

ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК 611.814.3:611-018]:616-001.17-092.4-0

МІСЯЧНА ДИНАМІКА ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОПІКУ ШКІРИ, ЯКИМ ПРОТЯГОМ ПЕРШИХ СЕМИ ДІБ ВВОДИЛИ РОЗЧИН ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБІТОЛОМ



Дзевульська Ірина Вікторівна,
e-mail: dzevulska@gmail.com

Дзевульська І.В.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Резюме. При мікроскопічному дослідженні у щурів, яким після опіку шкіри 2–3 ступеня площею 21–23% поверхні тіла перші сім діб вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг порушення мікроциркуляції, дистрофічні та некробіотичні зміни в ендокриноцитах клубочкової, пучкової та сітчастій зоні кіркової речовини, а також ендокриноцитів мозкової речовини протягом 30 діб експерименту були менш вираженими, ніж у щурів яким після опіку шкіри перші сім діб вводили 0,9 % розчин NaCl. Також, на відміну від щурів яким після опіку шкіри перші сім діб вводили 0,9 % розчин NaCl, при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом через 14 діб після опіку шкіри в вогнищах некрозу була наявна гіпертрофія та гіперплазія фібробластів, а через 21 і 30 діб після опіку шкіри – в сполучній тканині кіркової та мозкової речовини надниркових залоз прояви склерозу менш виражені.

Ключові слова: морфологія, наднирникові залози, щури, опік шкіри, розчин Лактопротеїну з сорбітолом.

Вступ. Актуальність проблеми опікової травми визначається частим ураженням, як дорослих, так і дітей, складністю і тривалістю лікування, довготривалою втратою працездатності та порівняно високою летальністю. Залежно від механізмів патогенезу гострих порушень життєво важливих функцій необхідне диференційоване застосування трансфузійних середовищ [2, 5].

Найбільш фізіологічним вважають використання в різні періоди опікової хвороби сбалансованих препаратів електролітів, а також 10% розчину глюкози у поєднанні з розчинами ксиліту, рибози, сорбітолу, які незважаючи свій різний якісний склад, переслідують спільну мету – відновлення об'єму циркулюючої крові, покращення основних показників гемодинаміки і зменшення ступеня гіпоксії тканин [6, 7]. Власне, контроль ефективності застосування зазначеної групи препаратів потребує співставлення із морфо-функціональними змінами у високореактивних органах, до яких належать надниркові залози, що може бути використане в практичній медичній діяльності для прогнозування наслідків опікової травми, планування та розробки нових технологій моніторингу зрушень нейроендокринної системи,

їх корекції за допомогою найбільш перспективних методів і засобів [4, 9].

Мета роботи – вивчити гістологічні зміни в надниркових залозах щурів протягом місяця після опіку шкіри, при застосуванні перші сім діб експерименту розчину Лактопротеїну з сорбітолом.

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, при вільному доступі до води та їжі у вигляді збалансованого комбікорму за встановленими нормами. Температура 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” [7].

Усім тваринам перед моделюванням патологічного стану, бічні поверхні тулуба брили механічною машинкою та безпечною бритвою. Опікову травму викликали шляхом прикладання 4-ох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6-ти хв. у воді з постійною температурою 100 °С [10, 11]. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складає 21–23 % при експозиції 10 сек., що є достатнім для формування опіку II-III ступеня та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості [5].

Інфузію розчину Лактопротеїну з сорбітолом проводили у нижню порожнисту вену після її катетеризації в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер підшивали під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9 % розчину NaCl) після кожного ведення речовин. Інфузії виконували раз на добу на протязі перших 7 діб. Бриття тварин, катетеризацію магістральних судин та декапітацію тварин здійснювали в умовах прополового наркозу 60 мг/кг в/в.

Вилучення матеріалу для гістологічного дослідження проводили на 1-шу, 3-тю, 7-му, 14-ту, 21-у та 30-ту добу експерименту. Надниркові 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 готували на ротатійному мікротомі, розміщували на склі, фарбували гематоксилін-еозином та заливали 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 [8] напівтонкі зрізи готували на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція), розміщували на склі і фарбували метиленовим синім.

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

Результати. Обговорення. Введення розчину Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг через 1 добу після опіку шкіри 2–3 ступеня площею 21–23% поверхні тіла зменшує порушення мікроциркуляції та накопичення набрякової рідини в сполучнотканинній стромі надниркових залоз (рис. 1) на відміну від щурів яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3]. Також зменшуються дистрофічні зміни в цитоплазмі ендокриноцитів в клубочковій, пучковій і сітчастій зоні кіркової речовини, та ендокриноцитів мозкової речовини надниркових залоз (рис. 2).

