

УДК 611.41-018:616.5-001.17]:599.323.41

І.В. Булько

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

ДИНАМІКА ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗМІН СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ У ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОД ПІСЛЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ

Резюме. Встановлені морфологічні зміни структурних компонентів селезінки у віддалений період при експериментальній термічній травмі. До 14-ої доби посилюється повнокрів'я червоної пульпи. На 21-у добу зберігається виражений екстрамедулярний гемоцитопоез. На цей термін і на 30-у добу значними залишаються світлі реактивні центри, в яких чимало макрофагів з фагоцитованими фрагментами лімфоцитів у вигляді хромофільних тілець. Повнокрівними, розширеними стають маргінальні синусоїдні клітини, що може свідчити про інтенсифікацію транспорту клітин у червону пульпу від структур білої пульпи і навпаки.

Ключові слова: опікова травма, селезінка, морфологічні зміни.

Летальність опікової хвороби коливається залежно від її стадії. Найбільший відсоток (від 65 до 95%) померлих припадає на періоди токсемії та септикотоксемії [1]. Безпосередні причини смерті при опіковій хворобі постійні: сепсис, пневмонія і поліорганна недостатність на їх тлі [2]. Смертність значно коливається, залежно від різних груп населення (діапазон 1,4% до 34%, з тенденцією до зменшення з часом), а також чітко корелює зі збільшенням середньої загальної площі опікової поверхні [3].

Нині опікову хворобу розглядають як імунodefіцитне захворювання, що протікає на тлі найгострішого дефіциту енергетичних і пластичних ресурсів [4]. Найбільш виражені зміни мали місце в системі клітинного імунітету, зі значним зниженням функціональної активності Т- і В-лімфоцитів.

Процеси перебудови в органах імуногенезу (кістковий мозок, селезінка, лімфатичні вузли) мають певну динаміку. Для селезінки як органу детоксикації й імункорекції, залученого у велике коло кровообігу, характерні наступні функції: механічна фільтрація крові з поглинанням ксенобіотиків; функція клітинної матриці, що містить макрофаги, лімфоцити та натуральні кілери; синтез гуморальних чинників імунітету, опсонінів, тафтсину, фібронектину, інтерферону й інших чинників, стимулюючих імунні реакції [5]. Дослідження останніх років [6] показують, що у віддалений період опікова травма викликає глибоку гіперметаболічну відповідь внутрішніх органів.

Проведені дослідження показали, що в ранні

терміни після опікової травми шкіри в щурів в селезінці відбуваються дистрофічні процеси в лімфоцитах та макрофагах, повнокров'я та пристінкові мікротромби в трабекулярних венах селезінки, повнокровні просвіти синусоїдних судин селезінки, набряк та макрофагальна інфільтрація периваскулярної сполучної тканини [7]. Через 7 діб після опікової травми шкіри у щурів, яким вводили 0,9% розчин NaCl в селезінці переважають деструктивні процеси [8]. Залишаються маловивченими імунологічні зміни в організмі при опіковій хворобі.

Мета дослідження: з'ясувати особливості морфологічних змін структурних компонентів селезінки у віддалений період при експериментальній термічній травмі.

Матеріал і методи. Дослідження експериментальної опікової хвороби (контрольна група, 14-а, 21-а та 30-а доба після опіку) були виконані на 32 нелінійних щурах обох статей масою 160-170 г. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались рекомендацій Європейської комісії щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин та методичними рекомендаціями Державного фармакологічного центру МОЗ України. Досліди проводилися з урахуванням "Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)". Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології ВНМУ, сертифікованої ДФЦ МОЗУ (посвідчення № 000679 від 11.01.2008 р.).

До групи № 1 (контрольна група – 8 тварин) були віднесені щури без опіку, яким упродовж 5-6

хвилин проводили внутрішньовенну інфузію в нижню порожнисту вену 0,9% розчину NaCl у дозі 10 мл/кг; до групи № 2 (24 тварини) – щури після опіку шкіри, яким упродовж 5-6 хв. проводили внутрішньовенну інфузію в нижню порожнисту вену розчину 0,9% розчину NaCl у дозі 10 мл/кг.

Усім тваринам другої групи перед моделюванням патологічного стану, бічні поверхні тулуба брили механічною машинкою та безпечною бритвою. Опіковий шок викликали шляхом прикладання 4-ох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали упродовж 6 хвилин у воді на дерев'яній підставці з постійною температурою 100°C. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси становить 21-23% при експозиції 10 с, що є достатнім для сформування опіку III ступеня та викликання шокового стану середнього ступеня тяжкості. Катетер встановлений у стегновій вені підшивався під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювався титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9% розчину NaCl) після кожного введення речовин. Перше введення здійснювали через 1 год після моделювання патологічного стану, наступні інфузії виконувались раз на добу.

