язку із цим метою роботи було дослідження структурних змін надниркової залози при моделюванні опікової хвороби у щурів та їх фармакокорекція лікарськими засобами дезінтоксуючого напрямку дії.

Матеріали та методи.

Експериментальне дослідження проведено у рамках наукового співробітництва між ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», Вінницьким національ-

ним медичним університетом імені М.І. Пирогова, Національним медичним університетом імені О.О. Богомольця.

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” (Стразбург, 1985). Досліди проводились з урахуванням „Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)”. Тварини утримувались на стандартному водно-харчовому раціоні, при вільному доступі до води та їжі (у вигляді спеціалізованих комбікормів для щурів) за встановленими нормами. Декапітацію щурів проводили після пропорофолового наркозу (60 мг/кг в/в). Моделювання термічного опіку та експериментальні дослідження терапевтичної дії інфузійних препаратів HAES-LX-5% та ЛПС, в умовах опікового шоку (гострий період – 1, 3 та 7 доба) були виконані на лабораторних білих щурах-самцях масою 155–180 г.

Тварини були розподілені на 3 групи: 1-а група – контрольні тварини, яким моделювали опік; 2-а група – щурі з опіком і введенням лактопротейну-С; 3-я група – тварини з опіком і введенням 5%-го розчину HAES-LX.

Опік (після відповідної премедикації) моделювали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по 2 пластинки з кожного боку, площа поверхні кожної пластинки складала 13,86 см²), які попередньо тримали протягом шести хвилин у воді з постійною температурою 100°C [12]. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складала 21-

23% при експозиції 10 с, що є достатнім для формування опіку II ступеня – дермального поверхневого опіку (колишній III A ступінь) та розвитку шокowego стану середнього ступеня важкості. Дана площа ураження при експозиції 10 с є достатньою для формування опіку II–III ступеня (згідно класифікації прийнятої на XX з'їзді хірургів України, вересень 2000 р., м. Тернопіль) та викликання (розрахунковим шляхом за індексом тяжкості ушкодження) шокowego стану середнього ступеня важкості [13].

Інфузію корегуючих розчинів проводили у нижню порожнисту вену після її катетеризації в асептичних умовах через стегнову вену.

ЛПС – це комплексний інфузійний препарат, який містить альбумін донорський в 5% концентрації, сорбітол (6%), натрію лактат (2,1%), а також електроліти в збалансованих кількостях. Теоретична осмолярність препарату – 1020 мОсм/л.

Досліджуваний розчин HAES-LX-5% містить гідроксиетильований крохмалз MM 130000 Дальтон, 5-атомний спирт ксилітол, залужнювальний компонент натрію лактат, солі натрію хлориду, калію хлориду, кальцію хлориду та магнію хлориду. Теоретична осмолярність препарату – 890 мОсм/л.

Катетер підшивали під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювали тигрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9% розчину NaCl) після кожного введення речовин. Перше введення здійснювали через 1 год після моделювання патологічного стану, послідувачі інфузії виконували раз на добу на протязі перших 7 діб. Бриття тварин, моделювання опіку, катетеризацію магістральних судин та декапітацію тварин здійснювали в умовах пропофолового наркозу 60 мг/кг в/в.

Для електронномікроскопічного дослідження через 1 добу після моделювання опіку після відповідної премедикації фрагменти кори надниркової залози шурів фіксували 2,5% розчином глутарового альдегіду на фосфатному буфері з дофіксацією у 1% забуференому розчині чотирьохокисю 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. Препарати досліджували та фотографували під електронним мікроскопом ПЕМ-125К при збільшеннях в 6–20 тисяч.

Результати. Обговорення.

Отримані нами гістологічні дані свідчать про те, що вже через 1 добу після опіку в надниркових залозах розвиваються структурно-морфологічні зміни. На тлі судинних порушень, що ультроструктурно відмічено у локальному розширенні гомокапілярів з явищами стазу формених елементів крові, в корі надниркових залоз спостерігаються дистрофічні зміни адренкортикоцитів, які більш виражені в пучковій зоні.

