

Морфологические особенности экспериментального постспленэктомического спленоза

Д.А. МОРОЗОВ¹, С.Ю. ГОРОДКОВ², Ю.В. ФИЛИППОВ², Е.Н. ЦМОКАЛЮК², С.А. КЛЮЕВ², В.Г. МАСЕВКИН²

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии, Талдомская ул., д. 2, Москва, 125412, Российская Федерация¹

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Большая Казачья ул., д. 112, Саратов, 410012, Российская Федерация²

Цель исследования Моделирование диссеминированного постспленэктомического спленоза в эксперименте, изучение срока и частоты возникновения, морфологических особенностей очагов диссеминированного спленоза.

Материалы и методы В статье представлены результаты многоэтапного экспериментального исследования. Авторами разработана экспериментальная модель развития диссеминированного постспленэктомического спленоза, позволяющая оценить его морфологические особенности. Выполнено моделирование очагов диссеминированного постспленэктомического спленоза на 17 белых крысах линии Wistar.

Результаты и их обсуждение По результатам морфологического исследования очагов спленоза можно говорить о значительном «гистоархитектурном беспорядке» данной неоселезеночной ткани, что ставит под сомнение возможность компенсации функций утерянного органа. Очевидна необходимость дальнейших исследований.

Заключение Таким образом, впервые создана экспериментальная модель постспленэктомического спленоза (патент РФ «Способ моделирования диссеминированного постспленэктомического спленоза» № 2481645). Частота развития очагов диссеминированного постспленэктомического спленоза у крыс линии «Wistar» составила 83%. Макроскопически различаемые очаги спленоза начинают определяться со срока 30 дней после операции. Данная модель подтверждает описания клинических случаев о возможности самостоятельной имплантации компонентов селезеночной ткани практически на любых тканях организма.

Ключевые слова Травма селезенки, диссеминированный постспленэктомический спленоз, спленэктомия

The Morphological Features of the Experimental Postsplenectomy Splenosis

D.A. MOROZOV¹, S.IU. GORODKOV², I.U.V. FILIPPOV², E.N. TSMOKALIUK², S.A. KLIUEV², V.G. MASEVKIN²

Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric surgery, 2 Taldomskaia Str., 125412, Moscow, Russian Federation¹

V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, 112 Bol'shaia Kazach'ia Str., Saratov, 410012, Russian Federation²

The purpose of the study Simulation disseminated postsplenectomy splenosis in an experiment, the study of duration and frequency occurrence, morphological features of metastatic foci splenosis.

Materials and methods The article presents the results of a multi-stage pilot study. The authors have developed an experimental model of disseminated postsplenectomy splenosis order to assess its morphological features. Modeling foci disseminated postsplenectomy splenosis 17 white rats line Wistar.

Results and their discussion According to the results of morphological research foci splenoz can talk about significant "gistoarchitecture disorder" of the neo splenic tissue - which casts doubt on the possibility of compensation of lost body functions. A clear need for further research.

Conclusion Thus, for the first time, an experimental model postsplenectomy splenosis (RF patent "Method for modeling disseminated postsplenectomy splenoz" № 2481645). The incidence of foci of disseminated postsplenectomy splenosis in rats "Wistar" was 83%. Macroscopically distinguishable pockets splenosis come to be determined by the period of 30 days after surgery. This model confirms the description of clinical cases about the possibility of self-implantation splenic tissue components on almost all body tissues.

Key words Spleen injury, disseminated postsplenectomy splenosis, splenectomy.

В последнее время в мировой литературе часто описывают клинические случаи развившегося диссеминированного постспленэктомического спленоза (ДПС) - так называемой спонтанной посттравматической имплантации селезеночной ткани в виде очагов [1-8, 10]. Информации о детальном изучении

особенностей морфологической структуры данных очагов в доступной отечественной и зарубежной литературе нами не найдено. Частота развития ДПС у взрослых людей, перенесших спленэктомию без аутотрансплантации - 67-80% [2]. Значение спонтанного спленоза для организма, как и аутотран-

© Д.А. Морозов, С.Ю. Городков, Ю.В. Филиппов, Е.Н. Цмокалюк, С.А. Ключев, В.Г. Масевкин. Морфологические особенности экспериментального постспленэктомического спленоза. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2014; 7: 4: 328-333.

