

ОСОБЕННОСТИ МОРФОСТРУКТУРНЫХ И ГИСТОХИМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В СЕЛЕЗЕНКЕ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АБДОМИНАЛЬНОГО СЕПСИСА

Алексеев С. А.¹, Руденок В. В.¹, Усович А. К.², Алексеев Д. С.², Руденок П. В.¹

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

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

Реферат. На 30 животных создана модель экспериментального абдоминального сепсиса, отражающая стадии развития генерализованной интраабдоминальной инфекции — индукционной, катаболических нарушений, прогрессирующей (далее — ПОН). Изучен 81 гистологический срез ткани селезенки у 30 животных с учетом морфоструктурных и гистохимических нарушений. Установлена зависимость полученных в ткани индуктивной и эффекторной зон иммуногенеза нарушений при различных стадиях абдоминального сепсиса в эксперименте.

Ключевые слова: абдоминальный хирургический сепсис, экспериментальные животные, морфоструктурные и гистохимические нарушения, ткань селезенки.

Введение. Ни одна из нозологических форм заболеваний, имеющих в основе инфекционное происхождение, не вызывает столь оживленного и постоянного интереса, как проблема хирургического сепсиса. Летальность при данном заболевании не имеет существенной тенденции к снижению на протяжении последних десятилетий, варьируя от 20 до 50 %, а при присоединении септического шока и ПОН увеличивается до 70–80 % и выше [2, 5].

Согласно современным признакам идентификации генерализованной интраабдоминальной инфекции диагноз сепсиса устанавливают, исходя из следующей триады признаков: наличия хирургического интраабдоминального очага (панкреато-, холангиогенного, перитонеального, интестинального) и не менее 2-х признаков ССВО-синдрома системного воспалительного ответа; выявления клинико-лабораторных проявлений ПОН [1, 4].

Течение и исход абдоминального сепсиса сопровождаются развитием вторичного индуцированного иммунодефицита и затрагивают функционирование всех звеньев иммуногенеза [3]. Вместе с тем, в име-

ющихся источниках литературы недостаточно отражены структурные и гистохимические нарушения внутренних органов, прежде всего, селезенки как центрального звена местной (периферической) иммунной системы ЖКТ в зависимости от стадии абдоминального сепсиса – индукционной, катаболической, нарастающей ПОН.

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

Материалы и методы. Проведен анализ 81 гистологического среза селезенки, полученного у 30 экспериментальных животных (крысы линии Вистар). При экспериментах были соблюдены все принятые правила работы с экспериментальными животными (Страсбург, Франция; 1986, Директива Совета ЕС 86/609 от 24.11.1986), получено одобрение внутривузовских комитетов по этике. Операции выполнялись после предоперационной премедикации в составе смеси дроперидола (0,5 мг/кг), димедрола (1,5 мг/кг), анальгина (60 мг/кг). Для общего обезболивания использовали внутримышечное введение 1,0 %-го раствора тиопентала натрия в дозе 0,5–0,6 мл/кг массы тела животного.

Абдоминальный сепсис с полиорганной недостаточностью создавался моделированием распространенного перитонита (по Усикову) путем размещения удаленного червеобразного отростка (с предварительно перемещенным в него каловым содержимым из просвета) в мезогастральную область. Дополнительно на 40–60 % суживали просвет терминального отдела тонкого кишечника (на 1–1,5 см проксимальнее илеоцекального угла) с помощью шелковой лигатуры. Через 24 ч животным вводили 24-часовую культуру золотистого стафилококка (штамм № 3347) в количестве 10 млрд ед. Абдоминальный сепсис выявлен у всех экспериментальных животных через 3-е сут от начала эксперимента. Морфоструктурные и гистохимические нарушения внутренних органов изучали в динамике — на 1–2-е сут; после развития ПОН — на 3–4-е сут.

Исследуемый биопсийный материал, взятый из ткани селезенки после фиксации в 10 %-м растворе нейтрального формалина и растворе Биен, подвергали обезвоживанию в нарастающей концентрации спиртов (60; 70; 80; 90; 100 °). На следующем этапе биопсийные ткани были отработаны парафином, после чего из готовых блоков изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, которые затем повторно депарафинизировали. Полученный материал окрашивали в *trivial* с последующей селективной гистохимической реакцией для определения:

А. Глюкозаминогликанов в составе межклеточного вещества по реакции ШИК (PAS).

