УДК: 61.617.3

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕЛЕЗЁНКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ СПИННОМОЗГОВОЙ ТРАВМЫ СРЕДНЕЙ ТЯЖЕСТИ

Баротова Ш.Б., Тухсанова Н.Э.

O'RTACHA OG'IRLIKDAGI ORQA MIYA SHIKASTLANISHINI MODELLASHTIRISH SHAROITIDA KALAMUSHLAR TALOG'INING STRUKTURAVIY O'ZGARISHLARI

Barotova Sh. B., Tuxsanova N. E.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE RAT SPLEEN IN SPINAL CORD INJURIES CONSIDERING SEVERITY

Baratova Sh.B., Tukhsanova N.E.

Бухарский государственный медицинский институт

Maqsad: *o'rtacha orqa miya shikastlanishidan keyingi dastlabki davrda uch oylik albinos aralash kalamushlarning taloqidagi morfologik o'zgarishlarni o'rganish.* ***Material va usullar:*** *136 ta albinos aralash kalamush ikki guruhga bo'lingan. Nazorat guruhiga 64 ta hayvon kiritilgan bo'lib, ularda kuzatuvning 1, 7, 14 va 21-kunlarida morfometrik tadqiqotlar o'tkazilgan. Tajriba guruhiga 72 ta albinos aralash kalamush kiritilgan bo'lib, ularda orqa miya shikastlanishidan keyingi bir xil vaqt nuqtalarida morfometrik o'zgarishlar o'rganilgan.* ***Natijalar:*** *o'rtacha travmatik orqa miya shikastlanishi taloqda progressiv morfologik o'zgarishlar bilan birga keladi, bu posttravmatik immunitet tanqisligining rivojlanishini aks ettiradi. Immunitet disfunktsiyasining dastlabki belgilari yettinchi kuniyoq rivojlanadi va 14-kunga kelib jarayon organlarning strukturaviy qayta tashkil etilish bosqichiga o'tadi. Kalamush taloqidagi eng aniq morfologik anomaliyalar tug'ruqdan keyingi rivojlanishning 21-kunida, o'rtacha orqa miya kontuziyasidan keyin kuzatiladi: oq pulpaning maksimal atrofiyasi, yetuk limfotsitlar sonining keskin kamayishi, blast hujayralarining nisbiy ko'payishining cho'qqisi va qizil pulpaning aniq kollagenizatsiyasi.* ***Xulosalar:*** *orqa miya kontuziyasi bo'lgan bemorlarni kompleks davolash uchun immunomodulyator yondashuvlarni ishlab chiqish zarur.*

Kalit so'zlar: *taloq, periarterial limfoid manjetlar, stromal o'zgarishlar, mantiya zonasi, oq pulpa sohasi..*

Objective: *To study morphological changes in the spleen of three-month-old albino mongrel rats in the early period following moderate spinal cord injury.* ***Material and methods:*** *136 albino mongrel rats were divided into two groups. The control group included 64 animals, in which morphometric studies were conducted on days 1, 7, 14, and 21 of observation. The experimental group included 72 albino mongrel rats, in which morphometric changes were studied at the same time points following spinal cord injury.* ***Results:*** *Moderate traumatic spinal cord injury is accompanied by progressive morphological changes in the spleen, reflecting the development of post-traumatic immunodeficiency. Early signs of immune dysfunction develop as early as the seventh day, and by the 14th day, the process progresses to the stage of organ structural reorganization. The most pronounced morphological abnormalities in the rat spleen are observed on the 21st day of postnatal development after moderate spinal cord contusion: maximum atrophy of the white pulp, a critical decrease in the number of mature lymphocytes, a peak in the relative increase in blast cells, and pronounced collagenization of the red pulp.* ***Conclusions:*** *The development of immunomodulatory approaches to the comprehensive treatment of patients with spinal cord contusion is necessary.*

Key words: *spleen, periarterial lymphoid cuffs, stromal changes, mantle zone, white pulp area.*

Органы иммунной системы обеспечивают функционирование адаптивного иммунитета, направленного на поддержание клеточного и гуморального гомеостаза организма. Структурной основой данной системы является лимфоидная ткань, формирующая специализированные функциональные образования, крупнейшим из которых является селезёнка [1,6].

