

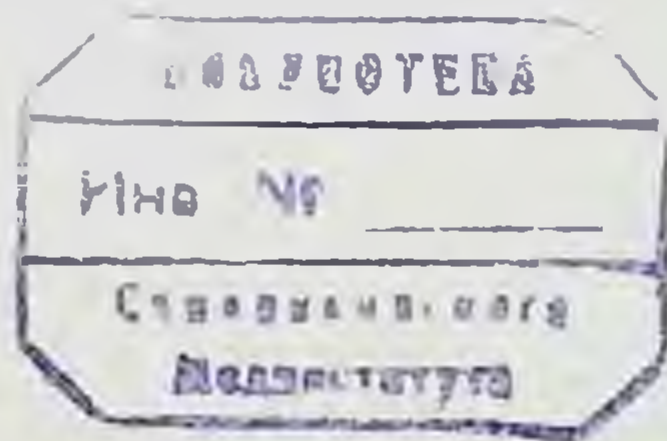
18286

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

Ю. Г. ЦЕЛЛАРИУС

ГИСТОПАТОЛОГИЯ АДРЕМАЛИНОВЫХ
ПОВРЕЖДЕНИЙ МИОКАРДА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук



Новосибирск, 1969

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи.

Ю. Г. ЦЕЛЛАРИУС

ГИСТОПАТОЛОГИЯ АДРЕНАЛИНОВЫХ
ПОВРЕЖДЕНИЙ МИОКАРДА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

773

НОВОСИБИРСК, 1969

Работа выполнена в лаборатории экологической морфологии и патоморфологии (зав. — доцент Ю. Г. Целлариус) Института физиологии (директор — профессор А. Д. Слоним) Сибирского отделения Академии наук СССР.

Защита диссертации состоится на заседании Ученого совета Новосибирского Государственного медицинского института (Новосибирск-91. Красный проспект 52) *2 января* 1969 г.

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор С. С. Вайль,

Доктор медицинских наук, профессор М. Я. Субботин,

Доктор медицинских наук Л. И. Корочкин.

Внешний отзыв получен из лаборатории экспериментальной кардиологии Института нормальной и патологической физиологии АМН СССР.

Автореферат разослан *28 февраля* 1969 г.

Диссертация представляет собой рукопись в двух томах. Том 1, объемом 460 стр. машинописи, состоит из введения (10 стр.), обзора литературы (111 стр.), описания материала и методики исследования (28 стр.), описания результатов исследования (112 стр.), обсуждения (110 стр.) заключения (6 стр.), выводов (5 стр.), указателя литературы, включающего 304 названия работ отечественных авторов и 601 иностранных (75 стр.) и оглавления (3 стр.). Том 2 (160 стр.) содержит 317 микрофотографий.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского медицинского института.

Ученый секретарь Совета
доцент Н. С. Орлова.

Дистрофические и некробиотические изменения миокарда являются одной из наиболее актуальных медицинских проблем. Не говоря уже о болезнях сердца, при которых повреждения миокарда с самого начала играют ведущую роль, очень большое количество самых разнообразных острых и хронических заболеваний сопровождается нарушениями метаболизма сердечной мышцы, в конечном счете определяющими летальный исход.

Г. Ф. Лауг (1936), вводя в обиход клинической медицины понятие о «дистрофии миокарда», предполагал, что метаболические изменения, наблюдающиеся на ранних стадиях этого состояния, не имеют определенного морфологического субстрата. Но уже вскоре после этого С. С. Вайль (1940) обнаружил, что во многих случаях, проявляющихся клинически, как «миокардиодистрофия», в миокарде обнаруживаются микроскопические очажки некрозов, обозначенные им как «микромииомаляции». Позже на них обратила внимание и М. А. Захарьевская (1946).

В настоящее время ясно, что очаговые метаболические повреждения являются часто встречающимся типом патологических изменений сердца и имеют важное клиническое значение.

В литературе имеются многочисленные описания очаговых повреждений миокарда, возникающих при гипоксических состояниях, при усиленной работе сердца в условиях неадекватного кровоснабжения, при действии токсических веществ, при нарушениях электролитного обмена и других патологических ситуациях, наблюдающихся как в клинике, так и в эксперименте. В лаборатории Selye на протяжении ряда лет изучаются некрозы миокарда, вызываемые сочетанным действием кортикоидных гормонов и нарушений электролитного

баланса. К. М. Данилова (1963) описала очаговые некрозы, возникающие в миокарде человека при стрессорной реакции.

Наиболее распространенным способом воспроизведения очаговых повреждений миокарда в эксперименте является введение животным высоких доз адреналина или адреналиноподобных веществ (изадрина и др.).

Существуют различные гипотезы о механизмах развития «адреналинового миокардита», но большинство авторов в настоящее время считает, что адреналин и ему подобные препараты в высоких дозах обладают прямым кардиотоксическим действием, нарушая энергетический обмен мышечных клеток (М. Е. Райкина, 1962, 1967; Raab, 1959).

Все авторы отмечают сходство экспериментальных адреналиновых повреждений миокарда с очаговыми повреждениями, вызываемыми другими воздействиями — переутомлением, стрессом, гипоксией и т. д. Selye (1961) высказал предположение, что очаговые некрозы миокарда даже при различной этиологии имеют общие патогенетические механизмы. Raab (1959, 1966) считает, что общим патогенетическим звеном в возникновении повреждений миокарда является повышение концентрации катехоламинов в сердце. Правда, с этой теорией согласны далеко не все исследователи. В опытах Ф. З. Мерсона и его сотрудников было показано, что при декомпенсации миокарда концентрация катехоламинов в нем значительно снижается (В. В. Парин, 1964).

Однако в патогенезе острых очаговых повреждений миокарда роль катехоламинов представляется хорошо доказанной. С этой точки зрения «адреналиновый миокардит» является наиболее подходящей моделью для воспроизведения этого типа повреждений сердца (К. М. Данилова, 1961).

Первые подробные описания адреналиновых повреждений миокарда оставили Pearce (1906), Fleisher и Loeb (1909) и Н. Н. Аничков (1912). С тех пор «адреналиновый миокардит» широко использовался как модель очаговых повреждений миокарда в биохимических, патофизиологических и фармакологических исследованиях. Однако морфология адреналиновых повреждений миокарда, так же как и морфология других очаговых повреждений, изучалась главным образом на тех стадиях, когда в сердце имеются выраженные некрозы и воспалительные или склеротические изменения стромы. Предшествующие некрозам дистрофические изменения мышечных волокон изучены очень мало и многие авторы считают, что

ранние стадии дистрофических изменений в миокарде вообще не имеют определенного морфологического выражения на уровне световой микроскопии. Это относится не только к очаговым повреждениям, но и к инфарктам миокарда. Достаточно отметить, что даже при закупорке или перевязке коронарной артерии обычные гистологические методы, применяемые патолого-анатомами позволяют с уверенностью диагностировать некробиотические изменения в миокарде лишь через несколько часов после выключения из кровообращения соответствующих участков сердца. В то же время специальные исследования (Л. Я. Рапопорт, Г. Д. Князева и Л. Х. Державец, 1963) показали, что ишемия, продолжающаяся в течение 20—25 минут, уже вызывает необратимые изменения в мышечных клетках сердца, приводящие к некрозу, который, однако, выявляется гистологически в более поздние сроки.

Представления о сущности и морфологическом выражении дистрофических изменений мышечных клеток сердца весьма разноречивы, так же как и классификация этих изменений (Т. А. Надачина и А. В. Смольяников, 1964). Большинство авторов ограничивается указанием на наличие «белковой дистрофии» или «жировой дистрофии». Некоторые выделяют, как особые формы дистрофических изменений, «эозинофильную дегенерацию», «базофильную дегенерацию», «гиалиновую дегенерацию», «восковидное перерождение», «сарколизис», «фуксифильную дегенерацию», «зернисто-глыбчатый распад», «вакуольную дегенерацию» и т. д. Однако сущность этих форм повреждения и связь между ними остаются неясными.

