УДК 611.018

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАДПОЧЕЧНИКА КРЫСЫ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИРУРГИЧЕСКИМ ЛАЗЕРОМ НА СРЕДНЕСРОЧНОМ ЭТАПЕ

Кемоклидзе К.Г., 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 среднесрочном этапе (с 5 по 14 сутки). Выяснено, что в указанный срок в пораженной части органа наблюдается формирование и созревание грануляционной ткани, тесно связанной с капсулой органа, значительная кровяная экссудация и отёк (наибольший на 7 сутки), обильное заселение фибробластами, полиморфноядерными лейкоцитами и фагоцитами (в большей степени одноядерными макрофагами, в меньшей - многоядерными гигантскими клетками). Абляционная каверна деформируется и зарастает грануляционной тканью. Струп и зона губчатого некроза фрагментируются. К 7 суткам в струпе сохраняется только светлоокрашенная внутренняя его часть, что, очевидно, связано с тем, что темноокрашенная обугленная поверхность струпа более ломкая и под действием разрастающейся грануляционной ткани крошится и отслаивается от более пластичной внутренней части, прочно связанной с нижележащими слоями. Ярко выраженная экссудация компонентами крови в поражённой части надпочечника, нехарактерная при лазерном повреждении других паренхиматозных органов, предположительно, объясняется исключительно богатым кровоснабжением надпочечника. Выжившая часть паренхимы надпочечника имеет нормальную морфологию, относительно стабильна весь период наблюдения, при этом граница некроз/ выживание контрастируется. На 5 сутки в зоне некроза, примыкающей к неповреждённой части, встречаются отдельные выжившие и изолированные от своей популяции эндокриноциты, к 7 суткам они исчезают. Можно предположить, что эти клетки ранее были смертельно повреждены и затем медленно угасли, и/ или губительную роль для них сыграло лишение родного микроокружения, необходимого для нормального функционирования и жизнеспособности. В половине случаев применённая стандартная для лазерной хирургии эндокринных желёз энергия воздействия поражает всю паренхиму надпочечника (предположительно, вследствие его малых размеров) и приводит к массивной инфильтрации лейкоцитами и заполнению грануляционной тканью всего органа.

Ключевые слова: надпочечник, воздействие лазера на ткань, устойчивость клеток к фототермическому повреждению

HISTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE RAT ADRENAL GLAND AFTER SURGICAL LASER IMPACT AT MIDPOINT STAGE

Kemoklidze K.G., Tiumina 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 within two weeks after manipulation. In the damaged part of the organ, we found formation and maturation of granulation tissue, significant blood components exudation and edema (maximum at the day 7), we also noted large amount of fibroblasts, polymorphonuclear leukocytes and phagocytes (mainly mononuclear macrophages and in a lesser extent multinuclear giant cells). The ablation cavity was deformed, the scab and vaporization zone were surrounded by the granulation tissue and fragmented. Aforementioned exudation is uncommon for laser damage of other parenchymal organs, we assume that it takes place due to exceptionally rich blood supply to the adrenal gland. Survived part of the adrenal gland parenchyma had the normal morphology and was relatively stable for the entire period of observation. Notably, the border between necrosis and survived zones became sharper in the time course of two weeks. At the day 5, in necrosis area adjacent to undamaged part of the organ, there were survived solitary and isolated from their population endocrinocytes, they disappeared to the day 7. We assume that these cells were previously damaged and/or the isolation from their native enviroment was destructive. In 50% of cases, applied laser impact energy damaged the entire adrenal gland parenchyma (presumably due to its small size) and leaded to massive infiltration of leukocytes and the total filling of the organ with granulation tissue.

Keywords: adrenal gland, laser impact on tissue, resistance of cells to photothermal damage

Успехи лазерной хирургии обусловили широкое применение лазеров в современной клинической практике, что, однако, входит в противоречие с отставанием в области фундаментальных исследований реакции тканей и органов на лазерное повреждение, считающейся до сих пор недостаточно изученной [5]. Это особенно справедливо в отношении такого своеобразного, трудного для изучения и вместе с тем важного компонента эндокринной системы, как надпочечник, применение лазера для резекции которого [1, 6] осуществляется на фоне весьма далёкой от полноты картины его ответа на данный вид повреждения.

Для заполнения выявленного пробела мы поставили цель изучить гистологическую картину состояния надпочечника после воздействия хирургическим лазером. Ранее нами уже было представлено описание гистологической картины непосредственно после повреждения лазером

этого органа и спустя сутки [2]. Настоящее исследование развивает затронутую тему и посвящено динамике последующих восстановительных процессов в надпочечнике в средние сроки – с конца первой до конца второй недели после лазерной деструкции.

