

## Гистологические и ультраструктурные изменения лимфатических узлов и селезенки при синдроме длительного раздавливания в эксперименте

А.В. Азнаурян, М.З. Бахшиян, М.Ю. Артищева, Г.Л. Мкртчян, В.В. Воскерчян

ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра гистологии

375025, Ереван, ул. Корюна, 2

**Ключевые слова:** синдром длительного раздавливания, периферические органы, строма, паренхимальные клетки

Изучение структурных и патогенетических аспектов синдрома длительного раздавливания (СДР) остается актуальным. Природные катаклизмы, стихийные и социальные бедствия, которые являются причиной возникновения данной патологии, в настоящее время происходят нередко, а само поражение чаще всего носит массовый характер.

Как известно, СДР – это сложный симптомокомплекс, развивающийся после возобновления кровотока в поврежденных тканях и характеризующийся своеобразием механической травмы, токсемией, полиорганными повреждениями [7]. Термин “Краш-синдром” (от английского “crushing” означает раздавливание, раздробление) ввели Bywaters [9] и Duncan, Blalock [10]. Исследования ряда авторов показали, что токсемия оказывает определенное воздействие на органы иммунной системы [2,3,4,6,11]. В настоящее время не вызывает сомнений, что в патогенезе СДР иммунному звену принадлежит существенная роль. Вместе с тем следует отметить, что работы, посвященные строению органов иммунной защиты системы в условиях СДР, малочисленны и не носят комплексного характера [1,5,8,12,14, 15].

Целью настоящего исследования является изучение структурных элементов лимфоидной ткани периферических органов иммунитета через 3, 7, и 30 дней после раздавливания задней конечности крыс в течение часа.

### Материал и методы

Опыты ставили на крысах-самцах массой 130–150 г. Животные были подвергнуты экспериментальному воздействию на специальной установке в виде локальной компрессии одной тазовой конечности.

Площадь поражения занимала всю внутреннюю поверхность бедра (3,14 см<sup>2</sup>), давление – 140 кПа, длительность экспозиции – 1 ч. Контролем служили

животные, которые находились в установке такое же время, но без груза. Материалом для морфологического исследования явились кусочки селезенки и брыжеечных лимфатических узлов. Образцы ткани брали на 3-, 7- и 30-е сутки после декомпрессии. Для целей световой микроскопии кусочки селезенки и брыжеечных лимфатических узлов фиксировали в 10% р-ре формалина и заливали в парафин. При окраске препаратов гематоксилин-эозином выявлялась общая гистоструктура исследуемых органов. Подсчет количества лимфоцитов (больших, средних и малых), плазматических клеток и бластов проводился в 50 полях зрения. Полученные данные были подвергнуты обработке методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Для электронно-микроскопического исследования материал брали прижизненно в условиях эфирного наркоза в те же сроки после 1-часовой экспозиции на установке. Кусочки селезенки и лимфатических узлов толщиной не более 1 мм фиксировали в 2% растворе глутаральдегида на 0,2М какодилатном буфере при температуре +4°C. Затем образцы ткани промывали в холодном 0,15М какодилатном буфере и проводили постфиксацию в 1% растворе OsO<sub>4</sub> на какодилатном буфере при той же температуре. Дегидратацию материала проводили в растворах ацетона возрастающей концентрации, заливку в смесь эпона с аралдитом – по Moullenhauer. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-8.800, помещали на медные сеточки, напыленные углем. Материал контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца [13] и просматривали в электронном микроскопе FEM-100C (Япония) при ускоряющем напряжении 60 kV.

### Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании мезентериальных лимфатических узлов к 3-им суткам после деком-



прессии были выявлены изменения во всех зонах лимфатического узла. В эти сроки эксперимента важное значение имеют структурные и количественные изменения клеточного состава фолликулов (таблица). При этом отмечается стертость границ фолликулов (рис.1), обнаруживаются признаки лимфоцитолита, миграции



Рис 1. Лимфатический узел. Стертость границ фолликула. 3-й день эксперимента, окраска гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 10.

На 7-е сутки декомпрессии гистоструктура лимфатических узлов постепенно восстанавливается. Границы фолликулов становятся заметными. Появляются центры размножения. Количество бластов в них, боль-

малых и средних лимфоцитов, ретикулярная строма оголяется (рис.2), хорошо различимы гистотопографические взаимоотношения ретикулярных клеток. Определяются также многочисленные дегенеративные формы лимфоцитов.

