

Структурно-функциональные модификации лимфоидных органов при вибрационных воздействиях и их коррекция с использованием эссенциальных фосфолипидов

Боброва С.В., Ефремов А.В., Вакулин Г.М.

Structural-functional changes of lymphoid organs under vibration and their correction with the help of essential phospholipides

Bobrova S.V., Efremov A.V., Vakulin G.M.

Новосибирская государственная медицинская академия, г. Новосибирск

© Боброва С.В., Ефремов А.В., Вакулин Г.М.

Проведено экспериментальное исследование лимфоидных органов (тимус) у крыс-самцов линии Вистар, подвергавшихся воздействию вибрации частотой 32 Гц в течение 30 дней. Методами световой и электронной микроскопии, морфометрии оценивались цитологические сдвиги основных структурных компонентов изучаемых органов в период вибрационной нагрузки, восстановительный постконтактный период (30, 60 сут) и на фоне коррекции эссенциальными фосфолипидами.

Анализ полученных данных показал, что в процессе вибрационного влияния происходит существенное нарушение структуры лимфоидных органов. Изучение динамики морфофункциональных и ультраструктурных изменений, цитоархитектоники паренхиматозно-стромального компонента свидетельствует о развитии дегенеративно-дистрофических процессов преимущественно инволютивного характера. Фармакологическая коррекция способствует восстановлению естественного фенотипа клеток.

Ключевые слова: лимфоидные органы, эссенциальные фосфолипиды.

The research of lymphoid organs of male rats of Vistar line which were subjected to vibration with frequency of 32 Hz during 30 days has been conducted. Cytological shifts of the basic structural components of the investigated organs during the vibration period, postcontact rehabilitation period (30, 60 days) and under essential phospholipides correction were estimated by the methods of light and electron microscopy and morphometry.

The analysis of the obtained data demonstrated that the important infringement of lymphoid organs structures takes place. The dynamic study of morphofunctional and ultrastructural changes, cytoarchitecture of parenchymatous stromal compartment gives evidence of the development of degenerate-dystrophic processes with mainly involutonal character. Pharmacological correction resulted in positive dynamic of cytological shifts and helped to rehabilitation the natural cell phenotype.

Key words: gland organs, essence phospholipids.

УДК 616.423-091.8-085.275.4

Деятельность современного человека осуществляется в условиях возрастания экстремальности общей и профессиональной экологической среды, когда организм нередко подвергается воздействиям крайних колебаний барометрического давления, предельных температурных нагрузок, интенсивных шумов и вибрации [9]. Производст-

венные вибрации различных параметров относятся к числу наиболее распространенных экстремальных факторов окружающей среды, а вибрационная патология занимает лидирующее положение среди отдельных нозологических форм хронических профессиональных заболеваний.

Клиническая картина вибрационной патологии характеризуется полиморфностью симптоматики с вовлечением в патологический процесс различных звеньев гомеостаза, многих органов и систем, который при прогрессировании имеет тенденцию к генерализации [1, 5, 6, 18]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные рассмотрению патогенетических механизмов, особенностей клинической симптоматики, ранней диагностики вибрационной патологии, ряд общетеоретических и практических вопросов остается малоизученным.

Недостаточно полно исследованы и систематизированы данные по состоянию и характеру изменений различных органов и систем при воздействии производственных и экспериментальных вибраций, не определена их роль в развитии патологических эффектов на уровне организма и место в симптомокомплексе и прогнозе заболевания. Остаются актуальными проблемы выявления донозологических изменений, определения критериев морфофункционального состояния, оценки критериев риска неблагоприятного воздействия вибрационного фактора и вопросы поиска новых, адекватных, патогенетически обоснованных и эффективных методов коррекции [1, 12, 19].

Учитывая многообразие выполняемых физиологических функций, большую пластичность и высокие потенциальные возможности лимфатических структур в обеспечении процессов адаптации и компенсации при различных экстремально-стрессорных, экологически обусловленных воздействиях [3, 7, 1, 4], большой интерес представляют изучение состояния и реактивности лимфоидных органов, вклада лимфатической системы в патогенетические механизмы формирования, развития и прогрессирования вибрационной патологии, разработка методов адекватной коррекции.

