

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ РЕСПИРАТОРНОМ АЦИДОЗЕ

Альфонсова Е.В.

ФГБОУ ВПО «Забайкальский государственный гуманитарно-педагогический университет им. Н.Г. Чернышевского», Чита, Россия (672007, г. Чита, Бабушкина, 129), e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru

В статье приведены данные о влиянии респираторного ацидоза на структурную организацию селезенки. Ацидоз создавали путем увеличения содержания в дыхательной смеси экспериментальных животных CO_2 , достигали сдвига pH от 7,25 до 6,95 продолжительностью от 30 до 180 мин. В селезенке возникают неспецифические изменения: отек, деструкция капсулы, подкапсулярных трабекул, аргирофильного каркаса, делимфатизация паренхимы, которые зависят от глубины и продолжительности ацидоза. По данным морфометрии, происходит увеличение поперечника капсулы, подкапсулярных трабекул, общих сосудистых влагалищных оболочек, наблюдается диффузная или очаговая делимфатизация лимфоидных фолликулов, нарушается структура аргирофильного каркаса. При pH крови 7,25–7,2 в микроциркуляторном русле выявляются сгустки эритроцитов и агрегаты тромбоцитов, происходит дегрануляция тучных клеток. Сдвиг pH крови до 7,0–6,95 вызывает деструктивно-дистрофические изменения в ткани селезенки с последующим фиброзом органа. Подобные изменения, по нашему мнению, могут быть причиной развития иммунодефицитных состояний при заболеваниях, сопровождающихся ацидозом.

Ключевые слова: респираторный ацидоз, pH, морфология селезенки, иммунодефицит.

THE FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF SPLEEN AT THE RESPIRATORY ACIDOSIS

Alfonsova E.V.

Zabaikalsky State Humanitarian Pedagogical University named after N.G. Chernishevsky, Chita, Russia (672007, st. Babushkina, 129), e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru

The data about influence of a respiratory acidosis on the structural organization of spleen are cited in the article. Acidosis was created by the increase of content of carbon dioxide in respiratory mixture of experimental animals. The shift pH from 7.25 to 6.95 with duration from 30 to 180 minutes was reached. There are some nonspecific changes in spleen such as oedema, destruction of capsule, splenic trabecules, argyrophilic skeleton, atrophy of lymphoid tissue of parenchyma, which depend on the depth and duration of acidosis. According to the data of morphometry there is increase of breadth of the capsule, splenic trabecules, general vascular vaginal sheathes, diffuse or nodal atrophy of lymphoid follicles is observed, the structure of argyrophilic skeleton is broken. At pH blood 7.25–7.2 we can reveal sludges of erythrocytes and thrombocyte aggregates in microcirculatory mass, degranulation of mastocytes take place. Shift pH blood to 7.0–6.95 causes destructive and dystrophic changes in the tissue of spleen with the following fibrosis of organ. To our mind, such changes can be the cause of development of immunodeficiency states at the diseases, accompanied with acidosis.

Key words: respiratory acidosis, pH, morphology of spleen, immunodeficiency.

Большой фактический материал, накопленный за последние годы, свидетельствует о том, что селезенка является уникальным органом, в котором лимфатическая ткань и ретикулоэндотелиальная система анатомически и функционально связаны между собой [1–9]. В настоящее время селезенку относят к главным органам иммуногенеза и рассматривают как бактериальный фильтр крови, играющий важную роль в борьбе с инфекцией [10].

Установлена роль селезенки в поддержании иммунологического и реологического гомеостаза [3–9], доказана противоопухолевая функция [9], выявлена способность спленоцитов синтезировать большое количество цитокинов: IL-1b, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15 [6; 10] и т.д. Нейропептиды, вырабатываемые нейронами селезенки,