сплантации селезеночной ткани вызывает вопросы у многих исследователей и требует дальнейшего изучения [8]. В ряде случаев очаги спленоза могут приводить к развитию острой кишечной непроходимости и внутрибрюшному кровотечению [6,10], при этом большинство авторов считают, что спленоз способен корригировать иммунные нарушения после спленэктомии [1, 2]. Противоречивые литературные данные послужили основанием для создания экспериментальной модели, с целью детального изучения особенностей очагов спленоза.

Цель работы - моделирование ДПС в эксперименте, изучение срока и частоты возникновения, морфологических особенностей очагов диссеминированного спленоза.

Материалы и методы

Для создания экспериментальной модели использовали 17 белых лабораторных крыс линии «Wistar», самок, в возрасте 3 месяца, весом 300-350 г. Все иссле-

дования проводили с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Операции проводили под масочным фторотановым наркозом. Всем крысам выполняли разрез в левом подреберье длиной 1см, в рану выводили селезенку и после лигирования ее сосудов – отсекали. В чашке Петри на удаленной селезенке выполняли несколько глубоких разрезов скальпелем и выделившуюся кровь, без явных элементов ткани, вводили в свободную брюшную полость. При этом создавали условия, аналогичные выделению крови селезенки в брюшную полость при ее повреждении. Таким образом, механизмы активации роста «неоселезеночной» ткани оказывались наиболее приближенными к имеющим место при травме у человека.

Для определения начального момента возможной макроскопической визуализации очагов ДПС, было принято решение выводить животных из эксперимента на разных сроках после операции. Оперированных

Таблица 1

Наличие очагов спленоза на разных сроках после моделирования

Количество крыс	Дни после операции								
	25	30	47	57	63	79	85	99	128
Выведено из опыта	3	3	2	2	2	1	1	1	1
С наличием спленоза на данный срок	-	2	2	2	2	1	1	1	1

Таблица 2

Количество очагов спленоза у одной экспериментальной крысы

Количество очагов ДПС	Число особей с таким количеством очагов*
0	4
1	3
2	3
3	4
12	1

* - не учитывались две особи, погибшие на ранних сроках после операции

Таблица 3

Размеры очагов спленоза

Размеры очагов ДПС, мм	1x1	2x1	2x2	3x3	5x2	7x5
Частота встречаемости	12	3	1	2	2	1

Таблица 4

Локализация очагов спленоза

	Большой сальник	Серозная оболочка желудка	Серозная оболочка толстой кишки	Корень брыжейки	На париетальной брюшине в ложе селезенки	В толще спайки	На париетальной брюшине в области кожного шва	На яичнике
Количество крыс с данной локализацией очагов	9	3	2	1	1	1	1	1

крыс выводили из эксперимента гильотинным методом в срок 25, 30, 47, 63, 79, 85, 99, 128 дней после операции, затем проводили аутопсию. Участки предполагаемого спленоза фиксировали в 10% формалине, затем по стандартной методике готовили срезы и окрашивали гематоксилин-эозином. При микроскопии полученных гистологических препаратов, оценивали: соответствие данных очагов селезеночной ткани, их структуру, тип кровообращения, выраженность фолликулов белой пульпы и венозных синусов.

Статистическую обработку и корреляционный анализ проводили с использованием программ Microsoft Excel 2010 и StatSoft Statistica 6.0 for Windows. Рассчитывали средние значения изучаемых показателей (M) и стандартное отклонение (Sd).

Результаты и их обсуждение

У трех животных через 25 дней после операции очагов спленоза в брюшной полости не оказалось. На

30 сутки после операции у двух крыс, из трех выведенных из эксперимента, обнаружены очаги ДПС, в виде объемных образований темно-вишневого цвета, диаметром 1,0 мм. В последующие сроки очаги ДПС были обнаружены у всех экспериментальных животных (табл. 1).

Количество очагов спленоза у одной крысы варьировало от одного до 12 (табл. 2), размеры от 1,0 мм до 7x5 мм (табл. 3).

Чаще всего очаги ДПС локализовались на большом сальнике (47,3%), реже на поверхностях полых органов – серозной оболочке желудка (15,7%) и серозной оболочке толстой кишки (5,3%), на корне брыжейки (10,5%), в единичных случаях на париетальной брюшине, в ложе селезенки (5,3%), в толще спайки (5,3%), на париетальной брюшине в области кожного шва (5,3%), на яичнике (5,3%) (табл. 4; рис. 1,2,3).

