

УДК 611.018

## ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАДПОЧЕЧНИКА КРЫСЫ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИРУРГИЧЕСКИМ ЛАЗЕРОМ НА ПОЗДНЕМ ЭТАПЕ

**Кемоклидзе К.Г., Александров Ю.К., Дворников М.В., Тюмина Н.А.**

*ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава РФ,  
Ярославль, e-mail: k\_g\_k@mail.ru*

Проведено гистологическое исследование надпочечника крысы после воздействия хирургическим лазером с энергией 71,25 Дж на 21, 28 и 56 сутки. Выяснено, что в указанный период в пораженной части органа наблюдается формирование рубцовой ткани, продолжительная обильная фагоцитарная реакция с участием многоядерных гигантских клеток инородных тел и инкапсуляция нерезорбированных фрагментов лазерного струпа. С 28 суток и до конца наблюдения (56 суток) среди фагоцитов доминируют гигантские многоядерные клетки инородных тел. Выжившая часть надпочечника не демонстрирует гипертрофии, а пораженная его часть подвергается контракции, вследствие этого орган уменьшается в объеме и приобретает форму соответствующую усеченной или равномерно ужатой исходной форме. Продолжительная обильная фагоцитарная активность в пораженной части органа, как мы полагаем, связана с наличием в струпе значительного объема комплексов органических веществ с промежуточной степенью структурной редукции между быстро резорбирующимися коагулированными массами и нерезорбируемым углём. Указанные медленно распадающиеся комплексы и привлекают длительное время множество фагоцитов. В случае выживания хотя бы 1/3 паренхимы морфофункциональное состояние неповрежденной части органа соответствует нормальному, при более обширном поражении выжившие эндокриноциты деградируют, а надпочечник превращается в соединительнотканый узел.

**Ключевые слова:** надпочечник, воздействие лазера на ткань, реакция тканей и органов на фототермическое повреждение

## HISTOLOGICAL PROPERTIES OF RAT ADRENAL GLAND AFTER SURGICAL LASER IMPACT AT A LATER STAGE

**Kemoklidze K.G., Aleksandrov Y.K., Dvornikov M.V., Tiulina N.A.**

*Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl, e-mail: k\_g\_k@mail.ru*

We performed histological study of surgical laser impact with the energy of 71,25 J on rat adrenal gland from day 21 to day 56 after manipulation. During this period in damaged part of the organ we found the formation of scar tissue, long-time intense phagocytic reaction with participation of polynuclear foreign-body giant cells and encapsulation of not resorbed laser scab fragments. Among phagocytes from day 28 to the end of observation (day 56) polynuclear foreign-body giant cells are dominated. Survived part of the adrenal gland did not demonstrate the signs of hypertrophy and its damaged part was contracted. As a result, the volume of the organ was decreases, and organ shape was corresponded to truncated or uniformly shrunked original one. We believe that long-time intense phagocytic activity in damaged part of the organ is related to the presence of significant amount of organic complexes with an intermediate degree of structural reduction between quickly resorbed coagulated masses and not resorbed coal in the scab. This slowly dissociated substance attracts a large amount of phagocytes for a long period of time. In the case of survival of at least one third of the parenchyma, the intact part of the organ has had normal morpho-functional state, more extensive lesions caused degradation of the survived endocrinocytes and the adrenal gland transformed in a connective-tissue node.

**Keywords:** adrenal gland, laser impact on tissue, response of tissues and organs on the photothermal damage

Среди современных технологий локального воздействия на ткань патологического очага лазерная деструкция является наиболее перспективной. В свете расширения показаний для использования лазеров в хирургии особый интерес представляет изучение реакции тканей и органов на лазерную деструкцию [6]. В частности, практически отсутствуют фундаментальные исследования, посвященные изучению реакции надпочечных желез на лазерное повреждение [1, 7] и о восстановительных процессах после него.

**Цель исследования** – изучить гистологическую картину тканей надпочечных желез после воздействия лазерным излучением в хирургическом диапазоне (1020 нм).

