

© Дзевульська І.В., 2015

УДК 611.814.3:611-018]:616-001.17-092.4-08

І.В. ДЗЕВУЛЬСЬКА

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра анатомії людини, Київ***СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗАХ ПРОТЯГОМ МІСЯЦЯ У ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ, ЯКИМ ПЕРШИХ СІМ ДІБ ВВОДИЛИ РОЗЧИН НАЕС-LX-5%**

При гістологічному дослідженні у щурів, яким після опіку шкіри 2–3 ступенів площею 21–23% поверхні тіла перші сім діб вводили розчин НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл на кг, порушення мікроциркуляції та накопичення набрякової рідини в сполучнотканинній стромі надниркових залоз, дистрофічні та некробіотичні зміни в ендокриноцитах клубочкової, пучкової та сітчастої зон кіркової речовини, а також ендокриноцитів мозкової речовини були менш вираженими, ніж у щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl та майже однотипні змінам при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом в аналогічні терміни спостереження.

Ключові слова: морфологія, надниркові залози, щури, опік шкіри, розчин НАЕС-LX-5%

Вступ. Останнім часом значно зростає інтерес до вивчення механізмів пошкодження та структурної перебудови надниркових залоз, викликаній термічною травмою, оскільки нейроендокринна система, володіючи широким діапазоном гормональних впливів на різні органи і системи, грає першорядну роль у виникненні відповідних реакцій організму на дію надзвичайного подразника [8, 13]. При цьому не окремі гормони, а сумарна морфо-функціональна перебудова, що формується в стані напруги, зумовлює характер і адекватність захисно-компенсаторних процесів, забезпечуючи процеси адаптації і резистентності організму в цілому [2, 13].

Відомо, що у відповідь на опікову травму в організмі розвивається безліч патологічних процесів, які захоплюють практично всі органи і системи, призводячи до вираженого порушення гомеостазу, зриву адаптаційних механізмів [5, 12]. Починаючи зі стадії ураження шкіри і подальшого розвитку опікового шоку до стадії одужання хворий потребує інтенсивного комплексного лікування, що включає інфузійно-трансфузійну терапію, корекцію катаболічних процесів, профілактику інфекційних ускладнень і генералізації інфекції [9].

У літературі майже відсутні дані щодо механізмів дії і взаємодії колоїдно-гіперосмолярних розчинів із різними внутрішньоклітинними структурами надниркових залоз після термічної травми. У зв'язку з цим немає повної і об'єктивної картини, що дає уявлення про процеси внутрішньоклітинної фармакокінетики, механізми їх дії та фармакологічні ефекти на рівні ультраструктур зазначеного органу. Сказане вище стало основною передумовою нашого дослідження.

Мета дослідження. Вивчити морфологічні зміни в надниркових залозах щурів протягом місяця після опіку шкіри, при застосуванні перші сім діб експерименту колоїдно-гіперосмолярного розчину НАЕС-LX-5%.

Матеріали та методи. У рамках наукового співробітництва між ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН 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, експериментальні дослідження були виконані на 45 білих щурах-самцях масою 160–180 г, отриманих із віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України. Тварини утримувались в умовах віварію Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні. Температуру в приміщенні, де утримувались тварини, підтримували на рівні 24–25 °С.

Утримання та маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), також керувалися рекомендаціями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) і положеннями «Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)». Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались: правил гуманного відношення до експериментальних тварин та затвержені комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету (протокол № 1 від 14.01.2010 р.); Міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами, дотримуючись правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (1984); методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України про «Доклінічні дослідження лікарських засобів» [10].

Усім тваринам перед моделюванням патологічного стану бічні поверхні тулуба голили механічною машинкою та безпечною бритвою. Опікову травму викликали шляхом прикладання чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом шести хвилин у воді з постійною температурою 100 °С [14, 15]. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складає 21–23 % при експозиції 10 сек, що є достат-

нім для формування опіку II–III ступенів та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості [6].

Інфузію розчину HAES-LX-5% проводили у нижню порожнисту вену після її катетеризації в асептичних умовах через стеновую вену. Катетер підшивали під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1мл гепарину на 10 мл 0,9 % розчину NaCl) після кожного ведення речовин. Інфузії виконували раз на добу впродовж перших 7 діб.

