

Б 982

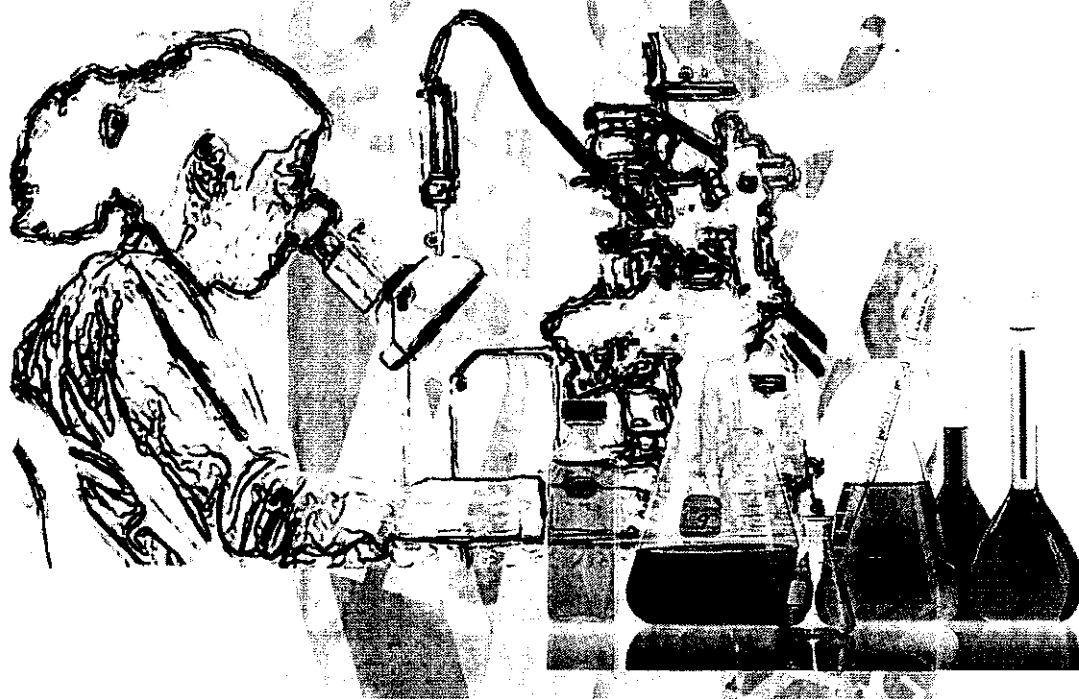
# БЮЛЛЕТЕНЬ

Волгоградского  
научного центра  
РАМН

и Администрации  
Волгоградской области

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

2  
2005  
АПРЕЛЬ-ИЮНЬ



## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОМАЛЬНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ В НАДПОЧЕЧНИКЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОТОКСИКОЗЕ

В.В. Новочадов, С.М. Востриков, Г.Л. Снигур, С.А. Калашникова

*Отдел общей и экспериментальной патологии ВНИЦ РАМН и АВО*

В отличие от острого процесса, в пато- и морфогенезе хронического эндотоксикоза (ЭТ), помимо прямого действия эндогенных токсических соединений на органы-мишени (печень, легкие, почки, сердце, головной мозг), значительная роль отводится опосредованным эффектам в связи с нарушениями нейрогуморального баланса в организме [2, 5–8, 14]. Причиной и механизмы этих влияний следует искать в морфофункциональных преобразованиях различных элементов вегетативной нервной системы и желез внутренней секреции. В то же время сведения о морфологии и функции надпочечников при остром ЭТ в доступной литературе единичны и противоречивы [11, 12, 15], а при хроническом процессе – отсутствуют. Исследование в этом направлении может привести к расширению современных представлений об ЭТ, его органах-мишенях, подходах к диагностике и патогенетической коррекции отдельных нарушений.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Дать иммуногистохимическую характеристику фиброгенезу в надпочечниках как одному из морфогенетических механизмов функциональной недостаточности этого органа при хроническом эндотоксикозе. Установить закономерности морфофункциональных преобразований в надпочечниках как компонента нейрогуморальной дисрегуляции при остром и хроническом эндотоксикозе.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа носила экспериментальный характер и была выполнена с использованием 33 белых крыс. Выбор, содержание животных, моделирование патологических процессов и выведение крыс из опыта осуществляли на основе базисных нормативных документов МЗ РФ и рекомендаций ВОЗ. Для моделирования хронического ЭТ была использована оригинальная модель с совместным введением малых доз бактериального липополисахарида (ЛПС) и тетрахлорметана [4]. Шесть крыс составили контрольную группу без каких-либо манипуляций до эвтаназии, по 9 животных выводились из эксперимента на 30-, 60- и 90-е сутки с момента начала эксперимента. В этой модели ранее нами были показаны высокое содержание веществ средней молекулярной массы, их олигопептидных и липидных фракций, снижение активности ацилазы (КФ 3.5.1.14) и лецитинхо-