При микроскопии гистологических срезов очагов спленоза животных выявлены отграниченные тонкой

Table 1

The presence of foci splenosis at different stages after modelirovniya

Number of Rats	Days after operation								
	25	30	47	57	63	79	85	99	128
Derived from experience	3	3	2	2	2	1	1	1	1
With splenosis at the moment	-	2	2	2	2	1	1	1	1

Table 2

Number focus splenosis in one experimental rats

Number of focus	The number animals with foci *
0	4
1	3
2	3
3	4
12	1

* - Didn't take into account two individuals who died in the early postoperative period

Table 3

Focus of splenosis size

Focus size, mm	1x1	2x1	2x2	3x3	5x2	7x5
Frequency of occurrence	12	3	1	2	2	1

Table 4

Localization of splenosis

	Greater omentum	Serosa of stomach	Serosa of colon	Root of the mesentery	On the parietal peritoneum in the area of spleen	In commissure	At parietal peritoneum in the skin suture	On an ovary
Number of rats with focus localization	9	3	2	1	1	1	1	1

фиброзной капсулой (рис. 4) участки «неоселезеночной» ткани со специфичным для селезенки клеточным составом (рис. 5), гранулами гемосидерина, ретикулярно-эластической стромой. Однако типичная гистархитектоника селезенки не сохранялась, отмечалось недоразвитие венозных синусов, рассыпной тип кровоснабжения, значительное преобладание компонентов белой пульпы, с большим количеством плазматических – активных В-лимфоцитов, продуцирующих антитела.

Сопоставляя гистологическую картину в разные дни после операции, мы отметили этапность изменений. На 30 сутки после моделирования очаг ДПС

представлял собой отграниченный тонкой фиброзной капсулой, инфильтрированный полиморфноядерными лейкоцитами элемент селезеночной ткани с большим количеством гранул гемосидерина. На 47 сутки после операции количество гранул гемосидерина уменьшалось и увеличивалось скопление лимфоидных клеток на разных этапах их созревания (необходимо отметить, что гемопоэз в селезенке крыс происходит в течение всей жизни). На 57 день после операции появлялись гигантские клетки типа мегакариоцитов «Рис. 6». Фолликулы белой пульпы начинали организовываться вокруг мелких артерий с 63 дня после оперативного



Рис. 1. Очаг спленоза на пряди сальника. / **Fig. 1.** Splenosis into strands omentum.



Рис. 2. Очаг спленоза на поверхности желудка. / **Fig. 2.** Splenosis on the surface stomach.



Рис. 3. Очаг спленоза на поверхности яичника. / **Fig. 3.** Splenosis on the surface of ovary.

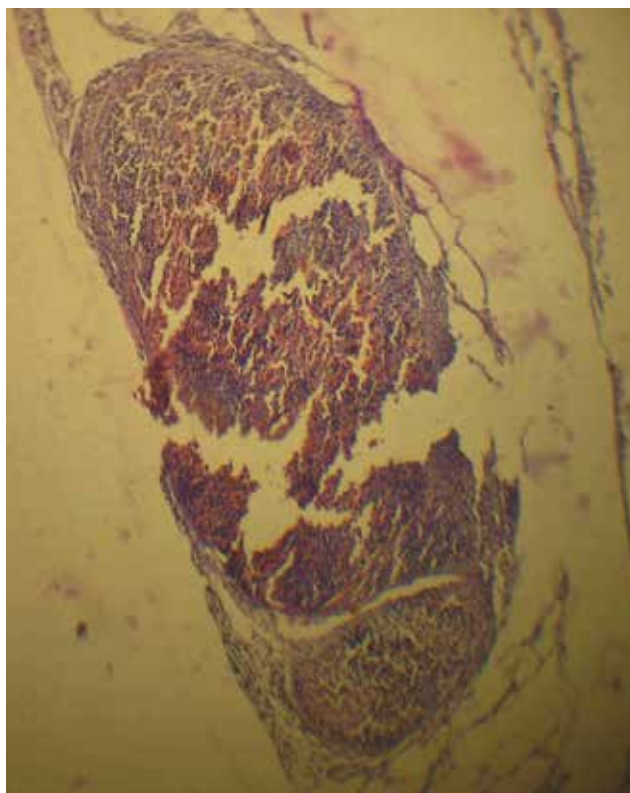


Рис. 4. Очаг спленоза отграниченный тонкой фиброзной капсулой (микропрепарат, окраска гематоксилином-эозином, увеличение 10x). / **Fig. 4.** The center splenosis delimited thin fibrous capsule (slides, hematoxylin-eosin, 10x increase).