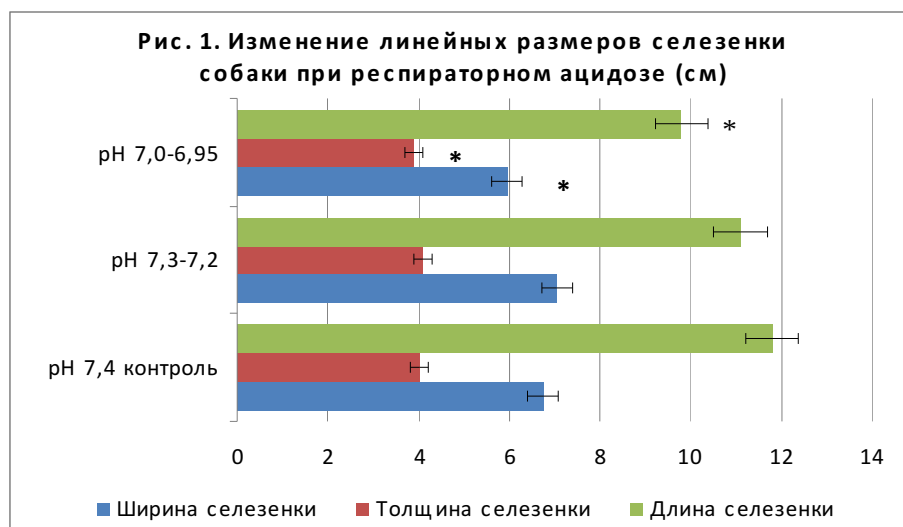
принимают участие в регуляции основного обмена, гемодинамики и адаптационно-трофических механизмов при стрессе, эмоциональном возбуждении, воспалении и др. [3]. Селезенка играет одну из ключевых ролей в выживании организма в условиях гипоксии или кровопотери, при гематогенных инфекциях, сепсисе, вирусной инвазии, запредельных физических нагрузках и т.д. [5; 7]. В то же время остается до конца не выясненным влияние метаболических факторов, в том числе и ацидоза, на структурную организацию органа.

Целью работы было изучение стромально-паренхиматозных изменений в селезенке при респираторном ацидозе.

Материал и методы. Исследование выполнено на беспородных животных обоего пола (24 собаки, весом от 10–15 кг), содержащихся в стандартных условиях. В работе с экспериментальными животными были соблюдены требования, изложенные в «Методических рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» от 1985 г. Респираторный ацидоз создавали путем увеличения содержания в дыхательной смеси CO_2 . На протяжении эксперимента из бедренной артерии бралась кровь и осуществлялся контроль pH на анализаторе типа микроАstrup БМ 2. Проведено несколько серий опытов, в которых создавали ацидоз различной глубины и продолжительности (pH 7,4-контроль) pH 7,25, 7,2, 7,0, 6,95 продолжительностью от 30 до 180 мин. Под гексеналовым наркозом передняя брюшная стенка экспериментальных животных вскрывалась по белой линии живота и измерялись линейные размеры (длина, толщина, ширина) органа. Затем иссекались кусочки для гистологического исследования и фиксировались в 5%-ном растворе нейтрального формалина. В последующем срезы окрашивались гематоксилин-эозином, по Ван-Гизон, фуксилином Вейгерта в модификации Харта, импрегнация серебром по Футу. Морфометрическое исследование было проведено в контроле (pH 7,4) и в опыте (pH 7,25–7,2) и (pH 7,0–6,95) по Автандилову с использованием окуляр-микрометра. Линейной сеткой от окуляр-микрометра (при объективе 20 и окуляре 15 ограничивает $0,0128 \text{ мм}^2$) определялось общее количество клеток в единице площади среза фиброзной оболочки капсулы, подкапсулярных трабекул, общих сосудистых влагалищных оболочек. Электронная микроскопия органа проводилась при pH 7,4 (контроль), pH 7,2 (продолжительность 30 мин) и pH 7,0 (продолжительность 60 мин). Статистическая обработка материала проводилась на ПЭВМ Pentium 5 с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007 для операционной системы Windows 7. Достоверность различий показателей в группах оценивали по величине t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. При респираторном ацидозе (pH 7,25–7,2, продолжительностью 30–60 мин) размеры селезенки изменяются недостоверно по

сравнению с контролем (рН – 7,4), при сдвиге рН крови до 7,05–6,95 (70–180 мин) длина органа уменьшается на 17%, ширина на 12% ($p < 0,01$) (рис. 1).



* различия достоверны между опытной группой и контролем $p < 0,01$.

По данным морфометрии, отмечается увеличение поперечника капсулы, подкапсулярных трабекул и общих сосудистых влагалищных оболочек селезенки (табл. 1). В фиброзной оболочке капсулы, подкапсулярных трабекулах и общих сосудистых влагалищных оболочках возрастает объем коллагеновых на фоне снижения ретикулиновых и эластических волокон (табл. 2). Клеточный состав в соединительнотканых структурах изменяется незначительно (табл. 3). Размеры лимфатических фолликулов остаются неизменными, но в некоторых из них отмечается отсутствие Т-зон. При сдвиге рН крови до 7,0–6,95 происходит снижение процентного соотношения площадей лимфоидных фолликулов и красной пульпы на фоне прогрессирующего увеличения внутриселезеночной соединительной ткани в 1 мм^2 площади среза селезенки (рис. 2).