лестерол-ацилтрансферазы (ЛХАТ, КФ 2.3.1.43) в тканях печени и почек, а также развитие характерных патоморфологических изменений во внутренних органах [4, 5].

Морфологическому исследованию во всех сериях экспериментов были подвергнуты ткани надпочечников. Для гистологического исследования были использованы общепринятые методики с окраской гематоксилином и эозином и по ван Гизону.

Иммуногистохимическое исследование проводили наборами фирмы "Dako" (Германия). Определялись клетки, позитивные к CD-68 (антигену макрофагов и моноцитов), виментину (антигену зрелых мезенхимальных клеток, прежде всего фибробластов) и PCNA (ядерному антигену роста и пролиферации, который экспрессируется в ядрах делящихся и репарирующих клеток). Во всех случаях количественно оценивали процент клеток, экспрессирующих антиген. Для морфометрического исследования иммуногистохимического препарата также использовали компьютерный комплекс "Видеотест-Морфо 4.0" – оценивали общую светосумму свечения антигена [1].

Математическая обработка проводилась непосредственно из общей матрицы данных EXCEL 7.0 (Microsoft, USA) с привлечением возможностей программы АРКАДА (Диалог-МГУ, Россия) по правилам, принятым для медико-биологических исследований [3].

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали исследования, в нормальном надпочечнике отсутствуют макрофаги и виментин-позитивные клетки, содержание PCNA-позитивных эндокриноцитов не превышает 2 %. При окраске по ван Гизону выявляются нитевидные структуры.

При хроническом ЭТ, начиная с 30-х суток эксперимента, в надпочечниках выявлялись единичные макрофаги (CD-68 позитивные клетки). Они располагались преимущественно вблизи сосудов на границе между корковым и мозговым веществом. При более поздних сроках опыта количество макрофагов возрастало весьма незначительно, местами они образовывали скопления по 2–4 клетки (рис. 1).

Надпочечники, по данным литературы, не относятся к эндокринным органам с большими возможностями заместительного фиброгенеза.

Тем не менее при окраске по ван Гизону и при иммуногистохимическом окрашивании на виментин в надпочечниках при хроническом ЭТ достоверно увеличивалось представительство соединительнотканых элементов.

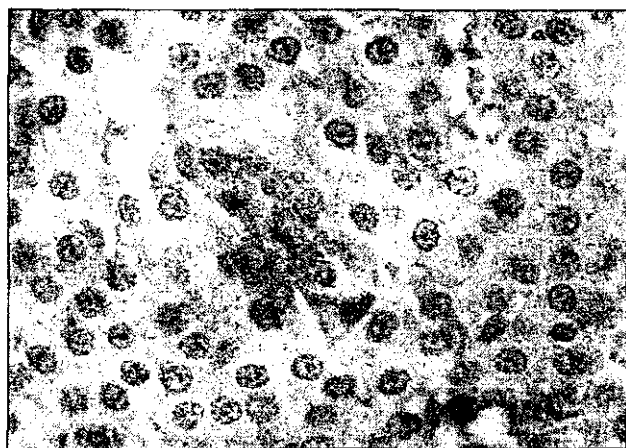
На 30-е сутки опыта соединительнотканная пролиферация могла быть расценена лишь как небольшое увеличение стромального компонента в мозговом веществе и сетчатой зоне надпочечника. На более поздних сроках ЭТ элементы соединительной ткани образовывали пролифераты от капсулы в глубь пучковой зоны и островковые участки – в более глубоких зонах коркового вещества (рис. 2).