Данная работа является продолжением представленных ранее публикаций об изме-

нении ткани надпочечника с момента лазерного повреждения до конца второй недели после него [2, 3] и посвящена ответной реакции в отдаленные сроки – с конца третьей недели до конца второго месяца после воздействия.

### Материал и методы исследования

Объект исследования: 18 лабораторных взрослых белых крыс-самцов линии Wistar массой  $354,4 \pm 18,5$  г. Метод повреждения ткани: лазерное излучение (диодный лазерный аппарат «Лами») со стандартными параметрами (длина волны 1020 нм, мощность излучения 2,5 Вт, световод диаметром 400 мкм, продолжительность импульса 190 мс, интервал 10 мс, количество импульсов 150, суммарная энергия воздействия 71,25 Дж). Под хлороформным наркозом осуществлялась деструкция части левого надпочечника. На 21, 28 и 56 сутки передозировкой

паров эфира производили забой крыс по 6 животных на срок. Контролем послужили 5 интактных крыс той же массы и возрастной группы.

Надпочечник обрабатывали по методу Нопге [8], который позволяет дифференцировать в мозговом веществе надпочечника две основные субпопуляции хромоаффиноцитов – эпинефроциты и норэпинефроциты. Материал фиксировали в 5% глутаровом альдегиде и заливали в парафин. Срезы окрашивали сочетанием бихромата калия и толуидинового синего (норэпинефроциты окрашивались в зелёный, а эпинефроциты в серовато-фиолетовый цвет).

Расчёты и статистическую обработку проводили при помощи программы Microsoft Excel.

### Результаты исследований и их обсуждение

**21 сутки.** Обугленные и карамелизированные ткани (лазерный струп) и остатки

губчатого некроза (результат вапоризации), появившиеся после лазерного воздействия [2], имеют вид бесструктурных фрагментов коричневого цвета разной степени насыщенности. Более мелкие из них окружены отдельными фагоцитами, крупные – многослойными клеточными комплексами. Пространство между этими структурами занято грануляционной тканью с многочисленными фагоцитами, заполненными золотисто-жёлтыми гранулами. Имеются участки зрелой рубцовой ткани (рис. 1).

Среди фагоцитов преобладают одноядерные макрофаги, реже встречаются гигантские многоядерные клетки. Небольшие одноядерные формы фагоцитов и тучные клетки можно обнаружить и в толще неповреждённой части органа (рис. 2).