Методика

Эксперименты проведены на 216 крысах линии Вистар массой 180—220 г. Животные, по 12 особей в каждой группе, подвергались воздействию общей вертикальной вибрации (частотой 32 Гц и ускорением 50 м/с²) в специальной клет-

ке, установленной на площадке вибратора от вибростенда ВЭС-100Б. На первом этапе эксперимента воздействие на животных оказывалось в двух режимах: 1) острое однократное и 2) многократно повторяющееся в течение 5, 10, 20, 30 сут по 1 ч ежедневно. Для изучения восстановительного периода использовались подопытные животные, подвергнутые 30-дневному воздействию вибрации; животных выводили из эксперимента на 10, 20, 30 и 60 сут. Контрольную группу составили интактные животные, не подвергавшиеся воздействию вибрации.

После воздействия вибрации с целью фармакологической коррекции часть животных получила препарат эссенциале Н («Aventis», Франция—Германия, зондовое введение) в лечебно-профилактическом режиме в дозировке 20 мг на 1 кг массы тела. У всех животных проводили морфофункциональное и ультраструктурное исследование вилочковой железы и подвздошных лимфатических узлов на фоне вибрационной нагрузки без фармакологической коррекции и в динамике терапевтического воздействия эссенциальными фосфолипидами по всем изучаемым срокам вибрационного воздействия и в восстановительный период.

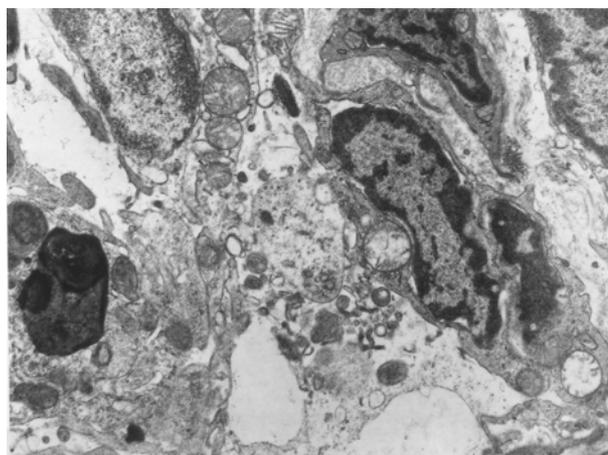
Образцы исследуемых органов объемом менее 1 мм³ фиксировали вначале в 4%-м параформальдегидном буфере Миллонига (рН 7,4) в течение двух часов, а затем — в 1%-м осмиевом фиксаторе, содержащем 1,5% феррицианида калия для лучшего выявления мембранных и цитоскелетных структур, на какодильном буфере (рН 7,4) в течение двух часов, дегидратировали в батарее спиртов возрастающей концентрации и заключали в эпон-812 по общепринятым методикам электронно-микроскопического препарирования [8]. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-8800, контрастировали водными растворами уранилацетата и цитрата свинца и исследовали в электронных микроскопах JEM-7A, JEM-100S/SEG и JEM-1010. Изучению ультратонких срезов предшествовало визуальное исследование полутонких эпоновых срезов, окрашенных толуидиновым синим, с целью прицельной ультратомии выбираемых на них топографически различных зон органов.

Результаты и их обсуждение

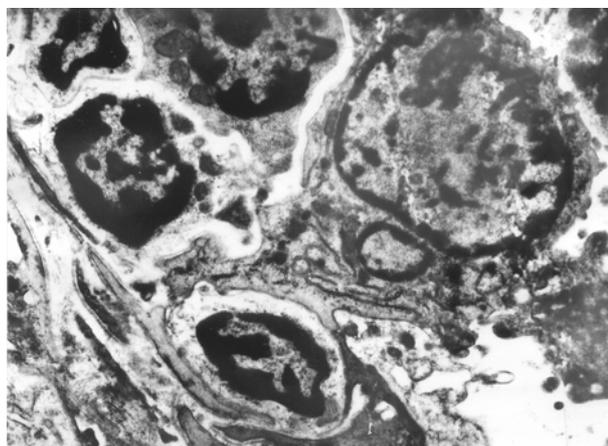
Результаты экспериментального исследования свидетельствуют об активном участии лимфатической системы в ответных реакциях живого организма на вибрационное воздействие, сложной перестройке морфофункциональных параметров составляющих лимфоидных органов.