Недостатком гистологических методов, обычно применяющихся патологоанатомами при изучении дистрофических и некробиотических изменений миокарда, является то, что эти методы плохо выявляют миофибриллы — основной функциональный элемент мышечных клеток. Поэтому в описаниях гистологической картины лишь иногда отмечают исчезновение поперечной исчерченности, не объясняя этого явления. Практически единственным методом, применяющимся для выявления миофибрилл, является окраска железным гематоксилином по Гейденгайну. Однако этот метод с трудом поддается стандартизации и не может применяться в массовых исследованиях, не говоря уже о том, что трактовка наблюдаемых картин затруднительна, поскольку изменения в окраске поврежденных клеток могут быть связаны с изменениями сорбционных свойств и плотности субстрата.

Не меньше трудности возникают при использовании обычных анионных и катионных красителей. Основой электролитного окрашивания при этих широко распространенных методах является различное сродство тканевых полиэлектролитов к окрашенным ионам красителей. Результаты окраски зависят также от соотношения величины молекулы красителя и плотности субстрата, хотя эти методики легче стандартизуются, избирательное выявление миофибрилл не удается из-за того, что краскосвязывание миофибриллярных белков существенно не отличается от краскосвязывания остальных белков саркоплазмы. Возникающие при патологических условиях изменения рН, наряду с изменениями плотности объектов, также могут маскировать истинные структурные перестройки.

Указанные обстоятельства заставили нас искать методы, которые позволили бы выявлять миофибриллы, обходя трудности, связанные с применением красителей. К таким методам относится, в первую очередь, поляризационная микроскопия, которая дает возможность наблюдать миофибриллы, благодаря их способности к двулучепреломлению. До последнего времени этот метод использовался при изучении миокарда лишь в редких случаях для выяснения отдельных частных вопросов — например, связи определенной гистохимической реакции с тем или иным диском миофибрилл (Уокоуата с сотр., 1955; А. С. Ступина, 1962; С. С. Саидрасулов, 1966).

В работах нашей лаборатории метод поляризационной микроскопии стал широко применяться для исследования миокарда при различных патологических ситуациях. При сочетании этого метода с обычными гистологическими и гистохимическими методиками удалось получить гораздо более полную информацию о состоянии мышечных клеток сердца, причем, была достигнута возможность оценивать состояние миофибриллярного аппарата, который оказался весьма чувствительным индикатором повреждения миокарда. Использование поляризационной микроскопии позволило нам обнаружить отчетливые изменения в мышечных клетках сердца, которые при обычном гистологическом исследовании представлялись существенно не отличающимися от нормы. То, что изменения касаются главного функционального элемента мышечных волокон, определяет значимость этих изменений в нарушениях сердечной деятельности.

Дополнением к поляризационной микроскопии является метод фазового контраста, позволяющий на неокрашенных

препаратах сопоставить изменения миофибрилл с изменениями других клеточных структур мышечных элементов.

Перечисленные методы, позволяющие определять состояние миофибрилярного аппарата сердца, мы решили использовать для изучения дистрофических и некробиотических изменений миокарда, рассчитывая получить данные, дающие возможность составить представление о некоторых механизмах и динамике этих изменений.

Важным компонентом патологии миокарда являются изменения соединительнотканной стромы сердца, возникающие в связи с повреждениями мышечных клеток. Проблемы миокардиосклероза и вопрос об обратимости склеротических изменений сердца остаются весьма актуальными (Д. С. Саркисов, 1962). Кроме того метаболические повреждения миокарда являются хорошей моделью для изучения более общей проблемы взаимоотношений стромы и паренхимы. Мы в течение ряда лет занимались этими вопросами на других объектах. Изучение связи между повреждениями мышечных клеток сердца и изменениями стромы может дать дополнительный материал для развития и коррекции намеченных в предыдущих исследованиях концепций.

Приступая к работе, мы ставили перед собой следующие задачи:

1. Изучить на избранной экспериментальной модели морфологические особенности и динамику очаговых дистрофических и некробиотических изменений мышечных клеток сердца, обращая особое внимание на состояние миофибрилярного аппарата.

2. Изучить на данном материале закономерности реакции стромы на повреждение мышечных клеток сердца.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В соответствии с поставленными задачами и возникшими в ходе исследования дополнительными вопросами были проведены следующие серии экспериментов:

Основная серия экспериментов. Исследование миокарда белых крыс и золотистых хомячков в различные сроки после введения адреналина.

Дополнительные серии экспериментов:

1. Иммунотопографическое исследование распределения миезина в мышечных волокнах сердца при адреналиновом повреждении.

2. Гистохимическое исследование ШИК-положительного субстрата в некротизированных мышечных волокнах.

3. Влияние аутолиза на состояние мышечных волокон нормального и поврежденного миокарда.

4. Воспроизведение адреналинового повреждения миокарда у кроликов.

5. Воспроизведение очаговых повреждений миокарда методом ортостатического коллапса.

6. Воспроизведение очаговых повреждений миокарда действием электрического тока.

Всего использовано в работе 317 беспородных белых крыс (самцов весом 100—150 г), 28 петухов породы леггорн (весом 800—1400 г), 26 золотистых хомячков (самцов весом 80—100 г) и 118 кроликов породы шиншилла (весом 2—3 кг). Во всех опытах мы применяли однократное введение адреналина, чтобы иметь возможность определять сроки возникших изменений. Белым крысам и золотистым хомячкам адреналин вводили подкожно из расчета 0,5 мл 0,1% раствора на 100 г веса животного. Петухам адреналин вводили подкожно из расчета 1 мл 0,1% раствора на 100 г веса. Кроликам вводили внутривенно 0,5 мл 20% раствора бензойно-натриевой соли кофенна, после чего, через 3 минуты, также внутривенно — 0,2 мл 0,1% раствора адреналина.

Ортостатический коллапс вызывали у кроликов подвешиванием в вертикальном положении.

Повреждение миокарда действием электрического тока вызывали путем пропускания через грудную клетку кроликов переменного тока напряжением 90 вольт в течение 30 секунд. При возникновении фибрилляции желудочков производили дефибрилляцию кратковременным пропусканием сетевого тока напряжением 220 вольт.

У декапитированных или наркотизированных животных вскрывали грудную клетку, извлекали быстрое сердце и тотчас помещали его в холодную влажную камеру, где сердце быстро останавливалось. Желудочки сердца разрезали фронтальным разрезом на две половины, из которых одну фиксировали 10% нейтральным формалином в течение 18—24 часов и заливали в парафин. Из другой половины изготавливали замороженные срезы, причем ткань либо предварительно фиксировалась 18 часов охлажденным формалин-кальцием по Бекеру, либо срезы делались в криостате из нефиксированной ткани, замороженной жидким азотом.

Неокрашенные срезы исследовались поляризационным, фазово-контрастным и люминесцентным методами. Поляризационно-микроскопическому и фазово-контрастному исследованию подвергались также окрашенные срезы в тех случаях, когда это допускал метод окраски.

Срезы окрашивались гематоксилин-эозином, пикрофуксином по ван Гизону в комбинации с резорцин-фуксином (в нашей модификации — Ю. Г. Целлариус, 1964), а также комбинированным методом, включающим ШИК—реакцию, окрашивание коллоидным железом, гематоксилином и оранжем. Аргирофильные волокна выявлялись импрегнацией по Гемере. Срезы, флюорохромированные акридин-оранжем или корифосфином, исследовались люминесцентно-микроскопически. Реакция ШИК ставилась параллельно в срезах, обработанных и не обработанных амилазой.