Таблица 1 – Изменение поперечника капсулы, подкапсулярных трабекул и общих сосудистых влагалищных оболочек селезенки собаки при респираторном ацидозе ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контрольные животные	Опытные животные	
	рН 7,4 n = 8	рН 7,25–7,2 n = 8	рН 7,0–6,95 n = 8
Поперечник капсулы (мкм)	167,0 ± 3,95	199,6** ± 2,75	203,0** ± 2,74
Поперечник подкапсулярных трабекул (мкм)	114,5 ± 1,37	125,0** ± 1,99	156,5** ± 2,1
Поперечник общих	412,0 ± 4,47	564,5* ± 48,8	588,0** ± 49,7

сосудистых влагищных оболочек (мкм)			
-------------------------------------	--	--	--

Достоверность различий в опыте по сравнению с контролем:

* $p < 0,05$, $p < 0,01$;

** $p < 0,001$; n – количество исследований.

Таблица 2 – Изменение процентных соотношений коллагеновых, эластических и ретикулиновых волокон в соединительнотканых структурах селезенки собаки при респираторном ацидозе ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контрольные животные	Опытные животные	
	pH 7,4 n = 8	pH 7,25 – 7,2 n = 8	pH 7,0-6,95 n = 8
в поперечнике капсулы			
Коллагеновые волокна (мкм)	$25,35 \pm 1,0$	$25,50 \pm 1,07$	$68,20^{**} \pm 1,84$
Эластические волокна (мкм)	$7,74 \pm 0,13$	$7,01^{*} \pm 0,22$	$6,60^{**} \pm 0,15$
Ретикулиновые волокна (мкм)	$66,91 \pm 1,16$	$67,40 \pm 0,84$	$25,20^{**} \pm 1,99$
в поперечнике подкапсулярных трабекул			
Коллагеновые волокна (мкм)	$24,05 \pm 1,48$	$23,95 \pm 1,63$	$60,75^{**} \pm 0,39$
Эластические волокна (мкм)	$6,56 \pm 0,1$	$6,25^{*} \pm 0,06$	$4,46^{**} \pm 0,06$
Ретикулиновые волокна (мкм)	$69,39 \pm 1,58$	$69,8 \pm 1,69$	$34,7^{**} \pm 0,45$
в общих сосудистых влагищах оболочках селезенки			
Коллагеновые волокна (мкм)	$24,70 \pm 1,91$	$23,80 \pm 1,59$	$67,35^{**} \pm 1,7$
Эластические волокна (мкм)	$6,15 \pm 0,04$	$6,00 \pm 0,02$	$4,25^{**} \pm 0,06$
Ретикулиновые волокна (мкм)	$69,15 \pm 1,95$	$70,20 \pm 1,61$	$28,40^{**} \pm 1,76$

Достоверность различий в опыте по сравнению с контролем:

* $p < 0,05$, $p < 0,01$;

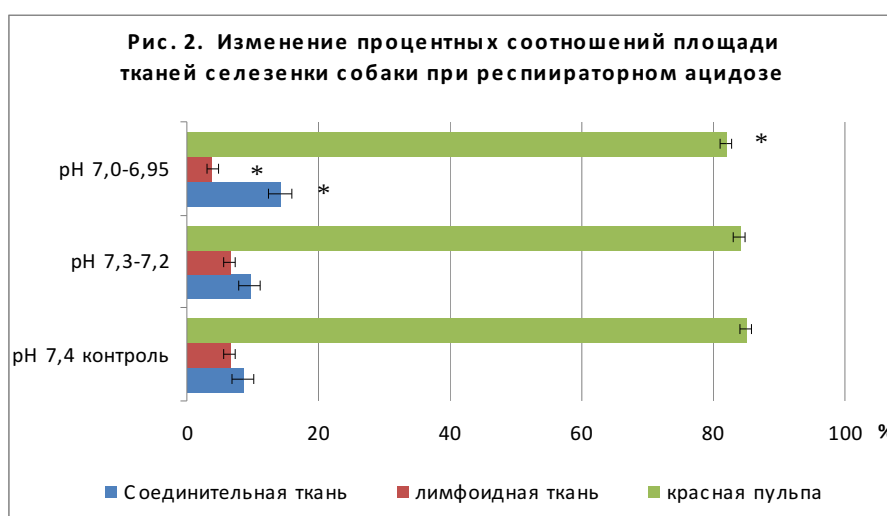
** $p < 0,001$; n – количество исследований.

