
Вопросы общей патологии

УДК 616.36-002.2

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ ТИМУСА И ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУНОДЕФИЦИТНОМ СОСТОЯНИИ

Н. В. Черненко*, кандидат биологических наук

ГБОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России, 153012, Россия, г. Иваново, Шереметьевский просп., д. 8

РЕЗЮМЕ Исследовалось влияние удаления селезенки на морфофункциональное состояние тимуса и лимфатических узлов на 120 взрослых обоеполовых нелинейных крысах через 1, 7, 14, 21, 28, 90, 180, 270, 360 дней после спленэктомии. При помощи гистологических, морфометрических и статистических методов было установлено, что после спленэктомии происходят изменения структуры тимуса и лимфатических узлов, их структуры и функциональных показателей; показана взаимосвязь структурных преобразований вследствие утраты селезенки.

Ключевые слова: спленэктомия, селезенка, тимус, лимфатические узлы, иммунодефицитное состояние.

* Ответственный за переписку (corresponding author): e-mail: chernenco_nv@mail.ru.

Проблема иммунодефицитных состояний в настоящее время является одной из самых острых и актуальных в медицине: при отсутствии или недостаточном функционировании одного из звеньев иммунной системы происходят адапционно-компенсаторные преобразования других органов данной группы [11]. Одним из путей их исследования является создание экспериментальных моделей иммунодефицитного состояния, таких как тим- и спленэктомия, воздействие цитостатиков, иммунодепрессантов, в том числе стероидных препаратов, радиоактивное облучение и т. д. [10, 13].

Спленэктомия как модель иммунодефицитного состояния является адекватной для исследователя, так как при достаточной высокой частоте выполнения данной операции в клинике имеется

возможность её воспроизведения в эксперименте для реализации поставленных задач [5]. И хотя селезенка не является жизненно важным органом, её удаление серьезно сказывается на состоянии здоровья пациентов. Часто временное улучшение сменяется развитием иммунодефицитного состояния [5, 7], которое подтверждено экспериментально и обозначается в литературе как «постспленэктомический гипоспленизм» [4, 14, 17]. Его признаками являются уменьшение иммунологической резистентности организма, возможность развития молниеносных инфекций, увеличение заболеваемости острыми и хроническими вирусными и бактериальными инфекциями на протяжении всей дальнейшей жизни человека [4, 17].

Не все аспекты исследуемой проблемы имеют окончательное решение. Данные научной лите-

Chernenko N. V.

THE PECULIARITIES OF STRUCTURAL FUNCTIONAL TRANSFORMATIONS OF THYMUS AND LYMPHATIC NODES IN EXPERIMENTAL IMMUNODEFICIENCY

ABSTRACT The article considers the influence of splenectomy upon morphofunctional status of thymus and lymphatic nodes in 120 adult non-linear rats (male and female) in 1, 7, 14, 21, 28, 90, 180, 270, 360 days after the intervention. By histological, morphometric and statistic research techniques it was determined that splenectomy exerted definite influence upon structural alterations and functional indices of thymus and lymphatic nodes; the interrelation of these structural transformations due to spleen loss (also the loss of functions performed by these organs) was demonstrated.

Key words: splenectomy, spleen, thymus, lymphatic nodes, immune.

ратуры об иммунологической реактивности организма после спленэктомии весьма противоречивы [8, 9, 16]. Поэтому всестороннее исследование морфофункционального состояния тимуса и лимфатических узлов как органов центрального и периферического звеньев иммунитета в норме и при спленэктомии является важным и перспективным направлением современной иммуноморфологии, востребованным практической медициной.

Цель работы – изучение морфофункциональных преобразований лимфатических узлов и тимуса крыс в сроки от одних суток до одного года после спленэктомии и определение степени влияния спленэктомии на структурные преобразования вилочковой железы и брыжеечных лимфатических узлов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальными животными послужили 120 половозрелых нелинейных обоеполюх белых крыс массой 120–180 г. Животные были разделены на 9 групп по 6 животных в каждой. Первая группа (сравнения) – интактные крысы, остальные группы – животные с длительностью эксперимента 1, 7, 14, 21, 28, 90, 180, 270, 360 суток после спленэктомии. Каждой группе соответствовала контрольная группа (с ложной операцией). Все экспериментальные вмешательства на животных и эвтаназия проводились при обезболивании. Спленэктомия выполнялась при верхней срединной лапаротомии.

