DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.03.001

论 著

大鼠严重烧伤后甲状腺的病理变化及其发生机制的实验研究

金小岚 陈意生 （第三军医大学训练部 病理学教研室） 630038

提 要 本研究采用光镜、电镜、过氧化物酶组织化学，观察了大鼠凝固汽油体表烧伤（30% Ⅱ°）后15d内甲状腺的病理变化。并对T_3、T_4水平作了相应的动态观察，发现主要病理变化可分为3期：①损伤抑制期（伤后2h～24h），以滤泡上皮明显损伤为特征；②结构与功能恢复期（伤后3d～6d），表现为损伤减轻、结构趋向恢复；③功能活跃期（伤后10d～15d），反映激素合成与释放反应的细胞器发达。各期均有相平行的T_4变化，而T_3的持续抑制在早期与T_4水平低、脱碘代谢障碍及甲状腺分泌抑制有关，中后期则主要是T_4脱碘代谢障碍所致；早期过氧化物酶抑制是甲状腺功能抑制的一个重要原因。

关键词 甲状腺/病理学；甲状腺/超微结构；烧伤；过氧化物酶类

严重烧伤后机体内分泌系统的反应是一种重要的防御机制。甲状腺作为一重要的内分泌腺也参与了这一反应。但是，甲状腺激素是否参与介导烧伤后超高代谢反应一直存有争议。鉴于甲状腺激素的合成、释放及中间代谢过程非常复杂，受多种机制的调节或影响。而文献中多仅从血清甲状腺激素水平或甲状腺摄碘功能试验的改变，或单纯甲状腺病理形态学[1]来研究严重烧伤后甲状腺功能的变化，且得出的结果也不一致[2][3]。本文从机能形态学的观点，通过光镜与电镜、定量组织学、过氧化物酶组织化学及血清甲状腺激素观测相结合的动态观察，试图阐明严重烧伤后甲状腺形态与功能的动态演变规律及其发生机制，为临床烧伤治疗提供一些理论依据，丰富烧伤甲状腺病理学资料。

1 材 料 与 方 法

本实验选用健康雄性Wistar大鼠96只，体重220±30g。随机分为凝固汽油烧伤组（下称烧伤组）和非烧伤对照组（下称对照组）。于烧伤后15d内共设8个时相点（伤后2h、12h、24h、72h、144h、240h、312h、360h），作动态观察。每个时相点烧伤组与对照组均用6只动物。

动物致伤前后严格控制喂养条件：环境温度维持在20℃左右，光照：黑暗＝14：10（h），形成固定的昼夜周期。喂普通饲料，自由饮水。参照施新猷的方法[4]造成30% Ⅲ°凝固汽油体表烧伤。取材时间均在早晨6h～7h。

观察指标：（1）甲状腺滤泡的病理组织学和超微结构变化。光镜标本全部常规包埋制片，作HE和PAS染色；电镜样品，每时相点4只动物按常规制作、观察。对照组用20只动物作总体对照。（2）甲状腺胶质和滤泡上皮的定量组织学测定。采用军科院提供的目镜测量板（总点数为168），计数甲状腺胶质和滤泡上皮的总计数值。（3）甲状腺过氧化物酶组织化学。按二氨基联苯胺法[5]染色，所有切片孵育条件严格控制一致，按染色强度判断酶活性，滤泡腔缘着色者为阳性滤泡腔。（4）T_3、T_4的放免测定，药盒由中国原子能研究院提供。

实验数据用本校数学教研室编制的“PDA-2”程序包进行显著性检验。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2 实验结果

2.1 甲状腺功能的变化

2.1.1 T_4的测定：结果见表1。伤后2h、12h、24h T_4水平均低于对照组，经统计学处理前两个时相点有显著性差异（$P<0.05$）而伤后24h差异不显著。伤后3d～6d T_4接近对照组水平；伤后10d后T_4显著高于对照组，亦显著高于伤后6d前各时相点（$P<0.01$）。

表1 T_4测定值（$\bar{x}\pm s$）

Tab. 1 T_4 Value ($\bar{x}\pm s$)