Бриття тварин, постановка опіків та катеризацію магістральних судин здійснювали в умовах пропофолового наркозу 60 мг/кг внутрішньоочередовно.

Етаназію щурів проводили шляхом передозування пропофолу через 14, 21 та 30 діб після опіку. Ці терміни вибрані відповідно до певних періодів опікової хвороби [9].

Для гістологічного дослідження фрагменти селезінки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, промивали в проточній воді, обезводнювали в батареї спиртових розчинів зростаючої концентрації та вміщували в парапласт. Зрізи товщиною 3-5 мкм. Виготовляли на ротаційному мікротомі, забарвлювали гематоксиліном та еозином та за Ван-Гізон. Мікроскопічні дослідження проводили на 14-у, 21-у і 30-у добу. Гістологічні препарати досліджували в світловому мікроскопі OLYMPUS BH-2 з використанням об'єктивів x10 та x40, окуляра x10.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за методом варіаційної статистики, визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U-критерію Мана-Уїтні.

Результати дослідження та їх обговорення.

У щурів першої (контрольної) групи на 14, 21 та 30-у добу добре визначається представництво білої і

червоної пульпи. Відмічено помірне наповнення лімфоцитами периартеріальної ділянки, слабку контрастність у вузлику світлої та мантії ділянок. Остання на більшій частині периметра фактично не помітна, відзначається слабке повнокрів'я синусоїдних капілярів маргінальної ділянки. Червона пульпа мала звичайний вигляд (рис. 1).

У щурів другої групи на 14-у добу виявляється повнокрів'я червоної пульпи. Звужені і збіднені клітинами тяжі Більбота. Чітко помітні еозинофіли серед клітин-тяжів, що може свідчити про алергізацію з опікового детриту, який потрапляє до селезінки у нерозчинному стані.

Виявляються ділянки пульпи з ознаками збудженого екстремедулярного гемопоезу; клітини мієлоцитарної спільноти локалізуються густіше, ніж в контролі, а в мегакаріоцитах зростає кількість ядер, як прояв подразнення, активації (рис. 2).

В осередках білої пульпи виявилися типові атрофічні або токсикогенні інволютивні зміни. Різке зменшення цитогенності в периартеріальних ділянках, навіть подекуди справжнє оголення центральної артерії в Т-залежній ділянці. У фолікулах відсутній світлий центр. У деяких мікропрепаратах спостерігались ознаки тканинного

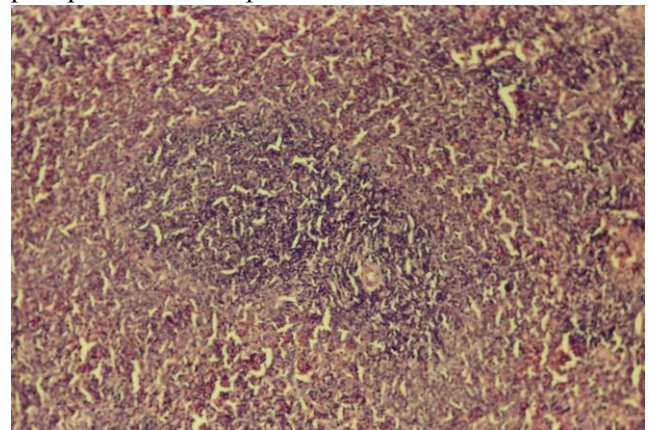


Рис. 1. Мальпігієве тільце в оточенні червоної пульпи. Контроль, 21 доба. Забарвлення гематоксилін еозин. Зб. $\times 100$

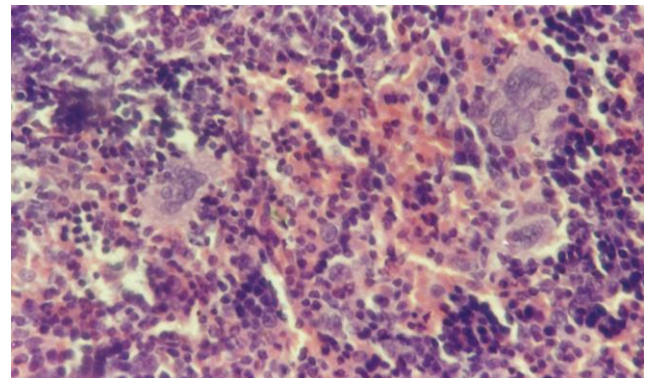


Рис. 2. Ознаки пожвавлення селезінкового гемоцитопоезу. Опік (фізрозчин), 14 діб. Забарвлення гематоксилін еозин. Зб. $\times 400$

диспротеїнозу – червонуваті центри у структурах білої пульпи – як вираження гуморальної імунної відповіді на опіковий процес. Тому в селезінці щурів активізується екстрамедулярний гемопоєз, більше стає мегакаріоцитів. Для опіку характерним є посилення гуморального імунітету, навіть із явищами диспротеїнозу в світлих центрах утворень білої пульпи. Здійснюються лімфоцитами їх періартеріальні ділянки, розрізняється цитогенність лімфатичних періартеріальних піхв.