Продольные и поперечные парафиновые срезы брыжеечных лимфатических узлов и тимуса, изготовленные по стандартным методикам и окрашенные гематоксилином и эозином, изучались с использованием светового и цифрового микроскопов. По общепринятым морфометрическим методикам [1, 2] измерялись линейные параметры и объемная плотность структур лимфатического узла и тимуса (величина подкапсульного

синуса ($R_{пс}$), относительная площадь мозгового синуса (V_M), диаметр лимфоидных узелков (D_L), их количество ($N_{лф}$, $N_{ла}$), количество тимусных долек на срезе узла (N_D), толщина коркового и мозгового вещества (D_K и D_M), их объемные плотности (V_K и V_M), корково-мозговой индекс ($I_{км}$), объемная плотность стромальных элементов, соединительной и жировой ткани (V_C))

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.473.0. Значимость различий двух совокупностей оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После экспериментальной спленэктомии в брыжеечных лимфатических узлах происходят определенные морфологические преобразования, затрагивающие систему синусов узла, стромальные и лимфоидные компоненты. Лимфатические узлы имели инфильтрированную лимфоцитами капсулу. Наблюдалось увеличение линейных параметров синусов лимфоузла. Уже на 28-е сутки отмечалось расширение подкапсульного синуса лимфатического узла в четыре раза, в то время как относительная площадь мозгового синуса существенно снижалась за счет густого заселения её клетками лимфоидного ряда и отеком стромальных элементов. Через 90 суток после спленэктомии толщина подкапсульного синуса возрастала в три раза, а к девятому месяцу она вдвое превышала контрольные показатели. Аналогичные изменения в пределах хорошо очерченных вокругузелковых синусов происходили только в течение 1 месяца после операции (табл. 1).

Существенным преобразованием подвергалось корковое вещество брыжеечных лимфатических узлов, возникали качественные и количественные изменения лимфоидных узелков (табл. 1).

Таблица 1. Морфометрические параметры структур лимфатического узла после спленэктомии

Группы с длительностью эксперимента	$N_{лф}$, ед.	$N_{ла}$, ед.	D_L , мкм	$R_{пс}$, мкм	V_M , %
Группа сравнения	12,00 ± 0,08	7,00 ± 0,07	381±6,2	21,00 ± 0,20	33,40 ± 4,00
1 сутки	13,95 ± 1,12*	6,00 ± 0,71	206,57 ± 1,58*	11,16 ± 5,30*	40,10 ± 1,80*
28 суток	11,53 ± 1,17	4,33 ± 0,64*	241,95 ± 1,84*	8,81 ± 9,32*	29,81 ± 2,36*
90 суток	23,00 ± 0,10*	6,00 ± 0,05	250,9 ± 9,8*	61,00 ± 2,10*	39,90 ± 4,50*
180 суток	21,00 ± 0,09	6,50 ± 0,07	253,3 ± 12,1	56,67 ± 6,11*	26,76 ± 1,49*
270 суток	23,00 ± 0,08	8,00 ± 0,07*	257,2 ± 11,1	43,00 ± 0,45*	29,73 ± 1,30*
360 суток	18,92 ± 1,77*	10,27 ± 0,96*	269,98 ± 9,99*	26,04 ± 2,41*	29,81 ± 1,80

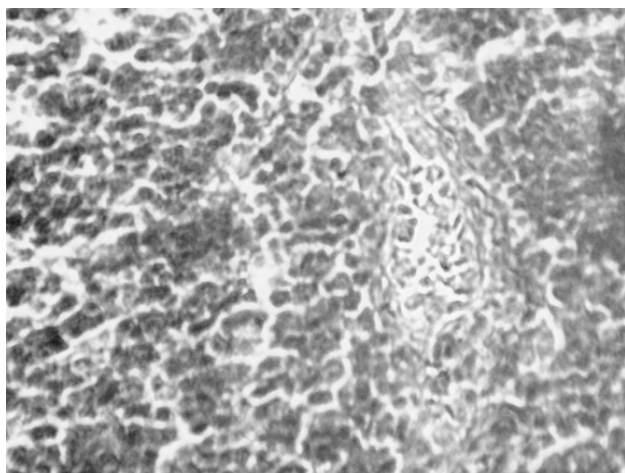
Примечание. Знаком * отмечены статистически значимые различия показателя ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим сроком.