Groups	T_4 value (μg/L) at various time intervals postburn							
	2	12	24	72	144	240	312	360 (hour)
Burn	24.94 ± 3.34*	21.56 ± 1.50*	23.79 ± 3.54	33.93 ± 4.27	35.98 ± 7.40	53.00 ± 4.24**Δ	50.35 ±3.81**Δ	51.41 ± 4.49**Δ
Control	34.34 ± 7.71	29.77 ± 6.00	31.48 ± 6.74	35.16 ± 8.36	32.16 ± 3.11	42.43 ± 3.66	39.77 ± 6.44	40.01 ± 6.31

* $P<0.05$ compared with control　　** $P<0.01$ compared with control

Δ $P<0.01$ compared with burn group during 144 hour Postburn

2.1.2 T_3的测定：结果见表2。

烧伤组各时相点均显著低于对照组（$P<0.01$），而烧伤组各时相点间无显著性差异。

表2 T_3测定值（$\bar{x}\pm s$）

Tab. 2 T_3 Value ($\bar{x}\pm s$)

Groups	T_3 value (μg/L) at various time internvals postburn							
	2	12	24	72	144	240	312	360 (hour)
Burn	0.510 ±0.160**	0.548 ±0.037**	0.550 ±0.059**	0.534 ±0.046**	0.546 ±0.075**	0.565 ±0.044**	0.586 ±0.045**	0.666 ±0.032**
Control	0.949 ±0.145	1.116 ±0.186	1.086 ±0.166	1.004 ±0.166	0.972 ±0.023	1.034 ±0.148	0.981 ±0.176	1.014 ±0.186

** $P<0.01$ compared with control

2.2 甲状腺形态的变化

2.2.1 光镜观察：伤后2h、12h、24h和3d甲状腺滤泡普遍扩张，腔内充满强嗜酸性的胶质；滤泡上皮明显变低，呈扁平或立方状；顶端胞浆稀少，PAS阳性颗粒明显减少，胶质小滴几乎消失。伤后12h至3d除上述改变外，滤泡上皮胞浆内出现较多的空泡和裂隙。3d后甲状腺结构逐渐恢复。伤后10d～15d滤泡顶端胞浆有大量PAS阳性胶质小滴形成，部分滤泡腔胶质空竭，反映激素释放加速。

2.2.2 定量组织学测定：甲状腺滤泡胶质点计数和滤泡上皮点计数结果分别见图1、2。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

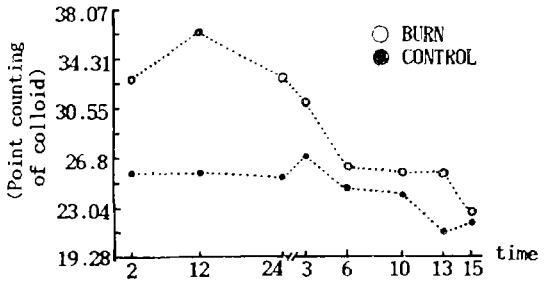


图 1　甲状腺胶质点计数曲线图

Eig. 1　Curve of Point Counting of Thyroidal Colloid

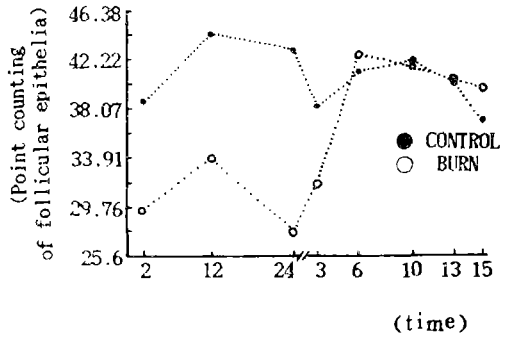


图 2　甲状腺滤泡上皮点计数曲线图

Fig. 2　Curve of Point Counting of Thyroidal Follicular epithelia

伤后2h、12h、24h胶质点计数值显著高于对照组（$P<0.01$或0.05），而滤泡上皮点计数值显著低于对照组（$P<0.01$或0.05）。说明甲状腺胶质含量明显增多，而上皮数量明显减少，这是甲状腺功能抑制的形态表现[6]。

2.2.3　电镜观察：伤后2h、12h、24h主要改变为：粗面内质网显著扩张、脱粒及高尔基体区域明显缩小、扁平囊扩张，小泡明显减少；顶端小泡和微绒毛稀少，未见胶质小滴和伪足形成，溶酶体稀少；线粒体小而少，有灶性空化或固缩；胞浆基质电子密度增加，核形略不规则，异染色质增多，核周间隙扩张（图3），伤后24h常见核内假包涵体形成，并有大片胞浆溶解。