Таблица 3 – Изменение процентных соотношений фибробластов и гладкомышечных клеток в соединительнотканых структурах селезенки собаки при респираторном ацидозе (в %) ($M \pm m$)

Изучаемые показатели	Контрольные животные	Опытные животные	
	pH 7,4 n = 8	pH 7,3 - 7,2 n = 8	pH 7,0-6,95 n = 8
в поперечнике капсулы			
Фибробласты с ядрами шаровидной формы	14,90 ± 0,17	15,35* ± 0,1	15,25** ± 0,1
Фибробласты с ядрами овоидной формы	24,95±0,36	25,00 ± 0,62	25,70* ± 0,3
Гладкомышечные клетки	60,20 ± 0,19	59,65 ± 0,19	59,05* ± 0,19
в поперечнике покапсулярных трабекул			
Фибробласты с ядрами шаровидной формы	10,45 ± 0,3	10,65 ± 0,14	10,60 ± 0,19
Фибробласты с ядрами овоидной формы	27,50±0,25	27,70 ± 0,1	27,65± 0,36
Гладкомышечные клетки	62,10 ± 0,58	61,65 ± 0,7	61,80 ± 0,6
в общих сосудистых влагалищах оболочках селезенки			
Фибробласты с ядрами шаровидной формы	9,60 ± 0,16	10,00 ± 0,3	10,85* ± 0,4
Фибробласты с ядрами овоидной формы	28,6 ± 0,5	28,65 ± 0,7	28,45 ± 0,6
Гладкомышечные клетки	61,9 ± 0,6	61,4 ± 1,0	60,7 ± 0,99

Достоверность различий в опыте по сравнению с контролем:

* p<0,05, p <0,01; ** p <0,001; n – количество исследований.



* различия достоверны между опытной группой и контролем p<0,01.

В сосудистом русле органа выявляются расстройства микроциркуляции: происходит расслоение крови, образование сладжей эритроцитов, агрегация форменных элементов, десквамация эндотелия. Стенка трабекулярных артерий находится в состоянии отека. Просвет вен расширен, наблюдается расслоение крови, агрегация форменных элементов, стаз, венозное полнокровие. Сосудистая стенка вен и артерий, соединительная ткань капсулы, подкапсулярных трабекул находится в состоянии отека, но ядра фибробластов и гладкомышечных клеток отчетливо окрашиваются гематоксилин-эозином. Границы лимфатических фолликулов селезенки становятся нечеткими, отмечается расширение межклеточных щелей, что свидетельствует о делимфатизации. При рН крови 7,25–7,2 продолжительностью 30–60 мин делимфатизация чаще всего носит очаговый характер. В красной пульпе синусы расширены и по всей плоскости среза селезенки наблюдаются мелкоочаговые кровоизлияния. В лимфоидных клетках белой пульпы отмечается снижение содержания гликогена. Аргирофильные волокна трабекулярных сосудов, общих сосудистых влагищных оболочек неравномерно импрегнированы азотнокислым серебром, по ходу волокон отмечаются утолщения, отек. В капсуле, в подкапсулярных трабекулах аргирофильные волокна также неравномерно импрегнируются азотнокислым серебром, по ходу волокон отмечаются фрагментации. В лимфатических узелках и в красной пульпе в местах кровоизлияний и отека структура ретикулярной сети нарушается, выявляются разрывы, фрагментации, расслоение волокон (рис. 3).