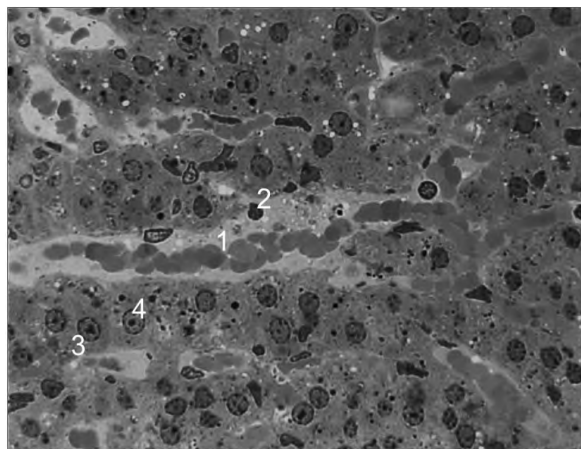


Рис. 1. Фрагмент кіркової речовини надниркових залоз щурів, яким після опіку шкіри 2–3 ступеня площею 21–23% поверхні тіла протягом однієї доби вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг. Забарвлення метиленовим синім. Об'єктив $\times 40$. Окуляр $\times 10$. Позначення: 1 – помірно повнокровний просвіт венули; 2 – адгезія лімфоцитів до ендотеліоцитів в стінці венули; 3 – цитоплазма кортикоцитів пучкової зони; 4 – ядро кортикоцитів пучкової зони.

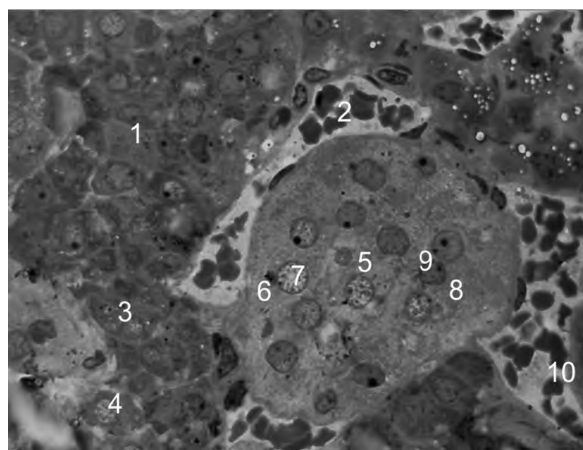


Рис. 2. Фрагмент сітчастої зони кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів, яким після опіку шкіри 2–3 ступеня площею 21–23% поверхні тіла протягом однієї доби вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг. Забарвлення метиленовим синім. Об'єктив $\times 40$. Окуляр $\times 10$. Позначення: 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 епінєфроцитів; 7 – ядро епінєфроцитів; 8 – цитоплазма норепінєфроцитів; 9 – ядро норепінєфроцитів; 10 – адгезія лімфоцитів до ендотеліоцитів в стінці венули.

Через 3 доби дистрофічні та некробіотичні зміни в ендокриноцитах клубочкової, пучкової і сітчастої зони кіркової речовини та ендокриноцитах мозкової речовини надниркових залоз були також менш вираженими ніж у щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3]. Гіпертрофія ендокриноцитів надниркових залоз, а також повнокров'я просвітів судин кровоносного мікроциркуляторного русла кіркової та мозкової речовини відображають адаптаційні зміни в залозах на дію факторів опіку. Крім того, на відміну від щурів, яким після опіку шкіри вводили 0,9% розчин NaCl [3], ендотеліоцити в стінці судин утворювали суцільний пласт.

Максимальний рівень деструкції в клітинах строми та паренхіми кіркової та мозкової речовини надниркових залоз після опіку шкіри на фоні введення розчину Лактопротеїну з сорбітолом на гістологічному рівні також спостерігали через 7 діб від початку експерименту (рис. 3), однак ці зміни були менше виражені ніж при введенні після опіку шкіри 0,9 % розчину NaCl [3].

Через 14 діб після початку експерименту рівень деструкції в клітинах строми та паренхіми кіркової та 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 в вогнищах некрозу була наявна гіпертрофія та гіперплазія фібробластів; а в клітинах клубочкової, пучкової і сітчастої зони кіркової речовини та ендокриноцитах мозкової речовини надниркових залоз дискаріоз, гіпо- і гіперхроматоз були менш виражені. В периваскулярній сполучній тканині кіркової та мозкової речовини надниркових залоз ознаки набряку також менш виражені, ніж у щурів яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3].

Як і при введенні після опіку шкіри 0,9 % розчину NaCl [3], через 21 добу (на відміну від 14-ї) в кірковій та мозковій речовині надниркових залоз частіше зустрічали вогнища гіпертрофії і гіперплазії фібробластів та колагенових волокон, однак ці явища були менше виражені (рис. 5).