伤后3d～6d，滤泡上皮结构趋向正常，上一期细胞器的损伤明显减轻，特征性的表现是溶酶体、多泡体、自噬小体增多，胞浆有大量多聚核蛋白体形成，核常染色质增多，核仁较大（图4）。

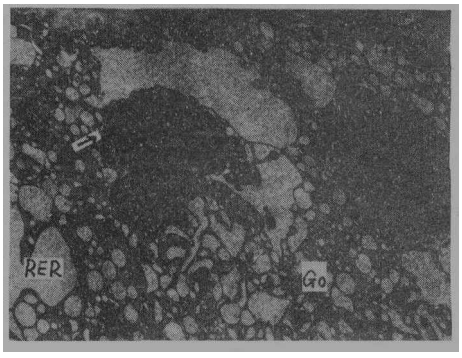


图 3　凝固汽油烧伤2h甲状腺滤泡上皮粗面内质网（RER）高度扩张、脱粒，核周隙扩张(→)，高尔基体显著萎缩。×6000

Fig. 3　Follicular epithelial cells of thyroid showing high dilatation of RER, dilatation of perinuclear space(→), marked atrophy of Golgi complex(Go). 2h after napalm burn. ×6000

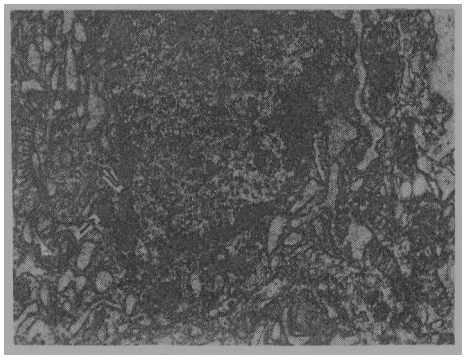


图 4　凝固汽油烧伤后72h甲状腺滤泡上皮细胞溶酶体(Ly)、多泡体(→)及多聚核蛋白体（⇳）增多。×8000

Fig. 4　Follicular epithelial cells of thyroid showing increased lysosome (Ly), multivesicular body (→), polyribosome (⇳). 72h after napalm burn.　×8000

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

伤后10d～15d，甲状腺滤泡上皮呈现功能活跃的表现：微绒毛发达，大量伪足和胶质小滴形成，溶酶体、线粒体丰富，且大量聚集于顶端胞浆；粗面内质网扩张，高尔基体发达（常见几套），顶端小泡丰富，核常染色质丰富，常见大核仁，细胞间连接常见指状交叉，毛细血管内皮窗孔增多（图5、6）。

2.3 甲状腺过氧化物酶的变化

伤后2h、12h、24h过氧化物酶呈进行性抑制（+ + + + → +），24h抑制最重，阳性滤泡腔数量亦明显低于对照组。3d后逐渐恢复至正常水平。

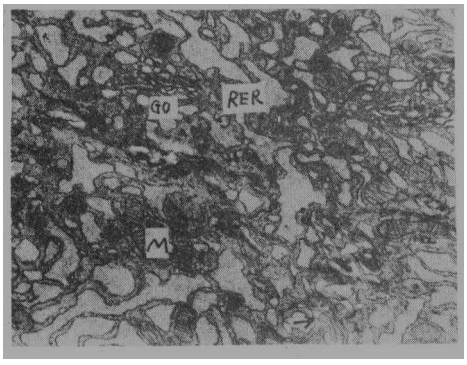


图5 凝固汽油烧伤后144h甲状腺滤泡上皮细胞粗面内质网（RER）轻度扩张，高尔基体（Go）发达，线粒体（M）丰富、嵴多，细胞间连接有指状交叉（→）。 ×10 000

Fig. 5 Follicular epithelial cells of thyroid showing slight dilatation of RER, well-developed Golgi complex (Go), rich in mitochondria (M) Intercellular junction showing digital intersection. 144h affer napalm burn. ×10 000