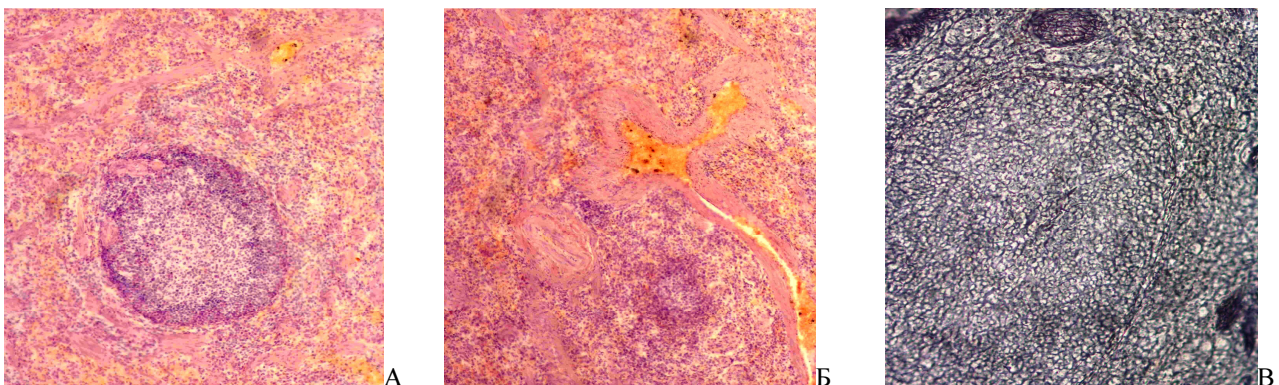


Рис. 3. Селезенка кошки при респираторном ацидозе рН 7,2 продолжительность 60 минут: А – лимфоидный фолликул окраска гематоксилин-эозином ув. Об.10, ок. 10; Б – общие сосудистые влагищные оболочки окраска гематоксилин-эозином ув. Об. 10, ок. 10; В – аргирофильный каркас окраска импрегнация серебром по Футу ув. Об. 20 ок. 10.

Дальнейший сдвиг рН крови до 7,0–6,95 и продолжительности ацидоза 70–180 мин нарушения микроциркуляции нарастают. В трабекулярных сосудах просвет умеренно спавшийся, встречаются единичные артерии с нормальным просветом, происходит расслоение крови, агрегация форменных элементов, тромбоз, десквамация эндотелия в артериях. Стенка сосудов в состоянии отека. Явления отека усиливаются, увеличивается

поперечник капсулы и подкапсулярных трабекул. Соединительная ткань капсулы, подкапсулярных трабекул утолщена. Ядра фибробластов и гладкомышечных клеток слабо окрашиваются гематоксилин-эозином. Границы между лимфатическими узелками и красной пульпой размыты, в большинстве узелков отсутствуют Т-зоны. Пульпарные артерии спазмированы. В красной пульпе венозные синусы полнокровны, отмечаются мелкоочаговые кровоизлияния. Единичные клетки лимфоидного ряда содержат гранулы гликогена. Аргирофильные волокна общих сосудистых влагалищных оболочек капсулы, подкапсулярных трабекул, лимфатических узелков теряют способность интенсивно импрегнироваться азотнокислым серебром, нечеткие, происходит их фрагментация, расслоение и деструкция (рис. 4).

