

ОСОБЕННОСТИ МОРФОСТРУКТУРНЫХ И ГИСТОХИМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ЛИМФОУЗЛОВ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АБДОМИНАЛЬНОГО СЕПСИСА

Алексеев С. А.¹, Руденок В. В.¹, Мяделец О. Д.², Алексеев Д. С.², Руденок П. В.¹

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь;

²Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

Реферат. У 24 экспериментальных животных создана модель абдоминального хирургического сепсиса, отражающая стадии развития генерализованной интраабдоминальной инфекции — индукционной, катаболических нарушений, прогрессирующей полиорганной недостаточностью (далее — ПОН) и изучено 42 гистологических среза ткани брыжеечных лимфоузлов с учетом морфоструктурных и гистохимических нарушений. Установлена зависимость полученных изменений в ткани индуктивной и эффекторной зон лимфоузлов при различных стадиях абдоминального сепсиса в эксперименте.

Ключевые слова: абдоминальный хирургический сепсис, экспериментальные животные, морфоструктурные и гистохимические нарушения, брыжеечные лимфоузлы.

Введение. Сегодня смертность от сепсиса занимает 11-е место среди причин летальных исходов, что составляет лишь неполную часть «надводного айсберга» статистики.

При одной из форм хирургического сепсиса — абдоминальной — происходит одновременное поступление микробных антигенов и бактериальных модулинов из трех основных источников — интраабдоминально локализованного гнойно-деструктивного очага, перитонеального экссудата и просвета парализованного тонкого кишечника, приводящих в совокупности к формированию комбинированного вторичного индуцированного иммунодефицита (далее — ВИД) [3, 4]. Последний затрагивает все уровни изменений иммунной системы: гибель клеток (некроз, апоптоз), функциональную клеточную блокаду (как клеточных рецепторов, так и путей передачи сигналов); дисбаланс клеточных субпопуляций; глубокие нарушения в системе гуморального иммуногенеза [2]. Развитие ВИД непосредственно затрагивает все звенья местной иммунной системы ЖКТ, второй по представительской функции и численности после бронхолегочной, образующей в совокупности ее «периферический» отдел, в который входят множественные брыжеечные лимфоузлы, лимфоидная ткань кишечника, аппендикса, селезенки с объединяющей их системой рециркуляционных клеток [1].

Несмотря на множество научных публикаций, посвященных хирургическому сепсису, вопросы стадийных изменений периферического звена иммуногенеза ЖКТ — брыжеечных лимфоузлов отражены недостаточно.

Цель работы — оценить степень морфоструктурных и гистохимических нарушений в брыжеечных лимфоузлах при различных стадиях экспериментального абдоминального сепсиса.

Материалы и методы. Проведен анализ 42 гистологических срезов брыжеечных лимфоузлов, полученных у 24 экспериментальных животных (крысы линии Вистар). При выполнении экспериментов были учтены общеустановленные правила работы с экспериментальными животными (Страсбург, Франция; 1986, Директива Совета ЕС 86/609 от 24.11.1986), получено одобрение внутрививозовских комитетов по этике. Оперативные вмешательства выполнялись после стандартной премедикации путем внутримышечного введения 1,0 %-го раствора тиотентала натрия в дозе 0,5–0,6 мл/кг массы тела животного.

Абдоминальный сепсис моделировали по Усикову путем размещения пересеченного и заполненного каловой взвесью червеобразного отростка с дополнительным сужением на 40–60 % просвета подвздошной кишки и введением через 24 ч 24-часовой культуры золотистого стафилококка (штамм № 3347) в количестве 10 млрд ед. У всех экспериментальных животных через 3 сут выявлен абдоминальный сепсис с прогрессирующей ПОН. Морфоструктурные и гистохимические нарушения внутренних органов оценивали в динамике: на 1–2 и 3–4-е сут.

Исследуемый биопсийный материал, взятый из брыжеечных лимфоузлов после их фиксации в растворе нейтрального формалина, последовательно проводили через нарастающие концентрации спиртов, затем из готовых парафиновых блоков получали срезы толщиной 5–7 мкм, которые повторно депарафинизировали. Срезы окрашивали путем селективных гистохимических реакций для последующего определения: глюкозаминогликанов в составе межклеточного вещества (в реакциях ШИК (PAS)); элементов соединительной ткани (по методике Маллори); реакцией микроциркуляции (путем окраски тионином); метахромазии (путем окраски толуоидиновым синим).

Результаты и их обсуждение. *Индукционная (каскадная) стадия сепсиса.* Макроскопически размеры лимфоузлов варьировали в от 1,3×0,7 и до 1,7×0,9 см. Форма большинства лимфоузлов была овальной, реже встречалась полигональная форма. Снаружи лимфоузлы были утолщенными за счет отека капсулы. Последняя состояла из волокон соединительной ткани с отдельными участками фрагментации. В трабекулах, исходящих от капсулы, имели место выраженная дистрофия и лимфатическая инфильтрация. В коллагеновых и ретикулярных волокнах трабекул, находящихся в мозговом веществе, также установлена фрагментация.