Колоїдно-гіперосмолярний розчин HAES-LX-5%, розроблений в ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України» (м. Львів). Препарат містить як колоїдну основу полі (0–2-гідроксиетил)крохмалю (середня молекулярна маса 130 000 Дальтон, ступінь молекулярного заміщення 0,4) – 5%, а також багатоатомний спирт ксилітол – 5%, залужнювальний компонент натрію лактат – 1,5%, натрію хлорид – 0,8%, калію хлорид – 0,03%, кальцію хлорид – 0,02%, магнію хлорид – 0,01%. Іонний склад препарату: Na^+ – 270,7 ммоль/л, K^+ – 4,0 ммоль/л, Ca^{++} – 1,8 ммоль/л, Mg^{++} – 1,1 ммоль/л, Cl^- – 146,6 ммоль/л, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$ – 133,8 ммоль/л. Теоретична осмолярність препарату – 890 мосмоль/л [7]. Осмолярність препарату складає 890 мОсмоль/л, що у 3 рази перевищує осмолярність ізотонічного розчину натрію хлориду та осмолярність плазми крові.

Гоління тварин, катетеризацію магістральних судин та декапітацію тварин здійснювали в умовах прополового наркозу 60 мг/кг в/в. Забір матеріалу для гістологічного дослідження проводили через 1, 3, 7,

14, 21 та 30 діб після опіку. Наднирникові залози фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну. Після фіксації матеріал промивали, зневоднювали в серії спиртів зростаючої концентрації, проводили через хлороформ та заливали в парапласт [1]. Зрізи тканини товщиною 7–8 мкм виготовляли на ротаційному мікротомі, розміщували на склі, фарбували гематоксилін-еозином та заключали в канадський бальзам.

Крім того, на базі кафедри гістології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (завідувач – д.б.н., проф. Волков К.С.), після стандартної проводки і заливки матеріалу в суміш аралдиту з епоксидними смолами для електронномікроскопічних досліджень [11] напівтонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція), розміщували на склі і фарбували метиленовим синім.

Гістологічне дослідження наднирникових залоз здійснювали на мікроскопі Olympus BX51 при збільшеннях: $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$.

Результати досліджень та їх обговорення. Введення розчину HAES-LX-5% у дозі 10 мл на кг як і розчину Лактопротеїну з сорбітолом через 1 добу після початку експерименту зменшує порушення мікроциркуляції та накопичення набрякової рідини в сполучнотканинній стромі надниркових залоз після опікової травми шкіри на відміну від щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3, 4]. Також зменшуються дистрофічні зміни в цитоплазмі ендокриноцитів в клубочковій, пучковій і сітчастій зоні кіркової речовини та ендокриноцитів мозкової речовини надниркових залоз (рис. 1).