Материал и методы исследования

Объектом исследования послужили 14 лабораторных белых крыс-самцов линии Wistar массой 348 ± 30 г., у которых с помощью аппарата «Лами» лучом диодного лазера со стандартными для эндокринных желёз 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 эфирным наркозом осуществлялась деструкция части левого надпочечника. На 5 и 7 сутки передозировкой паров эфира производили забой крыс по 7 животных на срок.

Надпочечник обрабатывали по методу Нопоге [7], который позволяет дифференцировать в мозговом веществе надпочечника две основные субпопуляции хромаффиноцитов – эпинефроциты и норэпинефроциты. Согласно этому методу материал фиксировали в 5% глутаровом альдегиде, заливали в парафин, а срезы окрашивали сочетанием бихромата калия и толуидинового синего. В результате норэпинефроциты окрашивались в зелёный, а эпинефроциты – в серовато-фиолетовый цвет.

Результаты исследований и их обсуждение

5 сутки. Абляционная каверна, образовавшаяся на месте воздействия лазерного луча [2], заполнена экссудатом компонентами крови и зреющей грануляционной тканью, тесно связанной с капсулой, откуда активно мигрируют фибробласты и тучные клетки, прорастают кровеносные сосуды (рис. 1).



Рис. 1. Надпочечник крысы на 5 сутки после воздействия лазером. * – абляционная каверна: I – зона некроза; II – зона выживания; лазером:

1 – капсула; 2 – фибробласты; 3 – экссудат; 4 – тучные клетки, 5 – струп; ---- – область, представленная на Рис.2. Фикс. глут. альдегидом, окр. по Honore. A – Об. 4x, B – Об. 40x, фотонасадка 27x

Струп, покрывающий края каверны, представлен карамелизированной жёлто-коричневой массой, светлеющей до золотистой по мере удаления от края повреждения. Располагающаяся под струпом зона губчатого некроза изменила свой вид по сравнению с описанным ранее в первые сутки после лазерного воздействия [2]. Наружный и внутренний его слои уже не имеют четкой границы между собой, обе сильно деструктурированы – полностью утратили черты клеточного строения и слабо воспринимают красители. Зона компактного некроза слабо прокрашивается, имеет начальные признаки набухания и резко отграничивается от выжившей части органа. Очертания этой зоны лишь приблизительно повторяют очертания края каверны и её ширина, измеренная от края каверны до выжившей ткани, составляет 1-2 мм.

В толще некротизированной части органа разбросан разнородный некротический детрит, полиморфноядерные лейкоциты и фибробласты, присутствует экссудат компонентами крови. Наибольшая концентрация лейкоцитов и фибробластов обнаруживается в пограничной с зоной выживания области, здесь же наиболее выражено образование новых сосудов. В этой области из-

редка встречаются эндокриноциты, оказавшиеся изолированными от основной массы клеток своей популяции и имеющие ядра неправильной формы.

В выжившей части органа эндокриноциты и нейроны хорошо прокрашиваются и имеют нормальный вид. Эпинефроциты и норэпинефроциты мозгового вещества отчётливо дифференцируются (рис. 2). В толще выживших эндокриноцитов можно встретить клетки с пикнотизированными ядрами, но вне связи с границей повреждения.



Рис. 2. Граница некроза и выживания в надпочечнике крысы на 5 сутки после воздействия лазером: I – зона некроза; II – зона выживания; 1 – эпинефроциты; 2 – норэпинефроциты; 3 — эндокриноциты сетчатой зоны коры; 4 — фибробласты; 5 — лейкоциты; 6 — новые сосуды; 7 – нейрон; 8 – экссудат. Фикс. глут. альдегидом, окр. по Нопоге. Об.4х., фотонасадка 27х

7 сутки. Струп, в котором сохранилась только светлоокрашенная часть, начал фрагментироваться. Поражённая часть резко отекает и увеличивается в размерах. Всю полость абляционной каверны заполняет грануляционная ткань (рис. 3). Активное формирование грануляционной ткани происходит в зоне некроза, где останки погибших клеток фактически распались, а на их месте разбросаны заполненные гранулами золотисто-жёлтого цвета фагоциты, фибробласты и лейкоциты. Более сосредоточенно эти клетки располагаются на границе зоны выживания, при этом фибробласты имеют вытянутую форму и ориентированы в основном вдоль неё. Выжившие эндокриноциты и нейроны имеют нормальный вид. Хромаффиноциты отчётливо дифференцируются (рис. 4). Как и на 5 сутки, в зоне выживания продолжают встречаться погибшие эндокриноциты с пикнотизированными ядрами, но вне связи с границей повреждения.