Селезёнка представляет собой наиболее крупный полифункциональный периферический орган иммунной системы, в котором интенсивность иммунных и фильтрационных процессов тесно коррелирует с особенностями её архитектоники, в частности со структурной организацией белой и красной пульпы, а также с количественным соотношением площадей, занимаемых функционально различными отделами, и их клеточным составом. При этом селезёнка характеризуется высокой степенью реактивности, проявляющейся цитологической и структурной перестройкой иммунокомпетентных компонентов под воздействием различных эндо- и экзогенных факторов, включая инфекционные агенты [8,10].

У человека селезёнка закладывается на 5-6-й неделе эмбрионального развития в толще дорсальной брыжейки, куда мигрируют клетки лимфоидного ряда [7]. Основная роль в процессах миелопоэза в пренатальном периоде принадлежит красному костному мозгу [4,5]. К девятому месяцу эмбриогенеза в лимфоидных фолликулах селезёнки формируются центры размножения иммунных клеток, что свидетельствует об активации лимфопоэза к моменту рождения [2,10].

Широкие возможности изучения морфологических и патофизиологических изменений при травме спинного мозга, необходимые для разработки оптимальных лечебно-тактических подходов, обусловили переход от преимущественно клинических наблюдений к созданию экспериментальных моделей повреждения [11]. В течение последних десятилетий принципы ведения пациентов с позвоночно-спинномозговой травмой претерпели значительные изменения, что связано с углублением представлений о патофизиологии повреждения, а также с внедрением современных методов диагностики и лечения [3,9].

Цель исследования

Изучение морфологических изменений в селезёнке трехмесячных белых беспородных крыс в раннем периоде после ушиба спинного мозга средней степени.

Материал и методы

Для проведения исследований были использованы белые беспородные крысы обоего пола, содержавшихся в стандартных условиях вивария в течение трёх месяцев. Все лабораторные животные находились в пластиковых клетках с древесной стружкой, при комнатной температуре, с 12-часовым циклом смены света

и темноты, в соответствии со стандартами содержания лабораторных животных.

Для каждой клетки, в которой размещались экспериментальные животные, был оформлен паспорт с указанием количества белых беспородных крыс, даты начала эксперимента и порядка его проведения. В ходе эксперимента контролировалось поведение животных и их физиологическое состояние, данные регулярно фиксировались.

Для выполнения поставленных задач трёхмесячные крысы были разделены на 2 группы. В связи с гибелью в ходе эксперимента 12 крыс на группы были разделены 136 животных. Контрольная группа включала 64 крысы, у которых морфометрические исследования проводились в 1-, 7-, 14- и 21-й день наблюдения. В опытную группу вошло 72 крысы, у которых в эти же сроки изучались морфометрические изменения после травмы спинного мозга.

Повреждение спинного мозга наносилось по специально разработанной модели с использованием метода «шарикового маятника». В эксперименте животные из опытной группы подвергались общей анестезии с применением лёгкого изофлурана, после чего травма наносилась с помощью металлического шарика. Металлический шар размещали под углом 30, 45 или 60º и приводили в движение сверху вниз с определённой скоростью, в результате чего он ударялся о деревянный упор, к которому прислонялась позвоночная область крысы, вызывая повреждение спинного мозга. После нанесения повреждения животных помещали в специальную пластиковую клетку и наблюдали за их состоянием до момента восстановления после травмы. Через 25-30 минут после повреждения крысы возвращались в свою клетку для продолжения обычного жизненного режима.

Всех подопытных животных взвешивали и выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом. Вскрывали брюшная полость и извлекали селезенку. В дальнейшем селезенку и ее части фиксировали в 10% нейтрализованном формалине в течение 10 дней, промывали проточной водой в течение 3-4 часов и обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации спирта и хлороформа Парафиновые блоки готовили по общепринятым методикам. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. В препаратах структуру селезенки исследовали морфометрически с помощью окулярного микрометра. Измеряли общую площадь среза органа, относительная площадь белой и красной пульпы, площадь лимфоидных фолликулов, диаметр и количество периартериальных лимфоидных муфт (ПАЛМ), а также плотность клеточных элементов лимфоидной ткани.