При изучении состояния подвздошных лимфатических узлов обращало внимание разрастание соединительнотканной стромы, набухание пучков ретикулярных волокон пирамидальных областей коры лимфатических узлов, продолжающихся в мозговое вещество в виде мягкотных тяжей на начальных этапах эксперимента, вероятнее всего, вследствие отека; на 20 — 30 сут — отсутствие четких границ между корковым и мозговым веществом, снижение относительной массы лимфоузлов, усиление процессов лимфоцитоллиза, уменьшение численности и размеров лимфоидных фолликулов, очевидно, в основном за счет гибели части Т-клеток и макрофагов, что отражает, на наш взгляд, развитие дегенеративно-дистрофических процессов в коре.

Уже после однократного воздействия вибрации отмечены дезинтегративные изменения в лимфатических эндотелиоцитах как наружной непрерывной выстилки, так и внутренней прерывистой выстилки, образующих расширенные против нормы краевые синусы лимфоузлов. Часть эндотелиоцитов, в основном непрерывной выстилки (рис. 1,а), фиксировалась в разрушенном состоянии. Матрикс базальных мембран оказывался обнаженным, порозность повышалась. Важно отметить, что аналогичные изменения сохранялись и на последующих сроках эксперимента, что свидетельствует о стойкости и глубине патологических процессов.



а



б

Рис. 1

По мере увеличения продолжительности действия повреждающего фактора извилистость непрерывных эндотелиальных выстилок краевых синусов усиливалась. В них обнаруживалось субэндотелиальное проникновение Т-лимфоцитов, отслаивающихся клетки от базальных мембран (рис. 1,б). В периферических зонах краевых синусов выявлялось большое количество плазматических клеток, обычно отсутствующих здесь в нормальных условиях, что указывает на наличие антигенной стимуляции трансформации В-лимфоцитов в плазмоциты, имеющие признаки активного синтеза ими иммуноглобулинов.

Часто выявлялись в краевых корковых и мозговых синусах поврежденные Т-лимфоциты и макрофаги со сквозными дефектами плазмалеммы или с выходом из них клеточного детрита, что может иметь следствием интенсивный выход из послед-

Экспериментальные и клинические исследования

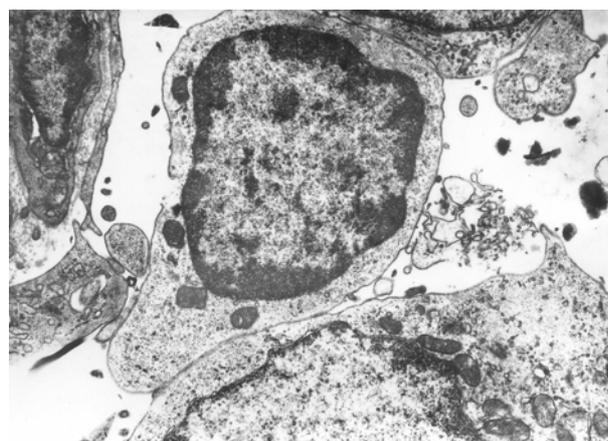
них обычно секретируемых метаболитов: протеаз, интерлейкинов, компонентов комплемента, интерферона, влияющих на иммунный гомеостаз. Известно, что эти протеазы активируют сывороточные трипсиноподобные протеазы, взаимодействие которых с эритроцитами крови приводит к появлению у них иммуностимулирующих свойств, изменяющих регуляцию иммуногенеза, а увеличение повреждения мембран при вибрационном воздействии является следствием активации перекисного окисления жирнокислотных цепей их фосфолипидного биослоя [10, 11].

При исследовании препаратов тимуса выявлено усиление гибели Т-лимфоцитов корковой зоны тимуса за счет локальных разрывов их плазмалемм (рис. 2,а), увеличение фагоцитарной активности макрофагов уже после однократного действия вибрации. В корковом веществе, вне капиллярного русла, обнаруживались эозинофилы. На более поздних сроках эксперимента описанные изменения усиливались, выявлялись субклеточные признаки повреждения как тимоцитов, так и клеток эндотелия, эпителиального ретикулума, цитоархитектоники септ. Наблюдались дезинтегративные нарушения структуры крист митохондрий в эндотелиальных и эпителиальных клетках с появлением в матриксе органелл хлопьевидного осмиофильного материала.