В ендотеліоцитах гомокапілярів локалізовані цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, поодинокі мітохондрії і секреторні гранули, майже неушкоджені мітохондрії. Реєструється деструкція органел. Більшість гомокапілярів мають ознаки стазу та розвитку периваскулярного набряку (Рис. 1).

Навколо змінених судин знаходяться клітини з порушенням будови органел (втрата цілісності ендоплазматичної сітки з частково чи повністю зруйнованими цистернами, деструкція оболонки мітохондрій і зменшення їх величини). В цитоплазмі клітин трьох зон в значній кількості з'являлися лізосоми і аутофагосоми. Зміни ультроструктурної організації адренкортикоцитів виражаються у вигляді набряку цитоплазми, зменшенні електронної щільності клітин (Рис. 2). В клітинах відмічається збільшення перинуклеарного простору і дегрануляція цитоплазми.

При застосуванні гіперосмолярних лікарських засобів лактопротеїну-С і HAES-LX-5% встановлено суттєве збереження ультроструктурної організації кори надниркових залоз. За умов введення лактопротеїну-С відмічається збереження структури гомокапілярів, без ознак периваскулярного набряку та ангіонекрозу. В ендотеліоцитах реєструється стандартний набір неушкоджених органел (Рис. 3). Переважна більшість адренкортикоцитів в цитоплазмі містить значну кількість неушкоджених мітохондрій з неушкодженими кристами, групи секреторних ліпідних гранул, полісоми, поодинокі лізосоми. В окремих клітинах відмічено дегрануляцію секреторних гранул (Рис. 4). Одночасно з цим спостерігаються поодинокі інтерстиційні клітини з ознаками апоптозу.

При введенні HAES-LX-5% відмічається дегрануляція і набряк периваскулярних адренкортикоцитів, збільшення розмірів цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки і гетерохроматину в ядрах, незначний перинуклеарний набряк (Рис. 5). Одночасно з цим в цитоплазмі локалізована значна кількість неушкоджених мітохондрій, поодинокі

кі ліпідні гранули секрету. Збільшення перинуклеарного простору в стероїдогенних ендокриноцитах. Зустрічаються окремі апоптичні клітини (рис. 6). Гемокапіляри кори надниркових залоз характеризувались ознаками незначного набряку ендотеліоцитів і еритроцитарного стазу. Структурна орга-

нізація гемокапілярів збережена, без ознак периваскулярного набряку та ангіонекрозу.

Таким чином, при моделюванні термічного опіку у щурів спостерігається різке зниження морфофункціональної і секреторної активності в клітинах кори надниркових залоз внаслідок пору-



Рис. 1. Кора надниркової залози через 1 добу після опіку. Структурно змінений гемокапіляр із ознаками набряку цитоплазми ендокриноцитів, дегрануляції та редукції органел. Умовні позначення: 1 – ліпідні гранули; 2 – мітохондрії; 3 – просвіт гемокапіляра; 4 – ядро ендотеліоцита; ← продукти розраду органел; ← цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки; ← фенестри гемокапіляра. Електронорама: x10000

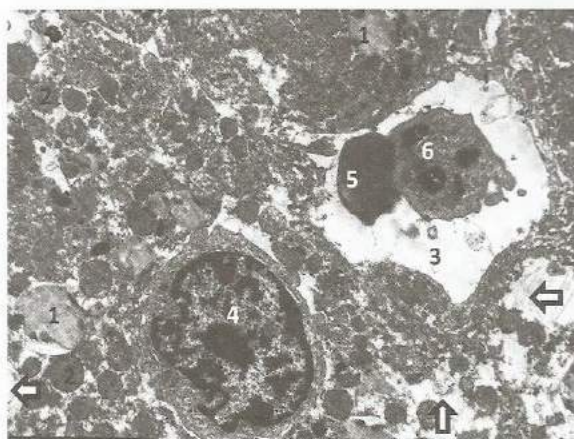


Рис. 2. Кора надниркової залози через 1 добу після опіку. Набряк периваскулярних адренокортикоцитів, деструкція органел. Структурно змінений гемокапіляр із ознаками стазу формених елементів крові. Умовні позначення: 1 – ліпідні гранули; 2 – мітохондрії; 3 – просвіт гемокапіляра; 4 – ядро ендокриноцита; 5- еритроцит; 6 – тромбоцит; ← набряк цитоплазми. Електронорама: x10000