Б. Элементов соединительной ткани селезенки (при окраске Маллори).

В. Ретикулярной стромы селезенки (путем импрегнации по методике Futu).

Г. Микроциркуляции (путем окраски тионином).

Д. Метакромазии (путем окраски толуоидиновым синим).

Результаты и их обсуждение. *Индукционная (каскадная) стадия абдоминального сепсиса.* Макроскопически размер и цвет селезенки были неизменными. В капсуле селезенки отмечены коллагеновые и эластические волокна, незначительное число фибробластов и клеток гладких мышечных волокон. Волокна, преимущественно коллагеновые, были достаточно отчетливыми, без признаков фрагментации. В трабекулах, расположенных от капсулы к центру, хорошо прокрашенных орсеином, отчетливо преобладали эластические волокна. В паренхиме отмечено скопление лимфоидной ткани на фоне белой пульпы, представлены видимые скопления лимфоцитов, плазмочитов и макрофагов с внутренней эксцентричной узловой артерией. В лимфатических узлах ворот селезенки хорошо выявлялись 4 зоны. В периартериальной зоне вокруг артерий были расположены лимфоциты, ядра которых имели полиморфную структуру. Реактивная зона была богата лимфоцитами, лимфоцитами, ретикулярными клетками и макрофагами. Зона мантии в основном состояла из лимфоплазмочитарной инфильтрации с незначительным числом макрофагов (при окрашивании орсеином) на фоне имеющихся ретикулярных волокон. В маргинальной зоне были выявлены синусоидные сосуды, различные типы лимфоцитов и небольшое число макрофагов. Красная пульпа селезенки состояла из ретикулярной ткани, сосудов синусоидного типа и форменных элементов крови, представленных преимущественно эритроцитами. Средняя оболочка трабекулярной артерии была малозаметна. В наружной оболочке пульпарной артерии при окрашивании орсеином были отмечены спиралевидные эластические волокна. Крупные сосуды в основном имели гиперемию; эндотелий в них был с признаками отека и включал лимфоидные скопления. Вокруг хорошо выраженных капилляров красной пульпы, подверженных легкой дезорганизации, выявлялись полости, заполненные тромбированными массами. В полостях синусоидов встречались скопления детрита, эритроцитов и лимфоцитов. Их эндотелиальный слой частично был подвержен мукоидной дистрофии. Снаружи выявлялись анастомозированные ретикулярные волокна.

Стадия катаболических нарушений. Микроскопически определяемая соединительная ткань, покрывающая селезенку, имела признаки мукоидной дистрофии. В фибробластах, клетках гладкой мускулатуры, трабекулах, из которых состояла ее капсула, отмечено избыточное содержание эластических волокон.

В некоторых местах волокна анастомозировали между собой, за счет чего они приобрели сетевое строение. В лимфатических узлах, расположенных в паренхиме селезенки, был заметен отек, а в некоторых местах отчетливо обнаруживалось смещение слоев, хотя основная граница между красной и белой пульпой была отчетливо заметной.

В отличие от индукционной стадии сепсиса отмечено повышение уровня лимфобластов и макрофагов. Наряду с макрофагальной реакцией выявлялись эозинофилы, плазмциты и моноциты. В макрофагах капсулы и в трабекулах имели место признаки липоидоза. Размеры реактивного центра в отличие от предыдущей стадии были относительно увеличенными; ретикулярные клетки содержали большее число лимфобластов. В цитоплазме макрофагов были хорошо заметны остатки детрита и клеточных элементов.

В мантийном отделе установлена существенная лимфоплазмцитарная инфильтрация. Здесь же на фоне признаков фиброза были отмечены дистрофия и утолщение ретикулярных волокон. Синусы, охватывающие маргинальный отдел, были расширенными, окружены макрофагами и лейкоцитами. В ретикулярной строме красной пульпы отмечался фиброз волокон, подвергшихся ретикулярной дистрофии и склерозированию. Ряд волокон содержал элементы фрагментации и разрушения.

Внутри селезенки выявлен частичный или полный спазм сосудов, дистония артерий с расширением их просвета и заполнением клеточными и кровяными включениями. В сосудах микроциркуляторного русла и преимущественно в капиллярах выявлялось повышение их извилистости на фоне отдельной аневризматической трансформации.

