

РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В НАДПОЧЕЧНИКАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАСПРОСТРАНЕННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ

В. А. Косинец¹, Д. Н. Федотов²

В эксперименте на кроликах-самцах породы Шиншилла с помощью световой микроскопии изучены структурные изменения в надпочечниках при экспериментальном распространенном гнойном перитоните. Введение в брюшную полость аэробно-анаэробной культуры *E. Coli* и *B. fragilis* вызывает через 6 ч выраженные структурные перестройки в паренхиме надпочечников. Установлено, что применение цитофлавина, содержащего янтарную кислоту, и неотона, содержащего креатинфосфат, препятствует развитию патологических структурных изменений надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

Ключевые слова: распространенный гнойный перитонит, надпочечники, цитофлавин, неотон

ВВЕДЕНИЕ

Надпочечники играют важную роль в поддержании гомеостаза организма. Воспаление сопровождается гиперактивацией симпатно-адреналовой системы с увеличением продукции глюкокортикоидов, направленным на предотвращение генерализации воспалительного процесса [7, 10]. При синдроме системной воспалительной реакции возможно развитие относительной надпочечниковой недостаточности со сниженным выбросом кортизола в ответ на введение адренкортикотропного гормона (АКТГ) [8, 9]. Особо тяжелые формы сепсиса могут приводить к формированию синдрома Уотерхауза-Фридериксена, который характеризуется кровоизлияниями в ткань надпочечника и высоким уровнем летальных исходов [5, 6].

Одной из причин кровоизлияний может быть низкий уровень холестерина в надпочечниках вследствие изменения состояния липид-транспортной системы (ЛТС) крови. Холестерол — предшественник глюкокортикоидов, а также важный структурный компонент биологических мембран, что обуславливает высокую потребность в нем в условиях генерализованного воспалительного процесса [3].

Янтарная кислота является “топливом” клетки, обеспечивающим процессы выработки энергии в митохондриях. Известно, что при различных физических и эмоциональных нагрузках для осуществления адап-

тивной реакции любой из систем организма требуется достаточная энергетическая поддержка, которая обеспечивается с помощью янтарной кислоты [2].

Иную направленность действия имеет креатинфосфат — буферное соединение, поставляющее фосфатную группу АДФ с целью повторного синтеза АТФ [4].

В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ эффективности влияния метаболических средств “Цитофлавин” (раствор для инфузий содержащий янтарную кислоту, никотинамид, рибоксин и рибофлавин) и “Неотон” (препарат, действующим веществом которого является креатинфосфат) на структурные изменения надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен на 55 кроликах-самцах породы Шиншилла, массой 2600 – 3000 г. Животные были разделены на следующие группы: I — интактные ($n = 5$); II — 6-часовой распространенный гнойный перитонит без хирургического лечения ($n = 5$); III — контрольная, хирургическое лечение перитонита ($n = 15$); IV — хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде цитофлавина ($n = 15$); V — хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде неотона ($n = 15$).

Перитонит моделировали путем интраабдоминального введения аэробно-анаэробной взвеси *E. coli* (штамм 0111 K58 НИ С 130 – 53) и *B. Fragilis* (штамм 323) из расчета 6 млрд. микробных тел на 1 кг массы кролика. Через 6 ч после введения микроорганизмов в III, IV и V группах животных с целью лечения перитонита и устранения энтеральной недостаточности вы-

¹ Кафедра общей хирургии (зав. — акад. РАМН В. К. Гостищев) Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, 109240, Москва, ул. Яузская, 11.

² Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. В. С. Прудников) УО “Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины”, Республика Беларусь.

полняли лапаротомию, санацию брюшной полости, декомпрессию тонкой кишки. Животным IV и V групп в послеоперационном периоде (в течение 5 суток) ежедневно внутривенно капельно вводили цитофлавин (28,6 мг янтарной кислоты на 1 кг массы) и неотон (0,05 г на 1 кг массы) соответственно, животным III группы — 0,9 % раствор натрия хлорида. Животных с распространенным гнойным перитонитом выводили из эксперимента (летальная доза этаминал-натрия) через 6 ч после заражения, III, IV и V групп — на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции.

Для морфологического исследования отбирали образцы ткани надпочечников. При этом стремились к оптимальной стандартизации всех методик, включающих фиксацию, проводку, заливку, приготовление блоков и срезов [1]. Взятие проб осуществлялось не позднее 30 мин после убоя. Надпочечники брали целиком, фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Парафиновые срезы толщиной 3 – 5 мкм получали с помощью санного микротомы МС-2. Гистосрезы окрашивали гематоксилин-эозином. Более толстые срезы (толщиной 10 – 15 мкм) получали на замораживающем микротоме Microm HM 525.