При исследовании PCNA, начиная с 30-х суток эксперимента, заметное увеличение клеток с ядрами, окрашенными на PCNA, выявлялось исключительно в сетчатой зоне коркового вещества надпочечников. К 90-м суткам количество PCNA-позитивных клеток среди эндокриноцитов

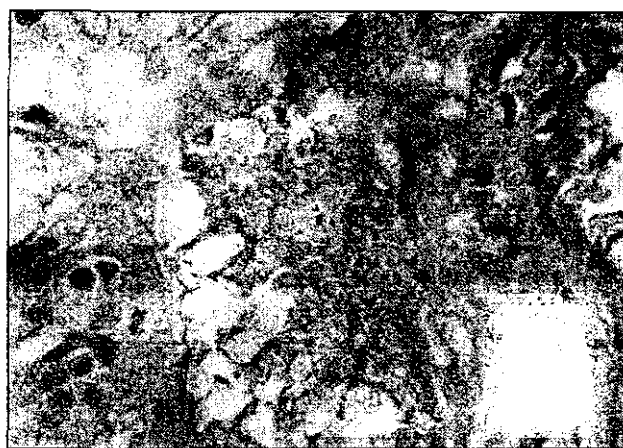
было минимальным, что свидетельствовало о падении пролиферативного и компенсаторного потенциала этих клеток на поздних сроках ЭТ.

Количественные исследования подтвердили различия в экспрессии PCNA и CD-68 по зонам коркового вещества и в мозговом веществе надпочечников (табл.).

По данным литературы, токсическое повреждение коркового и мозгового вещества надпочечников может сопровождаться макрофагальной инфильтрацией ткани органа (CD-68 позитивные клетки), запуском механизмов апоптоза эндокриноцитов (P-45 и каспаза-3 позитивные клетки) [9, 10]. В наших исследованиях мы выявили весьма умеренные реакции со стороны макрофагов. Они ограничивались только зоной границы между корковым и мозговым веществом надпочечника, что может говорить об особенностях взаимодействия эндогенных токсических соединений с моноцитарно-макрофагальной системой организма.

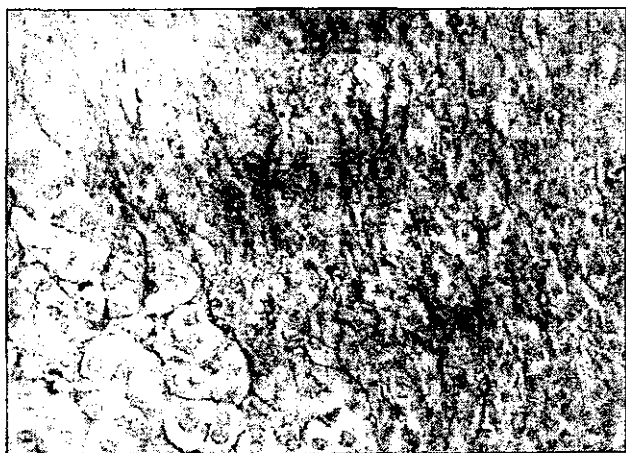


а

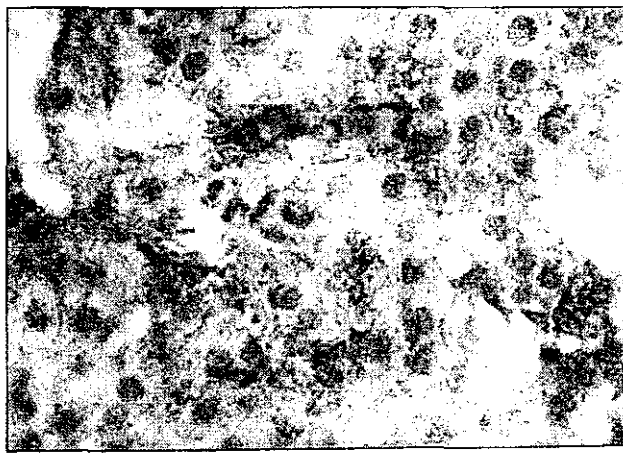


б

Рис. 1. Экспрессия CD-68 в ядрах моноцитов вблизи сосудов на границе коркового и мозгового вещества надпочечника. Иммуногистохимическое окрашивание. Ув.  $\times 320$ : а – 30-е сут. Единичные клетки; б – 90-е сут. Небольшие скопления



а



б

Рис. 2. Стромальная пролиферация в надпочечнике при хроническом ЭТ: а – характер увеличения тканевых стромальных компонентов. Окр. по ван Гизону. Ув. 320; б – экспрессия виментина в сетчатой зоне коркового вещества надпочечника. Иммуногистохимическое окрашивание. Ув.  $\times 320$