Дифференцировка нуклеопротеидов производилась по Браше (окрашивание метилгрюн-пиронином), а также люминесцентным методом после окрашивания акридин-оранжем или корифосфином. Контрольные срезы обрабатывались кристаллической рибонуклеазой, в некоторых случаях применялась экстракция РНК хлорной кислотой по Эриксону. ДНК выявлялась также методом Фельгена.

Для характеристики степени базофильности структур применялось окрашивание моновалентными катионными красителями (метиленовым синим, толуидиновым синим, акридин-оранжем) при различных значениях рН в диапазоне от 2,0 до 8,0.

Белки выявлялись реакцией с бромфеноловым синим — сулемой, трипсфан — методом Адамса, сульфгидрильные группы — методами Яковлева-Нистратовой и Шевремона-Фредерика, аминогруппы — по Ясума и Ичикава.

Выборочно применялся метод Альтмана в модификации С. С. Вайля для окраски митохондрий.

Для выявления кислых полисахаридов применялись различные варианты метахроматической реакции с толуидиновым синим, азуром I и акридин-оранжем, а также окрашивание коллоидным железом по Хэйлу и альциановым синим по Моури. Для дифференцировки кислых полисахаридов использовались методы окрашивания моновалентными катионными красителями при различных значениях рН, обработка срезов тестикулярной гиалуронидазой, сульфатирование по Муру и Шенбергу, метилирование с последующим омылени-

ем по Спайсеру и Лилли. Кроме того, в части случаев применялись методы стабилизации метахроматической реакции по Ромгани, избирательное блокирование киелых полисахаридов цетилапиридинхлоридом по Келли, а также метод разрушения комплексов субстрата с красителем определенной концентрации хлористого натрия.

Для исследования природы ШИК — положительного субстрата применялись также методы ацетилирования и бромирования по Лилли, экстракция различными органическими растворителями, псевдоплазмалевая реакция по Даниелли, плазмалевая реакция по Хайесу, фенилгидразин—формазановая реакция Карновского и Дина, реакция Шифф — надмуравьиная кислота и Шифф — надуксусная кислота по Пирсу, а также метод с ультрафиолетовым облучением по Белту и Хайесу.

При исследовании срезов использовался также обнаруженный нами эффект фотохимического флюорохромирования (см. ниже).

Реакции на кислую и щелочную фосфатазы ставились по Гомори (соответственно, свинцовый и кальций-кобальтовый методы) на замороженных срезах из материала, фиксированного холодным формалин-кальцием. Реакция на сукцинатдегидрогеназу ставилась на свежемороженых криостатных срезах. Применялась модификация метода с неотетразолем, описанная Берстеном.

Липиды окрашивались судановыми красителями (судан 3, судан 4, черный судан, шарлахрот).

Опыты с иммунотопографическим определением миозина методом Кунса проводились на петухах. Антимиозиновую сыворотку получали иммунизацией кроликов очищенным миозином, полученным из грудных мышц кур. Из иммунной сыворотки ризаноловым методом изолировали гамма-глобулиновую фракцию, которую метили изотиоцианатом флюоресцеина. Метка антител, очистка сыворотки и обработка срезов производились по методу Кунса в модификации, описанной в руководстве Пирса (1962). Специфичность реакции была подтверждена контрольными опытами с применением сыворотки иной специфичности и сыворотки, предварительно абсорбированной миозином.

В опытах с аутолизом сердце животных извлекалось из грудной клетки с соблюдением стерильности, разрезалось на две половины фронтальным разрезом. Одна половина фиксировалась 10% нейтральным формалином и служила конт-

родем, вторую половину помещали в стерильную влажную камеру и выдерживали в термостате при $+37^{\circ}$ определенный срок, после чего фиксировали формалином аналогичным способом. Материал заливался в парафин.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Основная серия. Исследование миокарда крыс и хомячков в различные сроки после введения адреналина.

В этой серии использовано 286 белых крыс и 26 золотистых хомячков. Животные забивались в сроки от 10 минут до 3 месяцев после введения адреналина. Изменения в сердцах крыс и хомячков были идентичны.

Уже в первые минуты после введения адреналина в миокарде стенки левого желудочка, в папиллярных мышцах и в межжелудочковой перегородке обнаруживаются очаговые изменения двух типов. В некоторых мышечных сегментах усиливается анизотропия миофибрилл, причем анизотропные диски сближаются, а иногда даже сливаются. При исследовании в фазовом контрасте обнаруживается уплотнение саркоплазмы, в которой различимыми остаются лишь темные полосы на уровне дисков Z. Этот тип изменений мы обозначаем как контрактурный. В других сегментах наблюдаются зоны, в которых миофибриллы перестают выявляться, а в фазовом контрасте отмечается просветление саркоплазмы, набухание и частичное разрушение саркосом. Этот тип изменений мы обозначаем как миоцитоллизис.

Описанные изменения захватывают отдельные сегменты или небольшие группы сегментов. Контрактурные изменения особенно часто возникают вблизи мелких вен, миоцитоллизис подобной тенденции не обнаруживает. Значительная часть мышечных волокон сохраняет нормальную структуру. Изменения контрактурного типа обнаруживаются уже в самые ранние сроки, а признаки миоцитоллизиса появляются через 15—20 минут и достигают полного развития к концу первого часа после подкожного введения адреналина.

В течение первого часа эксперимента контрактурные изменения проявляются, главным образом, усилением анизотропии соответствующих дисков, при небольшом их сближении. В более поздние сроки встречаются сегменты, в которых анизотропные диски сблизились до полного слияния, а также сегменты, в которых анизотропная субстанция подвергается

глыбчатому распаду. На окрашенных препаратах сегменты с контрактурным типом изменений обнаруживают усиленное сродство как к анионным, так и к катионным красителям. Однако «базофилия» проявляется лишь при значениях рН выше 5,0. Соответственно усиленными представляются реакции на белки, аминогруппы, сульфгидрильные группы, триптофан. Усилена также аутолюминесценция, возбуждаемая ближним ультрафиолетом, и вторичная люминесценция после флюорохромирования. Катионные красители как при абсорбционной микроскопии, так и при люминесценции не обнаруживают метакромазии.

В период между 1 и 6 часом эксперимента в части мышечных клеток, находящихся в состоянии контрактуры, возникают некробиотические изменения, проявляющиеся пикнозом ядер и появлением в саркоплазме диффузной ШИК — реакции, устойчивой к действию амилазы. Одновременно с появлением ШИК — реакции в саркоплазме некротизированных клеток значительно усиливается реакция на триптофан. Некробиотическим изменениям подвергаются, как правило, клетки с наиболее интенсивными проявлениями контрактуры миофибриллярного аппарата — в этих клетках анизотропная субстанция образует сплошной конгломерат, который часто распадается на глыбки. В фазовом контрасте наблюдается гомогенное уплотнение саркоплазмы.

Таким образом, часть сегментов, находящихся в состоянии контрактуры, подвергается типичному коагуляционному некрозу. Изменения в других сегментах, по-видимому, обратимы. Начиная с 8—12 часов эксперимента число сегментов с контрактурным типом повреждений начинает уменьшаться, через 24 часа они обнаруживаются лишь изредка, а через 48 часов практически перестают обнаруживаться, в то время, как число сегментов с явлениями коагуляционного некроза в эти сроки заметно не увеличивается.

Начиная с 4—6 часов эксперимента вокруг некротизированных сегментов появляются лейкоциты и макрофаги, при участии которых происходит разрушение некротизированных мышечных клеток, заканчивающееся на 2—4 сутки. Тинкториальные, гистохимические и поляризационно-оптические свойства остатков разрушающихся мышечных сегментов обычно сохраняются до полного разрушения последних.