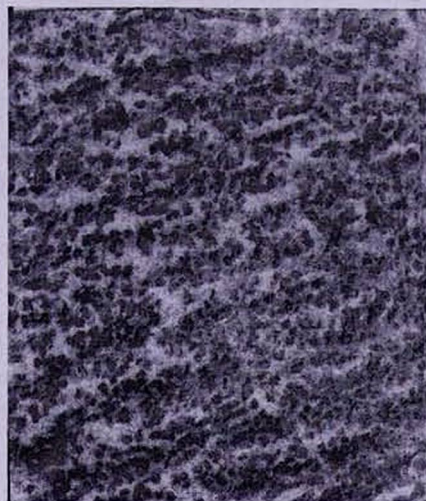


Рис2. Лимфатический узел. Ретикулярная строма фолликула, опустошение паренхимы. 3-й день эксперимента, окраска гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 10.

ших, средних и малых лимфоцитов возрастает по сравнению с предыдущим сроком опыта. Появляются зрелые формы плазматических клеток (таблица).

Таблица

*Содержание клеток на единицу площади в лимфоидных фолликулах в различные сроки после однократного сдавливания (в мкм)  $\bar{X} \pm SX$  (min-max)*

| Число животных | Клетки            | Контроль         | Время после начала эксперимента, сут. |                  |                  |
|----------------|-------------------|------------------|---------------------------------------|------------------|------------------|
|                |                   |                  | 3                                     | 7                | 30               |
| 15             | бласты            | $0,89 \pm 0,03$  | $1,95 \pm 0,07$                       | $1,11 \pm 0,04$  | $1,08 \pm 0,03$  |
| 15             | большие лимфоциты | $2,67 \pm 0,06$  | $3,01 \pm 0,08$                       | $2,61 \pm 0,04$  | $2,58 \pm 0,02$  |
| 15             | средние лимфоциты | $7,64 \pm 0,06$  | $7,96 \pm 0,04$                       | $7,85 \pm 0,08$  | $7,88 \pm 0,09$  |
| 15             | малые лимфоциты   | $12,02 \pm 0,07$ | $8,36 \pm 0,05$                       | $11,64 \pm 0,04$ | $11,91 \pm 0,08$ |
| 15             | плазматические    | $0,22 \pm 0,08$  | —                                     | $0,24 \pm 0,04$  | $0,21 \pm 0,03$  |

На 30-е сутки структура фолликулов полностью восстанавливается. Размеры их почти не отличаются от контрольных показателей. В эти сроки количество

бластов, больших, средних и малых лимфоцитов, плазматических клеток становится почти равным контрольным показателям.



При электронно-микроскопическом исследовании лимфатического узла на 3-и сутки после декомпрессии были выявлены ультраструктурные изменения как в клетках стромы, так и в лимфоцитах. Так, в ретикулярных клетках встречается отек цитоплазмы, скудное расположение органелл и краевое расположение хроматина. В цитоплазме некоторых стромальных клеток



Рис. 3. Лимфатический узел. Скопление липидных капель в цитоплазме ретикулярной клетки. 3-й день эксперимента. Ув. 14000.

К 7-ым суткам декомпрессии признаки ультраструктурной патологии стромальных клеток и клеток паренхимы персистировали. Наряду с явлениями деструкции отмечается некоторая реактивная пролиферация стромальных элементов, а также визуальное увеличение числа плазматических клеток с хорошо развитой эндоплазматической сетью. К 30-му дню отмечается заметное ослабление вышеописанных признаков. Ультраструктура кровеносных капилляров лимфатических узлов при СДР представлялась неоднородной. На 3- и 7-е сутки декомпрессии наряду с сосудами микроциркуляторного русла, имеющими широкий просвет и сохранную структуру эндотелиоцитов, встречались сосуды с деструктивными изменениями в виде вакуолизированной цитоплазмы эндотелия. Это свидетельствует, что часть капилляров имела ультраструктурные признаки, свидетельствующие о повышении проницаемости их стенки. Эти изменения персистировали в более поздние сроки после декомпрессии. Несмотря на наличие в лимфатических узлах как реактивных, так и деструктивных изменений, а в некоторых случаях и признаков запрограммированной

имеет место накопление липидных капель в цитоплазме (рис 3). Деструктивные изменения имеют место не только в стромальных клетках, но и в лимфоцитах и плазматических клетках. Так, в плазматических клетках и лимфоцитах обнаруживаются набухание и деструкция митохондрий, расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети (рис. 4).



Рис. 4. Лимфатический узел. Набухание и деструкция митохондрий, расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети. 3-й день эксперимента. Ув. 14000.

клеточной смерти (апоптоз) ультраструктура лимфатических узлов представляется достаточно сохранной, чтобы иметь возможность реализовать иммунный ответ.

На 3-и сутки после декомпрессии при гистологическом исследовании селезенки обнаруживаются изменения в фолликулах, аналогичные изменениям в лимфоузлах. Границы их нечеткие, размеры уменьшены. Во всех фолликулах в значительном количестве обнаруживаются макрофаги. В сосудах – полнокровие и изменение строения эндотелия, который становится призматическим. В паренхиме селезенки к 7-ым суткам обнаруживается множество лимфоцитов.