На 21-у добу опіку без лікування в гістологічних препаратах селезінки були помітні збільшені за розмірами лімфоїдні вузли білої пульпи. Вони не однотипно структуровані. Одні без світлого центра, але із задовільним клітинним насиченням періартеріальних гільз, просвітленою маргінальною ділянкою. Інші великі зі світлим центром. В останньому гіпертрофовані макрофаги, значна кількість лімфоцитів з різним ступенем ефекторного диференціювання, бластні форми, фігури мітозу, ознаки фагоцитарної активності. Значна кількість лімфоцитів у мантийній ділянці вузлика (рис. 3). У мантийній ділянці лімфоїдного вузлика малі лімфоцити, макрофаги. У червоній пульпі островці пожовтого мієлопоєзу з мегакаріоцитами, в оточенні повнокровних синусів.

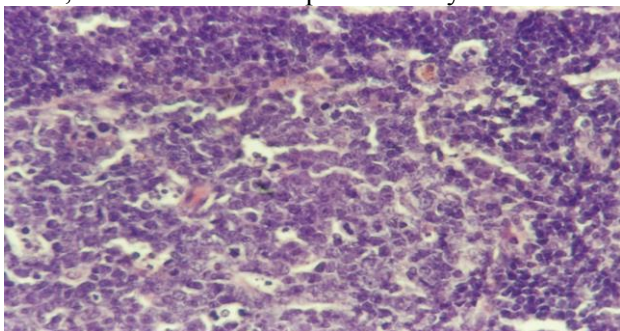


Рис. 3. Активний центр в лімфоїдному вузлику селезінки. Мітози. Густа мантийна ділянка. Опік (фіз. розчин), 21 доба. Забарвлення гематоксилін еозин. Зб. $\times 400$

На тридцять добу гістологічно визначалися характерні для кінця третього тижня прояви активації гуморального імунітету у вигляді гіперплазії у формуваннях білої пульпи В-лімфоцитів гермінативних центрів. Насичені Т-лімфоцитами періартеріальні муфти, помітна фагоцитарна активація макрофагів. Помірно покривна крайова ділянка (рис. 4).

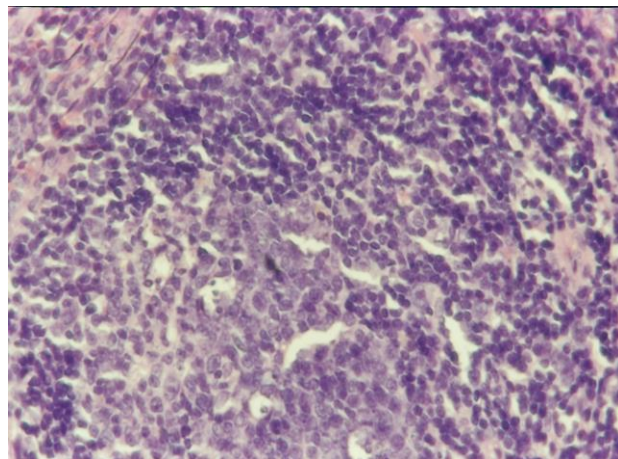


Рис. 4. Розширений гермінативний центр лімфоїдного вузлика. Опік (фіз.розчин), 30 діб. Забарвлення гематоксилін еозин. Зб. $\times 400$

Одночасно потрібно додати, що збагачується присутність імуноцитів у періартеріальній ділянці, просвітлюється і стає повнокровою крайова ділянка, що може свідчити про активну евакуацію звідси у червону пульпу диференційованих лімфоцитів. Загалом логічно твердити, що сумарна гістологічна картина, мабуть, відбиває розвиток на цей термін змішаного типу імунної реакції у селезінці у відповідь на дію руйнівних ендотоксичних факторів.

Висновок. У віддалений період після опікової травми шкіри в селезінці при опіку без корекції до 14-ої доби посилюється повнокрів'я червоної пульпи. На 21-у добу зберігається виражений екстрамедулярний гемоцитопоєз. На цей термін і на 30-у добу значними залишаються світлі реактивні центри, в яких чимало макрофагів з фагоцитованими фрагментами лімфоцитів у вигляді хромофільних тілець. Повнокривними, розширеними стають маргінальні синусоїдні клітини, що може свідчити про інтенсифікацію транспорту клітин в червону пульпу від структур білої пульпи і навпаки.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно вивчити компенсаторно-приспосувальні зміни селезінки після опіку шкіри II-III ступеня при використанні комплексних інфузійних колоїдно-гіперосмолярних розчинів лактопротейну з сорбітолом і НАЕС-LX-5%.