Весь ход исследования, включая все экспериментальные и лабораторные процедуры, фиксировался в протоколах, а основные материалы исследования документировались фотографически. Первичные материалы исследования были представлены в форме отчётов соответствующих лабораторий.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью таблицы Стрелкова с использованием методов вариационной параметрической статистики (1986). Для оценки достоверности различий сравниваемых величин использовали t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали показатели, удовлетворяющие $p \leq 0{,}05$.

Результаты и обсуждение

Изучение динамики морфологических и морфометрических изменений селезёнки после ушиба спинного мозга средней степени позволяет выявить закономерности реагирования иммунного органа на системный стресс.

На 7-е сутки после ушиба спинного мозга средней степени бросается в глаза умеренное полнокровие красной пульпы с расширением венозных синусов, местами они зияют, что свидетельствует о нарушении венозного оттока и развитии стаза (рис. 1). Гемолиз в перисинусоидальных зонах выражен очагово. Белая пульпа уже на данном этапе демонстрирует заметное уменьшение в объёме, её архитектоника становится менее чёткой.

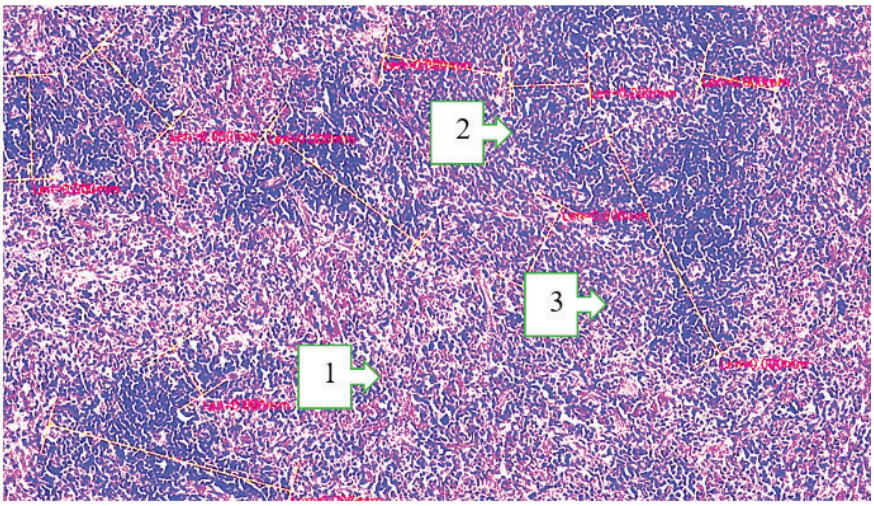


Рис. 1. Микроскопический рисунок селезенки трехмесяных крыс опытной группы в раннем периоде (7-е сут) после ушиба спинного мозга средней степени. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 20х10. 1 – умеренное полнокровие красной пульпы с расширением венозных синусов и очагами гемолиза; 2 – белая пульпа уменьшена в объёме, её архитектоника частично размыта; 3 – ПАЛМ-зоны истончены, количество зрелых лимфоцитов уменьшено.

Периартериальные лимфоидные муфты истончены, лимфоцитарный состав в них обеднён, что указывает на раннее выпадение зрелых Т-лимфоцитов. При цифровой обработке чётко видно, что количество Т-лимфоциты (отмеченные красным) уменьшено до 163 клеток, что на треть меньше, чем в контроле. В-лимфоциты (голубой цвет) составляют 118 клеток, уменьшение ещё более выражено – на 40%. На этом фоне увеличивается количество бластных элементов (жёлтый цвет) – 54 клетки, что составляет 19% пула. Белая пульпа занимает всего 36,7% площади поля зрения ($1{,}03x10^6$ px^2), тогда как красная пульпа расширяется до 63,3% ($1{,}78x10^6$ px^2).