Стадия прогрессирования ПОН. Макроскопически размеры селезенки были относительно увеличенными — на срезе преобладала темно-коричневая окраска с сероватыми прослойками. Микроскопически капсула, покрывающая селезенку, состояла из соединительной ткани и была подвержена дистрофическим изменениям на фоне увеличения объема гладкомышечных элементов. Объем трабекул был также увеличенным на фоне их извилистой формы. В то же время трабекулы имели значительное число эластичных волокон, окрашивающихся орсеином.

Объем белой пульпы селезенки был значительно увеличенным, часть лимфоузлов находилась в смешанном состоянии. Отмечено резкое увеличение реактивных центров узлов с истончением их маргинальной прослойки. При этом в реактивных центрах, в свою очередь, выявлены в большом числе незрелые лимфоидные элементы, плазмциты, макрофаги и ретикулоциты.

Мантия селезенки была истонченной и состояла из лимфоцитов малого или среднего диаметра. В лимфатических узлах были заметны кровенаполнение, отек, фиброз, увеличение числа ретикулярных волокон. В полости синусов отмечены эозинофилы и плазматические клетки.

В красной пульпе селезенки обнаружены очаговые кровоизлияния и склеротически измененные волокна, подверженные мукоидной дистрофии с участками гемосидерина и плазмцитогенеза. Клеточные элементы состояли из лимфоцитов и большого числа плазмцитов. При данной стадии сепсиса характерно было уменьшение количества Т-лимфоцитов на фоне увеличения уровня В-лимфоцитов. Эндотелий сосудов был отечным, в единичных случаях полностью отсутствовал.

Выводы:

1. Моделируемая модель экспериментального сепсиса полностью воспроизводит этапы генерализации интраабдоминальной инфекции: индукционный, катаболических нарушений, прогрессирования ПОН.

2. Существенным морфоструктурным и гистохимическим изменениям при абдоминальном сепсисе подвержен центральный орган периферической иммунной системы ЖКТ — селезенка, которая посредством индукторной зоны участвует в процессах восприятия и первичной обработки микробных антигенов, за счет эффекторной — реализует тип иммунного ответа.

3. Стадия катаболических нарушений в отличие от индукционной характеризуется активацией лимфобластов и макрофагов на фоне увеличения размеров реактивного центра, дистрофии ретикулярных волокон, фиброза стромы красной пульпы и нарушений микроциркуляторного русла.

4. Проявлениями стадии нарастающей ПОН являются: увеличение объема трабекул и белой пульпы селезенки; появление незрелых лимфоцитарно-плазматических клеток, истончение мантии; уменьшение числа Т-лимфоцитов на фоне увеличения уровня В-лимфоцитов в красной пульпе.

5. Представленные морфоструктурные и гистохимические нарушения в ткани селезенки формируют предпосылки индуцированного вторичного иммунодефицита при абдоминальном сепсисе и обуславливают необходимость разработки стадийной иммунокорректирующей терапии.

Литература

1. Хабиб, О. Эпидемиология септического синдрома: данные восьми академических центров / О. Хабиб // Рус. мед. журнал. — 1998. — Т. 6, № 13. — С. 10.
2. Шано, В. П. Сепсис и синдром системного воспалительного ответа / В. П. Шано и [др.] // Анестезиология и реаниматология. — 1998. — № 4. — С. 60–64.

3. Berger, D. Management of abdominal Sepsis / D. Berger, K. Buttenschoen // Langenbecks Arch Surg. — 1998.— Vol. 383, № 1. — P. 35–43.
4. Cascio, A. Sepsis definitions / A. Cascio, Ch. Iaria // Lancet. — 2013. — Vol. 381, № 9885. — P. 2249.
5. Sepsis Definitions Time of Change / I. L. Vincent [et al.] // Lancet. — 2013. — Vol. 381, № 9868. — P. 774–775.

CHARACTERISTIC FEATURES OF MORPHOSTRUCTURAL AND HISTOCHEMICAL DISORDERS IN THE SPLEEN AT DIFFERENT STAGES OF EXPERIMENTAL ABDOMINAL SEPSIS

Alekseev S. A.¹, Rudenok V. V.¹, Usovich A. K.², Alekseev D. S.², Rudenok P. V.¹

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

²Educational 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 30 animals. 81 histological sections of the spleen tissue in 30 animals 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 immunogenesis on different stages of experimental abdominal sepsis has been established.

Keywords: abdominal surgical sepsis, experimental animals, morphostructural and histochemical disorders, spleen tissue.

Поступила 09.07.2018