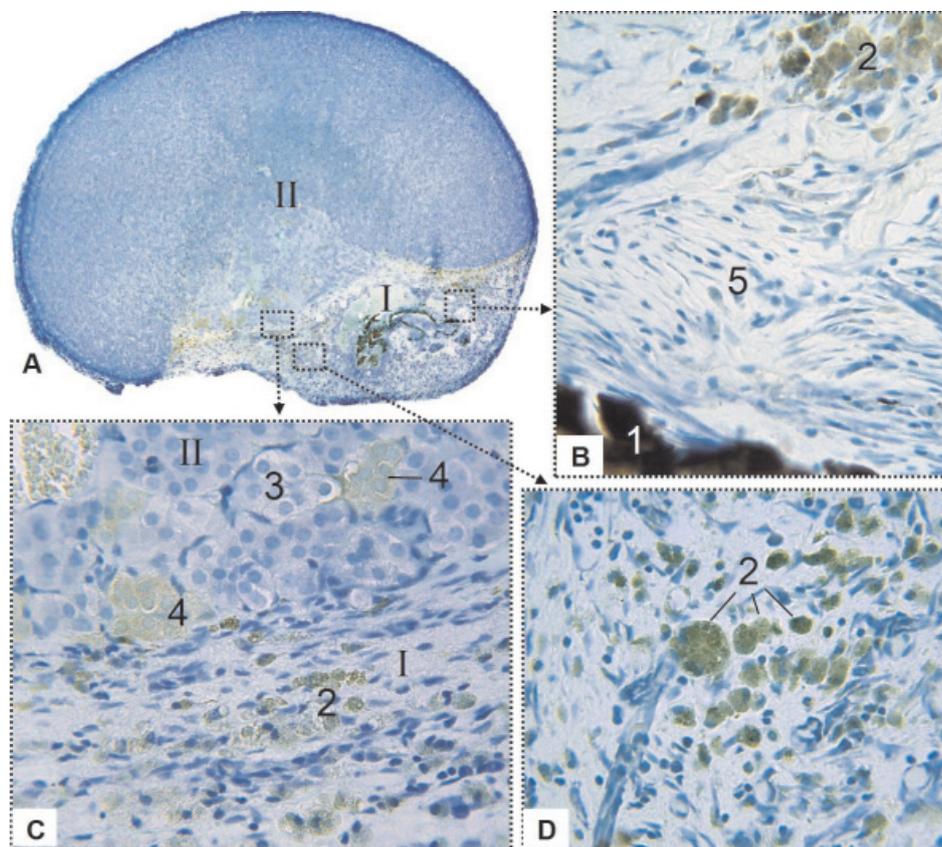


Рис. 1. Надпочечник крысы на 21 сутки после воздействия лазером: I – зона некроза; II – зона выживания; 1 – фрагмент струпа; 2 – фагоциты; 3 – эпинефроциты; 4 – норэпинефроциты; 5 – рубцовая ткань. Фикс. глут. альдегидом., окр. по Нопге. А – Об. 4х, В, С, D, – Об. 40х, фотонасадка 27х

Эндокриноциты и нейроны выжившей части органа имеют нормальную морфологию.

**28 сутки.** Место повреждения подверглось контракции: поражённая часть уменьшилась до размеров половины от выжившей. На границе повреждённой и неповреждённой частей органа, начиная от капсулы, сформировалась зрелая рубцовая

ткань. В центре повреждения определяются плотные фрагменты струпа и кистозные образования, заполненные рыхлыми остатками губчатого некроза, окруженные многослойными клеточными комплексами или отдельными фагоцитами. Грануляционная ткань в равной степени обильно заселена заполненными золотисто-жёлтыми гранулами,

однойдерными макрофагами и гигантскими многоядерными клетками (рис. 3). Мелкие однойдерные фагоциты можно обнаружить по всей выжившей части органа, тучные

клетки многочисленны в капсуле, реже встречаются в толще повреждённой части органа. В неповреждённой части явных следов неблагополучия не наблюдается.

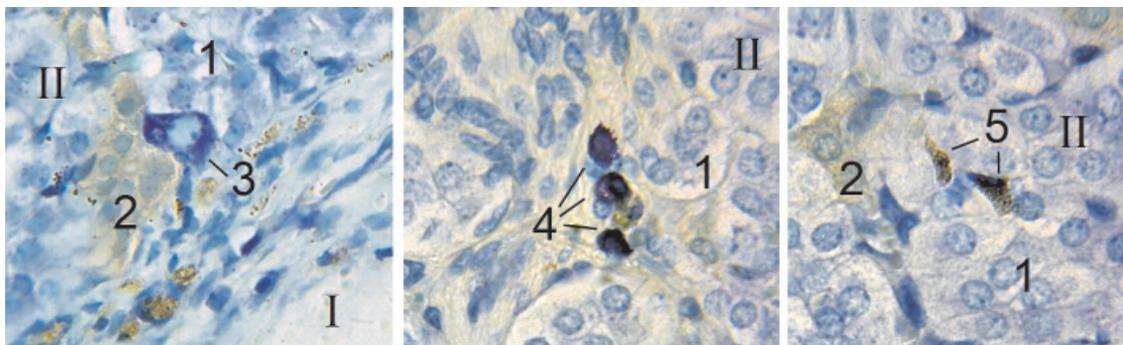


Рис. 2. Надпочечник крысы на 21 сутки после воздействия лазером: I – зона некроза; II – зона выживания; 1 – эпинефроциты; 2 – норэпинефроциты; 3 – нейрон; 4 – тучные клетки; 5 – однойдерные макрофаги. Фикс. глут. альдегидом., окр. по Нопоре. Об. 40х, фотонасадка 27х

