

Гистотопографические и цитофотометрические изменения лимфатических узлов при экспериментальном краш-синдроме

М. З. Бахшиян, В. В. Воскерчян

Кафедры гистологии и оперативной хирургии ЕрГМУ им. Гегарци

Ключевые слова: краш-синдром, мезентериальные лимфатические узлы

Несмотря на бурный прогресс медицинской науки обширные закрытые повреждения мягких тканей вследствие длительного сдавления конечностей и других частей тела обломками разрушенных зданий, грунтом при обвалах на шахтах, взрывных работах изучены недостаточно. Однако актуальность знания данной патологии очень важна, особенно при землетрясениях и других катастрофах мирного времени. Краш-синдром (КС) развивается тотчас после освобождения конечности и восстановления кровотока. Причиной являются выраженные расстройства микроциркуляции, плазмопотеря, токсемия, нарушение метаболизма. От травматического шока его отличают токсемия и острая почечная недостаточность. В поздние сроки в зоне наибольшего некроза развиваются флегмоны и абсцессы. Это происходит на фоне сниженного иммунного статуса, вследствие чего возрастает опасность развития инфекции и сепсиса в ранах. Согласно данным литературы [2,3], более чем у половины пострадавших развивается сепсис, при этом чаще всего из ран выделяется смешанная флора [1].

Данные литературы относительно изменений иммунной системы в условиях КС весьма немногочисленны, вследствие этого недостаточно изучен и патогенез иммунодепрессии. С учетом вышесказанного нами была поставлена цель – изучить морфологические и морфометрические изменения, происходящие в органах иммунной системы при экспериментальном КС.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили мезентериальные лимфатические узлы беспородных белых крыс-самцов. Экспериментальный КС получали путем воздействия на специальной установке в виде компрессии одной тазовой конечности. Площадь поражения занимала всю внутреннюю поверхность бедра (3.14 см^2 , давление 140 кПа). Длительность экспозиции составляла 1 час. Контролем служили животные, которые такое же время находились в установке, но

без компрессии. Животные были забиты через 12, 24, 72 часа и на 7- и 14-е сутки после начала КС.

Для исследования в световом микроскопе брыжечные лимфатические узлы фиксировались в течение 24 часов в 10% растворе формалина с последующей заливкой в парафин. Полученные срезы окрашивались гематоксилин-эозином.

Изучение РНК в плазматических клетках с последующим подсчетом ее количества проводилось на цитофотометре ЛЮАМ-3, препараты окрашивались галлоцианин-хромовыми квасцами [4].

Для выявления ретикулярных волокон препараты импрегнировались серебром по методу Фута. Подсчет количества клеток в узелках проводился в 50 полях зрения. Для изучения клеточного состава и дифференцировки клеточных элементов применялась окраска препаратов азур II-эозином и методом Браше. Площадь лимфоидных узелков определяли, умножая их высоту на ширину с помощью окуляр-микрометра.

Статистический анализ проводился с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты цитофотометрического исследования содержания РНК в плазматических клетках лимфоидной ткани лимфатических узлов после воздействия экспериментального КС представлены в табл. 1.

Как следует из табл. 1, в контрольной популяции разница в количестве РНК вследствие колебаний абсолютных показателей была недостоверной. Однако сразу после экспериментального КС (через 12 ч.) отмечено достоверное снижение содержания РНК в цитоплазме плазматических клеток мезентериальных лимфатических узлов. Через 24 ч. отмечен некоторый подъем уровня РНК, в результате чего разница с контролем становится недостоверной. Однако во всех последующих сроках эксперимента наблюдается достоверное угнетение синтеза РНК – транскрипции по сравнению с контрольными измерениями. Полученные данные свидетельствуют о выраженной реакции

Таблица 1

Содержание РНК в плазматических клетках мезентериальных лимфатических узлов крыс в норме и под действием экспериментального КС

Время после начала КС (часы)	Группы	
	контроль***	КС
12	0.081±0.01	0.051±0.01*
24	0.083±0.01	0.059±0.02**
72	0.085±0.02	0.045±0.01*
168 /7 суток/	0.070±0.01	0.040±0.01*
336 /14 суток/	0.076±0.01	0.033±0.01*

* достоверно ниже по сравнению с контролем, $p < 0,05-0,005$

** $t=1.07$

*** достоверных изменений не обнаружено

плазматических клеток мезентериальных лимфатических узлов крыс на КС, проявляющейся в достоверном снижении содержания цитоплазматической РНК.

Данные морфометрического исследования размеров лимфоидных фолликулов мезентериальных лимфатических узлов после воздействия экспериментального КС представлены в табл. 2.