В межволоконном пространстве содержание промежуточного вещества было заметно увеличенным, в их рыхлых отделах отмечались участки недостаточного окрашивания с распадом сетевидных волоконистых структур. Плохое окрашивание эластических волокон, хаотическое их расположение и признаки гиперплазии клеточных скоплений гладких мышц на фоне увеличения гиперхроматина в ядрах являлись характерными признаками межклеточной дистрофии элементов соединительной ткани, составляющей до 10–12 % от их общего объема ($p < 0,05$).

В кортикальном отделе лимфоузлов выявлялись сегменты, состоящие из 2–3 зернышек, окруженных трабекулами. Фолликулы имели крупную, неровную, чаще — «гантелевидную» форму в виде песочных часов. Размер реактивных центров был увеличенным. Местами данные центры сливались между собой. Размер центров был незначительным по площади; ядра в них были окружены гетерохроматиновыми лимфоцитами. Клеточные компоненты характеризовались митотической активностью. При этом встречались как клетки с многоядерными детритами, так и иммунобласты больших размеров. Также обнаруживались макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы, имеющие зернистость в цитоплазме.

В паракортикальном отделе лимфоузлов выявлялась гиперплазия. Посткапиллярные вены были существенно увеличенными, эндотелиоциты пребывали в состоянии незначительного отека. Строма узлов имела также признаки отека и была инфильтрирована лимфоцитами, интердигестивными клетками, плазматическими и лимфоцитами. Наряду с ними встречались клетки средних размеров, характеризовавшиеся мономорфной структурой и диффузным расположением (микролимфоциты). Ядерные мембраны данных клеток имели четкую выраженность, хроматин имел грубую сетевидную форму, а число нуклеотидов достигало 1–3. Цитоплазма в них была базофильной и имела митозные включения. Ретикулярная строма вокруг данных клеток имела признаки отека, количество межволоконного вещества было заметно увеличенным. Из клеточных элементов в основном определялись лимфоциты с тонкой цитоплазмой и ядрами с неровными краями, содержащими несколько ядрышек (1–2), а также микролимфоциты, плазматические клетки и эозинофилы. В просвете венул отмечались лимфоциты крупных размеров. Данная стадия сепсиса проявлялась расширением краевых и фолликулярных синусов лимфоузлов с заполнением их аморфным веществом. При морфометрической оценке общая площадь коркового вещества составила 45 % ($p < 0,05$), мозгового — 33 % ($p < 0,05$), соединительной ткани — 12 % ($p < 0,01$).

Стадия катаболических нарушений. При микроскопическом исследовании отмечено увеличение размеров лимфоузлов, часть которых на срезе имели дольчатую форму, разделенную соединительной тканью. Микроскопически брыжеечные лимфоузлы характеризовались утолщением капсулы с наличием в межволоконном пространстве жировых элементов. Коллагеновые волокна имели признаки фрагмента-

ции и разрыхления. В составе капсул и трабекул сосудов, участвующих в васкуляризации лимфоузлов, отмечены утолщение, а в некоторых участках — элементы крови. Волокна капсулы имели фрагментативный характер и не образовывали пучков. В отличие от предыдущей стадии содержание массы капсул и трабекул было увеличенным до 14 % ($p < 0,01$).

Границы между корковым и мозговым слоями были нарушенными, а в кортикальном слое лимфоузлов определялась зона, состоящая из 1–3 фолликулов, имеющих полиморфную форму. На фоне отека и дистрофии были отмечены участки разрыхления. На периферии фолликулов отмечалось лимфоцитарное «кольцо». В отличие от индукционной стадии сепсиса оно было более тонким, а клеточное содержимое фолликулов — смешанным. Клетки имели среднюю степень митотической активности, в некоторых из них имелись некротические и некробиотические нарушения. Паракортикальная зона лимфоузлов отличалась наличием посткапиллярных венул с незначительным числом лимфоузлов, расположенных более рыхло и более тесно связанных со стенками сосудов. В указанной зоне отмечены высокая макрофагальная активность, гиперемия, избыточное кровенаполнение на фоне расширения просвета сосудов. Очаги некрозов чаще всего были окружены лейкоцитарными инфильтратами. Резкое анастомозирование шнуров мозгового вещества характеризовалось избыточным кровенаполнением и отеком стромы с высокой дифференцировкой клеток. Среди последних выявлялись плазмциты и лимфоциты, а также незначительное число макрофагов. В некоторых отделах паракортикальной зоны было установлено альвеолярное строение, созданное ретикулярными волокнами и межволоконными структурами на фоне хаотично расположенных многоядерных клеток. Выявлялось расширение краевых, межфолликулярных и мозговых синусов; присутствовали бластные элементы, детритные скопления и различные клетки крови. По краям синусов отмечены скопления гистиоцитов, имеющих гистиоцитозные признаки. При морфометрической оценке общая площадь коркового вещества составила 45 %, мозгового вещества — 33 %, капсул и трабекул — 12 % ($p < 0,05$).