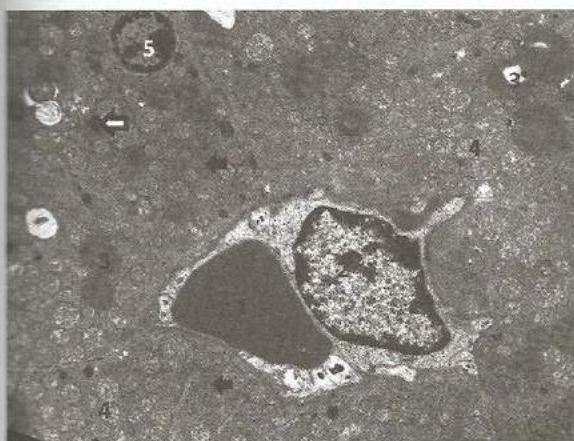


Рис. 3. Кора надниркової залози через 1 добу після опіку і введення лактопротеїну. Гемокапіляр із еритроцитом, без ознак периваскулярного набряку та ангіонекрозу. Адренокортикоцити із неушкодженими мітохондріями, поодинокими секреторними гранулами, полісомами і лізосомами. Умовні позначення: 1 – еритроцит; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – секреторні гранули; 4 – мітохондрії; 5 – ядро ендокриноцита; ← лізосоми; ← полісоми. Електронорама: x10000

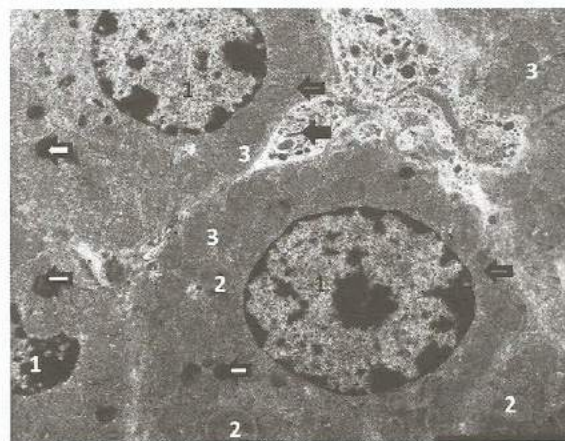


Рис. 4. Кора надниркової залози через 1 добу після опіку і введення лактопротеїну. Дегрануляція адренокортикоцитів. В цитоплазмі локалізовані неушкоджені мітохондрії, полісоми і окремі лізосоми. Умовні позначення: 1 – ядра ендокриноцитів; 2 – секреторні гранули; 3 – неушкоджені мітохондрії; 4 – електронно світлі клітини; ← полісоми; ← лізосоми; ← колагенові волокна. Електронорама: x10000