Абсолютные измерения структурных компонентов надпочечников и их фотографирование проводили при помощи светового микроскопа Olympus BX-41 с использованием компьютерной программы Cell[^]A.

На светооптическом уровне каждая цитологическая структура описывалась набором морфологических признаков. При гистоморфометрическом исследовании надпочечника определяли толщину мозгового и коркового (клубочковая, пучковая и сетчатая зоны) веществ.

Статистическую обработку данных проводили с использованием электронных пакетов анализа STATISTICA 6.0 и Excel. На основании нормального распределения значений признаков в группах использованы методы описательной статистики, *t*-критерий Стьюдента (уровень достоверности отличий средних значений $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что у здоровых кроликов толщина коркового вещества надпочечника составляет $89,32 \pm 4,75$ мкм. Пучковая зона коры — доминирующая, ее толщина равна $48,43 \pm 2,5$ мкм, далее по размерам следует клубочковая зона, наименьшая толщина у сетчатой зоны — $16,39 \pm 2,82$ мкм (таблица). Кора надпочечников кроликов имеет типичное гистологическое строение, при этом ярко выражена клубочковая зона. Мозговое вещество располагается в центре, имеет существенные видовые морфологические особенности, а именно, наличие медуллярных выростов, которые нередко внедряются в сетчатую или пучковую зону коры. Толщина медуллы у интактных животных составила $30,47 \pm 1,81$ мкм.

В результате развития 6-часового распространенного гнойного перитонита отмечалось статистически достоверное уменьшение толщины коркового вещества и его клубочковой зоны до $82,59 \pm 2,46$ мкм ($p < 0,05$) и $20,16 \pm 0,83$ мкм ($p < 0,0001$) соответственно.

На 1-е сутки послеоперационного периода толщина коры по сравнению с нормой уменьшилась в 1,44 раза ($p < 0,0001$), толщина ее клубочковой зоны — в 1,41 раза ($p < 0,0001$), пучковой — в 1,36 раза ($p < 0,0001$), сетчатой — в 1,74 раза ($p < 0,001$). Данные морфометрические изменения были связаны с патологическими процессами, происходящими в коре надпочечника — лизисом и вакуолизацией клеток. Толщина мозгового вещества достоверных изменений не имела.

На 3-и сутки после операции сохранялась тенденция к снижению толщины коры и ее зон. При этом толщина мозгового вещества достоверно увеличилась до $35,19 \pm 2,42$ ($p < 0,01$). В клубочковой зоне коркового вещества наблюдался паранекроз и вакуолизация клеток, в пучковой — мелкокапельная жировая дистрофия, в сетчатой — атрофия клеток и зернистая дистрофия. В результате указанных изменений отмечалось замещение коры медуллой надпочечника, о чем свидетельствовала высокая митотическая активность клеток адреналиноцитов.

На 5-е сутки послеоперационного периода морфометрические показатели структуры надпочечников по-прежнему статистически достоверно отличались от нормы. Толщина мозгового вещества составила $42,3 \pm 1,81$ ($p < 0,0001$), коркового вещества — $71,28 \pm 3,28$ ($p < 0,001$), клубочковой зоны — $19,82 \pm 1,06$ ($p < 0,0001$), пучковой — $38,22 \pm 2,63$ ($p < 0,001$), сетчатой — $13,25 \pm 1,48$. Данные структурные перестройки свидетельствовали об острой недостаточности коры надпочечников.

У животных, получавших цитофлавин и неотон, с 1-х суток послеоперационного периода наблюдалась положительная динамика по сравнению с контрольной группой.

В группе, где применяли неотон, на 1-е сутки послеоперационного периода толщина коры составила $81,44 \pm 3,63$ мкм ($p < 0,0001$). Отмечалось статистически достоверное, по сравнению с контрольной группой, увеличение толщины клубочковой, пучковой и сетчатой зон коркового вещества — $20,17 \pm 1,78$ мкм ($p < 0,05$), $46,64 \pm 1,08$ мкм ($p < 0,0001$) и $14,63 \pm 2,15$ мкм ($p < 0,001$) соответственно.

На 3-и сутки послеоперационного периода толщина коры по сравнению с контрольной группой была больше на 3,67 % ($p < 0,0001$), ее клубочковой зоны — на 13,9 % ($p < 0,0001$), пучковой — на 8,06 % ($p < 0,0001$). При этом наблюдалось уменьшение сетчатой зоны на 20,62 % ($p < 0,0001$). Толщина мозгового вещества составила $27,56 \pm 0,67$ мкм и была на 21,68 % ($p < 0,01$) меньше, чем в группе контроля.

На 5-сутки после операции толщина мозгового вещества надпочечников составила $27,68 \pm 0,32$ ($p < 0,01$), коркового вещества — $79,41 \pm 1,13$ ($p < 0,01$), клубочковой зоны — $18,28 \pm 0,74$ ($p < 0,0001$), пучковой — $49,99 \pm 0,59$ ($p < 0,0001$), сетчатой — $11,21 \pm 0,60$ ($p < 0,01$).