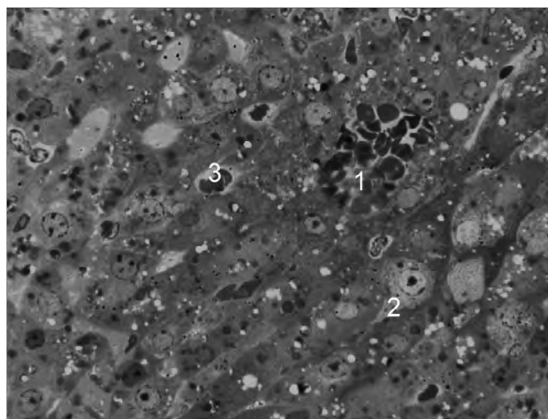


Рис. 3. Фрагмент сітчастої зони кіркової та мозкової речовини надниркових залоз щурів, яким після опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23% поверхні тіла протягом семи діб вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг. Забарвлення метиленовим синім. Об'єктив $\times 40$. Окуляр $\times 10$. Позначення: 1 – вогнищевий некроз кіркових ендокриноцитів; 2 – набряк цитоплазми кіркових ендокриноцитів; 3 – венозне повнокров'я.

Через 30 діб після опікової травми шкіри, у щурів які перші сім діб отримували розчин Лактопротеїну з сорбітолом в сполучній тканині кіркової і мозкової речовини надниркових залоз прояви склерозу менш виражені, ніж у щурів яким після опіку шкіри вводили 0,9 % розчин NaCl [3]. Слід зазначити, що навіть через 30 діб після опікової травми шкіри в кірковій та мозковій речовині надниркових залоз щурів, які отримували розчин Лактопротеїну з сорбітолом відсутня повна компенсація патологічних змін, що спонукало нас провести дослідження впливу інших інфузійних гіперосмолярних розчинів на структуру залоз після опіку шкіри.

Висновки та перспективи подальших розробок.

1. При мікроскопічному дослідженні через 1, 3, 7, 14, 21 та 30 діб після опікової травми шкіри 2-3 ступеня площею

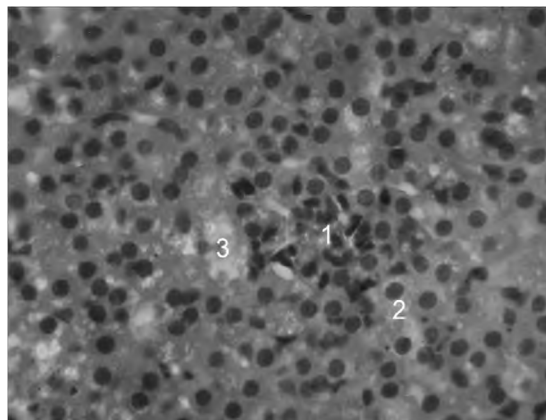


Рис. 4. Фрагмент кіркової речовини надниркових залоз щурів через 14 діб після опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23% поверхні тіла, яким протягом перших семи діб вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг. Забарвлення гематоксилін еозин. Об'єктив $\times 40$. Окуляр $\times 10$. Позначення: 1 – вогнищевий некроз кіркових ендокриноцитів; 2 – набряк цитоплазми кіркових ендокриноцитів; 3 – венозне повнокров'я.

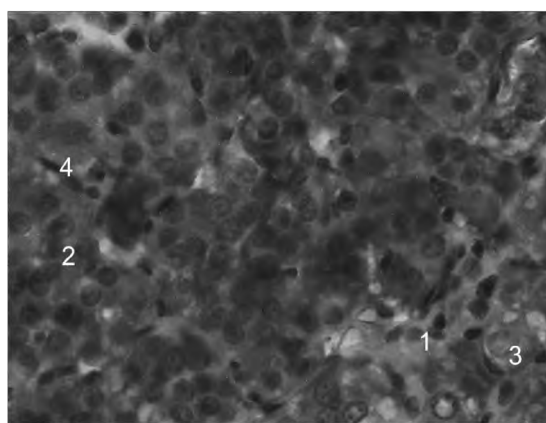


Рис. 5. Фрагмент мозкової речовини надниркових залоз щурів через 21 добу після опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23% поверхні тіла, яким протягом перших семи діб вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг. Забарвлення гематоксилін еозин. Об'єктив $\times 40$. Окуляр $\times 10$. Позначення: 1 – венозне повнокров'я; 2 – сітчаста зона кіркової речовини надниркових залоз; 3 – мозкова речовина надниркових залоз; 4 – проліферація фібробластів в сітчастій зоні кіркової речовини надниркових залоз.