Таким образом, уже на первой неделе после травмы наблюдается существенное угнетение зрелого лимфоцитарного пула и относительное увеличение количества бластных форм, что отражает раннюю фазу компенсаторной пролиферации. Красная пульпа при этом реагирует типичной гиперемией и признаками гемолиза.

Ко второй неделе (14-е сут) после ушиба спинного мозга средней степени изменения в селезёнке еще более выражены. Морфологическая картина (рис. 2) характеризуется дальнейшей редукцией белой пульпы. Архитектоника фолликулов размыта, их очертания теряют правильность, ПАЛМ-зоны неравномерны, местами практически неразличимы. Мантийная и маргинальная зоны резко сокращены. Красная пульпа полнокровна, с множественными очагами гемолиза; заметны признаки деструкции спленоцитов, что подчёркивает тяжесть изменений.

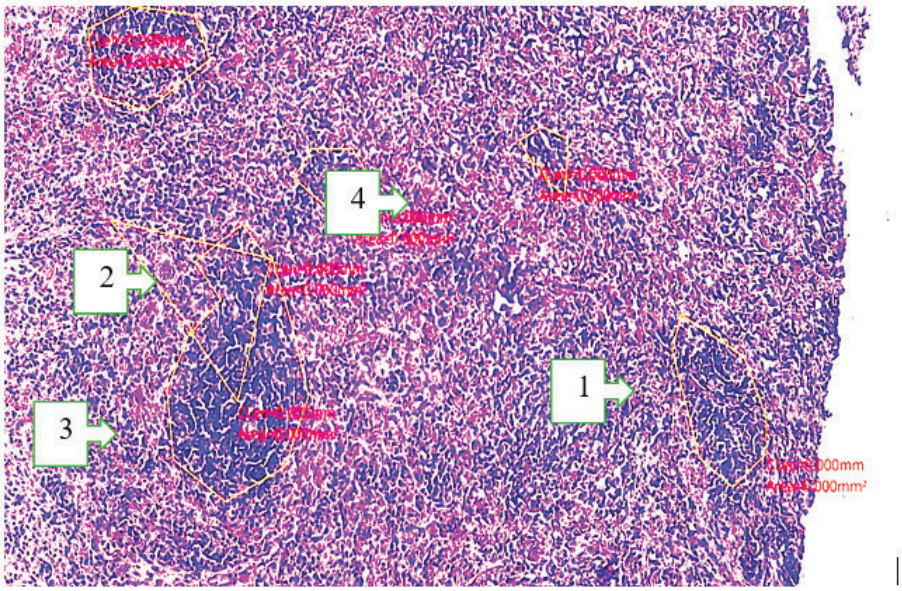


Рис. 2. Микроскопический рисунок селезенки трехмесячных крыс опытной группы в раннем периоде (14-е сут) после ушиба спинного мозга средней степени. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 20х10. 1 – белая пульпа значительно редуцирована, архитектоника фолликулов нарушена; 2 – ПАЛМ-зоны истончены, границы их размыты; 3 – мантийная и маргинальная зоны резко сокращены; 4 – красная пульпа полнокровна, с очагами гемолиза и признаками деструкции спленоцитов.

Морфометрия подтверждает эти наблюдения: площадь белой пульпы снижается до $0{,}84x10^6$ px^2 (30,4%), красная пульпа занимает уже 69,6% поля зрения ($1{,}92x10^6$ px^2). Количество Т-лимфоцитов уменьшается до 104, что на 57% меньше контроля, В-лимфоцитов – до 73 клеток (-63%). При этом бластные лимфоциты сохраняют относительное увеличение – 49 клеток (22% пула).

Если на 7-е сутки ещё прослеживалась остаточная упорядоченность структуры белой пульпы, то к 14-м суткам отчётливо проявляется стадия выраженной атрофии с критическим снижением зрелого лимфоцитарного звена. Наличие повышенной доли бластных клеток можно интерпретировать как напряжённую компенсаторную реакцию, однако она не предотвращает структурной деградации органа. Красная пульпа в этот срок демонстрирует признаки хронической гиперемии и нарастание стромальных изменений, указывающих на начавшуюся перестройку органа.