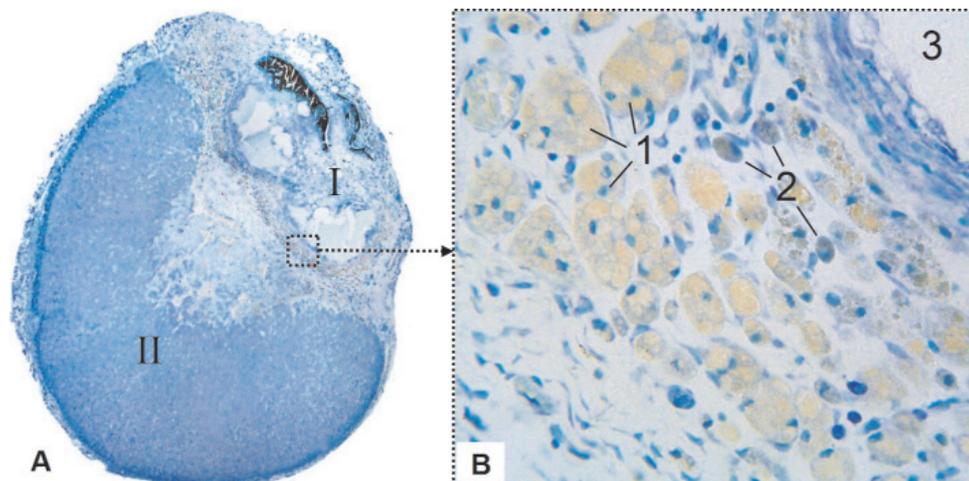


Рис. 3. Надпочечник крысы на 28 сутки после воздействия лазером: I – зона некроза; II – зона выживания; 1 – гигантские многоядерные клетки; 2 – однойдерные макрофаги; 3 – полость кисты. Фикс. глут. альдегидом., окр. по Нопоре. А – Об. 4х, В – Об. 40х, фотонасадка 27х

**56 суток.** В целом гистологическая картина показывает плавное развитие начавшихся ранее процессов. Место повреждения ещё более стянуто рубцовой тканью. В ней залегают остатки струпа, имеющие вид инкапсулированных светло-коричневых глыб, окружённых в основном гигантскими многоядерными клетками. Кисты с рыхлыми остатками губчатого некроза исчезли. Как и на 28 суток отдельные мелкие однойдерные фагоциты можно обнаружить между эндокриноцитами по всей выжившей части органа, а тучные клетки находятся в капсуле или, реже, в повреждённой части.

Неповреждённая часть надпочечника имеет гистологическую структуру, соответствующую нормальной: в корковом веществе

различимы клубочковая, пучковая и сетчатая зоны, в клетках гранулы секрета, в мозговом веществе эндокриноциты показывают полноценную хромаффинную реакцию, нор- и эпинефроциты хорошо дифференцируются.

Так как неповреждённая часть сохранила прежние пропорции, а повреждённая ужалась, орган приобрёл форму усечённого эллипса. Мозговое вещество оказалось окруженным корковым только с трёх сторон, а с четвёртой ограничено рубцовой тканью, плавно переходящей в капсулу (рис. 4). Объём надпочечника в данную контрольную точку составил  $3,1 \pm 0,5 \text{ мм}^3$ , что соответствует 30% объёма от исходного в  $10,0 \pm 2,5 \text{ мм}^3$  в день повреждения и от нормы для данного возраста ( $p < 0,01$ ).