Таблица

## Иммуногистохимическая характеристика ткани надпочечников при хроническом эндотоксикозе

Показатели	Контрольная группа	Время эксперимента		
		30-е сут.	60-е сут.	90-е сут.
PCNA:				
% позит. клеток	1,8±0,2	3,7±0,5*	2,4±0,5	1,1±0,2
Интегр. яркость	7,3±0,5	12,4±0,9*	9,0±1,0*	7,4±0,8
CD-68:				
% позит. клеток	0	1,8±0,2*	1,3±0,2*	2,5±0,2*
Интегр. яркость	1,1±0,1 (фон)	5,6±0,6*	7,0±0,8*	9,9±0,8*

\* – достоверные различия по сравнению с показателем в контрольной группе.

Кроме того, при хроническом эндотоксикозе имеет место накопление клеток, экспрессирующих виментин, что указывает на локусы генерации соединительнотканых элементов. Подтверждением виментин-продуцирующей функции служат обнаруженные при окраске по ван Гизону соединительнотканые волокна, преимущественно в клубочковом слое коркового вещества надпочечников. Анализ данных гистохимических находок позволяет предположить, что к числу реакций эндокриноцитов на ЛПС и другие эндогенные токсические субстанции, помимо прямого повреждения и непрямого действия цитокинов, относится и индукция запрограммированной гибели клеток надпочечника как возможный механизм ликвидации потенциально опасных опухолевидных клеток либо как источник вторичных эндогенных токсинов внутриклеточного содержания эндокриноцитов, поступающего при альтерации последних в системный кровоток.

Данные об экспрессии виментина и разрастания соединительной ткани в клубочковом слое являются прямым подтверждением преобладания фибропластического компонента в морфогенезе повреждения надпочечников при хроническом эндотоксикозе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие стромальной пролиферации относится к основным проявлениям дисметаболического и дизрегуляторного повреждения надпочечников при хроническом ЭТ. Она сопровождается неравномерным накоплением CD-68 позитивных и виментин-позитивных клеток в надпочечнике с преобладанием фиброгенеза на границе между мозговым и корковым веществом органа. Дальнейшее изучение морфофункциональных преобразований в надпочечниках перспективно в плане

раскрытия механизмов срыва нейроэндокринной регуляции – одного из основных компонентов патогенеза и морфогенеза вторичного повреждения внутренних органов при хроническом ЭТ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Мишнев О.Д., Щеголев А.И., Лысова Н.Л. и др. Печень и почки при эндотоксемии. – М.: РГМУ, 2003. – 210 с.
3. Новиков Д.А., Новочадов В.В. Статистические методы в экспериментальной биологии и медицине. – Волгоград, 2005. – 84 с.
4. Новочадов В.В., Писарев В.Б. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология. – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 240 с.
5. Новочадов В.В., Писарев В.Б., Фролов В.И. // Вестн. ВолГМУ. – 2004. – № 10. – С. 7–11.
6. Созинов А.С. // Бюл. exper. биол. и медицины – 2002. – № 2. – С. 183–185.
7. Фролов В.И. Патоморфология вегетативной нервной системы при хроническом эндотоксикозе: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Волгоград, 2004. – 42 с.
8. Яковлев М.Ю. // Бюл. ВолГМУ ВНИЦ РАМН и АВО. – 2005 – № 1 – С. 32–33.
9. Agelaki S., Tsatsanis C., Gravanis A., et al. // Infect. Immunol. – 2002. – Vol. 70, № 11. – P. 6068–6074.
10. Fink M.P. // Crit. Care Clin. – 2001. – Vol. 17. – P. 219–237.
11. Roth J., Hubschle T., Pehl U., et al. // Pflügers Arch. – 2002. – Vol. 443, № 3. – P. 411–417.
12. Touchette K.J., Carroll J.A., Allee G.L., et al. // J. Anim. Sci. – 2002. – Vol. 80, № 2. – P. 494–501.
13. Toward T.J., Broadley K.J. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2002. – Vol. 302, № 2. – P. 814–821.
14. Vargaftig B.B., Lefort J. // J. Endotoxin Res. – 2000. – Vol. 6. – P. 83.
15. Watanabe H., Habu S. // Neuroendocrinology. – 2003. – Vol. 78, № 1. – P. 23–28.

© Коллектив авторов, 2005