моделирования, в количестве не превышающем 2-3. На более поздних сроках происходит пролиферация лимфоидных клеток «Рис. 7», однако формирование венозных синусов не выражено.

На ранних сроках после операции (16 и 20 сутки) погибло две крысы. При аутопсии в одном случае обнаружены признаки разлитого перитонита (возможно развитие отягощенной постспленэктомической инфекции), в другом - выраженный спаечный процесс с кишечной непроходимостью.

Заключение

Таким образом, впервые создана экспериментальная модель постспленэктомического спленоза (патент РФ «Способ моделирования диссеминированного постспленэктомического спленоза» № 2481645). Частота развития очагов ДПС у крыс линии «Wistar» составила 83 %. Макроскопически различаемые очаги спленоза начинают определяться со срока 30 дней после операции. Данная модель подтверждает описания клинических случаев о возможности самостоятельной имплантации компонентов селезеночной ткани практически на любых тканях организма [4,7,9]. Однако в большинстве наблюдений (47,3%) очаги локализуются на большом сальнике, что вероятно связано с его обильной васкуляризацией и высокой адгезивной способностью. Рассыпной тип кровоснабжения свидетельствует о центростремительном ангиогенезе в данных образованиях и видимо не способствует развитию типичной ангиоархитектоники селезеночной ткани.

Обнаружена этапность развития очагов спленоза, с признаками функциональной активности после

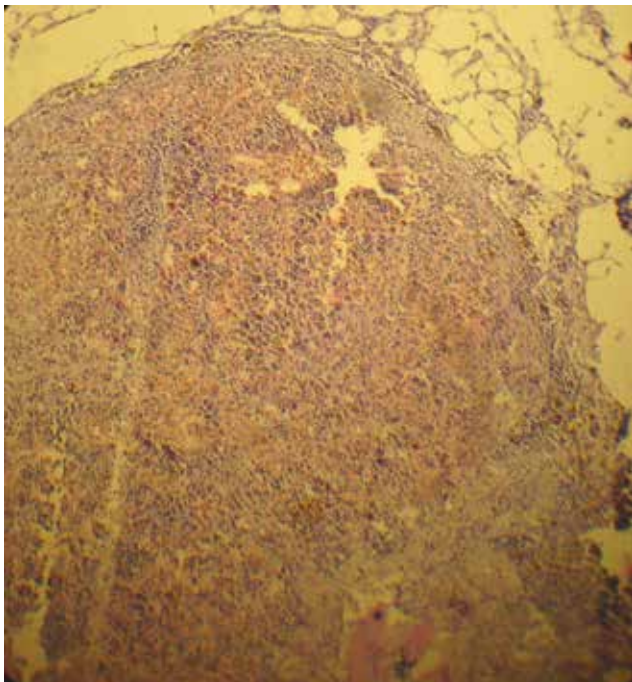


Рис. 5. Очаг ДПС со специфичным для селезеночной ткани клеточным составом (микропрепарат, окраска гематоксилином-эозином, увеличение 50x). / Fig. 5. Hearth DPS with splenic tissue-specific cellular composition (slides, hematoxylin-eosin, 50x increase).

47 суток от момента операции. На этих сроках отмечается наибольшее количество плазмочитов, активная пролиферация различных пулов лимфоидных клеток, мегакариоцитов.

При наличии всех компонентов селезеночной ткани очаги ДПС не имеют типичной архитектоники, что неизбежно должно отразиться на функциональных способностях «неоселезеночных» очагов - «...морфологические данные, получаемые при изучении любого биологического процесса, не есть какая-то особая система форм, обособленная от системы функций...» - И.В. Давыдовский. В полученных нами очагах ДПС не выражены венозные синусы, которые выполняют функцию клеточной матрицы, содержащей макрофаги, лимфоциты и натуральные киллеры – таким образом можно предположить, что контакт стареющих и поврежденных эритроцитов, тромбоцитов, бактерий и иммунных комплексов с макрофагами селезеночной ткани нарушен. Такие данные могут косвенно говорить о несостоятельности клиренса этих объектов очагами «неоселезеночной» ткани и отсутствии механической