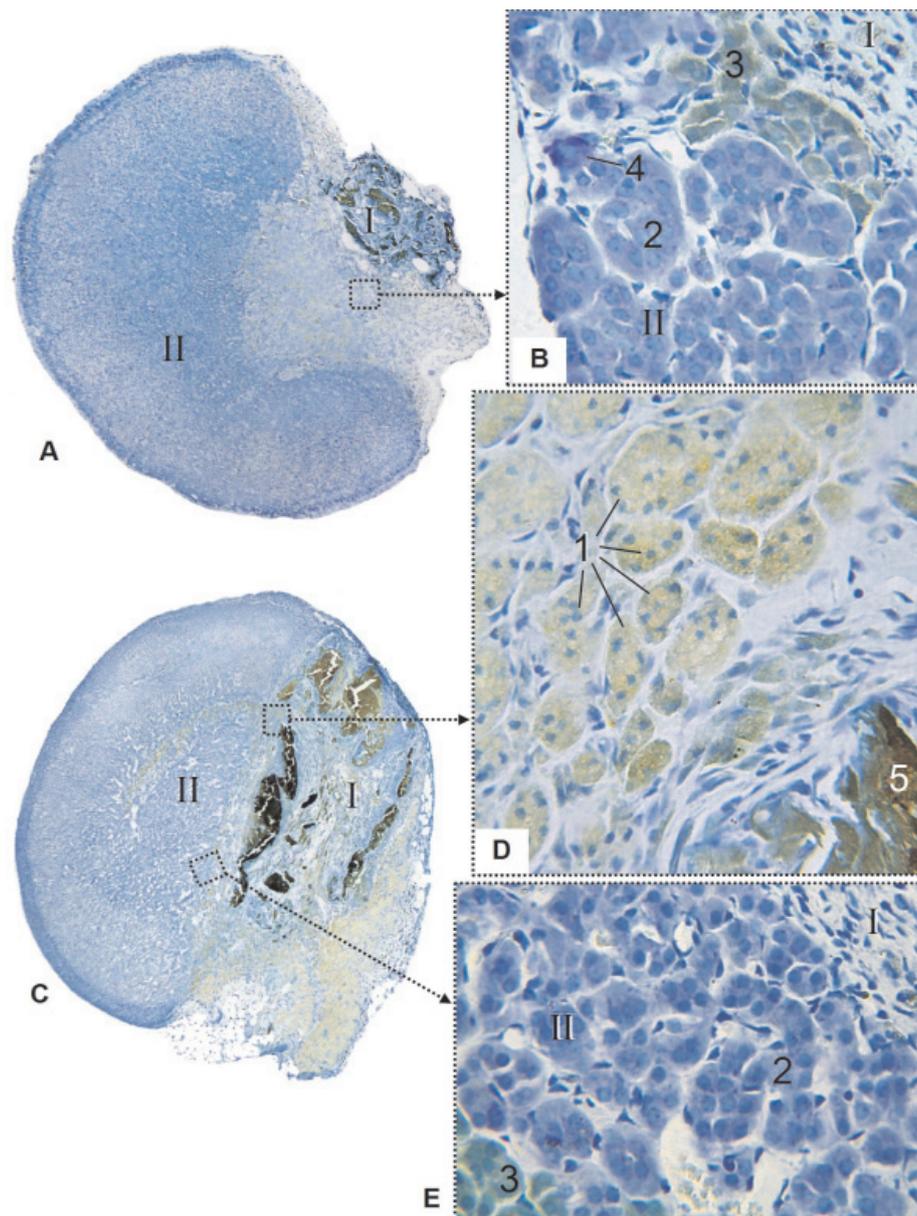
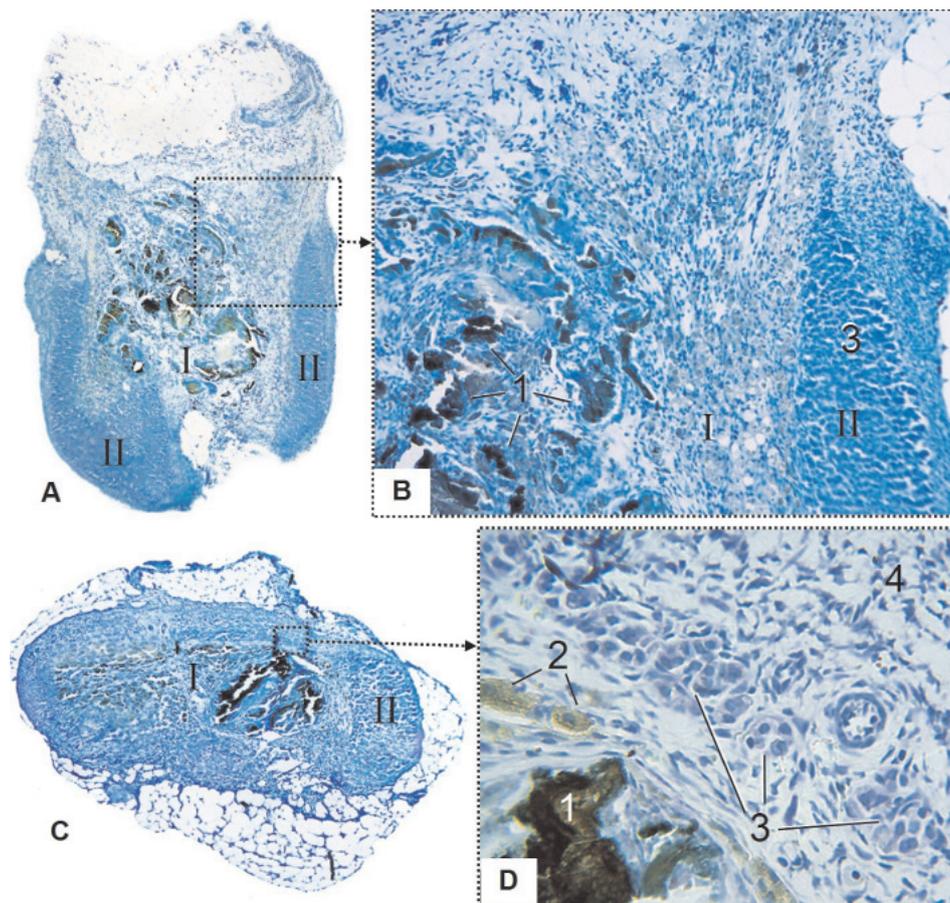