Так, в течение первого месяца после удаления селезенки их количество практически не возрастало, но к третьему месяцу после операции увеличилось почти вдвое. Увеличение количества лимфоидных узелков в 2 раза с уменьшением их размеров на 32% наблюдалось и через 270 суток после удаления селезенки. Новообразованные лимфоидные узелки имели гораздо меньшие размеры (на 1/3 по отношению к группе сравнения). Динамика количества лимфоидных узелков со светлым центром и их линейных размеров, а также изменение структуры мозгового вещества брыжеечных лимфатических узлов дают основание предполагать изменение их иммунной функции, которая на протяжении полугода после удаления селезенки остается сниженной и только к концу года несколько возрастает.

Удаление селезенки серьезно сказывается на морфологии не только брыжеечных лимфатических узлов, но и тимуса. После спленэктомии ре-

гистрировалось значительное увеличение клеток эпителиоретикулоцитов кортикальной и субкапсулярной зон. Заполненными кровью и значительно расширенными были междольковые сосуды (рис. 1). Динамика морфометрических показателей структур тимуса отражена в таблице 2.

Объемная плотность коркового вещества к 90-м суткам возрастала на 21%. Граница мозгового вещества становилась менее заметной, и его объемная плотность уменьшалась почти в три раза по сравнению с таковой у интактных животных. Дольки вилочковой железы становились неровными, с прерывистым рядом премедуллярных клеток, но более однородными по размерам. Большинство долек были мелкими, и только пятая их часть – крупными. Имелась тенденция к уменьшению общего количества долек. Уже через 90 суток после удаления селезенки их число на срезе узла уменьшалось в два, а через 180 суток – в три раза, между дольками появлялись



А



Б

Рис. 1. Междольковые сосуды тимуса группы сравнения (А) и через 28 суток после спленэктомии. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$

Таблица 2. Морфометрические параметры структур тимуса после спленэктомии

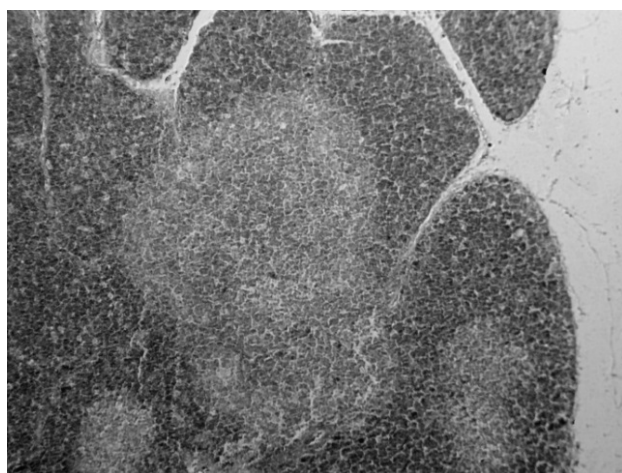
Группы с длительностью эксперимента	N_d , абс. ед.	D_k , мкм	V_k , %	D_m , мкм	V_m , %	V_c , %
Группа сравнения	$24,80 \pm 1,15^*$	$222,40 \pm 22,64^*$	$65,23 \pm 2,39^*$	$327,45 \pm 38,12^*$	$34,77 \pm 2,38^*$	$3,32 \pm 1,95^*$
1 сутки	$12,57 \pm 0,86^*$	$170,93 \pm 13,70^*$	$61,57 \pm 1,60^*$	$587,52 \pm 32,00^*$	$38,43 \pm 1,62^*$	$11,61 \pm 0,89^*$
28 суток	$12,05 \pm 0,58$	$213,18 \pm 18,10^*$	$73,03 \pm 0,81^*$	$263,10 \pm 25,00^*$	$26,96 \pm 0,80^*$	$8,90 \pm 0,40^*$
90 суток	$11,97 \pm 1,19$	$155,59 \pm 15,21^*$	$86,61 \pm 0,70^*$	$291,35 \pm 30,85^*$	$13,39 \pm 1,79^*$	$37,66 \pm 2,01^*$
180 суток	$7,50 \pm 0,15^*$	$100,85 \pm 12,23^*$	$92,03 \pm 0,60^*$	$132,20 \pm 8,35^*$	$7,97 \pm 0,50^*$	$39,70 \pm 2,09^*$
270 суток	$15,57 \pm 0,90^*$	$159,49 \pm 16,92^*$	$93,98 \pm 0,80$	$226,78 \pm 14,36^*$	$6,02 \pm 0,70^*$	$42,88 \pm 1,98^*$
360 суток	$17,60 \pm 1,10^*$	$173,40 \pm 9,90^*$	$26,92 \pm 1,50^*$	$219,64 \pm 14,90^*$	$16,11 \pm 0,85^*$	$56,97 \pm 1,80^*$