Таблица 2

Площадь лимфоидных фолликулов лимфатических узлов крыс после воздействия экспериментального КС (мкм^2)

Время после начала КС (часы)	Группы	
	контроль	КС
12	131020±3010	132500±3125
24	129880±4005	136350±4101
72	129720±3251	158900±4518*
168 /7 суток/	132150±3207	160120±4421*
336 /14 суток/	131008±4022	155800±4312*

*достоверно выше по сравнению с контролем, $p < 0,05-0,01$

Содержание клеток в лимфоидных фолликулах крыс в различные сроки после экспериментального КС (на единицу площади)

Клетки		Время после начала КС (часы)					
		Контроль	12	24	72 /3 суток/	168 /7 суток/	336 /14 суток/
Лимфоциты	большие	3.1±0.08	2.9±0.1	3.9±0.2*	5.2±0.4*	4.8±0.4*	4.7±0.2*
	средние	8.9±0.7	8.2±1.1	8.9±1.1	9.1±1.0	8.5±0.9	8.5±0.9
	малые	14.8±1.1	14.1±1.4	14.9±1.0	10.1±0.9**	10.2±0.9**	12.2±1.0
Бласты		0.8±0.05	1.3±0.1	2.2±0.3	3.1±0.3*	2.8±0.1*	2.8±0.1*
Плазматические клетки		0.4±0.1	0.4±0.1	0.4±0.05	0.3±0.01	0.3±0.01	0.3±0.01

* достоверно выше по сравнению с контролем, $p < 0,05-0,005$

**достоверно ниже по сравнению с контролем, $p < 0,01-0,001$

Как видно из табл. 2, в ответ на КС лимфоидные фолликулы лимфатических узлов достоверно увеличиваются в размерах. Этот эффект начинает проявляться с 72 ч. после начала КС и сохраняется до конца срока наблюдения (2 недели).

Нами также изучалась толщина ретикулярных волокон лимфоидных фолликулов мезентериальных лимфатических узлов крыс в различные сроки после экспериментального КС (табл. 3).

Таблица 3

Толщина ретикулярных волокон периферии лимфоидных фолликулов лимфатических узлов крыс в различные сроки после экспериментального КС / мкм /

Время после начала КС (часы)	Группы	
	контроль	КС
12	1.31±0.09	1.30±0.07
24	1.32±0.1	1.33±0.08
72	1.29±0.08	1.45±0.1
168 /7 суток/	1.30±0.09	1.42±0.1
336 /14 суток/	1.28±0.08	1.38±0.07

Как следует из табл. 3, достоверных изменений в толщине ретикулярных волокон лимфоидных фолликулов мезентериальных лимфатических узлов не выявлено.

В табл. 4 приведены данные по содержанию основных клеток иммунной системы в лимфоидных фолликулах мезентериальных лимфатических узлов.

Таблица 4

Как видно из табл. 4, КС вызывает значительные сдвиги в структуре клеточной популяции лимфоидных фолликулов. Часть изменений в популяциях иммунных клеток носит временный характер. Так, зафиксировано достоверное снижение содержания малых лимфоцитов в сроки на 3–7-е сутки. Популяция средних лимфоцитов и плазматических клеток остается без существенных изменений в течение всех сроков наблюдения. Что же касается популяции больших лимфоцитов и бластов, то их содержание достоверно повышается и не является временным, а сохраняется

до 14 суток после КС. Все это говорит о существенном воздействии КС на иммунную систему.

Итак, нами выявлены значительные сдвиги в функциональных и структурных изменениях лимфоидных фолликулов мезентериальных лимфатических узлов, проявляющиеся изменением как их морфометрических показателей, так и количественных и качественных показателей иммунных клеток. Это объясняет различные расстройства иммунной системы и, вероятно, способствует лучшему пониманию механизмов иммуносупрессии при КС.

Поступила 21.03.05

Մեզենտերիալ լիմֆոցիտար հանգույցների հիստոպոպոգրաֆիկ և ցիտոֆոտոմետրիկ փոփոխությունները փորձարարական կրաշ համախտանիշի ժամանակ

Մ. Զ. Բախշինյան, Վ. Վ. Ոսկերչյան

Ստացված տվյալները վկայում են փորձարարական կրաշ համախտանիշի ժամանակ լիմֆոցիտար հանգույցների լիմֆոիդ հյուսվածքի պլազմատիկ բջիջների արտահայտված պատասխանի մասին: Պլազմատիկ բջիջներում ցույց է տրված տրանսկրիպցիոնալ ակտիվության ընկճում և դրան համապա-

տասխան մետաբոլիկ ֆունկցիայի արգելակում: Երկարաժամկետ փոփոխություններ դիտվում են բլաստների, մեծ և փոքր լիմֆոցիտների պոպուլյացիաներում՝ որպես քանակական ցուցանիշների նվազում:

Changes in histotopography and cytophotometry of the mesenteric lymphatic nodules at experimental crush syndrome

M. Z. Bakhshinyan, V. V. Voskerchyan

The data obtained testify to reaction of plasmatic cells of the lymphatic nodules to experimental crush syndrome. In plasmatic cells it was shown a significant suppression of the transcriptional activity and accordingly inhibition of

the metabolic function. Long-term changes are observed in blasts, in big and small lymphocyte populations. It can explain the possible mechanism of immunodeficiency accompanying crush syndrome.

Литература

1. Захарова Г.Н. Вестник хирургии им. Грекова, 1978, т. 120, 2, с.109.
2. Cathey K.L., Brady W.J. Jr., Butler K. et al. Am. Surg., 1998 May;64(5):450.
3. Leone R.J. Jr., Hammond J.S. Am. Surg., 2001 Feb;67 (2):138.
4. Wied L. G. Introduction to quantitative cytochemistry. Academic Press, New York & London, 1966.