При миоцитоллизисе чаще повреждаются не целые сегменты, а их части, причем ядра могут располагаться как в поврежденных, так и в неповрежденных зонах, сохраняя свою

обычную структуру. Поврежденный участок мышечного волокна набухает, приобретая бочкообразную форму, анизотропия миофибрилл сначала ослабляется, а затем миофибриллы вообще перестают выявляться. При фазово-контрастном исследовании, а также при окраске по Альтману, видно, что часть саркосом разрушается, а оставшиеся набухают. Мышечное волокно в зонах миоцитолизиса слабо окрашивается как кислыми, так и основными красителями. Резко ослаблены также все белковые реакции, ШИК — реакция отрицательна.

Начиная с 6—8 часов после введения адреналина, зоны миоцитолизиса в мышечных волокнах укорачиваются, а набухание уменьшается. После 8—12 часов в этих участках появляется множество мелких зерен, по своим размерам и тинкториальным свойствам соответствующих саркосомам. Одновременно восстанавливается способность поврежденных участков связывать красители и давать белковые реакции, а при поляризационно-микроскопическом исследовании обнаруживаются миофибриллы, вначале расположенные редко, а затем более густо. В результате описываемого восстановительного процесса через 24 часа выявляется гораздо меньшее число очагов миоцитолизиса, чем в предыдущие сроки, а после 48 часов миоцитолизис вообще не выявляется.

Через 4—6 часов после введения адреналина в некоторых клетках, находящихся в состоянии миоцитолизиса, ядра бледнеют, а в дальнейшем совершенно исчезают. Полностью исчезают также саркоплазматические структуры и на месте клетки остается трубка, образованная сарколеммой, которая позже спадается, превращаясь в тяж. Таким образом, часть клеток с явлениями миоцитолизиса подвергается колликвационному некрозу. Число этих клеток относительно невелико (единичные в препарате).

В нормальном миокарде крыс и хомячков обнаруживается умеренное количество мелкозернистого гликогена. Через 15 минут после введения адреналина гликоген в мышечных клетках сердца перестает выявляться и снова появляется в неповрежденных мышечных волокнах через 6 часов.

Реакция на сукцинатдегидрогеназу в клетках миокарда после введения адреналина становится неравномерной в отношении как густоты распределения, так и размеров зерен формазана. Эта неравномерность нарастает в ближайшие часы. В участках миоцитолизиса активность обнаруживается лишь в виде единичных зерен. Через 4—6 часов исчезает фер-

ментативная активность в сегментах, подвергающихся коагуляционному некрозу.

В части сегментов с контрактурными изменениями отмечается резкое усиление реакции на кислую фосфатазу. В сегментах, подвергшихся коагуляционному некрозу, усиленная реакция на кислую фосфатазу в первые часы обычно сохраняется, но в последующие сроки постепенно ослабляется, становится пятнистой и исчезает. Также ослабляются в некротизированных сегментах реакции на сульфгидрильные группы.

В эндомизии нормального миокарда крыс и хомячков гистохимическими реакциями выявляется содержание гиалуроновой кислоты и небольших количеств хондроитинсульфата типа А или С. Уже через 10—15 минут после введения адреналина в эндомизии левого желудочка, межжелудочковой перегородки и папиллярных мышц реакции на кислые полисахариды дают отрицательный результат. Одновременно появляется полнокровие мелких сосудов и капилляров и отек стромы. Эти явления нарастают в течение первых трех часов эксперимента, а затем постепенно уменьшаются. К концу первых суток полнокровие и отек можно заметить лишь в участках, где имеются густо расположенные очаги некроза.

Через 1—3 часа после введения адреналина фибробласты эндомизия начинают отчетливо контурироваться в виде отростчатых клеток с базофильной цитоплазмой. Гистохимические реакции показывают, что эта базофилия связана с накоплением РНК. Через 4—6 часов в отростках фибробластов появляются базофильные гранулы, в которых гистохимическое исследование показывает присутствие белков, бедных триптофаном, и кислых полисахаридов, включающих гиалуроновую кислоту и хондроитинсульфат типа А или С. В этот же срок отмечается усиление реакции на щелочную фосфатазу в стенках капилляров.

Через 6—8 часов на поверхности соединительнотканых клеток по ходу капилляров отмечается накопление кислых полисахаридов со свойствами гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфата А или С и появление тонких волокон с тинкториальной и поляризационно-оптической характеристикой коллагена. Указанные проявления десмопластических процессов сильнее выражены в участках, прилегающих к очагам миоцитолитизиса, и особенно интенсивны вокруг сегментов, подвергшихся коагуляционному некрозу. После спадения сарколеммной трубки на месте колликвационного некроза образуется тонкий линейный рубчик.

Описанная диффузная реакция стромы продолжает развиваться в течение первых дней эксперимента и к концу первой недели приводит к диффузному фиброзу миокарда. Начиная со второй недели процесс коллагенизации стромы прекращается, а в дальнейшем подвергается обратному развитию, приводящему через несколько недель к нормализации стромы.

Через 3—6 часов после введения адреналина вокруг мелких сосудов миокарда поблизости от очагов коагуляционного некроза появляются полинуклеарные лейкоциты и мононуклеары. В дальнейшем эти клетки скапливаются вокруг мышечных сегментов, подвергшихся коагуляционному некрозу, и принимают участие в их разрушении.

В течение первых суток митозы в строме миокарда, как правило, не наблюдаются. На вторые сутки в клеточных инфильтратах, образовавшихся в очагах коагуляционного некроза, начинаются многочисленные митозы, в результате чего образуются гранулемы, в которых наряду с макрофагами появляются клетки фибробластического ряда, а в дальнейшем происходит накопление кислых полисахаридов и формирование коллагеновых волокон.

В отличие от описанного при диффузной реакции, в гранулемах как между клетками, так и в базофильных гранулах фибробластов отмечается присутствие субстрата с гистохимическими свойствами хондроитинсульфата В.

После рассасывания остатков некротизированных мышечных клеток лейкоциты и макрофаги из гранулемы исчезают, а оставшиеся фибробласты постепенно уменьшаются в числе, уступая место грубым коллагеновым пучкам, переплетенным тонкой эластической сетью.

Если происходит коагуляционный некроз нескольких мышечных сегментов, лежащих поблизости один от другого, то мышечные волокна, лежащие между гранулемами, подвергаются вторичному повреждению. При этом наблюдаются изменения контрактурного типа, однако, эти волокна обычно не некротизируются, а подвергаются постепенной атрофии. В результате гранулемы сливаются между собой. В процесс могут вовлекаться все новые мышечные волокна, в результате чего образующиеся рубцы превышают размеры первоначального инфильтрата.

Дальнейшая эволюция рубцов связана с запустеванием капилляров, проходивших через гранулему, причем процесс облитерации капилляров распространяется за пределы грану-

лемы, вплоть до впадения капилляров в более крупный сосуд. Облитерированные капилляры принимают вид рубцовых тяжей, в результате чего весь рубец принимает звездчатую форму.

В течение второго и третьего месяцев эксперимента рубцы в миокарде постепенно уменьшаются в размерах и через три месяца уже не выявляются.

В условиях эксперимента с однократным введением адреналина диффузная гипертрофия миокарда не наблюдалась. В сроки 1—7 суток отмечалось увеличение числа и размеров ядрышек в ядрах неповрежденных или восстановившихся после повреждения мышечных сегментов. В последующие сроки в тех же отделах миокарда наблюдалось утолщение отдельных мышечных волокон.

Дополнительные серии экспериментов

1. Иммунотопографическое исследование распределения миозина в мышечных волокнах сердца при адреналиновом повреждении.