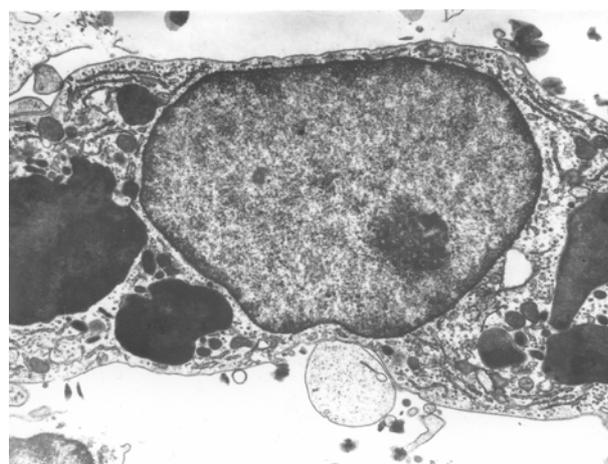
На более поздних этапах экспериментального моделирования (спустя 30 сут) обнаруживалось значительное разволокнение септдолей тимуса с нарушением непрерывности слоев соединительнотканых клеток, в сильно расширенных межклеточных промежутках которых часто выявлялись эозинофилы и плазматические клетки, численность которых в значительной мере возрастала и в коре тимуса. Примечательно, что признаки нарушения гемато-тимусного барьера коррелировали с изменениями капилляров септ.

По срокам опыта выявлялось выраженное укрупнение секреторных гранул в клетках ретикулярного эпителия (рис. 2,б) наряду с нарушением, выраженным в разной степени, архитектоники цитоскелетных структур, указывающих на задержку вследствие этого выхода продуктов секреции, влияющих на функции их созревания и дифференцировки в известные подклассы Т-лимфоцитов, что

предполагает нарушение этих функций экспериментально воспроизводимым фактором. В септах тимуса обнаруживались жировые клетки, популяция которых возрастала по мере увеличения продолжительности действия этиологического фактора.



а



б

Рис. 2

В настоящее время вибрационную патологию рассматривают с патофизиологических позиций как вариант мембранно-патологического процесса, характеризующегося повреждением морфофункциональных свойств плазматических мембран и мембран субклеточных структур, приводящих к нарушению функции мембраносвязанных ферментов, внутриклеточных органелл, накоплением первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов, снижением активности антиоксидантной системы, системным на-

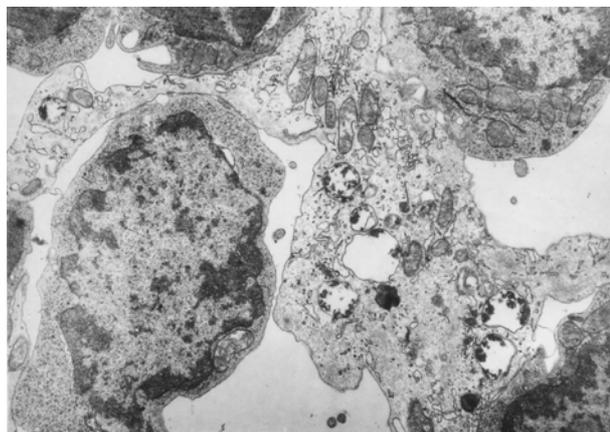
рушением микрогемодиализации. В связи с вышеизложенными положениями наиболее перспективными средствами коррекции патологических сдвигов, развивающихся при вибрационных влияниях, на наш взгляд, являются метаболические, антиоксидантные, мембраностабилизирующие препараты, способствующие восстановлению естественного фенотипа клетки [13, 14].

Нами проведено изучение эффективности фармакологической коррекции возникающих при вибрации клеточных и субклеточных трансформаций в лимфоидных органах на примере эссенциальных фосфолипидов (препарат эссенциале Н). Их биологическое действие заключается в том, что они являются структурными элементами биологических мембран. Состав и пространственная ориентация жирных кислот в фосфолипидах имеют решающее значение в формировании таких характеристик клеточных структур, как мембранная текучесть, мембранная проницаемость, рецепторная и ферментативная активность связанных с мембранами белков. Изменение этих характеристик лежит в основе ряда заболеваний и патологических состояний.