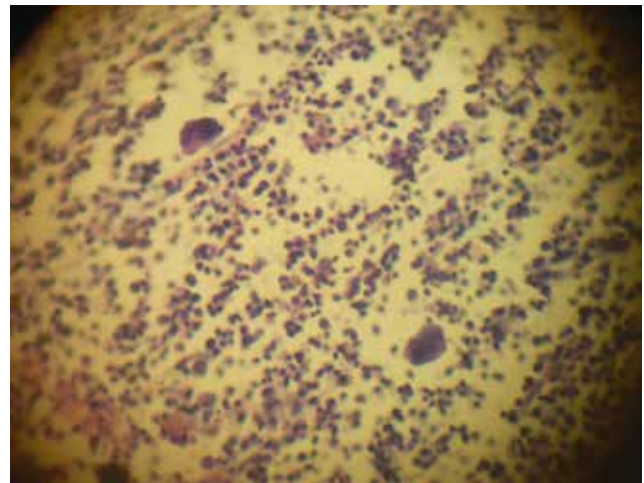


Рис. 6. Мегакариоцитарные клетки в очаге спленоза (микропрепарат, окраска гематоксилином-эозином, увеличение 100x). / Fig. 6. Megakaryocytic cells in splenosis (slides, hematoxylin-eosin, 100x).

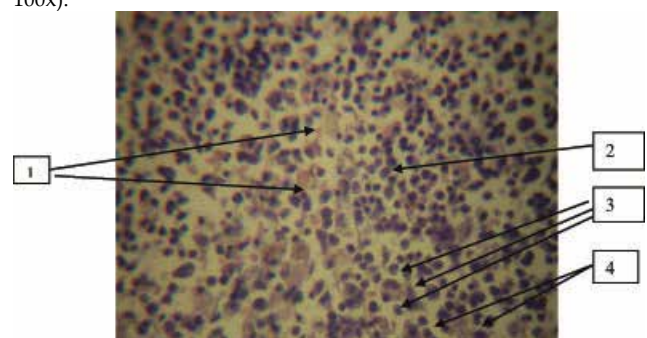


Рис. 7. Микропрепарат очага спленоза на большом увеличении, видны кроветворные клетки на разных этапах созревания (окраска гематоксилином-эозином, увеличение 100x).

1 - скопление эритроцитов, 2 - группа плазматических клеток, 3 - палочкоядерные лейкоциты, 4 - клетки типа миелоцитов. / Fig. 7. The slides focus splenosis at high magnification, visible hematopoietic cells at different stages of maturation (hematoxylin-eosin, 100x). 1 - cluster red blood cells, 2 - a group of plasma cells, 3 - leukocytes, 4 - cell type myelocytes.

фильтрации крови с поглощением ксенобиотиков. Однако большое количество плазмацитов, активное деле-

Список литературы

1. Апарцин К.А., Гумеров Р.Р., Галеев Ю.М., и др. Диссеминированный спленоз после спленэктомии. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова, 2009; 10: 53-55.
2. Тимербулатов В.М., Фаязов Р.Р., Хасанов А.Г., и др. Спленоз в хирургической практике. Анналы хирургической гепатологии, 2007; 12: 1: 90-95.
3. Carlos T. Brandt, S.C.S. Brandão, A.L.C. Domingues, et al. Splenosis after splenectomy and spleen tissue autoimplantation: Late followup study. *J. Indian Association of Ped. Surg.*, 2012; 17: 3: 104-106.
4. Hardin V.M., Morgan M.E. Thoracic splenosis. *Clin. Nucl. Med.*, 1994; 19: 438-440.
5. J.J. Espert; Eduardo Targarona; Ernest Bombuy; Javier Setoain; Josep Visa; Manuel Trias. Evaluation of risk of splenosis during laparoscopic splenectomy in rat model. *World journal of surgery*, 2001; 25(7): 882-885.
6. Katz D.S., Moshiri M., Smith G. et al. Spontaneous hemorrhage of abdominal splenosis. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 1998; 22: 5: 725-727.
7. Koleski F.C., Turk T.M., Ouwenga M. et al. Splenosis as a cause of testicular pain: laparoscopic management. *J. Endourol.*, 1999; 13: 5: 373-375.
8. Martin L.W. Autologous splenic transplantation. *L.W. Martin. Ann. Surg.*, 1994; 219: 3: 223-224.
9. Ovnatanian K.T. Splenosis of the pericardium. *Vestn. Khir.*, 1966; 97: 59-62.
10. Sikov W.M., Schiffman F.J., Weaver M. et al. Splenosis presenting as occult gastrointestinal bleeding. *Am. J. Hematology*, 2000; 65: 1: 56-61.