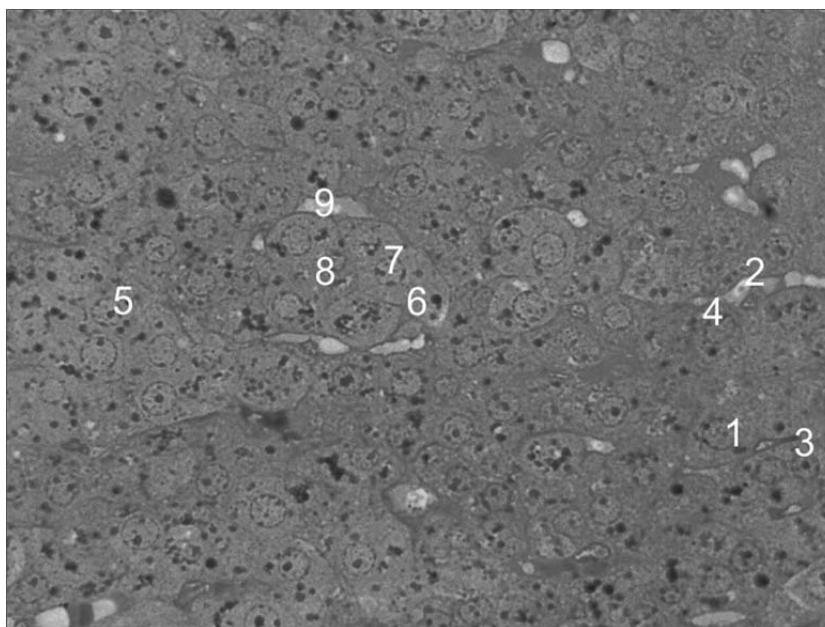


Рис. 1. Фрагмент сітчастої зони кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів, яким після опіку шкіри 2–3 ступенів площею 21–23% поверхні тіла протягом однієї доби вводили розчин HAES-LX-5% у дозі 10 мл на кг. Забарвлення метиленовим синім. Зб.: об. $\times 40$, ок. $\times 10$. 1 – сітчаста зона кіркової речовини надниркових залоз; 2 – просвіт венули; 3 – цитоплазма кортикоцитів сітчастої зони; 4 – ядро кортикоцитів сітчастої зони; 5 – мозкова речовина надниркових залоз; 6 – цитоплазма епінефроцитів; 7 – ядро епінефроцитів; 8 – цитоплазма норепінефроцитів; 9 – помірно повнокровний просвіт синусоїда.

Через три доби після початку експерименту у щурів, яким вводили розчин НАЕС-LX-5% (як і при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом), дистрофічні та некробіотичні зміни в ендокриноцитах клубочкової, пучкової і сітчастої зони кіркової речовини та ендокриноцитів мозкової речовини були також менш вираже-

ними, ніж у щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3, 4]. Судини кровеносного мікроциркуляторного русла були повнокровними, однак на відміну від щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl, ендотеліоцити в стінці судин утворювали суцільний пласт (рис. 2).

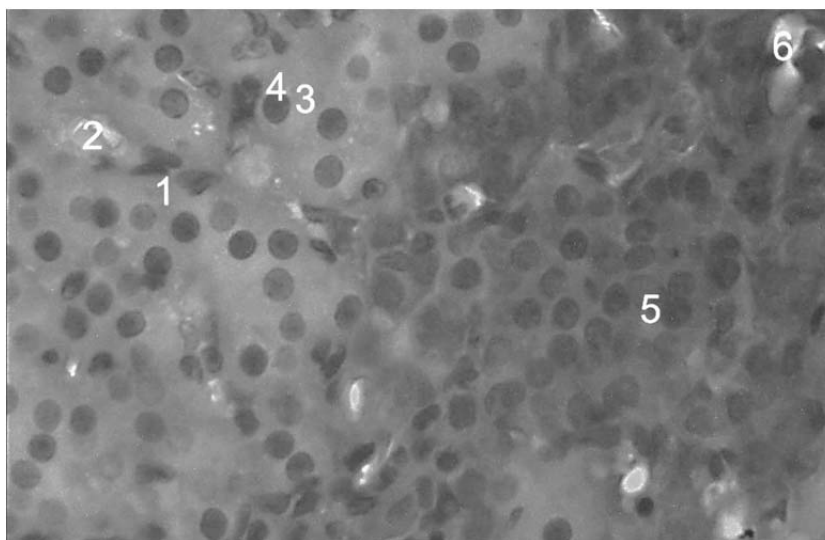


Рис. 2. Фрагмент кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів, яким після опіку шкіри 2–3 ступенів площею 21–23% поверхні тіла протягом трьох діб вводили розчин НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл на кг. Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб.: об. x40, ок. x10. 1 – сітчаста зона кіркової речовини надниркових залоз; 2 – просвіт венули; 3 – цитоплазма кортикоцитів сітчастої зони; 4 – ядро кортикоцитів сітчастої зони; 5 – мозкова речовина надниркових залоз; 6 – помірно повнокровний просвіт синусоїда.

Не зважаючи на факт, що вогнища некрозу ендокриноцитів були менше вираженими, ніж у щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3], максимальний рівень деструкції в кліти-

нах стромі і паренхіми кіркової та мозкової речовини надниркових залоз на гістологічному рівні спостерігали також через 7 діб від початку експерименту (рис. 3).