Рис. 4. Надпочечник крысы на 56 сутки после воздействия лазером:  
 I – зона некроза; II – зона выживания; 1 – гигантские многоядерные клетки; 2 – эпинефроциты;  
 3 – норэпинефроциты; 4 – нейрон; 5 – фрагмент струпа. Фикс. глут. альдегидом, окр. по Нопоре.  
 А, С – Об. 4х, D, E – Об. 40х, фотонасадка 27х

В половине случаев всех изученных сроков повреждённый надпочечник представляет собой состоящий преимущественно из волокнистой соединительной ткани узел эллиптической формы размером  $1,4 \pm 1,1 \text{ мм}^3$ , составляющий лишь около 10% объёма органа в день повреждения и от нормы для данного возраста ( $p < 0,01$ ). Центральная его часть содержит инкапсулированные фрагменты лазерного струпа и многочисленные фагоциты, в том числе гигантские многоядерные клетки, капсула утолщена, мозговые эндокриноциты отсутствуют, корковые сохранились лишь на периферии органа в виде

уплощенных скоплений или островков без зональной дифференцировки (рис. 5).

Развитие событий в месте лазерного повреждения в поздние сроки укладывается в известную схему восстановления после аналогичного воздействия для других паренхиматозных органов. В частности, это продолжительная макрофагальная реакция, интенсивная пролиферация соединительнотканых элементов, участие многоядерных гигантских клеток инородных тел в резорбции некротизированной ткани, образование рубца и постепенная инкапсуляция струпа [4, 5, 9].



*Рис. 5. Надпочечник крысы после воздействия лазером: А, В – на 28 сутки; С, D – на 56 сутки; I – зона некроза; II – зона выживания; 1 – фрагменты струпа; 2 – фагоциты; 3 – корковые эндокриноциты; 4 – капсула органа. Фикс. глут. альдегидом., окр. по Нопоре. А, С – Об. 4х, В, D – Об. 40х, фотонасадка 27х*

Появление многоядерных гигантских клеток инородных тел и их участие в резорбции некротизированных масс является характерной чертой лазерного поражения [5]. В качестве инородных тел, стимулирующих появление этих клеток, выступают глыбы угля, массивность, химическая инертность и нерастворимость которых препятствуют их резорбции. В результате они инкапсулируются и сохраняются в органе, очевидно, пожизненно. Однако это не объясняет длительную обильную макрофагальную реакцию, так как замаскированные капсулами инородные частицы не привлекают иммунные клетки. Считается, что интенсивная и продолжительная макрофагальная реакция в лазерных ранах связана с длительной сохранностью коагулированных тканей [4]. На наш взгляд, в качестве причины этого явления следует добавить также наличие в струпе значительного объёма комплексов органических веществ с промежуточной степенью структурной редукции между коагуляцией (денатурацией) и превращением в уголь. Эти комплексы