На третьей неделе (21-е сут) после ушиба спинного мозга средней степени изменения достигают максимальной выраженности (рис. 3). Белая пульпа представлена отдельными разрозненными фолликулами, при этом герминативные центры неравномерны: в одних они сохраняются, в других редуцированы до тонких скоплений лимфобластов. ПАЛМ-зоны практически лишены зрелых Т-лимфоцитов, их архитектоника нарушена до неузнаваемости. Мантийная зона исчезает, маргинальная выражена крайне слабо. Красная пульпа выглядит диффузно расширенной, полнокровной, в её пределах отмечаются стаз и множественные очаги гемолиза.

Морфометрические показатели (рис. 3) подтверждают: белая пульпа занимает всего 25,5% площади ($0{,}71x10^6$ px^2), тогда как красная пульпа расширяется до 74,5% ($2{,}07x10^6$ px^2). Количество Т-лимфоцитов минимально – 82 клетки (-66% относительно контроля), В-лимфоцитов — всего 58 клеток (-71%). На этом фоне количество бластных клеток достигает максимума – 67 клеток (≈ 32% пула), что почти вдвое больше, чем на 7-е сутки.

ISSN 2181-7812

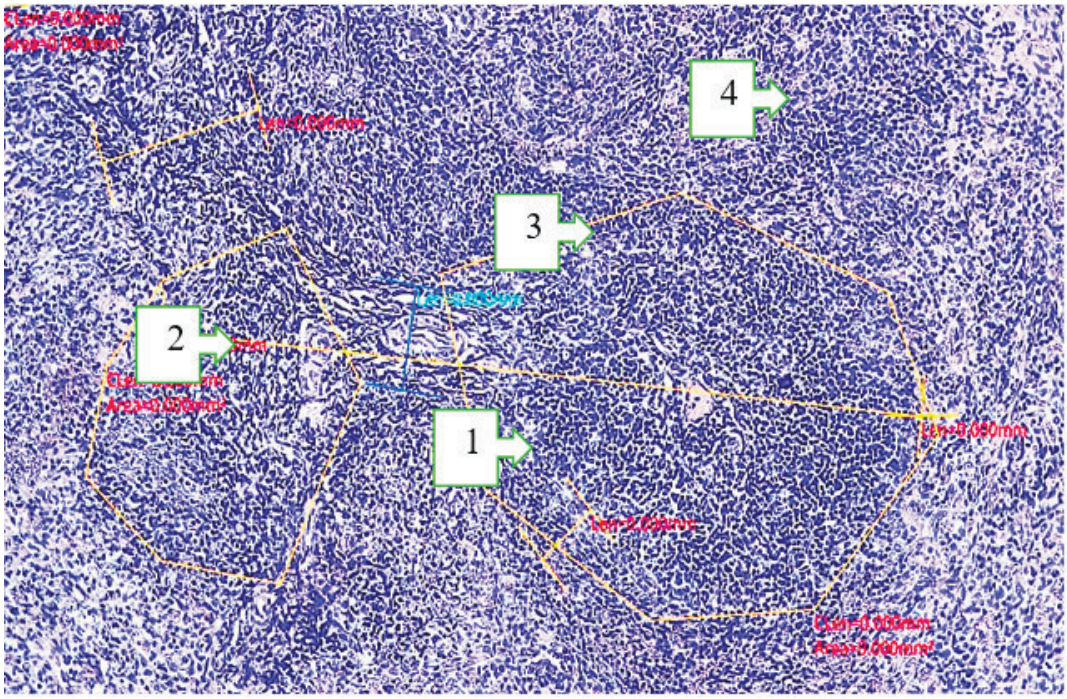


Рис. 3. Микроскопический рисунок селезенки трехмесячных крыс опытной группы в раннем периоде (21-е сут) после ушиба спинного мозга средней степени. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 20х10. 1 – белая пульпа представлена разрозненными лимфоидными фолликулами с неравномерно выраженными герминативными центрами; 2 – архитектоника ПАЛМ-зон резко нарушена, количество зрелых Т-лимфоцитов минимально; 3 – мантийная зона практически исчезает, маргинальная выражена слабо; 4 – красная пульпа диффузно полнокровна, с признаками стаза и очагами гемолиза.