В данной серии было использовано 28 петухов породы леггорн. Животные забивались в сроки от 1 часа до 24 часов после введения адреналина. Изменения в мышечных волокнах сердца петухов были весьма сходны с изменениями, наблюдавшимися в миокарде крыс и описанными выше. Параллельное поляризационно-микроскопическое и люминесцентное исследование криостатных срезов, обработанных антимиозиновой сывороткой, меченой изотиоцианатом флюоресцеина, дало следующие результаты.

В неповрежденных волокнах миокарда у экспериментальных и контрольных животных отчетливо видна локализация меченого белка в дисках А миофибрилл. Никакие другие структуры миокарда меченой антимиозиновой сывороткой не окрасились.

На ранних стадиях эксперимента (в первые часы после введения адреналина) во многих мышечных сегментах в поляризованном свете отмечается усиление свечения дисков А, причем, в одних случаях высота дисков и расстояние между ними заметно не меняются, а в других наблюдается укорочение изотропных дисков. При люминесцентном исследовании в первом случае яркость дисков А заметно не отличается от соседних волокон. При укорочении изотропных дисков диски А

сближаются, при этом несколько усиливается их люминесценция.

Через 2—3 часа и в более поздние сроки после введения адреналина в миокарде можно наблюдать мышечные сегменты без исчерченности, со сплошной анизотропией. Соответственно сплошной оказывается и люминесценция. При окраске параллельных срезов обычными методами в этих участках наблюдаются некробиотические изменения. Часто в этих сегментах анизотропная субстанция, лишенная исчерченности, располагается не сплошной массой, а в виде глыбок, которые в поляризованном свете кажутся иногда более, а иногда менее яркими, чем диски А нормальных миофибрилл. Эта глыбчатая структура иногда повторяется в люминесцентном изображении, но в части случаев видно диффузное свечение всего мышечного сегмента.

Иммунолюминесцентное исследование очагов миоцитолизиса дает несколько различные результаты на разных стадиях процесса. Обычно очаги кажутся оптически пустыми и лишь отдельные волокна связывают антимиозиновую сыворотку. Однако в ранние сроки (1—3 часа) в некоторых очагах наблюдается диффузное свечение, менее интенсивное, чем свечение нормальных дисков А. По-видимому это свойственно ранним стадиям процесса, когда миофибриллы разрушены, но часть миозина, распределяясь диффузно, еще сохраняет свою иммунологическую специфичность. В более поздние сроки (после 12 часов) некоторые участки миоцитолизиса снова начинают связывать антимиозиновую сыворотку. При этом наиболее интенсивное свечение наблюдается у границ поврежденного участка. Подобное явление наблюдается, как правило, в тех очагах миоцитолизиса, где участки исчезновения анизотропии оказываются более короткими и где в фазовом контрасте видно появление обильной мелкой зернистости.

2. Гистохимическое исследование ШИК — положительного субстрата в некротизированных мышечных волокнах.

Исследования проводились на материале из других серий опытов. Установлено, что даже длительная инкубация срезов с амилазой (до 24 часов) не уничтожает ШИК — положительную реакцию сегментов, подвергающихся коагуляционному некрозу. Обработка реактивом Шиффа без предварительного окисления подной кислотой не дала окрашивания поврежденных мышечных сегментов. Отрицательный результат да-

ли также плазмалева реакция по Хайесу, псевдоплазмалева реакция по Даниелли и фенилгидразин-формаза реакция по Карновскому и Дину. На этом основании можно отвергнуть участие в образовании положительной ШИК — реакции свободных альдегидов (ацетальфосфатидов, липидов, содержащих ацетали, аутоокисленных липидов).

Экстрагирование липидов различными органическими растворителями, проводившееся как на фиксированных, так и на нефиксированных криостатных срезах, не предотвращало ШИК — реакции. Мышечные сегменты в состоянии коагуляционного некроза не обнаруживали специфического сродства к судановым красителям. Отрицательные результаты дали также реакции, выявляющие ненасыщенные липиды, в том числе реакции Шифф — надмуравьиная кислота и Шифф — надуксусная кислота, а также метод с ультрафиолетовым облучением.

Облучение срезов производили как длинноволновым участком у. ф.-спектра ($\lambda=365$ мкм), так и коротковолновым ($\lambda=220-300$ мкм). В ходе этих опытов был обнаружен эффект, названный нами фотохимическим флюорохромированием. Суть этого эффекта сводится к тому, что после облучения коротковолновой частью у.-ф. спектра тканевые структуры приобретают способность люминесцировать в видимой области при возбуждении длинноволновым ультрафиолетом. Физико-химическая природа этого явления еще не ясна, но последующие исследования показали, что описанный эффект дают многие органические соединения, находящиеся в сухом состоянии, в то время, как в присутствии водной фазы к данному эффекту способны белки и ароматические аминокислоты, но не соединения алифатического ряда, в том числе липиды и полисахариды. Поскольку после коротковолнового у.-ф. облучения в водной среде люминесценция некротизированных мышечных волокон была значительно более яркой, чем люминесценция нормальных волокон, можно предположить, что при коагуляционном некрозе в мышечном волокне повышается концентрация белков.

После ацетилирования уксусным ангидридом в пиридине ШИК — реакция в поврежденных мышечных сегментах была отрицательна, но после обработки 0,1 и КОН способность к ШИК — реакции восстанавливалась. Бромирование не вызывало угнетения ШИК — реакции.

Сопоставление результатов произведенных нами гистохимических реакций заставляет предположить, что устойчивая

к действительно амилазы ШИК — реакция в некротизированных мышечных волокнах связана с присутствием гликопротеидов или мукопротеидов (различить их гистохимическими средствами нельзя). Обращает на себя внимание тот факт, что все поставленные нами гистохимические реакции давали совершенно аналогичные результаты с плазмой крови, видимой на препаратах в просвете сосудов.

3. Влияние аутолиза на состояние мышечных волокон нормального и поврежденного миокарда.

Опыты были поставлены на 32 белых крысах, из которых у 12 исследовался нормальный миокард, у 8 были получены острые повреждения контрактурного типа в результате кровопускания, а у 12 воспроизводились адреналиновые повреждения миокарда со сроками от 2 до 8 часов.

Установлено, что миофибрилярный аппарат обладает относительной стойкостью к аутолитическим процессам. В процессе аутолиза не возникают изменения, сходные с типами повреждений миофибрилл, обнаруженными в основной серии опытов. С другой стороны, при аутолизе довольно долго (до 20 часов) сохраняются поляризационно-микроскопические картины, характерные для описанных типов повреждений. Мышечные волокна сердца, бывшие в контроле ШИК — негативными, начинают давать очень слабую диффузную ШИК — реакцию лишь после 6 часов аутолиза. Интенсивность этой реакции во всех сроках аутолиза намного ниже, чем в мышечных волокнах, подвергшихся коагуляционному некрозу. В процессе аутолиза интенсивность ШИК — реакции в некротизированных сегментах постепенно снижается.

4. Воспроизведение адреналиновых повреждений миокарда у кроликов.

В данной серии использовано 68 животных, из которых 19 погибло в первые минуты после введения адреналина, а остальные забиты в сроки до 33 суток. Картина поврежденного миокарда у кроликов аналогична описанной в основной серии (повреждения миокарда у крыс и хомячков). Единственным отличием являлось то, что в опытах на кроликах миоцитолитический процесс развивался быстрее и обнаруживался наряду с контрактурными изменениями уже у животных, погибших сра-

не дисков Z тракуются, как «полосы сокращения», возникающие на месте перекрытия протофибрилл при контрактуре (Huxley и Hanson, 1954).