образуют внутренний слой лазерного струпа и, вследствие карамелизации сахаров, имеют золотисто-жёлтую окраску. Переход между обугленными, карамелизованными и только коагулированными органическими массами плавный, соответствует падению интенсивности лазерного воздействия от точки приложения к периферии. Так как слабо редуцированные комплексы органических веществ легко разрушаются иммунными клетками и быстро удаляются, а уголь, спёкшийся в глыбы и плохо резорбирующийся, подвергается инкапсуляции, логично было бы ожидать, что в поздние сроки должно было наступить угасание активности фагоцитов. Но так как карамелизованные массы хоть и не настолько легко удаляются как коагулированные, они и не столь инертны как уголь и продолжают медленно распадаться, что длительное время привлекает множество фагоцитов, которые постепенно оккупируют всю поражённую часть органа, наполняются золотисто-жёлтыми гранулами и сливаются в гигантские многоядерные клетки. До 14 суток фагоци-

ты представлены в основном одноядерными формами [3], начиная с 28 суток и до конца наблюдения в 56 суток доминируют гигантские многоядерные клетки. По мере возможности карамелизированные массы уносятся макрофагами из зоны поражения, поэтому после 21 суток наиболее подвижные из них можно встретить в толще неповреждённой части органа далеко за пределами зоны поражения. Наполнение макрофагов вплоть до конца наблюдения именно золотисто-жёлтым содержимым структурно и тинкториально идентичным карамелизированным массам явно свидетельствует в пользу сказанного.

Картина фрагментирования и почти полной деградаци паренхимы и превращение органа фактически в соединительнотканый узел связано, очевидно, с тем, что вследствие небольшого размера надпочечника у крыс при использованных параметрах лазерного воздействия произошёл перегрев и повреждение всего объёма органа за исключением периферических участков. Распределение температуры в органе зависит и от специфики перфузии в органе [4, 10], а в мозговом веществе присутствуют объёмные венозные синусы.

Значительное уменьшение объёма органа и преобразование его анатомических пропорций в вид соответствующий усечённой или равномерно ужатой исходной форме свидетельствует не только о сильной контракции поражённой части, но и отсуствии восстановительной гипертрофии выжившей паренхимы.

### Выводы

1. В ответ на лазерное повреждение в надпочечнике с 21 по 56 сутки наблюдается формирование рубцовой ткани, продолжительная обильная фагоцитарная реакция с участием многоядерных гигантских клеток и инкапсуляция нерезорбированных фрагментов струпа.

2. Поражённая часть органа подвергается контракции.

3. Выжившая часть надпочечника не демонстрирует гипертрофии.

4. В случае выживания хотя бы 1/3 паренхимы её морфофункциональное состояние соответствует нормальному, при более обширном поражении эндокриноциты деградируют, а надпочечник превращается в соединительнотканый узел.

### Список литературы

1. Гамбарин Б.Л., Хамидов Р.И., Хорошаев В.А., Постолов А.М. Лазерная резекция надпочечника // Клиническая хирургия. – 1988. – № 12. – С. 33–35.
2. Кемоклидзе К.Г., Тюмина Н.А. Гистологическая характеристика надпочечника крысы после воздействия хирургическим лазером // Фундаментальные исследования. – 2013. – Т. 8. – Ч. 4. – С. 886–891.

3. Кемоклидзе К.Г., Тюмина Н.А. Гистологическая характеристика надпочечника крысы после воздействия хирургическим лазером на среднесрочном этапе // Фундаментальные исследования. – 2013. – Т. 10. – Ч. 5. – С. 1084–1089.

4. Елисеенко В.И., Пархоменко Ю.Г. Патогенетические механизмы взаимодействия лазерного излучения с биологическими тканями // Лазеры в хирургии / под ред. О.К. Скобелкина. – М.: Медицина, 1989. – С. 44–49.