Список використаної літератури

1. Алексеев А.А. Актуальные вопросы организации и состояния медицинской помощи пострадавшим от ожогов в Российской Федерации / А.А. Алексеев, В.А. Лавров // Сб. науч. тр. II съезд комбустиологов России. – М., 2008. – С. 3-5.
2. Анализ летальных исходов у детей при ожоговой болезни / С.П. Сахаров, В.В. Иванов, О.М. Зороастров [та ін.] // Вестн. эксперимент. и клин. хирург. – 2010. – Т. 3, № 3 – С. 256-259.
3. Severe burn injury in Europe: a systematic review of the incidence, etiology, morbidity, and mortality / N. Brusselsaers, S. Monstrey, D. Vogelaers [et al.] // Crit. Care. – 2010. – Vol. 14, № 5. – P.

1186-9300. 4. Опікова травма та її наслідки. Керівництво для практичних лікарів / [Козинець Г.П., Слесаренко С.В., Сорокіна О.Ю. та ін.] – Дніпропетровськ, видавництво “Преса України”, 2008 – 224 с. 5. Lucas M.C. Small-molecule inhibitors of spleen tyrosine kinase as therapeutic agents for immune disorders: will promise meet expectations? / M.C. Lucas, S.L. Tan // *Future Med. Chem.* – 2014. – Vol. 6, № 16. – P. 1811-1827. 6. Williams F.N. The hypermetabolic response to burn injury and interventions to modify this response / F.N. Williams, D.N. Herndon, M.G. Jeschke // *Clin. Plast. Surg.* – 2009. – Vol. 36, № 4. – P. 583-596. 7. Бебешко Н.П. Динаміка морфологічних змін в селезінці щурів у через 1, 3 та 7 діб після опіку шкіри при введенні фізіологічного розчину NAEL або “лактопротейну з сорбітолом” / Н.П. Бебешко // *Укр. мед. альманах.* – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 12-18. 8. Гумінський Ю.Й. Динаміка морфологічних змін в селезінці щурів у ранні терміни після опіку шкіри 2-3 ступеня площею 21-23% поверхні шкіри та їх корекції інфузійним розчином НАЕС-LX-5% / Ю.Й. Гумінський, Н.П. Очеретна // *Biomedical and biosocial anthropology.* – 2013. – № 21. – С. 93-97. 9. Морфологічні прояви пошкоджень та компенсаторно-приспосувальних реакцій в легенях та печінці щурів у відповідь на наслідки локальної гіпер- та гіпотермії шкіри / І.В. Гунас, Ю.Й. Рудий, Г.В. Даценко [та ін.] // *Вісн. проблем біолог. і мед.* – 2003. – Вип. 4. – С. 73-75.

ДИНАМИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС В ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ КОЖИ

Резюме. Установлены морфологические изменения структурных компонентов селезенки в отдаленный период при экспериментальной термической травме. В течение четырнадцати суток усиливается полнокровье красной пульпы. На 21 сутки сохраняется выраженный экстрамедуллярный гемоцитопоз. На этот срок и на 30 сутки значительными остаются светлые реактивные центры, в которых немало макрофагов с фагоцитированными фрагментами лимфоцитов в виде хроматильных телец. Полнокровны и расширенные маргинальные синусоидальные клетки, что может свидетельствовать об интенсификации транспорта клеток в красную пульпу от структур белой пульпы и наоборот.

Ключевые слова: ожоговая травма, селезенка, морфологические изменения.

DYNAMICS OF HISTOLOGICAL CHANGES IN THE SPLEEN OF RATS IN A REMOTE PERIOD AFTER BURNING INJURY OF THE SKIN

Abstract. The morphological changes of the structural components of the spleen in the remote period in experimental thermal injury are found. Within fourteen days plethora of red pulp intensifies. On the 21 day pronounced extramedullary hemocytopenia is preserved. At this time and on the 30th day light reactive centers with many macrophages with phagocyte fragments of lymphocytes in the form of chromophilic cells remain considerable in their number. The marginal sinusoidal cells are full of blood and dilated, which is indicative of the intensification of cell transport into the red pulp of the structures of white pulp and vice versa.

Key words: burning injury, spleen, morphological changes.

M.I. Pyrohov National Medical University (Vinnytsya)

Надійшла 25.03.2015 р.
Рецензент – проф. Булик Р.Є. (Чернівці)