При тяжелых формах контрактурных повреждений анизотропный конгломерат в мышечных клетках часто распадается на глыбки. В некоторых случаях глыбчатость, наблюдаемая в поляризованном свете, связана не с распадом субстрата, а с частичной дезориентацией миозиновых структур. Иммунотопографическое исследование выявляет при этом диффузное свечение меченых противомиозиновых антител, которыми был обработан препарат. Однако в большинстве случаев происходит истинный глыбчатый распад некротизированных миофибрилл. Картины глыбчатого распада анизотропной субстанции очень редко встречаются в самые ранние сроки повреждения, становясь обычными в более поздние сроки, где они наблюдаются в некротизированных мышечных сегментах.

Глыбчатый распад при коагуляционном некрозе в миокарде, по-видимому, аналогичен процессу, описанному при так называемом ценкеровском некрозе в соматической мускулатуре. Zenker (1864) считал, что «восковидный» субстрат отличается особой хрупкостью. Е. В. Дмитриева (1954) связывает форму агрегации миофибрилярного аппарата с условиями, в которых развивались контрактуры и с функциональным состоянием самого мышечного волокна перед повреждением. Нам кажется более вероятным, что распад анизотропного конгломерата на глыбки является результатом молекулярных перестроек, продолжающихся в волокне и после некроза. Возможно, что этот распад происходит под действием аутолитических ферментов, сохраняющих свою активность. Правда, при коагуляционном некрозе образовавшийся конгломерат отличается повышенной стойкостью к аутолизу. Может быть именно поэтому процесс ограничивается глыбчатым распадом анизотропной субстанции, а окончательное разрушение волокна происходит лишь при участии лейкоцитов и макрофагов.

Для объяснения усиленного связывания красителей сегментами с контрактурным типом повреждения есть две возможности. Это во-первых, повышение доступности реактивных групп белков или увеличение количества таких групп из-за их разблокирования при разрыве связей, что возможно в условиях денатурации белковых структур (Д. И. Насонов и В. Я. Александров, 1940; Baker, 1958). Доказано усиление

связывания красителей при денатурации миоэпиа (А. Д. Браун, 1948). Во-вторых, возможно, что при данном типе повреждения уменьшается экстрагируемость определенных белковых фракций, в результате чего в поврежденных сегментах сохраняется после гистологической обработки больше белков, чем в нормальных мышечных волокнах. Уменьшение экстрагируемости некоторых белков при дистрофических изменениях миокарда отмечалось, в частности, Cho с соавт. (1963).

Появление при коагуляционном некрозе устойчивой к амилазе ШИК — реакции можно объяснить как результат пропитывания мышечного волокна плазмой. Такое предположение высказывала и К. М. Данилова (1961). Возможность пропитывания некротизированных мышечных клеток сывороточными белками показали В. С. Рукосуев (1964) и Kent (1966, 1967). Нашими исследованиями установлено, что субстратом ШИК — реакции при коагуляционном некрозе являются вещества гликопротеидной или мукопротеидной природы, и, весьма возможно, что это гликопротеиды плазмы. В пользу предположения о пропитывании плазмой говорит также резкое усиление реакции на триптофан, происходящее одновременно с появлением ШИК — реакции.

Механизмы развития контрактурных изменений и коагуляционного некроза мышечных клеток, по-видимому, связаны с нарушениями функций клеточных мембран. При умеренной степени повреждения нарушается способность поддерживать градиент концентрации ионов внутри и вне клетки, что приводит к контрактуре. При более сильном повреждении нарушается проницаемость и происходит пропитывание клетки компонентами плазмы крови. В развитии контрактур может также играть роль нарушение ресинтеза АТФ.

Наиболее вероятным механизмом миоцитолизиса представляется разрушение лизосом и высвобождение кислых гидролаз. Причиной этого процесса может служить нарушение клеточного дыхания и накопление кислых метаболитов.

Предположение о роли лизосомных гидролитических ферментов на первый взгляд противоречит тому факту, что в клетках с миоцитолизисом мы на всех стадиях наблюдаем отсутствие активности кислой фосфатазы, в то время, как в клетках с контрактурой активность этого фермента представляется усиленной, хотя аутолиз клетки при контрактурном типе повреждения не происходит и разрушение некротизированного сегмента осуществляется лишь в результате действия лей-

коцитов и макрофагов. В действительности никакого противоречия между описанными фактами и предположением о связи миоцитолиза с действием лизосомных ферментов нет. Как известно, самопереваривание клеточного содержимого происходит при разрушении лизосом. В результате этого процесса образуются растворимые продукты, которые, по-видимому, не сохраняются в клетке при гистологической обработке. В случае же контрактурных изменений и последующего коагуляционного некроза все структуры оказываются фиксированными и наблюдаемая ферментативная активность касается неразрушенных лизосом. В этом случае не должно происходить самопереваривание структур, а повышение активности кислой фосфатазы можно связать, с одной стороны, с уменьшением экстрагируемости при гистологической обработке, а с другой стороны, с известным феноменом повышения активности кислых гидролаз при гипоксии (Verity, 1965).

Вместе с тем не исключена роль и других факторов, вызывающих при миоцитолизе дезагрегацию саркоплазматических структур, в частности, роль изменения ионного состава среды. Weiss, Surawicz, Rubenstein (1966), перфузируя сердца кроликов растворами с дефицитом кальция, в короткие сроки получили в части мышечных клеток изменения, сходные с описываемыми нами как миоцитолиз (авторы называют это явление миофибролизом). Эти опыты недавно были повторены в нашей лаборатории с аналогичным результатом.

Характерной и трудно объяснимой особенностью миоцитолиза является его сравнительно легкая обратимость. Гибели подвергаются лишь единичные клетки, в то время как повреждение может захватывать в некоторых зонах до половины мышечных клеток. Восстановление нормального строения клетки можно рассматривать, как проявление внутриклеточной регенерации (Д. С. Саркисов, 1962, 1963). По-видимому, возможность такой регенерации обусловлена сохранностью ядра. В световом микроскопе первым признаком внутриклеточной регенерации является заполнение зоны, где произошло разрушение миофибрилл, мелкими зернами, которые, по всем признакам, являются саркосомами. Одновременно восстанавливается способность саркоплазмы связывать основные и кислые красители в степени, приближающейся к связыванию красителей нормальным волокном. Это должно рассматриваться как признак восстановления цитоплазматических струк-

тур. Зона миоцитолизиса захватывает обычно центральную часть мышечного сегмента, оставляя интактными участки, прилежащие к вставочным дискам. Восстановлению миофибрилярного аппарата предшествует появление неориентированного миозина в зоне, прилежащей к сохранившимся участкам сегмента. Этим обнаруживается сходство внутриклеточной регенерации миофибрилл с их возникновением в эмбриогенезе, когда вначале в клетках появляются беспорядочно расположенные протофибриллы, синтезированные на полирибосомах, и лишь на более поздних стадиях формируются миофибриллы (Allen и Pepe, 1965; Croisille, 1965; Okazaki и Holtzer, 1965; и др.).

Обсуждается вопрос, почему в миокарде появляется одновременно два типа повреждений мышечных клеток, локализующихся в одних и тех же отделах и слоях сердечной мышцы, а значительная часть клеток вообще остается неповрежденной. Материалы данной работы позволяют отвергнуть предположение о том, что различные формы повреждений мышечных клеток сердца являются лишь стадиями в последовательной цепи изменений (Veress с соавт., 1965). По-видимому, есть только одна возможность объяснить мозаичность очаговых повреждений миокарда — допущение, что клетки миокарда в момент повреждающего воздействия были неравноценны, что существует какая-то гетерогенность миокарда.

На гетерогенность миокарда обратил внимание А. М. Хлопков (1948), который высказал предположение, что вся рабочая масса миокарда как бы разбита на работающие, деятельные, и отдыхающие микроскопически малые территории, которые соответствуют либо отдельным мышечным сегментам, либо небольшим группам их.