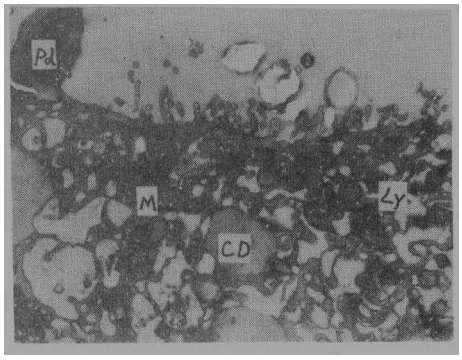


图6 凝固汽油烧伤后240h甲状腺滤泡上皮细胞伪足（Pd）形成，顶端胞质中有很多溶酶体、线粒体（M）和胶质小滴（CD）。 ×8 000

Fig. 6 Follicular epithelial cells of pseu thyroid showing formation of dopod(Pd). There are numerous lysosmes (Ly), mitochondria (M) andcolloid dropletes (CD) within theapical cytoplasm. 240h after napalm burn. ×8000

3 讨 论

3.1 本实验观察结果表明，大鼠30% Ⅲ°凝固汽油体表烧伤后15d内甲状腺的主要病理变化呈一动态过程。大致可分为3期：（1）损伤抑制期（伤后2h～24h），主要表现为甲状腺滤泡普遍显著扩张，上皮呈扁平或立方状，胶质含量显著增多，上皮数量明显减少；其超微结构变化以合成甲状腺球蛋白的结构（粗面内质网、高尔基体和顶端小泡）损伤和激素释放反应的细胞不发达（伪足、溶酶体）为特征。（2）结构与功能恢复期（伤后3d～6d）：滤泡结构恢复正常，损伤修复反应的细胞器（溶酶体、多泡体、自噬小体、大核仁、多聚核蛋白体）发达。（3）功能活跃期（伤后10d～15d）表现为功能活跃，反映激素合成与释放的细胞结构发达。上述各期均有相平行的T_4的变化。3期之间有交叉重叠，无截然的界限。

3.2 本实验血清T_3、T_4测定结果表明，T_3于伤后15d内显著抑制（$P<0.01$）与文献报告一致[7]。而T_4的变化较为复杂，且与甲状腺形态学变化过氧化物酶活性变化存在平行关系。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

这与两种激素来源不同及烧伤应激时激素代谢发生改变有关。T_4 全部由甲状腺分泌，而T_3绝大部分来源于T_4在外周的脱碘代谢，仅很少一部分为甲状腺分泌[8]。本实验中，低T_3的形成原因较复杂，在损伤抑制期，可能与以下几方面有关：（1）T_4水平降低、脱碘代谢底物不足；（2）烧伤应激所致的大量糖皮质激素释放，抑制了5'-脱单碘酶，使T_4向T_3转换障碍，T_3生成减少[9]。（3）甲状腺直接分泌的T_3减少。在后两期，由于T_4已恢复正常或高于正常，低T_3的形成主要是高水平的糖皮质激素抑制了5'-脱单碘酶，使T_4脱碘代谢障碍所致。

本实验T_4水平的变化与一些人类烧伤患者有差别。在人类，T_4抑制仅见于非常严重的烧伤或有并发症者，这可能与种属差异有关。Shirani[10]在鼠60%体表烧伤时发现伤后14d T_4一直处于抑制，与我们的观察不一致，这可能与他们的烧伤面积较大有关。一般认为烧伤愈重，T_4抑制亦重。本实验烧伤面积较小（30%），故T_4抑制时间短，而后期出现的高T_4，则可能与T_4脱碘代谢障碍、T_3低下，引起的代偿性T_4产生增加有关[11]，故有人主张烧伤后期应补充T_3。

3.3 过氧化物酶是甲状腺激素合成的关键酶。它催化碘的氧化，酪氨酸的碘化以及碘化酪氨酸的偶联。Strum[12]用电镜酶组化观察证明，该酶主要定位于核膜、粗面内质网、高尔基氏体顶端小泡、微绒毛表面，并根据这种分布特点认为该酶的合成途径与分泌性蛋白质相同。多数学者认为，只有微绒毛表面的过氧化物酶才有催化活性，而胞浆内的则无[13]。本实验中损伤抑制期酶活性呈进行性抑制，阳性滤泡腔明显减少，而此期电镜所见是与酶合成有关的细胞器明显损伤和抑制。TSH是影响过氧化物酶活性的主要因素，它通过影响该酶的含量，促进其向滤泡上皮顶端质膜转运[14]，来影响甲状腺球蛋白分子上酪氨酸残基的碘化和偶联。因此，我们认为，在损伤抑制期该酶抑制的主要原因有：（1）烧伤所致的TSH分泌抑制；（2）伤后休克期血循环障碍、烧伤毒素对酶合成有关的细胞器的损伤（如粗面内质网扩张、脱粒，线粒体固缩或空化等）。而酶活性的抑制，阳性滤泡腔减少，又通过影响碘的摄取、碘化和偶联过程，使甲状腺激素合成障碍，这可能为损伤抑制期甲状腺功能抑制的一个重要原因。