Стадия прогрессирования ПОН. Макроскопические размеры лимфоузлов составили от 1,6×1,0 до 2,1×1,5 см. На разрезе чаще всего они состояли из конгломератов, включавших 3–4 доли. Микроскопически в капсуле выявлялся отек жировых элементов с явлениями фрагментации и разрушения. Волокна были представлены преколлагеновым и коллагеновым типами с признаками дистрофии. Данные волокна располагались хаотично, в промежутках между ними отмечены лейколимфоцитарные инфильтраты. Сосуды были расширенными, стенка их была подвержена дистрофии, а просветы «закупорены» эритроцитарными массами. Равномерное распределение по сравнению с предыдущими стадиями сепсиса трабекул было изменено ввиду повышения проницаемости сосудов и избыточного скопления гемосидерина. Корковое и мозговое вещество лимфоузлов, как правило, не определялось. В корковом слое большинства из них границы отсутствовали из-за их полиморфизма. Форма реактивных центров была измененной, в некоторых участках граница центров сливалась со стромой. Здесь же наряду с наличием митотически активных лимфобластов и иммунобластов отмечалась выраженная макрофагальная реакция. По краям реактивных центров выявлялись тонкие кольца, состоящие из центроцитных клеток. Кортикальный слой лимфоузлов включал зоны-участки т.н. «погасших» лимфатических узлов без признаков митотической активности.

Несмотря на четкое отсутствие границ паракортикального слоя выявлялись расширенные посткапиллярные вены и большое количество моноцитов и макрофагов с неоднородной цитоплазмой, содержащей клетки с малым ядрышком. В корковой зоне определялись «шнурообразные» элементы, связанные с нарушением питания (гипоксией). В некоторых отделах отмечены кровоизлияния и лакуны, состоящие из детритных, аморфных и эритроцитарных скоплений, в других были видны суженные просветы сосудов, закупоренные массами с признаками дистрофии. В строме лимфоузлов волокна были отечными, «набухшими», а межволоконное аморфное вещество — увеличенным за счет снижения эозинофильности. Отмечена высокая активность плазматических клеток, обусловленная воздействием антигенов. «Пороговые» клетки располагались по краям синусов и были подвержены дистрофическим изменениям. В просвете увеличенных синусов обнаружены эритроциты, лейкоциты и детритные включения. При морфометрическом анализе лимфоузлов площадь их коркового вещества составила 38 %; мозгового — 24 %, соединительной ткани — 25 % ($p < 0,05$).

Выводы:

1. Морфоструктурные и гистохимические нарушения в брыжеечных лимфоузлах — важнейшей структурной единице периферической иммунной системы ЖКТ отражают особенности течения основных стадий генерализации интраабдоминальной инфекции.

2. Особенностью индукционной стадии экспериментального сепсиса являются активация реактивных центров кортикального слоя, гиперплазия паракортикального отдела и расширение краевых и фолликулярных синусов лимфоузлов на фоне повышения митотической активности иммуноцитов.

3. Стадия нарастания ПОН характеризуется редукцией коркового и мозгового слоев лимфоузлов на фоне снижения митотической активности иммуноцитов и повышения площади соединительно-тканых элементов.

4. Выявленные изменения в брыжеечных лимфоузлах при абдоминальном экспериментальном сепсисе обуславливают необходимость разработки их стадийной иммунокорригирующей терапии.

Литература

1. Беляков, И. М. Иммунная система слизистых / И. М. Беляков // Иммунология. — 1997. — № 7. — С. 7–12.
2. Выренков, Ю. Е. Патогенетическое обоснование эндолимфатической антибиотикотерапии в комплексном лечении сепсиса / Ю. Е. Выренков и [др.] // Акт. вопросы сепсисологии. — Тбилиси, 1990. — № 1. — С. 385–385.
3. Ларичев, А. Б. Снова о сепсисе: философия диалектического единства дефиниции и клинической практики / А. Б. Ларичев // Хирургия. — 2015. — № 10. — С. 84–87.
4. Deitch, E. A. Bacterial translocation: influence of different modes of power supply / E. A. Deitch // Gut (Engl). — 1994. — Vol. 35, suppl. 1. — P. 23–27.

CHARACTERISTIC FEATURES OF MORPHOSTRUCTURAL AND HISTOCHEMICAL DISORDERS OF THE ABDOMINAL LYMPH NODES AT DIFFERENT STAGES OF EXPERIMENTAL ABDOMINAL SEPSIS

Alekseev S. A.¹, Rudenok V. V.¹, Myadelets O. D.², Alekseev D. S.², Rudenok P. V.¹

¹*Educational Establishment “The Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus;*

²*Educational Establishment “Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University”, Vitebsk, Republic of Belarus*

A model of experimental abdominal sepsis reflecting the developmental stages of generalized intra-abdominal infection — induction stage, catabolic disorders, progressive MOF — has been created on 24 animals. 42 histological sections of the mesenteric lymph nodes taking into account morphostructural and histochemical disorders have been studied. The dependence of the disturbances obtained in the tissue of the inductive and effector zones of lymph nodes on different stages of experimental abdominal sepsis has been established.

Keywords: abdominal surgical sepsis, experimental animals, morphostructural and histochemical disorders, mesenteric lymph nodes.