Природа этой гетерогенности миокарда до сих пор неясна. При обсуждении различных возможностей отвергаются предположения о детерминированной гетерогенности клеток сократительного миокарда (в смысле их различной дифференцировки) и о связи функциональной гетерогенности с циклом сокращения и расслабления мышечных волокон. Обосновывается предположение о существовании в жизнедеятельности мышечных клеток несинхронных циклов с длительностью, измеряемой днями или неделями, и, возможно, связанных с циклическим обновлением внутриклеточных структур, причем чувствительность клеток к повреждающим воздействиям на разных стадиях цикла различна.

Вторичные повреждения, возникающие в мышечных волокнах, оказавшихся между гранулемами, по-видимому, связаны с нарушениями питания. В пользу этого предположения говорит тот факт, что, хотя изменения в этих волокнах протекают по контрактурному типу, повреждения обычно не переходят в коагуляционный некроз, а мышечные клетки подвергаются постепенной атрофии.

Повышение активности сукцинатдегидрогеназы, обнаруженное нами в неповрежденных мышечных клетках, находящихся поблизости от очагов некроза, аналогично реакции, описанной вокруг экспериментальных инфарктов (А. И. Струков, Е. Ф. Лушников и К. А. Горнак, 1967).

В работе обсуждается отношение описанных выше типов повреждения клеток миокарда к формам дегенеративных изменений, описанным в литературе. Судя по этим описаниям и по иллюстрациям к ним, термины «белковая дистрофия» и «мутное набухание» применялись как к повреждениям контрактурного типа, так и к миоцитоллизису. Термины «эозинофильная дегенерация», «фуксифильная дегенерация», «глиатиновое превращение», «восковидная дегенерация» применялись по отношению к повреждениям контрактурного типа и к коагуляционному некрозу.

Базофильная дегенерация, по-видимому, является особым типом повреждения мышечных клеток, связанным с нарушениями углеводного обмена (К. М. Данилова и М. П. Медведева, 1966). Этот тип повреждений изучен только у человека. Однако в описаниях многих авторов не делается различий между базофильной дегенерацией и повреждениями контрактурного типа, при которых отмечается усиление связывания красителей, а при переходе в некроз появляется ШИК — реакция. Поэтому, очевидно, в ряде случаев под видом «базофильной дегенерации» описывались повреждения контрактурного типа. Возможно, что с этим связана крайняя противоречивость в описаниях тинкториальных и гистохимических признаков «базофильной дегенерации миокарда».

Часто встречающееся в описаниях гистологических изменений миокарда исчезновение поперечной исчерченности мышечных волокон может в равной степени относиться как к контрактурным изменениям, так и к миоцитоллизису. «Зернисто-глыбчатый распад мышечных волокон сердца» очевидно соответствует глыбчатому превращению мышечных клеток в состоянии коагуляционного некроза. Вместе с тем в описаниях «зернистой дегенерации» можно найти признаки миоцито-

лизиса, сопровождающегося, как мы указывали, набуханием саркосом и утолщением мышечного волокна. Термин «миолиз» часто употребляется не для обозначения первичного лизиса мышечных волокон, но применяется в случаях разрушения очагов коагуляционного некроза лейкоцитами и макрофагами.

Между тем в литературе встречаются описания, несомненно соответствующие типу изменений, обозначаемому нами как миоцитоллизис. Сюда относится тип «вакуольной дегенерации» без образования вакуолей, описанный Grundmann (1950) при гипоксии, «саркоплазмоллизис», описанный Dürck (1908) при бери-бери, «разрежения», описанные К. М. Даниловой (1961), внутриклеточный отек мышечных волокон в описании Н. Н. Аничкова (1912) и др.

Так называемая фрагментация миокарда существенно отличается от миоцитоллизиса и является, по-видимому, агональным изменением (М. И. Авдеев, 1938). Вместе с тем описания «очаговой фрагментации», при которой имеются признаки прижизненности и некоторой давности (М. А. Захарьевская, 1946), возможно соответствуют миоцитоллизису.

«Зональные повреждения миокарда», наблюдавшиеся у собак при геморрагическом шоке группой американских авторов (Martin и Hackel, 1963, 1966), судя по описанию, не аналогичны миоцитоллизису и представляют особый тип повреждения.

Следует подчеркнуть, что точная диагностика контрактурных повреждений и миоцитоллизиса возможна только при использовании поляризационной и фазовсконтрастной микроскопии. Как показывает сравнение параллельных микрофотографий, снятых в обычном и поляризованном свете, многие изменения мышечных клеток в первом случае остаются незаметными.

Изменения в строении миокарда при адреналиновом повреждении можно разделить на диффузные и очаговые. Есть все основания считать, что эти изменения, в основном, являются реактивными, вторичными по отношению к изменениям в мышечных волокнах.

Представления некоторых авторов (Н. Н. Аничков, 1912; В. Н. Ментова, 1954) о первичной реакции стромы при адреналиновом миокардите возникли, очевидно, потому, что не были исследованы ранние сроки повреждений. Кроме того, эти авторы не располагали методами для раннего выявления дистрофических изменений мышечных клеток сердца.

После первоначального сравнительно короткого периода поликровня и отека диффузная реакция стромы проявляется, главным образом, усилением десмопластических функций местных соединительнотканых клеток, что приводит к накоплению кислых полисахаридов и образованию коллагеновых волокон. Все это дает картину диффузного огрубения стромы, наиболее выраженного в конце первой недели эксперимента. Можно предположить, что пусковой механизм диффузных изменений стромы связан с миоцитоллизисом, так как прослеживается зависимость между степенью выраженности и локализацией указанных процессов. В участках колликвационного некроза реакция местных соединительнотканых клеток носит тот же характер, что и диффузная реакция, но гораздо сильнее выражена. В экспериментах с действием электрического тока, при которых возникали только повреждения контрактурного типа, а миоцитоллизис не был выражен, диффузная десмопластическая реакция стромы не наблюдалась.

Мы в течение ряда лет занимались изучением взаимоотношений стромы и паренхимы при различных патологических процессах, в том числе при регенерации, опухолях, дисгормональных разрастаниях, воспалениях (Ю. Г. Целларнус, 1952, 1956, 1957, 1959, 1960, 1961, 1963, 1964, 1966). Можно считать установленным, что в органах постоянно и одновременно идут как десмопластические, так и десмолитические процессы. Относительная стабильность взаимоотношений между стромой и паренхимой в нормальных органах обусловлена динамическим равновесием между этими противоположно направленными процессами (Chvapil, 1967). Изменения взаимоотношений стромы и паренхимы при патологических и физиологических перестройках тканей связаны со сдвигом равновесия в результате усиления или ослабления указанных функций. Десмопластические процессы являются функцией фибробластов или их аналогов. Нами было высказано предположение, что уровень десмолитических процессов связан со специфической функцией паренхиматозных элементов. В пользу этого предположения говорит ряд фактов, полученных в последнее время многими исследователями. В частности, доказано присутствие гиалуронидаз и коллагеназ в лизосомах паренхиматозных клеток ряда органов (Frankland и Wynn, 1961; Eisen и Gross, 1965; Hutterer, 1965; Aronson и Davidson, 1965, 1967). Экспериментальными исследованиями, проведенными в нашей лаборатории, показана зависимость состояния соединительной ткани от паренхиматозных элементов в

молочной железе (Л. Н. Белоз, 1967, 1968) и в печени (О. А. Костырев, 1968).

С точки зрения изложенной гипотезы исчезновение в стро-
ме миокарда реакции на кислые полисахариды, наблюдаю-
щееся в самом начале процесса, может быть связано с мас-
совым разрушением лизосом при миоцитоллизе. Нами вы-
сказывалось также предположение, что усиление десмолити-
ческих процессов должно стимулировать процессы десмопла-
стические. Таким образом, можно объяснить активизацию дес-
мопластических процессов в последующие сроки. Восстанов-
ление нормального строения клеток миокарда приводит в
дальнейшем и к нормализации стромы.