Поступила 17.11.2013

Информация об авторах

1. Морозов Д.А. - д.м.н., проф., заместитель директора МНИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава России;
2. Городков С.Ю. - к.н.м., доц. ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России», кафедра хирургии детского возраста им. Н.В. Захарова;
3. Филиппов Ю.В. - к.м.н., доц. ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России», кафедра хирургии детского возраста им. Н.В. Захарова;
4. Цмокалюк Е.Н. - ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России», НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии, научный сотрудник отдела патоморфологии;
5. Клюев С.А. - Клинический ординатор кафедры хирургии детского возраста им. Н.В. Захарова. ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава России». E-mail: sergey1klyuev@yandex.ru;
6. Масевкин В.Г. - зав. отделением плановой хирургии детского возраста Детской Хирургической Клиники Клинической больницы им. С.П. Миротворцева, г. Саратова.

ние лимфоидных клеток на разных этапах созревания не исключает гуморальной поддержки иммунитета.

References

1. Apartsin K.A., Gumerov R.R., Galeev Iu.M., i dr. Disseminated splenosis after splenectomy. *Khirurgiia. Zhurnal im. N.I. Pirogova*, 2009; 10: 53-55. - (In Russ.).
2. Timerbulatov V.M., Faiazov R.R., Khasanov A.G., i dr. Splenosis in surgical practice. *Annaly khirurgicheskoi gepatologii*, 2007; 12: 1: 90-95. - (In Russ.).
3. Carlos T. Brandt, S.C.S. Brandão, A.L.C. Domingues, et al. Splenosis after splenectomy and spleen tissue autoimplantation: Late followup study. *J. Indian Association of Ped. Surg.*, 2012; 17: 3: 104-106.
4. Hardin V.M., Morgan M.E. Thoracic splenosis. *Clin. Nucl. Med.*, 1994; 19: 438-440.
5. J.J. Espert; Eduardo Targarona; Ernest Bombuy; Javier Setoain; Josep Visa; Manuel Trias. Evaluation of risk of splenosis during laparoscopic splenectomy in rat model. *World journal of surgery*, 2001; 25(7): 882-885.
6. Katz D.S., Moshiri M., Smith G. et al. Spontaneous hemorrhage of abdominal splenosis. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 1998; 22: 5: 725-727.
7. Koleski F.C., Turk T.M., Ouwenga M. et al. Splenosis as a cause of testicular pain: laparoscopic management. *J. Endourol.*, 1999; 13: 5: 373-375.
8. Martin L.W. Autologous splenic transplantation. *Ann. Surg.*, 1994; 219: 3: 223-224.
9. Ovnatanian K.T. Splenosis of the pericardium. *Vestn. Khir.*, 1966; 97: 59-62.
10. Sikov W.M., Schiffman F.J., Weaver M. et al. Splenosis presenting as occult gastrointestinal bleeding. *Am. J. Hematology*, 2000; 65: 1: 56-61.

Поступила 17.11.2013

Information about the Authors

1. Morozov D. - MD, Prof., Deputy Director of MRI Pediatrics and Pediatric Surgery, Russian Ministry of Health;
2. Gorodkov S. - PhD, Associate Prof. of Medical University "V.I. Razumovsky Saratov State Medical University", Department of pediatric surgery;
3. Filippov Iu. - PhD, Associate Prof. of Medical University "V.I. Razumovsky Saratov State Medical University", Department of pediatric surgery;
4. Tsmokaliuk E. - Medical University "V.I. Razumovsky Saratov State Medical University". Research Institute of Fundamental and Clinical UroNephrology, researcher at the Department of Pathomorphology;
5. Kliuev S. - Clinical resident of surgery Childhood named. NV Zakharov. Medical University "V.I. Razumovsky Saratov State Medical University". E-mail: sergey1klyuev@yandex.ru;
6. Masevkin V. - Head of the Department planned pediatric surgery Pediatric Surgery Clinic Clinical Hospital S.R. Mirotvortseva, Saratov.