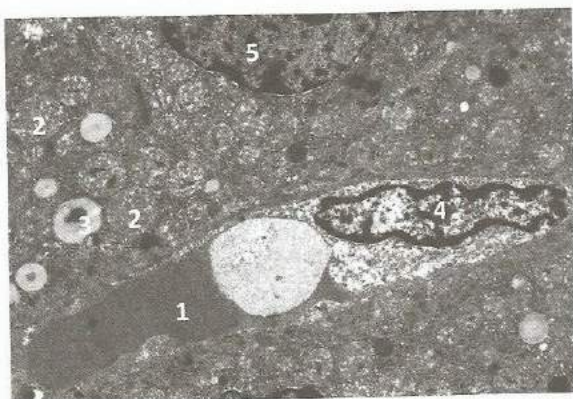


Рис. 5. Кора надниркової залози через 1 добу після опіку і введення і HAES-LX-5%. Еритроцитарний стаз гемокapілярах кори наднирників. Світлий ендотеліоцит з ознаками набряку. Значна кількість мітохондрій та поодинокі секреторні гранули в неушкоджених стероїдогенних клітинах. Умовні позначення: 1 – еритроцит; 2 – мітохондрії; 3 – гранули секрету; 4 – ендотеліоцит; 5 – ядро ендокриноцита. Електроннограма: Ч10000.

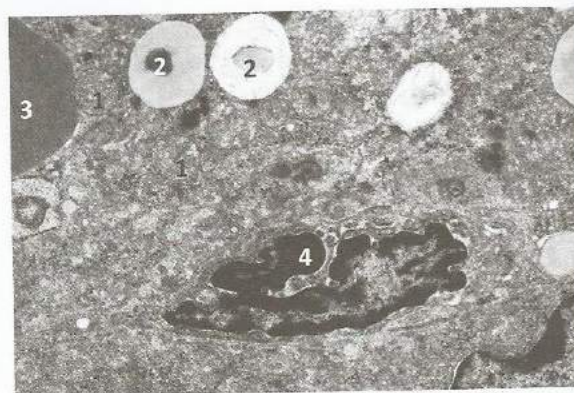


Рис. 6. Кора надниркової залози через 1 добу після опіку і введення і HAES-LX-5%. Апоптозадренкортикоцита. В цитоплазмі неушкоджених стероїдогенних клітин локалізовані мітохондрії з кристами, окремі секреторні гранули. Умовні позначення: 1 – мітохондрії; 2 – гранули секрету; 3 – еритроцит; 4 – апоптоз ендокриноцита. Електроннограма: Ч10000.

шення регіонарного кровообігу. При опіку відбувається руйнація ендотелію та розвиток периваскулярного набряку, що спричинює значні дистрофічно-деструктивні зміни у адренкортикоцитах. Відомо, що вже з першої доби опікового шоку розвиваються відновні процеси в мікроциркуляції. Зокрема, концентрація VEGF зростає в 10 разів, деяких цитокінів, наприклад MCP-1, в 5,8 разів. Одночасно з цим різко зростає кількість циркулюючих лейкоцитів, що приймають участь в запальних процесах після опіку [4].

Інфузійно-трансфузійна терапія в найперші години після опіку є ключовим компонентом в лікуванні важкого опікового шоку, і чим швидше буде відновлена мікроциркуляція, тим більша ймовірність попередження та зниження розвитку синдрому поліорганної недостатності [7,10]. При пізньому початку лікування розвивається реперфузійний синдром. В зв'язку із цим перші 5–6 годин є критичним чинником розвитку патологічного стану. Відомо, що при початку інфузійної терапії через 6 годин з моменту моделювання опіку підвищується рівень апоптозу в клітинах епітелію кишечника, що призводить до морфологічних змін на тлі яких підвищується проникність слизової тонкої та товстої кишків до патогенних мікроорганізмів [11].

Застосування гіперосмолярних лікарських засобів лактопротеїну-С і HAES-LX-5% зменшує розвиток структурно-функціональних змін мікросудин кори надниркової залози, проте, згідно з

ультраструктурними дослідженнями, функціональний стан адренкортикоцитів хоч і відновлюється, але не в повній мірі. Порівняльний аналіз впливу фармакологічних засобів показав, що в більшій мірі зменшенню регіонарних гемодинамічних та структурних порушень сприяє лактопротеїн-С, ніж HAES-LX-5%.

Висновки та перспективи подальших розробок.