Примечание. Знаком * отмечены статистически значимые различия показателя ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим сроком.

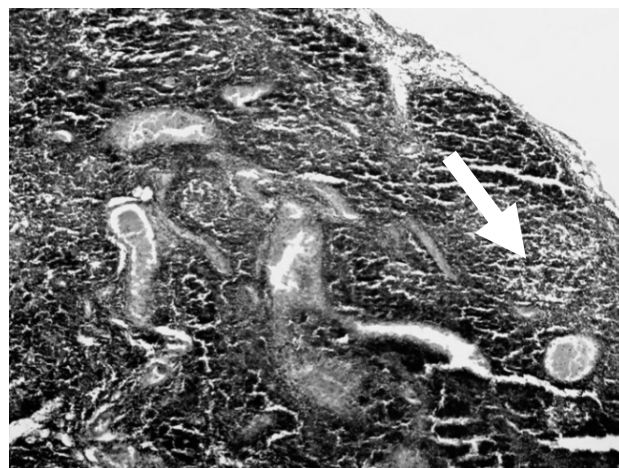
хорошо различимые соединительнотканые прослойки (рис. 2). Объемная плотность стромальных элементов, соединительной и жировой ткани к 270-м суткам являлась достоверно увеличенной в три раза по сравнению с контролем. Отдельные дольки целиком замещались соединительной тканью. Разрастание жировой ткани отчетливо отмечалось по периферии органа. Капсула тимуса была также утолщена, более толстыми являлись междольковые прослойки. Выявленная картина разрастания жировой и соединительной ткани является типичной и для возрастной, и для акцидентальной инволюции органа. Под влиянием операционного стресса, связанного с удалением селезенки как значимого периферического органа иммунитета, происходит развитие акцидентальной инволюции органа даже у молодых животных. Поскольку удаление селезенки приводит к потере способности Т- и В-лимфоцитов к кооперативному взаимодействию и сопровождается уменьше-

нием числа лимфоцитов в тимусе, нарушается созревание и дифференцировка Т-лимфоцитов и формируется недостаточность иммунитета, в том числе и клеточного. Необходимо заметить, что на поздних сроках после спленэктомии на последствия акцидентальной инволюции неизбежно наслаиваются возрастные изменения тимуса. Однако инволюция органа у контрольных животных происходит позднее и выражена в меньшей степени.

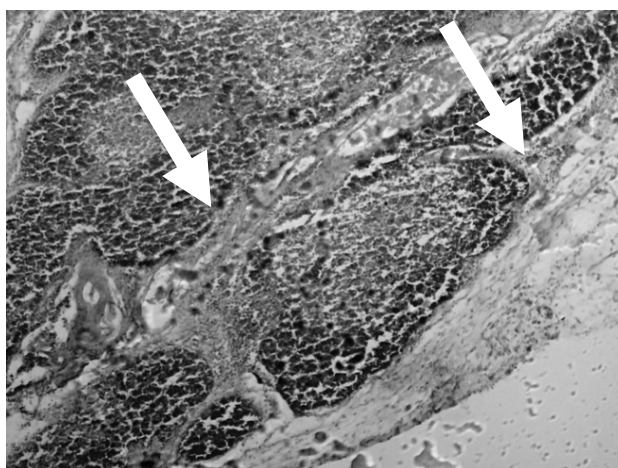
У животных в течение эксперимента отмечено уменьшение массы железы. Так, к 180-м суткам толщина коры уменьшалась на 55%, значительно сокращался и диаметр мозгового вещества дольки – на 60%. Объемная плотность коркового вещества постепенно возрастала до $93,98 \pm 5,90\%$, в то время как мозгового непрерывно уменьшалась почти в шесть раз до $6,02 \pm 0,20\%$ по сравнению с контрольными показателями – $34,77 \pm 3,40\%$.