参考文献

1. 陈一飞 单凯福 姜会庆，等。严重烧伤早期甲状腺分泌功能低下原因的探讨。中华整形烧伤外科杂志 1988；4：92
2. Semeds S, Kogedal B, Liedn G, et al. Thyroid function after thermal trauma. Scand J Plast Reconstr Surg 1981；15：141
3. 金华生 陈国钧 王立基。烧伤患者应激反应血浆皮质醇及血清甲状腺素的检测。中华整形烧伤外科杂志 1986；2：291
4. 施新猷主编。医学动物实验方法。北京：人民卫生出版社 1980：244
5. 陈啸梅主编。组织化学手册。北京：人民卫生出版社 1982：197
6. Gradwell E. Histological changes in the thyroid gland in rats on acclimatisation to simulated high altitude. J Pathol 1978；125：33
7. Becker RA, Wilmore DW, Goodw CW, et al. Free T_4 free T_3 and reverse T_3 in critically ill, thermally injury patients. J Trauma 1980；20：713
8. Cavalieri RR and Basil RaPoPort MB. Impaired peripheral conversion of thyroxine to triiodothyonine. Ann Rev Med 1977；28：57
9. Bianco AC, Nunes MT, Hell NS, et al. The role of glucocorticoids in the stree-induced reduction of extrathyroidal 3, 5, 3'-triiodothyronine generation in rats.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Endocrinology 1987;120:1033
10. Shirani KZ, Vaughan GM, Pruitt BA, et al. Reduced serum T_4 and T_3 and their altered serum binding after burn injury in rats. J Trauma 1985;25:953
11. 冯凭。甲状腺功能临床表现正常的高T_4血症。《国外医学》内分泌分册 1983;3:183
12. Strum JM and Karnorsky MJ. Cytochemical localization of endogenous peroxidase in the thyroid follicular cell. J Cell Biol 1970;44:655
13. Fujita H. Fine structure of the thyroid gland. Int Rev Cytol 1975;40:197
14. Björkman V, Ekholm R, Ericson LE. Effects of thyrotropin on thyroglobulin exocytosis and indination in the rat thyroid gland. Endocrinology 1978;102:460

(收稿：1990.11.20；修回：1991.04.15)

An Experimental Study of Pathological Changes of Thyroid after Severe Burns and Their Mechanisms in Rats

Jin Xiaolan, Chen Yisheng (Department of Pathology, Third Military Medical College, Chongqing 630038)

Abstract Thirty percent TBSA full thickness burns due to napalm was inflicted to the rats and the pathological changes of the thyroid were studied under optical and electron microscopy and with peroxidase histochemistry for 15 days. The alterations of serum T_3 and T_4 levels accompaniying the pathological changes were also observed dynamically.

It was found that the pathological changes of the thyroid could be distinguished into three phases as follows:

1. The phase of injury inhibition. This phase existed from the 2nd to the 24th hour postburn and was characterized by marked damage on the follicular epithelium.
2. The phase of structural and functional recovery. This phase entended from the 3rd to the 6th day postburn. In this phase, the damages on the thyroid became abated and its damaged structure showed a tendency to recover.
3. The phase of active function. It extended from the 10th to the 15th day postburn. The organelles to synthesize and release thyroid hormone were fonud well developed.

The alteration of T_4 run parallelly to the pathological changes of the thyroid in all the stages, while T_3 level was continously inhibited because of the lower serum concentration of T_4, the metabolic disturbance of T_4 deiodination, and the inhibition of thyroid secretion in the early postburn stage and the metabolic disturbance of T_4 deiodination in the middle and late postburn stages. In the early postburn stage, the inhibition of thyroid peroxidase was an important factor of functional inhibition of the thyroid.

Key words thyroid gland/PA; thyroid gland/UL; burns; peroxidases

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net