21-23% поверхні тіла у щурів яким перші сім діб вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом у дозі 10 мл на кг в надниркових залозах значно зменшуються деструктивні та дистрофічні зміни в ендокриноцитах клубочкової, пучкової та сітчастої зон кіркової речовини, а також ендокриноцитах мозкової речовини.

2. Порівняно з введенням після опіку шкіри 0,9% розчину NaCl, при введенні розчину Лактопротеїну з сорбітолом зменшуються прояви деструктивних змін в ендотеліоцитах стінок судин кровоносного мікроциркуляторного русла кіркової та мозкової речовини надниркових залоз.

3. Навіть через 30 діб після опікової травми шкіри в кірковій та мозковій речовині надниркових залоз щурів, яким протягом перших семи діб після опіку вводили розчин Лактопротеїну з сорбітолом, відсутня повна компенсація деструктивних змін.

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

Конфлікт інтересів.

Автор заявляє, що не має конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування.

Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

МЕСЯЧНАЯ ДИНАМИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В НАДПОЧЕЧНИКАХ КРЫС ПОСЛЕ ОЖЕГА КОЖИ, КОТОРЫМ ПЕРВЫЕ СЕМЬ ДНЕЙ ВВОДИЛИ РАСТВОР ЛАКТОПРОТЕИНА С СОРБИТОЛОМ

Дзевульская И.В.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Резюме. При микроскопическом исследовании крыс, которым после ожога кожи 2–3 степени площадью 21-23% поверхности тела первые семь дней вводили раствор Лактопротеина с сорбитолом в дозе 10 мл на кг, нарушения микроциркуляции, дистрофические и некробиотические изменения в эндокриноцитах клубочковой, пучковой и сетчатой зон коркового вещества, а также эндокриноцитов мозгового вещества на протяжении 30 дней эксперимента были менее выраженными, нежели у крыс которым после ожога кожи первые семь дней вводили 0,9 % раствор NaCl. Также, в отличие от крыс которым после ожога кожи первые семь дней вводили 0,9 % раствор NaCl, при введении раствора Лактопротеина с сорбитолом через 14 дней после ожога кожи в очагах некроза была выявлена гипертрофия и гиперплазия фибробластов, а через 21 и 30 дней после ожога кожи – в соединительной ткани коркового и мозгового вещества надпочечников проявления склероза были менее выражены.

Ключевые слова: морфология, надпочечники, крысы, ожёг кожи, раствор Лактопротеина с сорбитолом.

ЛІТЕРАТУРА

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. Экстремальные состояния (сборник работ). Под ред. А.И. Воробьева, Н.А. Горбунова. – М.: Бивитек, 2004. – С. 92-102.
3. Дзевульская И.В. Динамика морфологических 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. Лазько А.Е. Структурно-информационный анализ биологических систем: монография / А.Е. Лазько, М.В. Лазько, А.П. Ярошинская. – Астрахань: Астраханский университет, 2007 – 208 с.
5. Ожоговый шок: оптимизация интенсивной терапии / В.К. Гусак, В.П. Шано, Ю.В. Заяц [и др.] // Украинский медицинский часопис. – 2002. – Т. 31, № 5. – С. 84-88.
6. Руководство по интенсивной терапии / Под ред. А.И. Трещинского, Ф.С. Глумчера. – К.: Вища шк., 2004. – 572 с.
7. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / ред. О.В. Стефанов. – Київ: Авіцена, 2001. – 528 с.
8. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли. – М.: Мир, 1975. – 336 с.
9. 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.
10. 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.
11. 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.

MONTHLY DYNAMICS OF HISTOLOGICAL CHANGES IN THE ADRENAL GLANDS OF RATS AFTER SKIN BURNS, WHICH DURING THE FIRST SEVEN DAYS WERE INJECTED SOLUTION LACTOPROTEINS WITH SORBITOL

I. Dzevulska

Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine

Summary. Microscopic study in rats, which after burns of the skin 2–3 degrees 21–23% of the surface area of the body were injected the first seven days Lactoproteinum with sorbitol solution at a dose of 10 ml per kg show that microcirculatory disorders, degenerative and necrobiotic changes in endocrinocytes of glomerular, beam and netted area of cortex and brain substance endocrinocytes within 30 days of the experiment were less pronounced than in rats that after burn skin the first seven days were injected 0.9% NaCl solution. Also, unlike the rats that after burn of skin the first seven days injected 0.9% NaCl solution, the injection of Lactoproteinum with sorbitol solution 14 days after the burn of skin in foci of necrosis was present hypertrophy and hyperplasia of fibroblasts and after 21 and 30 days after skin burn – in the connective tissue of cortical and adrenal medulla manifestations of multiple sclerosis are less pronounced.

Key words: morphology, adrenal gland, rats, skin burns, Lactoproteinum with sorbitol solution.