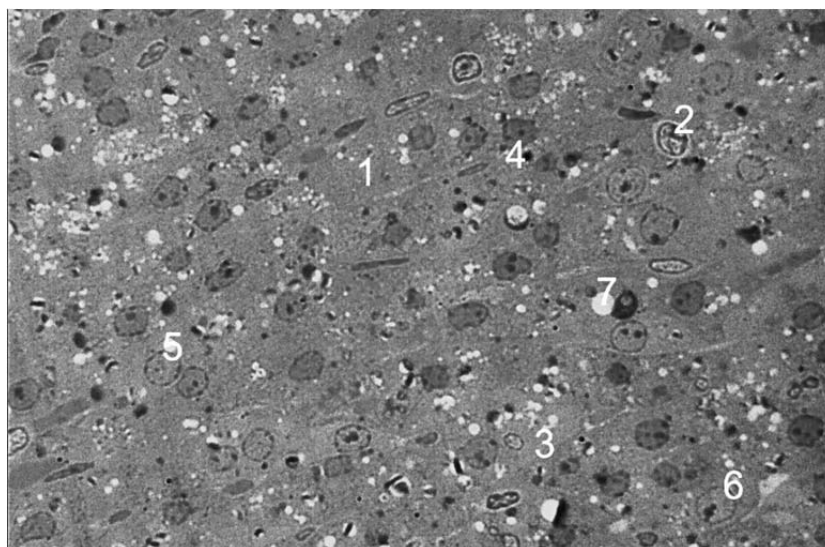


Рис. 3. Фрагмент кіркової речовини надниркових залоз щурів, яким після опіку шкіри 2–3 ступенів площею 21–23% поверхні тіла протягом семи діб вводили розчин НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл на кг. Забарвлення метиленовим синім. Зб.: об. x40, ок. x10. 1 – пучкова зона кіркової речовини надниркових залоз; 2 – фігури мітозу; 3 – набряк цитоплазми спонгіоцитів пучкової зони; 4 – гіперхромні ядра спонгіоцитів пучкової зони; 5 – нормохромні ядра спонгіоцитів пучкової зони; 6 – помірно повнокровні просвіти венул; 7 – просвіти капілярів.

Через 14 днів після опіку шкіри у щурів, яким перші сім днів вводили розчин НАЕС-LX-5% рівень деструкції в клітинах стромы та паренхіми кіркової і мозкової речовини надниркових залоз був дещо меншим ніж в попередньому терміні дослідження (рис. 4). На відміну від щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3], в цей термін дослідження в вогнищах некрозу була наявна гіпертрофія та гіперплазія фібробластів, а в ендокриноци-

тах клубочкової, пучкової і сітчастої зони кіркової речовини та ендокриноцитах мозкової речовини надниркових залоз дискаріоз, гіпо- і гіперхроматоз були менше виражені (як і при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом) [4]. У навколосудинній сполучній тканині кіркової та мозкової речовини надниркових залоз ознаки набряку також менше виражені, ніж у щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl.

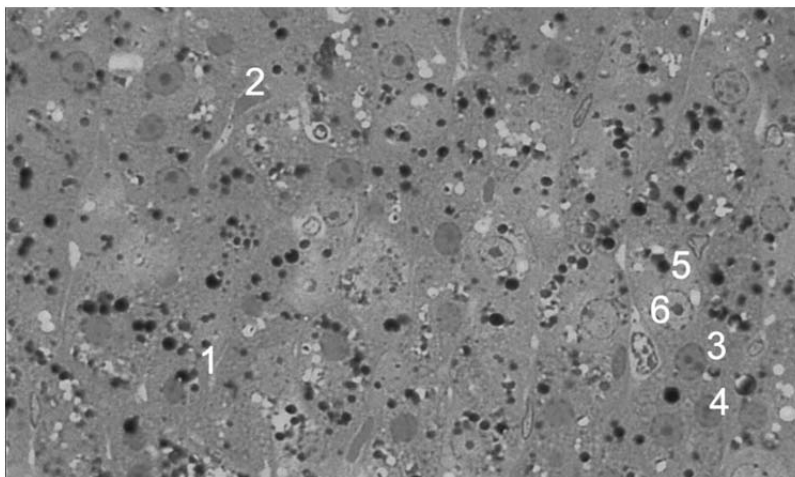


Рис. 4. Фрагмент кіркової речовини надниркових залоз щурів через 14 днів після опіку шкіри 2–3 ступенів площею 21–23% поверхні тіла, яким протягом перших семи днів вводили розчин НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл на кг. Забарвлення метиленовим синім. Зб.: об. х40, ок. х10. 1 – пучкова зона кіркової речовини надниркових залоз; 2 – просвіт венули; 3 – гіперхромна цитоплазма кортикоцитів пучкової зони; 4 – гіперхромне ядро кортикоцитів пучкової зони; 5 – гіпертрофована цитоплазма кортикоцитів пучкової зони; 6 – гіпертрофоване ядро кортикоцитів пучкової зони.