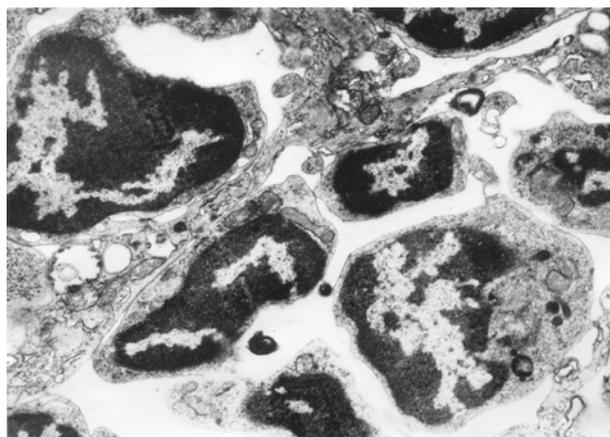
Фосфолипиды являются важной составной частью наружной оболочки липопротеидных частиц. Поэтому экзогенные эссенциальные фосфолипиды, встраиваясь в оболочку циркулирующих фосфолипидов, способны значительно модифицировать их транспортную роль. Поврежденные мембраны не способны обеспечить связывание и включение крупных лигандов, транспорт мелких лигандов. Наряду с этим фосфолипиды играют активную роль в метаболических процессах, они активируют связанные с мембраной ферменты: аденилатциклазу (клеточная мембрана), цитохромоксидазу (митохондриальная мембрана). Терапевтический эффект эссенциальных фосфолипидов основан на реконструкции клеточных мембран и систем, поврежденных в результате дестабилизирующего фактора, и на восстановлении активности связанных с мембранами ферментов [15, 16, 17].

Протективное использование в ходе нашего эксперимента эссенциальных фосфолипидов снижало субклеточные повреждения стрессорно-вибрационного генеза практически во всех кле-

точных составляющих тимуса. Наблюдалась сохранность ультраструктуры крист и матрикса митохондрий, гранулярной эндоплазматической сети как в эндотелиальных, так и в ретикулоэпителиальных и стромальных клетках. Менее выраженные изменения ультраструктуры митохондрий в клетках паренхимы и стромы косвенно указывали на защитное влияние эссенциале на энергетический обмен клеток. Пиноцитозные пузырьки эндотелиальных клеток приобретали четкую очерченность, содержимое визуализировалось электронносветлым. Выявлялось просветление секреторных гранул в ретикулярных эпителиальных клетках (рис. 3,а), что, вероятно, может быть связанным с изменением свойств проницаемости фосфолипидных мембран под влиянием



а



б

Рис. 3

фосфолипидов. С изменением свойств плазмалемм эпителиальных клеток под влиянием эс-

сенциале, очевидно, связано и выраженное удлинение эпителиальных клеток, часто образующих отростки и псевдоподии (рис. 3,б). Просветление секреторных гранул в эпителиальных клетках, наличие секреторных гранул во внеклеточном пространстве — свидетельство значительно более редкого факта разрушения эпителиальных клеток по сравнению с отсутствием коррекции.

В лимфатических узлах на фоне приема эссенциальных фосфолипидов заметно уменьшилась степень и выраженность повреждений Т-лимфоцитов и макрофагов. В Т-лимфоцитах краевых синусов появлялись значительные расширения каналов гранулярного эндоплазматического ретикула, образующих крупные вакуоли, заполненные мелкодисперсным хлопьевидным материалом. Ответная реакция лимфоидной ткани лимфатических узлов на вибрационные воздействия на фоне коррегирующих фармакологических мероприятий проявлялась в снижении степени инфильтрации капсулы плазматическими и эозинофильными гранулоцитами. Плазмодитарная реакция в исследованных лимфатических узлах, подобных тимусу, была не выражена, что свидетельствует о снижении темпов активации В-зависимых иммунологических реакций в организме и об уменьшении степени тканевых повреждений при вибрационных нагрузках на фоне коррекции эссенциальными фосфолипидами. Полученные результаты позволили продемонстрировать наличие иммуномодулирующего эффекта у эссенциальных фосфолипидов, опосредуемого, по-видимому, гуморальными факторами, выделяемыми клетками лимфоидных органов, в результате чего существенно усиливается развитие иммунного ответа на Т-зависимый антиген [16].