А



Б



В

Рис. 2. Паренхима тимуса белых крыс группы сравнения (А), через 90 суток (Б), через 270 суток (В). Разрастание соединительной и жировой ткани после спленэктомии. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 40$

Тем не менее в сравнительном аспекте процентное соотношение коры с мозговым веществом возрастало. Вычисленный корково-мозговой индекс, определяющий отношение количества коркового вещества к мозговому, имел прогрессивную динамику и непрерывно увеличивался от 1,88 до 15,61 усл. ед., что свидетельствует о превышении массы коркового вещества над мозговым в 8 раз по сравнению с контролем (рис. 3). Эти данные подтверждают факт развития акцидентальной инволюции тимуса, которая в целом у молодых организмов является обратимой и может подвергаться своевременной коррекции.

Таким образом, тотальное удаление селезенки, безусловно, влияет на изменение иммунологического статуса организма. Полученные нами данные свидетельствуют о последствиях развития акцидентальной инволюции вилочковой железы, а именно об уменьшении размеров, о липоматозе и склерозе, вызывающих истощение функциональной активности железы. Инволюция тимуса после спленэктомии приводит к нарушению нормального соотношения субпопуляций Т-лимфоцитов и антителогенеза В-лимфоцитами [12]. Местом пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов наряду с тимусом является паракортикальная область лимфатических узлов [15, 18]. Лимфатические узлы, являясь органами лимфоцитопозса и депонирования протекающей лимфы, местом протекания антигензависимой пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов в эффекторные клетки, образования клеток памяти, принимают активное участие в компенсаторной реакции после эксперименталь-

ной спленэктомии, поскольку одним из основных путей, по которым организм восполняет функции отсутствующего органа, является увеличение функциональной нагрузки на другие органы иммунной системы [3, 6].

Несмотря на относительное разнообразие компенсаторных изменений, происходящих в лимфоузлах после спленэктомии, их явно недостаточно, и отсутствие селезенки сохраняет опасность развития хронической иммунной недостаточности, что требует соответствующей иммунотерапии. Представленные результаты показывают важность и необходимость дальнейших клинических и экспериментальных исследований влияния спленэктомии на организм.

ВЫВОДЫ

1. Спленэктомия у экспериментальных животных приводит к развитию акцидентальной инволюции тимуса с уменьшением его размеров, липоматозом и склерозом, при которых возникают атрофические явления органа.
2. В брыжеечных лимфатических узлах после удаления селезенки происходит перестройка структуры, направленная на частичную компенсацию иммунодефицитного состояния организма.
3. Изменение морфологической структуры тимуса и брыжеечных лимфоузлов позволяет предположить необходимость стимуляционного воздействия на них с целью своевременной профилактики развития иммунодефицитного состояния, вызванного акцидентальной инволюцией тимуса.