14 сутки. Отёчность и размеры поражённой части уменьшилась. На месте абляционной каверны располагаются распавшиеся на фрагменты струп и губчатая зона некроза, окруженные грануляционной тканью. Зона некроза густо оккупирована одноядерными макрофагами и в меньшей степени гигантскими многоядерными клетками, которые образуют мощный пласт в ее срединной части. Фагоциты заполнены гранулами, идентичными по окрашиванию и консистенции остаткам струпа или губчатых некротических масс. Выжившие эндокриноциты неотличимы от нормальных. Граница зоны выживания и некроза стала более контрастной, чем в первую неделю после воздействия: по одну сторону нет остатков погибших эндокриноцитов, по другую - изолированных выживших (рис. 5).

Наблюдаемые в надпочечнике процессы в ответ на лазерное повреждение с конца первой до конца второй недели после воздействия в целом соответствуют схеме восстановления после аналогичного воздействия, описанного для других паренхиматозных органов, особенно для печени [3, 4, 8], за исключением ярко выраженной экссудации. Можно предположить, что причина такого отличия кроется в исключительно богатом кровоснабжении надпочечника, относительная величина кровотока в котором одна из самых высоких в организме и превосходит таковую в поджелудочной железе и печени в 2-2,5 раза [9, 10].

FUNDAMENTAL RESEARCH №10. 2013



Рис. 3. Надпочечник крысы на 7 сутки после воздействия лазером. * – абляционная каверна: I – зона некроза; II – зона выживания; I – струп; 2 – зрелая грануляционная ткань; ↔ – отёк; --- область, представленная на Рис.4. Фикс. глут. альдегидом., окр. по Honore. A – Об. 4x, B – Об. 40x, фотонасадка 27



Рис. 4. Надпочечник крысы на 7 сутки после воздействия лазером: I – зона некроза; II – зона выживания; I – эпинефроциты; 2 – норэпинефроциты; 3 – эндокриноциты сетчатой зоны коры; 4 – фибробласты; 5 – фагоциты; 6 – полиморфноядерные лейкоциты. Фикс. глут. альдегидом, окр. по Нопоге. A - Oб. 10x, B - Oб. 40x, фотонасадка 27x

Следует также отметить тесную связь развивающейся грануляционной ткани с капсулой надпочечника как не только наиболее массивным, но и наименее пораженным соединительно тканным элементом органа.



Рис. 5. Надпочечник крысы на 14 сутки после воздействия лазером. * – место воздействия: I – зона некроза; II – зона выживания; 1 – фрагменты струпа в зрелой грануляционной ткани; 2 – пласт фагоцитов; 3 – гигантские многоядерные клетки; 4 – одноядерные макрофаги; 5 – норэпинефроциты; 6 – эпинефроциты. Фикс. глут. альдегидом., окр. по Honore. A – Oб. 4x, B – Oб. 40x, фотонасадка 27x

Обнаружение на 7 сутки в струпе только светлоокрашенной внутренней части, очевидно, связано с тем, что более ломкая темноокрашенная обугленная поверхность струпа под действием разрастающейся грануляционной ткани крошится и отслаивается от более пластичной внутренней его части, прочно связанной с нижележащими слоями.

Несовпадение очертаний края каверны и зоны поражения, вероятно, объясняется асимметрией сосудистой сети надпочечника и его формой, так как распределение температуры в органе зависит не только от особенностей лазера (тип, мощность излучения, частота импульсов и др.) и природы облучаемых тканей (однородность, теплопроводность и т.п.), но и специфики перфузии в ней крови и кривизны поверхности, принимающей воздействие [3, 11].

Обращает на себя внимание, что в зоне выживания эндокриноциты интегрированные друг с другом как в интактном органе внешне нормальны и относительно стабильны весь период наблюдения. В то время как эндокриноциты, выжившие в пограничной зоне некроза и изолированные от своей популяции, многочисленные на 1 сутки [2] и изредка встречающиеся на 5 сутки, к 7 суткам исчезают. Можно предположить, что эти клетки ранее были смертельно повреждены и затем медленно угасли, и/или губительную роль для них сыграло лишение родного микроокружения, необходимого для нормального функционирования и жизнеспособности.