5. Пархоменко Ю. Г. Морфология репаративных процессов после операции на паренхиматозных органах // Лазеры в хирургии / под ред. О.К. Скобелкина. – М.: Медицина, 1989. – С. 119–128.

6. Welch A.J., van Gemert M.J.C. Overview of optical and thermal laser-tissue interaction and nomenclature // Optical-thermal response of laser-irradiated tissue / Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. – 2nd ed. – Dordrecht [etc.]: Springer, 2011. – Ch. 1. – P. 3–11.

7. Vogl T.J., Lehnert T., Eichler K., Proschek D., Flöter J., Mack M.G. Adrenal metastases: CT-guided and MR-thermometry-controlled laser-induced interstitial thermotherapy // Eur. Radiol. – 2007. – Vol. 17. – P. 2020–2027.

8. Honore L.H. A light microscopic method for the differentiation of noradrenaline and adrenaline producing cells of the rat adrenal medulla // J.Histochem. and Cytochem. – 1972. – Vol. 19. – № 8. – P. 483–486.

9. Thomsen S., Pearce J.A. Thermal Damage and Rate Processes in Biologic Tissues // Optical-thermal response of laser-irradiated tissue / Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. – 2nd ed. – Dordrecht [etc.]: Springer, 2011. – Ch. 13. – P. 487–549.

10. Valvano J.W. Tissue Thermal Properties and Perfusion // Optical-thermal response of laser-irradiated tissue / Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. – 2nd ed. – Dordrecht [etc.]: Springer, 2011. – Ch. 12. – P. 455–485.

### References

1. Gambarin B.L., Hamidov R.I., Horoshaev V.A., Postolov A.M., *Klinicheskaya Hirurgiya*, 12 (1988), pp. 33–35.
2. Kemoklidze K.G., Tiumina N.A., *Fundamentalnie issledovaniya*, 8.4 (2013), pp. 886–891.
3. Kemoklidze K.G., Tiumina N.A. *Fundamentalnie issledovaniya*, 10.5 (2013), pp. 1084–1089.
4. Eliseenko V.I., Parhomenko Yu.G., Patogeneticheskie Mehanizmy Vzaimodejstviya Lazernogo Izlucheniya s Biologicheskimi Tkanyami [Pathogenetic Mechanisms of Laser Radiation Interaction with Biological Tissues]. *Lazery v Hirurgii [Lasers in Surgery]*. Ed. Skobelkin O.K. Moscow, Medicina, 1989, pp. 44–49.
5. Parhomenko Yu.G., Morfologiya Reparativnyh Processov Posle Operacii na Parenhimatoznyh Organah [Reparative Processes Morphology after Surgery on Parenchymal Organs]. *Lazery v Hirurgii [Lasers in Surgery]*. Ed. Skobelkin O.K. Moscow, Medicina, 1989, pp. 119–128.
6. Welch A.J., van Gemert M.J.C., Overview of Optical and Thermal Laser-tissue Interaction and Nomenclature. *Optical-thermal Response of Laser-irradiated Tissue*. Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. 2nd ed. Dordrecht Etc., Springer, 2011, pp. 3–11.
7. Vogl T.J., Lehnert T., Eichler K., Proschek D., Flöter J., Mack M.G., *Eur. Radiol.*, 17 (2007), pp. 2020–7.
8. Honore L.H., *J.Histochem. and Cytochem.*, 19.8 (1972), pp. 483–486.
9. Thomsen S., Pearce J.A. Thermal Damage and Rate Processes in Biologic Tissues. *Optical-thermal Response of Laser-irradiated Tissue*. Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. 2nd ed. Dordrecht Etc., Springer, 2011, pp. 487–549.
10. Valvano J.W. Tissue Thermal Properties and Perfusion. *Optical-thermal Response of Laser-irradiated Tissue*. Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. 2nd ed. Dordrecht Etc., Springer, 2011, pp. 455–485.

### Рецензенты:

Гансбургский А.Н., д.м.н., профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, г. Ярославль;

Хорев А.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии, ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава РФ г. Ярославль.

Работа поступила в редакцию 05.12.2013.