Як і при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом, на відміну від змін через 14 днів, через 21 добу після опікової травми шкіри, частіше трапляються гіпертрофії і гіперплазії фібробластів та колагенових волокон, які також були менш виражені ніж у щурів, яким після опіку вводили 0,9 % розчин NaCl [3, 4].

Через 30 днів після опікової травми шкіри у щурів, яким перші сім днів вводили розчин НАЕС-

LX-5% в сполучній тканині кіркової та мозкової речовини надниркових залоз прояви склерозу менше виражені, ніж у щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl, однак як і при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом навіть наприкінці експерименту відсутня повна компенсація деструктивних змін у залозі (рис. 5) [3, 4].

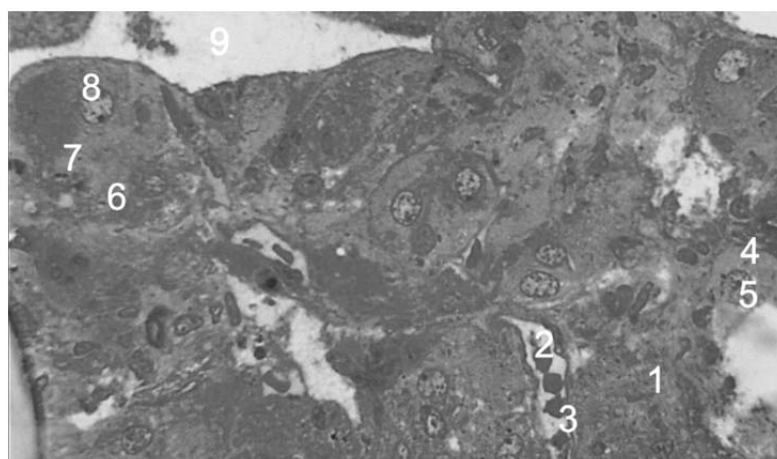


Рис. 5. Фрагмент сітчастої зони кіркової речовини та мозкової речовини надниркових залоз щурів через 30 днів після опіку шкіри 2–3 ступенів площею 21–23% поверхні тіла, яким протягом перших семи днів вводили розчин НАЕС-LX-5% у дозі 10 мл на кг. Забарвлення метиленовим синім. Зб.: об. х40, ок. х10. 1 – сітчаста зона кіркової речовини надниркових залоз; 2 – просвіт венули; 3 – адгезія лімфоцитів до ендотеліоцитів у стінці венули; 4 – цитоплазма кортикоцитів сітчастої зони; 5 – ядро кортикоцитів сітчастої зони; 6 – мозкова речовина надниркових залоз; 7 – цитоплазма епінефроцитів; 8 – ядро епінефроцитів; 9 – помірно повнокровний просвіт синусоїда.

Таким чином застосування колоїдно-гіперосмолярного розчину HAES-LX 5% у дозі 10 мл на кг значно зменшує патологічний вплив факторів опіку шкіри на структуру надниркових залоз упродовж усього експерименту, а його дія на гістологічному рівні повністю аналогічна з дією розчину Лактопротеїну з сорбітолом.

Висновки. 1. Введення протягом перших семи діб після опіку шкіри 2–3 ступенів площею 21–23% поверхні тіла розчину HAES-LX-5% у дозі 10 мл на кг, як введення розчину Лактопротеїну з сорбітолом, значно зменшує дистрофічні і деструктивні зміни в ендокриноцитах клубочкової, пучкової й сітчастої зон кіркової

речовини та ендокриноцитів мозкової речовини надниркових залоз, а також деструктивні зміни в ендотеліоцитах стінки судин кровоносного мікроциркуляторного русла кіркової та мозкової речовини, в порівнянні з тваринами, яким в аналогічні терміни після опіку шкіри вводили 0,9% розчин NaCl.

2. Повна компенсація деструктивних змін при введенні розчину HAES-LX-5%, як і при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом, наприкінці експерименту відсутня.