Заключение

В целом, оценивая результаты проведенного исследования, можно констатировать, что воздействие вибрации, как однократное, так и многократно повторяющееся — хроническое вибрационное воздействие, приводит к значительным структурно-функциональным модификациям в системе лимфоидных органов: тимусе и лимфатических узлах. В тимусе в ответ на вибрационные нагрузки развивается выраженная акциден-

тальная инволюция, в лимфатических узлах — клеточно-инволютивный тип дистрофии, сохраняющиеся и после прекращения контакта с этиологическим повреждающим фактором, что служит подтверждением глубины и стойкости возникающих патофизиологических сдвигов, гомеостатических дисрегуляторных процессов, цитоструктурных перестроек. На начальных этапах изменения носят неспецифический характер. Более длительное воздействие способствует усилению напряженности компенсаторно-приспособительных процессов, поломке адаптационных механизмов, что приводит к изменению Т- и В-зональности исследованных органов в сторону активации гуморального и угнетения Т-клеточного звена иммунитета.

Предложен патогенетически обоснованный, эффективный метод коррекции возникающих структурно-метаболических сдвигов с использованием эссенциальных фосфолипидов, основанный на реконструкции клеточных мембран и систем, активации связанных с мембранами ферментов, в результате чего происходит восстановление разрушенных мембран, поврежденного цитоскелета, репаративных процессов.

Получены доказательства основных механизмов действия эссенциальных фосфолипидов, они связаны с влиянием на главные звенья патогенеза вибрационной патологии: метаболические нарушения, активацию пероксидации липидов, повреждение мембран, регенераторно-пластическую недостаточность, активацию фиброгенеза и иммунные нарушения.

Благоприятное влияние эссенциальных фосфолипидов на citoархитектонику лимфоидных органов, энергетический и пластический обмен клетки позволяет рекомендовать их для коррекции патологических синдромов, вызываемых воздействием экспериментальных и производственных вибраций на работников виброопасных профессий и больных вибрационной болезнью.

Литература

1. Артамонова В.Г. // Вибрация, шум и здоровье человека. Л., 1988. С. 106—111.
2. Бородин Ю.И., Сапин М.Р., Этинген Л.Е. и др. Общая анатомия лимфатической системы. Новосибирск: Наука, 1990.
3. Горизонтов П.Д. // Арх. патол. 1976. < 3. С. 3—13.
4. Ефремов А.В., Карпов А.В. // Воен.-мед. журнал. 1992. < 9. С. 9—11.
5. Ефремов А.В., Антонов А.Р., Бородин Ю.И. и др. Стресс, лимфатическая система, метаболизм. Новосибирск, 1999.
6. Измеров Н.Ф. // Медицина труда и пром. экология. 2000. < 10. С. 1—5.
7. Лозовой В.П., Шергин С.М. Структурно-функциональная организация иммунной системы. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1981.
8. Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю., Миронов В.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. 1994.
9. Новиков В.С., Горанчук В.В., Шустов Е.Б. Физиология экстремальных состояний. СПб.: Наука, 1998.
10. Прокопенко Л.Г., Сипливая Л.Е., Яковлева Е.А. // Патофизиология. 1991. < 1. С. 24—26.
11. Сипливая Л.Е., Прокопенко Л.Г. // Патофизиология. 1986. < 5. С. 51—54.
12. Суворов Г.А., Артамонова В.Г. // Вест. АМН СССР. 1992. < 1. С. 28—32.
13. Сухаревская Т.М., Непомнящих Г.И., Боброва С.В. и др. // Актуальные вопросы современной медицины. Новосибирск, 1995. Т. 1. С. 322—323.
14. Сухаревская Т.М., Непомнящих Г.И., Боброва С.В. и др. // Медицина труда и пром. экология. 1999. < 6. С. 16—19.
15. Утешев Б.С., Ласкова И.Л. // Пат. физиол. и экспер. терапия. 1995. < 2. С. 18—20.
16. Klimov A.N., Gurevich V.S., Nikiforova A.N. et al. // Atherosclerosis. 1993. V. 100. P. 13—18.
17. Lieber C.S., Robins S.J., Li J. et al. // Gastroenterology. 1994. V. 106. P. 152 — 159.
18. Seidel H., Heide R. // Int. Arch. Occup. Environ. Health. 1986. < 1. P. 1—26.
19. Starck Y., Farkkila M. // Brit. J. Industr. Med. 1983. V. 40. < 4. P. 426—439.

Поступила в редакцию 18.04.2002 г.