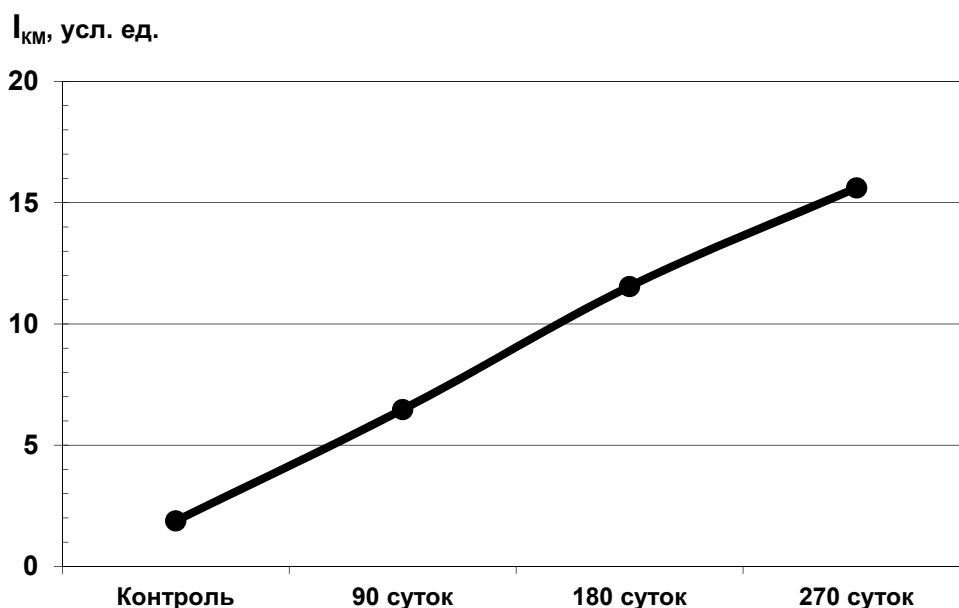


Рис. 3. Изменение корково-мозгового индекса вилочковой железы в зависимости от сроков эксперимента

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов, Г. Г. Введение в количественную патологическую морфологию / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1980. – 214 с.
2. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
3. Бородин, Ю. И. Лимфатический узел при циркуляторных нарушениях / Ю. И. Бородин, В. Н. Григорьев. – Новосибирск : Наука, 1986. – 144 с.
4. Епифанов, Н. С. Удаление селезенки и риск развития тяжелых инфекций у детей / Н. С. Епифанов // Педиатрия. – 1991. – № 33. – С. 96–99.
5. Климанский, В. А. Спленэктомия в гематологии: показания, опасности, альтернативы хирургическому вмешательству / В. А. Климанский // Терапевт. арх. – 1991. – Т. 63, № 7. – С. 14–18.
6. Морфофункциональные изменения лимфатических узлов при иммунодефицитном состоянии / Н. В. Черненко [и др.] // Журн. теоретической и практической медицины. – 2011. – Т. 9. – С. 238–244.
7. Органосохранная и мини-инвазивная хирургия селезенки / М. В. Тимербулатов [и др.]. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 218 с.
8. Павловский, М. П. Иммуногормональные последствия спленэктомии / М. П. Павловский // Журн. академии медицинских наук Украины. – 1995. – № 2. – С. 311–322.
9. Пугачев, А. Г. Влияние спленэктомии на иммунологические показатели у детей / А. Г. Пугачев, В. В. Горячев // Клин. хирургия. – 1983. – № 6. – С. 13–16.
10. Сапин, М. Р. Лимфатический узел / М. Р. Сапин, Н. А. Юрина, Л. Е. Этинген. – М. : Медицина, 1978. – 348 с.
11. Селье, Г. Очерки об адаптационном синдроме : пер с англ. / Г. Селье. – М. : Медгиз, 1960. – 150 с.
12. Стручко, Г. Ю. Изменения нейромедиаторной системы тимуса у крыс после спленэктомии / Г. Ю. Стручко // Морфология. – 1998. – № 1. – С. 105–108.
13. Юрина, Н. А. Антигеннезависимые морфологические изменения в лимфоидных органах в условиях стресса и изменений гормонального фона / Н. А. Юрина // Функциональная морфология иммунной системы. – Новосибирск, 1987. – С. 45–47.
14. Benoist, S. Median and long-term complications of splenectomy / S. Benoist // Ann. Chir. – 2000. – Vol. 125 (4). – P. 317–324.
15. Sainte-Marie, G. The deep cortex of the lymph node: morphological variations and functional aspects / G. Sainte-Marie, C. Belisle, F. S. Peng // Reaction pattern of the lymph node. – Berlin ; Heidelberg ; New-York : Springer-Verlag, 1990. – P. 67–73.
16. Spelman, D. Prevention of overwhelming sepsis in asplenic patients: could do better / D. Spelman // Lancet. – 2001. – Vol. 357. – P. 76–78.
17. Splenectomy and sepsis: the role of the spleen in the immune-mediated bacterial clearance / M. Altamura [et al.] // Immunopharm, Immunotox. – 2001. – Vol. 23 (2). – P. 153–161.
18. T-lymphocytes in Non-neoplastic Lymph Nodes / J. J. Van den Oord [et al.] // Reaction pattern of the lymph node. Part 1. Cell Types and Functions. – Berlin ; Heidelberg ; New-York : Springer-Verlag, 1990. – P. 87–90.