Таким образом, к 21-м суткам фиксируется пик структурных нарушений: белая пульпа практически атрофирована, количество зрелых лимфоцитов резко уменьшается, а компенсаторная пролиферация бластов выходит на первое место. Красная пульпа становится доминирующим компонентом селезёнки, демонстрируя гиперемию и глубокую перестройку стромы.

Таблица

Морфометрические показатели ткани селезёнки трехмесячных крыс в раннем периоде после ушиба спинного мозга средней степени (7-14-21-е сут)

Показатель	Контроль	7-е сут	14-е сут	21-е сут
Площадь белой пульпы, ×106 px^2 (%)	1,39±0,05 (48,7)	1,03±0,04 (36,7)	0,84±0,03 (30,4)	0,71±0,03 (25,5)
Площадь красной пульпы, ×10^6 px^2, %	1,46±0,05 (51,3)	1,78±0,05 (63,3)	1,92±0,04 (69,6)	2,07±0,05 (74,5)
Т-лимфоциты, кол-во клеток	242±8	163±6 (-33)	104±5 (-57)	82±4 (-66)
В-лимфоциты, кол-во клеток	198±7	118±5 (-40)	73±4 (-63)	58±3 (-71)
Бластные лимфоциты, кол-во клеток, %	32±2 (6)	54±3 (19)	49±2 (22)	67±3 (32)
Коллагенизированная строма в красной пульпе, %	8,2±0,5	15,7±0,8	22,4±1,0	36,8±1,3

Как видно из таблицы, на 7-е сутки фиксируются первые значимые отклонения: площадь белой пульпы уменьшается на треть (36,7% против 48,7% в контроле), количество Т- и В-лимфоцитов снижается на 33-40%, при этом возрастает доля бластных клеток до 19% (почти в 3 раза больше, чем в контроле). Красная пульпа гиперемирована и расширена, а коллагенизация стромы удваивается (15,7% против 8,2%). На 14-е сутки изменения усиливаются: площадь белой пульпы снижается до 30,4%, ко-

личество зрелых Т- и В-лимфоцитов уменьшаются в 2 раза относительно контроля (-57% и -63%), а количество бластных клеток возрастает до 22%. Красная пульпа расширяется до 69,6%, нарастают полнокровие и деструктивные изменения, а доля коллагенизированной стромы увеличивается почти в 3 раза относительно контроля (22,4%). К 21-м суткам патологические сдвиги достигают максимума: белая пульпа редуцирована до 25,5% общей площади, зрелые лимфоциты находятся на минимальном уровне (-66% Т- и -71% В-лимфоцитов), при этом бластные клетки составляют уже треть пула (32%), что отражает выраженную компенсаторную пролиферативную активность на фоне атрофии. Красная пульпа занимает 74,5% площади, а степень коллагенизации стромы достигает пикового уровня (36,8%), что указывает на переход к стойким фиброзным изменениям.

Выводы

1. Травматическое повреждение спинного мозга средней степени тяжести сопровождается прогрессирующими морфологическими изменениями селезёнки, отражающими развитие посттравматического иммунодефицита. Уже на 7-е сутки формируются ранние признаки нарушения иммунной функции, а к 14-м суткам процесс переходит в фазу структурной перестройки органа.

2. Максимальная выраженность патологических изменений, наблюдаемая на 21-е сутки, характеризуется атрофией белой пульпы, уменьшением количества зрелых лимфоцитов и коллагенизацией красной пульпы. Выраженные изменения свидетельствуют о стойком нарушении иммунной функции селезёнки в отдалённые сроки после травмы и диктуют необходимость разработки иммунокорригирующих подходов к комплексной терапии пациентов с ушибом спинного мозга.