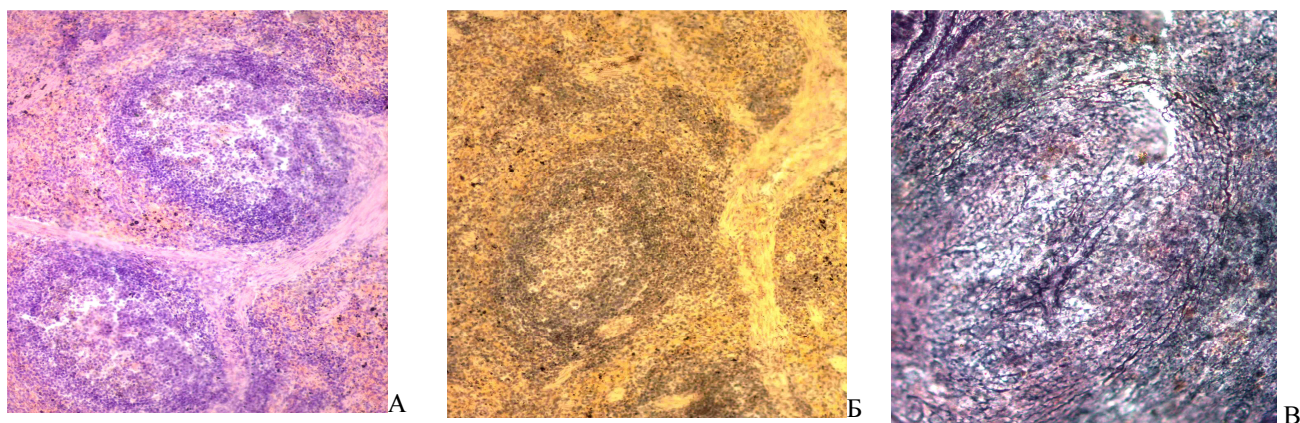


Рис. 4. Селезенка кошки при респираторном ацидозе рН 6,95 продолжительность 180 минут: А – лимфоидные фолликулы, окраска гематоксилин-эозином, ув. Об. 10, ок.10; Б – общие сосудистые влагалищные оболочки, окраска по Ван-гизон, ув. Об. 10, ок.10; В – аргирофильный каркас, окраска импрегнация серебром по Футу, ув. Об. 20 ок. 10.

По данным электронной микроскопии, ацидоз (при рН крови 7,2 продолжительности 30 мин) в клетках лимфоидного ряда нарушается структура цитоплазматических мембран, свидетельством чего является поступление органоидов во внеклеточную среду, отмечается разрушение клеточных органоидов, деструкция ядра, повреждение митохондрий.

Заключение. Таким образом, изменение кислотно-щелочного равновесия крови от рН 7,4 до 7,25 приводит к сокращению селезенки и выбросу крови в общий кровоток с целью поддержания кислотно-щелочного равновесия крови. В условиях прогрессирующего ацидоза нарастают явления делимфатизации органа, до полного разрушения лимфоидных фолликулов. На субклеточном уровне в фибробластах происходит разрушение цитоплазматической мембраны, деструкция ядра, повреждение митохондрий и других органоидов с выходом их в межклеточный матрикс, кровоток. Ацидоз при рН 7,0–6,95 и ниже вызывает деструктивно-дистрофические изменения в ткани селезенки с последующим

фиброзом органа. Подобные изменения, по нашему мнению, сопровождаются развитием иммунодефицитных состояний при ацидозе.

Список литературы

1. Барта И. Селезёнка: анатомия, физиология, патология и клиника. – Будапешт, 1976. – 264 с.
2. Гадалов В.П. Иммунологические аспекты операционного стресса // Анес. и реаниматология. – 1985. – № 3. – С. 69-72.
3. Журкова Е.М. Морфофункциональные изменения селезенки крыс после капсациновой блокады периферических афферентных нейронов / Журкова Е.М., Воробьева Н.Ф. // Морфология. – 1998. – № 6. – С. 44-46.
4. Краснова М.И. Лимфоидные образования слизистых оболочек: принципы топической иммунизации / Краснова М.И., Пинегин Б.В. // Иммунология. – 2003. – № 6. – С. 359-364.
5. Сапин М.Р. Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. – М. : АПП Джангар, 2000. – 184 с.
6. Шапкин Ю.Г. Иммунный статус в отдаленном периоде у пациентов, оперированных по поводу повреждений селезенки / Шапкин Ю.Г., Киричук В.Ф., Масляков В.В. // Хирургия. – 2006. – № 2. – С. 14-17.
7. Becker-Herman S. Id2 negatively regulates B cell differentiation in the spleen / Becker-Herman S., Lantner F., Shachar I. // J Immunol. – 2002. – Vol. 168. – № 1. – P. 5507-5513.
8. Herzer U. The Wilms tumor suppressor gene wt1 is required for development of the spleen / Herzer U., Crocoll A., Barton D. et al. // Curr. Biol. – 1999. – № 9. – P. 837–840.
9. Bachmann M.F. Trance, a tumor necrosis factor family member critical for CD40 ligand-independent T helper cell activation / Bachmann M.F., Wong B.R., Josien R. et al. // J. Exp. Med. – 1999. – № 189. – P. 1025-1031.
10. Wardemann H. B-1a B cells that link the innate and adaptive immune responses are lacking in the absence of the spleen / Wardemann H., Boehm T., Dear N. et al. // J Exp Med. – 2002. – Vol. 195. – P. 771-780.

Работа выполнена в рамках Государственного задания по вузу Минобрнауки РФ, № 4.3604.2011.

Рецензенты:

Степанов А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф, Читинская государственная медицинская академия, г. Чита.

Авсеенко Н.Д., д.м.н., профессор, кафедра медико-биологических основ физической культуры и спорта, Забайкальский государственный гуманитарно-педагогический университет, г. Чита.