1. Структурні зміни кори надниркових залоз на тлі експериментальної опікової хвороби виражаються у розвитку периваскулярного та інтрацелюлярного набряків, еритроцитарного стразу, що спричинює дистрофічно-деструктивні зміни у адренкортикоцитах.
2. Застосування гіперосмолярних лікарських засобів лактопротеїну-С і HAES-LX-5% запобігає розвитку деструктивних змін кори надниркової залози, що викликані опіковою хворобою. Відмічено зменшення периваскулярного набряку, альтерації ендокриноцитів, зменшення набряку органел клітин.
3. На процес розвитку гідропічної дистрофії кори надниркової залози в більшій мірі впливає лактопротеїн-С, проте повного структурно-функціонального відновлення не відмічено.

Перспектива подальших досліджень у даному напрямку полягає у вивченні віддалених наслідків опікової хвороби, а саме її ендокринної та метаболічної складової та розробки напрямків їх фармакологічної корекції.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЛОКАЛЬНОГО ОЖОГА

Дзевульская И.В.

Резюме. В работе представлены результаты электронномикроскопического исследования изменений коры надпочечников при остром термическом ожоге и их фармакокоррекции гиперосмолярными инфузионными растворами. В результате исследования установлены значительные изменения микроциркуляции и ультраструктурной организации адреналокортикоцитов. Отмечены трацеллюлярный и периваскулярный отек коры надпочечников, вызывающий дистрофически-деструктивные изменения клеток. Курсовое применение лактопротеина-С и HAES-LX-5% уменьшает развитие структурных изменений гемокapилляров и гидрической дистрофии клеток надпочечников.

Ключевые слова: термический ожог, ультраструктурные изменения, кора надпочечников, HAES-LX-5%, лактопротеин-С.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF ADRENAL AFTER EXPERIMENTAL BURN LOCAL

Dzevulska I.V.

Summary. This paper presents the results of electron microscope study of changes in the adrenal cortex in acute thermal burns and pharmacocorrection with hyperosmolar infusion solutions. The study found significant changes in microcirculation and ultrastructural organization of adrenocortical cells. Intracellular and perivascular edema of the adrenal gland that causes destructive changes in dystrophic cells were marked. Course application of lactoproteinum-C and HAES-LX-5% reduces the development of structural changes capillaries and hydropic dystrophy of adrenal glands.

Keywords: thermal burn, ultrastructural changes, adrenal cortex, HAES-LX-5% lactoproteinum-C.

Список літератури

1. Горшеев А.Н. Ранняя профилактика гнойно-септических осложнений у тяжелообожженных : автореф. дис. . канд. мед. наук : 14.00.27 / Горшеев Анатолий Николаевич. Владивосток, 2006. — 18 с.
2. Козинец Г.П., Слесаренко С.В., Шейман Б.С. Ожоговая интоксикация. Дифференцированные подходы к детоксикационной терапии // Комбустиология. 2003. - № 16-17.
3. Кухар І.Д., Клімас Л.А. Морфометричні зміни ядер клітин клубочкової зони кори наднирникових залоз після опіків і кріодеструкції шкіри тварин // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. — 2002. - Т.1, №2. — С. 37-40.
4. 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.
5. 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. - №947: Серія: Біологія. Вип.13. — 2011. — С.19-22.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Venakatachalapathy T.S., Kumar S.M., Saliba M.J. A comparative study of burns treated with topical heparin and without heparin // Ann. Burns Fire Disasters. 2007. - Vol. 4. - P. 189-197.
10. Wassermann D. Systemic complications of extended burns // Ann. Chir. Plast. Esthet. — 2001. — Vol. 46, № 3. — P. 196-209.
11. 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.
12. Gunas I. Method of thermal burn trauma correction by means of cryoinfluence / I. Gunas, I. Dovgan, O. Masur // Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft. 92. In Olsztyn vom 24. Bis 27. Mai 1997: bipartite-meeting / zusammen mit der Polish Anatomical Society with the participation of the Association des Anatomistes. — 1997. — P. 105.
13. Ожоговий шок / В.П. Шано, В.К. Гринь, Э.Я. Фисталь [и др.]. — Донецк, Юго-Восток, 2006. — 176 с.