Таким образом, в исследованных органах иммунной системы (лимфатические узлы, селезенка) при экспериментальном СДР в ранних сроках декомпрессии обнаруживаются деструктивные изменения, характеризующие иммунодефицитное состояние органов иммунологической защиты. Вышесказанное дает основание констатировать, что органы иммунологической защиты при СДР подвергаются определенным морфофункциональным изменениям в зависимости от



стадии индуцированного СДР. Эти изменения могут рассматриваться как морфологический субстрат иммунодефицита, характерного для данной патологии. Полученные результаты свидетельствуют, что на 3-и сутки декомпрессии обнаруживаются признаки лимфоцитолита, изменения клеточного состава и размера фолликулов лимфатических узлов и селезенки. После

7-го дня декомпрессии отмечаются признаки персистенции гистологических и ультраструктурных изменений в органах иммунной системы. Наличие как реактивных, так и деструктивных изменений в исследуемых органах не является причиной для реализации иммунного ответа в поздние сроки эксперимента.

Поступила 28.10.04

## Ավշային հանգույցներում եւ փայծաղում հյուսվածաբանական եւ անդրկառուցվածքային փոփոխությունները փորձարարական երկարատեւ ճնշման ժամանակ

Ա.Վ. Ազնաուրյան, Մ.Զ. Բախշինյան, Մ.Յու. Արտիշչևա, Գ.Լ. Մկրտչյան, Վ.Վ. Ոսկերչյան

Աշխատանքում ուսումնասիրվել են ավշային հանգույցներում, փայծաղում տեղի ունեցող հյուսվածաբանական և անդրկառուցվածքային փոփոխությունները երկարատեւ ճնշման համախտանիշի տարբեր ժամկետներում:

Փորձի ժամանակ դեկոմպրեսիայի 3-րդ օրը գրանցվել են լիմֆոցիտոլիզի նշաններ, լիմֆոցիտների

խտության նվազում, լիմֆատիկ հանգույցների և փայծաղի ֆունկցիոնների չափերի և բջջային կազմի փոփոխություններ:

Դեկոմպրեսիայի 7-րդ օրը նկատվում է ծայրամասային իմունային օրգաններում հյուսվածաբանական և անդրկառուցվածքային փոփոխությունների պերսիստենցիա:

## Histological and ultrastructural changes in lymph nodes and spleen at experimental crush syndrome

A.V. Aznauryan, M.Z. Bakhshinyan, M.Y. Artishcheva, G.L. Mkrtchyan, V.V. Voskerchyan

Histological and ultrastructural analysis of some changes in peripheric organs of immune system was conducted at different stages of experimental crush syndrome. On the 3rd day after decompression some signs of lymphocytolysis and changes in contents and the sizes of the follicles of spleen and lymph nodes were revealed.

On the 7th day of the decompression a persistence of the histological and ultrastructural changes in the peripheric organs of immune system was observed. Both reactive and destructive changes in the investigated organs are not the cause of the immune response in the late stages of experiment.

## Литература

1. Григорович И.Н. Ученые записки Петрозаводского гос. университета имени О.В. Кусинена. Петрозаводск, 1975, т. 21, вып.2, с. 26.
2. Зимин Ю.И. Итоги науки и техники. Иммунология, т.8, 1979, с.173.
3. Кузин Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М., 1989.
4. Манафеева Э.В., Белокуров Ю.Н., Давыдов Ю.А., Белов А.С. В кн.: Характеристика иммунной системы больных гнойной инфекцией. Ярославль, 1980, с. 11.
5. Пытель А.Я. Клини. мед., 1945, 49, с. 13.
6. Папантопуло А.Н., Головнев В.А., Голубева И.А. В. сб.: Морфология и хирургия. Новосибирск, 1999, с.149.
7. Секамова С.М. Архив патологии, 1987, т. 49, 2, с. 3.
8. Allen G., Galer B.S., Schwartz L. Pain, 1999 Apr; 80(3): p. 539.
9. Bywaters E.C. Brit. Med.J., 1941, 1 p.427.
10. Duncan C.W., Blalock A.B. Ann.Surg., 1942, v. 115, p. 584.
11. Pospishil L. O., Zakhariasevich L.L. Klin.Khir., 1995, 7-8, 45.
12. Nespoli A., Corso V., Mattarel D., Valerio M., Nespoli L. Minerva Anesthesiol., 1999 May; 65(5): p. 256.
13. Reynolds F. S. J.Cell in Biol., 1963, 17, p. 208.
14. Winchurch R.A., Winstler A.N. RES- I Reticuloendothel. Soc., 1980, 27, p. 83.
15. Reid C., Liversey S.A., Engelson C.V. J.Accid. Emerg. Med., 1999, 16(4); 299.