В половине случаев всех сроков некроз занимает весь объём органа кроме капсулы и узкой подкапсулярной зоны. В этих случаях наблюдается массивная инфильтрация лейкоцитами и последующее заполнение грануляционной тканью всего объёма органа. Данный вариант развития событий подтверждает справедливость утверждения, что применённое воздействие со стандартными для эндокринных желёз параметрами вследствие малых размеров надпочечника крысы приводят к избыточному перегреву и поражению у части органов всего их объёма, за исключением самой периферической области (капсулы) [2]. Орган после этого, очевидно, идёт по пути полной морфофункциональной дегенерации.

Выводы

1. При частичном поражении лазером паренхимы эндокриноциты, интегрированные в неповреждённой части, имеют нормальную морфологию и относительно стабильны весь период наблюдения.

2. Эндокриноциты, выжившие в пограничной области и оказавшиеся изолированными от клеток своей популяции, имеют аномальный вид и к 7 суткам исчезают.

3. В повреждённой части наблюдается формирование и созревание грануляционной ткани, выраженная экссудация компонентами крови и отёк (наибольший на 7 сутки), обильное заселение полиморфноядерными лейкоцитами и фагоцитами (в большей степени мононуклеарными макрофагами, в меньшей – многоядерными гигантскими клетками), образующими к 14 суткам мощный пласт вдоль границы с зоной выживания. Абляционная каверна деформируется и зарастает грануляционной тканью, её краевая зона, образованная струпом и слоем губчатого некроза, распадается на фрагменты.

4. Лазерное поражение всей паренхимы надпочечника приводит к массивной инфильтрации лейкоцитами и заполнению грануляционной тканью всего объёма органа.

Список литературы

1. Лазерная резекция надпочечника / Б.Л. Гамбарин, Р.И. Хамидов, В.А. Хорошаев, А.М. Постолов // 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. 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.

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

5. Welch A.J., van Gemert M.J.C. Overview of optical and thermal laser-tissue interaction and nomenclature // Opticalthermal 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.

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

7. 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

8. 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.

9. Daemen M.J., Thijssen H.H., van Essen H., Vervoort-Peters H.T., Prinzen F.W., Struyker Boudier H.A., Smits J.F. Liver blood flow measurement in the rat. The electromagnetic

versus the microsphere and the clearance methods // J. Pharmacol. Methods. - 1989. - Vol. 21. - Is.4. - P. 287-297.

10. Sparrow R.A., Coupland R.E. Blood flow to the adrenal gland of the rat: its distribution between the cortex and the medulla before and after haemorrhage // J. Anat. -1987. -Vol. 155. – P. 51–61.

11. 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): 33-35.

2. Kemoklidze K.G., Tiumina N.A. Fundamentalnie issledovania, 8.4 (2013): 886-891.

3. Eliseenko V.I., Parhomenko Yu.G. Patogeneticheskie Mehanizmy Vzaimodejstviya Lazernogo Izlucheniya s Biologicheskimi Tkanvami [Pathogenetic Mechanisms of Laser Radiation Interaction with Biological Tissues]. Lazery v Hirurgii [Lasers in Surgery]. Ed. Skobelkin O.K. Moscow: Medicina, 1989.44-49

4. 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. 119-128.

5. Welch A.J., van Gemert M.J.C. Overview of Optical and Thermal Laser-tissue Interaction and Nomenclature. Opticalthermal Response of Laser-irradiated Tissue. Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. 2nd ed. Dordrecht Etc.: Springer, 2011. 3-11.

6. Vogl T.J., Lehnert T., Eichler K., Proschek D., Flöter J., Mack M.G. Eur. Radiol., 17 (2007): 2020-7.

7. Honore L.H. J.Histochem. and Cytochem., 19.8 (1972): 483-486

8. Thomsen S., Pearce J.A. Thermal Damage and Rate Processes in Biologic Tissues Optical-thermal Response of Laserirradiated Tissue. Ed. Welch A.J., Van Gemert M.J.C. 2nd ed. Dordrecht Etc.: Springer, 2011. 487-549.

9. Daemen M.J., Thijssen H.H., van Essen H., Vervoort-Peters H.T., Prinzen F.W., Struyker Boudier H.A., Smits J.F. J. Pharmacol. Methods., 21.4 (1989): 287–297.

10. Sparrow R.A., Coupland R.E. J. Anat., 15 (1987): 51-61

11. 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. 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;

Михайлов В.П., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии, ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, г. Ярославль.

Работа поступила в редакцию 16.09.2013.