Цитофлавин оказывал однонаправленное с неотоном действие.

На 1-е сутки послеоперационного периода толщина коры составила $90,52 \pm 4,72$ мкм ($p < 0,0001$), что было на 11,15 % ($p < 0,01$) больше, чем в группе где применяли неотон. Наблюдалась повышенная митотическая активность адренокортикоцитов. Толщина клубочковой, пучковой и сетчатой зон коркового вещества была статистически достоверно больше, чем в контрольной группе — $23,18 \pm 1$ мкм ($p < 0,0001$), $49,16 \pm 2,68$ мкм ($p < 0,0001$) и $18,18 \pm 1,16$ мкм ($p < 0,0001$) соответственно.

На 3-и сутки послеоперационного периода, по сравнению с группой, где применяли неотон, толщина коры была больше на 5,28 % ($p < 0,05$), ее сетчатой

зоны — на 21,81 % ($p < 0,05$). Толщина мозгового вещества составила $28,2 \pm 3,87$ мкм и была на 19,86 % ($p < 0,01$) меньше, чем в группе контроля.

На 5-сутки после операции морфометрические показатели структуры надпочечников приближались к значениям нормы, хотя статистически достоверно отличались от нее. Толщина мозгового вещества надпочечников составила $28,7 \pm 0,19$, коркового вещества — $82,38 \pm 1,96$ ($p < 0,05$), клубочковой зоны — $18,29 \pm 0,79$ ($p < 0,0001$), пучковой — $51,16 \pm 0,92$ и сетчатой — $12,96 \pm 0,86$ ($p < 0,05$).

Таким образом, при развитии распространенного гнойного перитонита со стороны эндокринной системы, а именно, ее исполнительного периферического звена — надпочечников, наблюдаются существенные структурные перестройки, приводящие к патологическим процессам в корковом веществе: в клубочковой зоне — паранекрозу и вакуолизации клеток, пучковой зоне — мелкокапельной жировой дистрофии, сетчатой зоне — атрофии клеток, зернистой дистрофии. Сниже-

Морфометрические показатели структуры надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните

Группа	Сутки после операции	Корковое вещество, мкм	Толщина зон коры, мкм			Мозговое вещество, мкм
			клубочковая	пучковая	сетчатая	
Норма ($n = 5$)	-	$89,32 \pm 4,75$	$24,50 \pm 0,60$	$48,43 \pm 2,50$	$16,39 \pm 2,82$	$30,47 \pm 1,81$
6-часовой перитонит ($n = 5$)	-	$82,59 \pm 2,46$ $p_1 < 0,05$	$20,16 \pm 0,83$ $p_1 < 0,0001$	$47,14 \pm 0,98$	$15,35 \pm 2,09$	$30,23 \pm 1,43$
Контрольная ($n = 15$)	1-е сутки ($n = 5$)	$62,13 \pm 2,20$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,0001$	$17,32 \pm 0,89$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,001$	$35,53 \pm 2,15$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,0001$	$9,40 \pm 0,89$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$30,61 \pm 1,31$
	3-и сутки ($n = 5$)	$77,51 \pm 2,40$ $p_1 < 0,001$	$18,20 \pm 1,25$ $p_1 < 0,0001$	$43,66 \pm 1,66$ $p_1 < 0,01$	$15,71 \pm 0,99$	$35,19 \pm 2,42$ $p_1 < 0,01$
	5-е сутки ($n = 5$)	$71,28 \pm 3,28$ $p_1 < 0,001$	$19,82 \pm 1,06$ $p_1 < 0,0001$	$38,22 \pm 2,63$ $p_1 < 0,001$	$13,25 \pm 1,48$	$42,30 \pm 1,81$ $p_1 < 0,0001$
С применением неотона ($n = 15$)	1-е сутки ($n = 5$)	$81,44 \pm 3,63$ $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$	$20,17 \pm 1,78$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,05$	$46,64 \pm 1,08$ $p_3 < 0,0001$	$14,63 \pm 2,15$ $p_3 < 0,001$	$31,05 \pm 1,22$
	3-и сутки ($n = 5$)	$80,36 \pm 0,61$ $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,0001$	$20,73 \pm 0,50$ $p_1 < 0,0001$ $p_3 < 0,0001$	$47,18 \pm 0,46$ $p_3 < 0,0001$	$12,47 \pm 0,36$ $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$	$27,56 \pm 0,67$ $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,01$
	5-е сутки ($n = 5$)	$79,41 \pm 1,13$ $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,001$	$18,28 \pm 0,74$ $p_1 < 0,0001$ $p_3 < 0,05$	$49,99 \pm 0,59$ $p_3 < 0,0001$	$11,21 \pm 0,60$ $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,05$	$27,68 \pm 0,32$ $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,0001$
С применением цитофлавина ($n = 15$)	1-е сутки ($n = 5$)	$90,52 \pm 4,72$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$ $p_4 < 0,001$	$23,18 \pm 1,00$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,0001$ $p_4 < 0,05$	$49,16 \pm 2,68$ $p_3 < 0,0001$	$18,18 \pm 1,16$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$ $p_4 < 0,05$	$32,29 \pm 1,21$ $p_2 < 0,05$
	3-и сутки ($n = 5$)	$84,60 \pm 2,58$ $p_3 < 0,01$ $p_4 < 0,05$	$21,26 \pm 2,58$ $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	$48,15 \pm 2,20$ $p_3 < 0,01$	$15,19 \pm 1,96$ $p_4 < 0,05$	$28,20 \pm 3,87$ $p_3 < 0,01$
	5-е сутки ($n = 5$)	$82,38 \pm 1,96$ $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,05$	$18,29 \pm 0,79$ $p_1 < 0,0001$ $p_3 < 0,05$	$51,16 \pm 0,92$ $p_3 < 0,0001$ $p_4 < 0,05$	$12,96 \pm 0,86$ $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,01$	$28,70 \pm 0,19$ $p_3 < 0,0001$ $p_4 < 0,001$