В подальших дослідженнях вивчатиметься корегуючий вплив інфузійних розчинів на ультраструктуру надниркових залоз після опіку шкіри.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Волкова О.В. Основы гистологии и гистологической техники: Учебник / О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий. — М.: Медицина, 1982. — 304 с.
2. Герасимова Л.И. Острая ожоговая токсемия / Л.И. Герасимова // Патологическая физиология крови. Экстремальные состояния (сборник работ). Под ред. А.И. Воробьева, Н.А. Горбунова. — М.: Бивитек, 2004. — С. 92—102.
3. Дзевульська І.В. Динаміка морфологічних змін в надниркових залозах щурів протягом місяця після опіку шкіри 2–3 ступеня площею 21–23% поверхні тіла, яким перших сім діб вводили 0,9% розчин NaCl / І.В. Дзевульська // «Актуальні питання медичної науки та практики: Зб. наук. пр. ДЗ «ЗМАПО МОЗ України» — Запоріжжя, 2015. — Випуск 82, Т. 2, Кн. 2 — С. 272—282.
4. Дзевульська І.В. Місячна динаміка гістологічних змін в надниркових залозах щурів після опіку шкіри, яким протягом перших семи діб вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом / І.В. Дзевульська // Український науково-медичний молодіжний журнал. — 2015. — № 3 — С. 36—39.
5. Лазько А.Е. Структурно-информационный анализ биологических систем: монография / А.Е. Лазько, М.В. Лазько, А.П. Ярошинская. — Астрахань: Астраханский университет, 2007. — 208 с.
6. Ожоговый шок: оптимизация интенсивной терапии / В.К. Гусак, В.П. Шано, Ю.В. Заяц [и др.] // Український медичний часопис. — 2002. — Т. 31, № 5. — С. 84—88.
7. Патент 93776, Україна, МПК А 61К 9/08. Комплексний колоїдно-гіперосмолярний інфузійний препарат / Кондрацький Б.О., Новак В.Л., Кондрацький Я.Б. // Заявка № а 2009 08880; заявл. 25.08.99; опубл. 10.03.2011, Бюл. № 5. — 12 с.
8. Пшукова А.А. Строение стромы надпочечника в норме и патологии. В кн.: Достижения медицинской науки практическому здравоохранению / А.А. Пшукова, А.Х. Урусамбетов. — Нальчик, 2007. — С. 108—109.
9. Руководство по интенсивной терапии / Под ред. А.И. Трещинского, Ф.С. Глумчера. — К.: Вища шк., 2004. — 572 с.
10. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / ред. О.В. Стефанов. — Київ: Авіцена, 2001. — 528 с.
11. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. — М.: Мир, 1975. — 336 с.
12. Улумбеков Э.Г. Гистология (введение в патологию) / Э.Г. Улумбеков, Ю.А. Челышев. — М.: ГЭОТАР, 1997. — С. 453—484.
13. Bornstein S.R. Morphological and functional studies of the paracrine interaction between cortex and medulla in adrenal gland / S.R. Bornstein, M.C. Bornstein, W.A. Scherbaum // Microscopy research and technique. — 1997. — Vol. 36. — P. 520—533.
14. 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: bipartitemeeting / zusammen mit der Polish Anatomical Society with the participation of the Association des Anatomistes. — 1997. — P. 105.
15. Regas F.C. Elucidating the vascular response to burns with a new rat model / F.C. Regas, H.P. Ehrlich // J. Trauma. — 1992. — Vol. 32, № 5. — P. 557—563.

I.V. DZEVULSKA

Bogomolets National Medical University, Department of Human Anatomy, Kyiv

STRUCTURAL CHANGES IN THE ADRENAL GLANDS DURING THE MONTH IN RATS AFTER SKIN BURNS, WHICH THE FIRST SEVEN DAYS INJECTED SOLUTION HAES-LX-5%

Histological study in rats, which after burn of the skin 2–3 degrees 21–23% of the surface area of the body first seven days injected solution HAES-LX-5% at a dose of 10 ml per kg show that microcirculatory disorders and the accumulation of oedematous fluid in stroma of connective tissue of the adrenal glands, necrobiotic and degenerative changes in endocrinocytes of glomerular, beam and mesh zones of cortex and endocrinocytes of brain substance were less pronounced than in rats that injected 0.9% NaCl solution after skin burn and almost the same type of changes when injected Lactoproteinum solution with sorbitol in similar periods of observation.

Key words: morphology, adrenal gland, rats, skin burns, solution HAES-LX-5%

Стаття надійшла до редакції: 4.09.2015 р.