Литература

1. Волков ВП. Новый алгоритм морфометрической оценки функциональной иммуноморфологии селезёнки. Universum: медицина и фармакол.2015;5-6(18).
2. Джалолов Р. Возрастная гистофизиология белой пульпы селезенки в раннем постнатальном онтогенезе. Экономика и социум.2021;2-1(81):582-585.
3. Иванова ГЕ, Мельникова ЕВ, Белкин АА и др. Как организовать медицинскую реабилитацию? Вестн восст мед.2018;2:2-12.
4. Капитонова МЮ, Кузнецов СЛ, Клаучек СВ и др. Особенности акцидентальной инволюциитимуса в растущем организме при воздействии различных видов стрессоров. Морфология.2016;130(6):56-61.
5. Кащенко С.А. и др. Структура селезенки белых крыс в период грудного вскармливания. Таврический мед-биол вестн 2013;16(1(61):104-106.
6. Новосёлова ИН, Понина ИВ, Попова ОВ и др. Диагностические ошибки повреждений спинного мозга у детей при сочетанной травме на примере клинических случаев. Вестн восст. мед.2021;20(4):106-114.
7. Шаляпина ВГ, Бедров ЯА, Ордин НЭ и др. Характеристика основных параметров гормональной функции коры надпочечников и ее модификация в онтогенезе у крыс. Журн эволюц биохим и физиол.2011;37(2):134-138.
8. Aviles H, Johnson MT, Monroy .P. Effects of cold stress on spleen cell proliferation and cytokine production during chronic Toxoplasma gondii infection. Neuroimmunomodulation. 2014;11(2):93-102.
9. Hagen EM. Acute complications of spinal cord injuries. Wld J Orthop.2015;6(1):17-23. doi: 10.5312/wjo.v6.i1.17
10. Liatsos GD. The immunity features and defects against primary cytomegalovirus infection post-splenectomy indicate an immunocompromised status: A PRISMA-compliant meta-analysis. Medicine (Baltimore).2019;98(43):e17698. doi:10.1097/ MD.0000000000017698
11. Minakov AN, Chernov AS, Asutin DS et al. Acta Nature. 2018;10(3):410.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕЛЕЗЁНКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ СПИННОМОЗГОВОЙ ТРАВМЫ СРЕДНЕЙ ТЯЖЕСТИ

Баротова Ш.Б., Тухсанова Н.Э.

Цель: *изучение морфологических изменений в селезёнке трехмесячных белых беспородных крыс в раннем периоде после ушиба спинного мозга средней степени.* ***Материал и методы:*** *136 белых беспородных крыс были разделены на 2 группы. Контрольная группа включала 64 животных, у которых морфометрические исследования проводились в 1-, 7-, 14- и 21-й день наблюдения. В опытную группу вошло 72 белых беспородных крысы, у которых в эти же сроки изучались морфометрические изменения после травмы спинного мозга.* ***Результаты:*** *травматическое повреждение спинного мозга средней степени тяжести сопровождается прогрессирующими морфологическими изменениями селезёнки, отражающими развитие посттравматического иммунодефицита. Уже на 7-е сутки формируются ранние признаки нарушения иммунной функции, а к 14-м суткам процесс переходит в фазу структурной перестройки органа. Наиболее выраженные морфологические нарушения в селезёнке крыс наблюдаются на 21-е сутки постнатального развития после ушиба спинного мозга средней степени: максимальная атрофия белой пульпы, критическое снижение количества зрелых лимфоцитов, пик относительного увеличения бластных клеток и выраженная коллагенизация красной пульпы.* ***Выводы:*** *необходима разработка иммунокорригирующих подходов к комплексной терапии пациентов с ушибом спинного мозга.*

Ключевые слова: *селезенка, периартериальные лимфоидные муфты, стромальные изменение, мантийная зона, площадь белой пульпы.*

Сведения об авторах

Баротова Шахноза Бахадировна, докторант каф. анатомии, клинической анатомии (ОХТА) БухГосМИ. Тел. +998907442778, e-mail: shahnoza_barotova@bsmi.uz, https://orcid.org/0009-0002-2971-2127

Тухсанова Насиба Эсановна, PhD, доц. каф. каф. анатомии, клинической анатомии (ОХТА) БухГосМИ. Тел. +998905104059, e-mail: tuxsanova.nasiba@bsmi.uz, https://orcid.org/0000-0002-0475 2539