Примечание. p_1 — по сравнению с нормой; p_2 — по сравнению с группой 6-часовой перитонит; p_3 — по сравнению с группой без лечения аналогичных суток; p_4 — по сравнению с группой, где применяли неотон.

ние толщины коры может являться причиной развития острой надпочечниковой недостаточности.

Анализ применения при экспериментальном распространенном гнойном перитоните метаболитических средств цитофлавина и неотон выявил высокую эффективность цитофлавина, которая заключалась в более интенсивном восстановлении структурной организации надпочечников, снижении выраженности воспаления, препятствии развитию дистрофических и некротических изменений.

Выводы

1. Введение в брюшную полость аэробно-анаэробной культуры *E. Coli* и *B. fragilis* вызывает через 6 ч выраженные структурные изменения в паренхиме надпочечников.

2. Метаболические средства цитофлавина, содержащий янтарную кислоту, и неотон, содержащий креатинфосфат, препятствуют развитию патологических структурных изменений надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. В. Волкова, *Основы гистологии с гистологической техникой*, Наука, Москва (1982).
2. М. Н. Кондрашова, *Норма-пресс*, № 9, 17 – 18 (1991).
3. С. С. Осочук, Н. Ю. Коневалова, *Медицинские новости*, 7, 11 – 14 (2009).
4. М. Г. Сачек и др., *Применение креатинфосфата в хирургии*, Витебск (1998).
5. P. V. Adem, C. P. Montgomery, A. N. Husain, et al., *N. Engl. J. Med.*, **353**(12), 1245 – 1251 (2005).
6. M. Agraharkar, M. Fahlen, M. Siddiqui, et al., *Am. J. Kidney Dis.*, **36**(2), 396 – 400 (2000).
7. J. Cohen, B. Venkatesh, *Crit. Care. Resusc.*, **11**(4), 287 – 289 (2009).
8. P. E. Marik, *Curr. Opin. Crit. Care.*, **13**(4), 363 – 369 (2007).
9. V. Maxime, O. Lesur, D. Annane, *Clin. Chest Med.*, **30**(1), 17 – 27 (2009).
10. P. Póvoa, A. H. Carneiro, *Hosp. Pract. (Minneapolis)*, **38**(1), 62 – 73 (2010).

Поступила 29.02.12

METABOLIC CORRECTION OF STRUCTURAL CHANGES IN ADRENAL GLANDS DURING EXPERIMENTAL WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS

V. A. Kosinets¹ and D. N. Fedotov²

¹ General Surgery Department, Sechenov Moscow State Medical Academy, ul. Yauzskaya 11, Moscow, 109240, Russia

² Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Dovatora pervaya ul. 7/11, Vitebsk, 210026, Belarus Republic

Experiments on 55 male chinchilla rabbits with model widespread purulent peritonitis have been performed for determining structural changes in adrenal glands with the aid of optical microscopy. The introduction of aerobic – anaerobic culture of *E. Coli* and *B. Fragilis* into the abdominal cavity causes expressed structural changes in parenchyma of adrenal glands within 6 hours. It is established for the first time that the administration of metabolic drugs citoflavin (containing succinic acid) and neoton (containing creatine phosphate) prevents the development of pathological structural changes in adrenal glands under conditions of experimental widespread purulent peritonitis.

Key words: Widespread purulent peritonitis, adrenal glands, citoflavin, neoton