Колликвационный некроз мышечных сегментов не приво-
дит к образованию клеточных инфильтратов. В противопо-
ложность этому вокруг сегментов, подвергшихся коагуляци-
онному некрозу, уже через 4—6 часов начинают скапливать-
ся полинуклеарные лейкоциты и мононуклеары, которые в
дальнейшем превращаются в макрофаги. В этот период ми-
тозы в стро-ме миокарда практически отсутствуют, а лейкоци-
ты и мононуклеары вначале обнаруживаются в окружности
мелких сосудов. Это дает основание предполагать, что клет-
ки инфильтрата имеют преимущественно, а, возможно, и пол-
ностью, гематогенное происхождение.

Обращает внимание тот факт, что в гранулеме, развива-
ющейся на месте инфильтрата, состав кислых полисахаридов
иной, чем в остальных участках стромы, где одновременно
наблюдается диффузная десмопластическая реакция. Это от-
личие может иметь значение для свойств образующегося руб-
ца. Известно, что хондроитинсульфаты являются фактором,
стабилизирующим коллагеновые волокна на межфибриляр-
ном уровне (Mathews, 1965). Хондроитинсульфаты А или С,
образующиеся при диффузной десмопластической реакции
стромы, легко разрушаются тканевыми гиалуронидазами, а
хондроитинсульфат В, преобладающий в очаговых гранулемах,
устойчив к их воздействию. Возможно, что с этим связана
большая устойчивость рубцов, образовавшихся на месте ко-
агуляционных некрозов. Тем не менее в пределах трехмесяч-
ного срока и эти рубцы исчезают.

Обратимость диффузного фиброза миокарда и мелкоочаго-
вых рубцовых изменений может служить еще одним доказа-
тельством динамического состояния межклеточных структур
соединительной ткани. Следует отметить, что Ropa с соавто-
рами (1961) наблюдали в миокарде крыс исчезновение и бо-

лее крупных рубцов, возникающих после введения изадрина. Правда, для этого требовалось большее время (до полутора лет).

Интересной особенностью рубцов, образующихся в миокарде, является появление в них, наряду с коллагеновыми, также и эластических волокон. О подобных наблюдениях сообщали Rodlebo (1956) и Dropman (1960). Этим рубцы миокарда отличаются от рубцов других органов, где образование эластических волокон происходит гораздо медленнее, если вообще происходит. Так Policard и Collet (1961) пишут, что эластические волокна в рубцах растут очень медленно, иногда в течение нескольких лет, причем их новообразование идет от периферии рубца и новообразованные волокна связаны с эластическими волокнами окружающей ткани. В нашем же материале наблюдается образование эластических волокон в рубцах в течение нескольких дней и вне всякой связи с волокнами окружающей ткани, поскольку эндомизий миокарда крыс вообще не содержит эластических волокон. Столь раннее возникновение эластических волокон можно связывать с механическими условиями, в которых находится новообразованный рубец, имеющий небольшие размеры и окруженный постоянно сокращающимися мышечными волокнами миокарда.

ВЫВОДЫ

1. Поляризационная и фазовоконтрастная микроскопия позволяет выявить начальные формы дистрофических изменений миокарда в более ранние сроки и более демонстративно, чем другие известные гистологические и гистохимические методы в условиях световой микроскопии. Диагностике повреждений миофибрилярного аппарата поляризационно-микроскопическими методами не препятствует аутолиз, продолжавшийся не свыше суток.

2. При действии высоких доз адреналина в миокарде возникает два типа повреждений мышечных клеток, из которых один связан с лизисом миофибрилл, а другой — с контрактурой миофибрилярного аппарата. Указанные типы повреждений могут быть вызваны не только введением адреналина, но и другими воздействиями; в частности, миоцитоллизис наблюдался при ортостатическом коллапсе, а контрактурные изменения — при действии электрического тока, кровопускании и ортостатическом коллапсе.

3. Изменения контрактурного типа характеризуются усилением анизотропии миофибрилл, причем наблюдается различная степень укорочения изотропных дисков вплоть до полного слияния анизотропных. Анизотропный конгломерат может подвергаться глыбчатому распаду. Саркоплазма усиленно связывает как катионные, так и анионные красители, в связи с чем изменения этого типа описываются под названиями «эозинофильная дегенерация», «базофильная дегенерация», «фуксифильная дегенерация», «гниалиновое превращение» и т. д. Анизотропная субстанция внутри мышечных волокон всегда связывает противомиозинового антитела. При тяжелых формах повреждений иногда наблюдается дезориентировка миозиновых структур, причем анизотропия ослабляется, а способность связывания специфических антител остается.

4. Большинство мышечных клеток сердца, подвергшихся изменениям контрактурного типа, восстанавливает нормальное строение в течение первых суток после введения адреналина. Часть поврежденных клеток подвергается некрозу, который всегда носит характер коагуляционного. Первым признаком некробиотических изменений является появление в саркоплазме диффузной ШИК-реакции, не предотвращаемой амилазой. Гистохимический анализ ШИК — положительного субстрата говорит в пользу предположения о плазматическом пропитывании поврежденных мышечных сегментов.

5. Изменения типа миоцитолитического характера характеризуются дезагрегацией миофибриллярных структур, набухания и частичным разрушением саркосом при сохранении сарколеммы и ядра. В большинстве поврежденных клеток внутриклеточные структуры восстанавливаются в течение первых суток. Восстановлению миофибриллярного аппарата предшествует появление в саркоплазме многочисленных саркосом и неориентированного миозина. Часть клеток подвергается колликативному некрозу, что сопровождается полным лизисом всех внутриклеточных структур и спадением сарколеммы с образованием трубок и тяжей.

6. Дистрофические изменения выявляют функциональную и морфологическую гетерогенность миокарда, которая должна учитываться при физиологических и биохимических исследованиях. Высказано предположение, что гетерогенность может быть связана с наличием несинхронной цикличности в жизни мышечных клеток сердца.

7. В первые часы после введения адреналина наблюдается полнокровие и отек стромы в миокарде левого желудочка.

Начиная с 3—4 часа появляются признаки диффузной реакции, выражающейся в усилении десмопластической активности местных соединительнотканых клеток, что в дальнейшем приводит к накоплению кислых полисахаридов и образованию коллагеновых волокон. Указанные диффузные изменения по локализации, степени выраженности и динамике связаны с миоцитоллизисом. Особенно интенсивно эти процессы идут вокруг мышечных сегментов, подвергающихся коагуляционному некрозу.

8. Мышечные волокна, подвергшиеся коагуляционному некрозу, рассасываются только при участии сегментоядерных лейкоцитов и мононуклеаров, выходящих из крови. После резорбции погибших волокон на месте инфильтратов остаются гранулемы, которые затем превращаются в рубцы.

9. В результате нарушения питания мышечных волокон, лежащих между гранулемами, может возникнуть вторичное повреждение мышечных клеток, сопровождающееся контрактурой миофибрилярного аппарата, но не переходящее в коагуляционный некроз. Эти волокна подвергаются атрофии, а гранулемы сливаются между собой, образуя в исходе рубцовые поля, превышающие размеры первоначальных очагов.

10. Обнаружены различия в составе кислых полисахаридов, образующихся в ходе диффузной реакции соединительной ткани миокарда — с одной стороны, и кислых полисахаридов, образующихся на месте коагуляционных некрозов — с другой стороны. В первом случае преимущественно выявляется гиалуроновая кислота и хондроитинсульфат А или С, а во втором случае — преобладает хондроитинсульфат В.

11. Склеротические изменения миокарда, возникшие в результате адреналинового повреждения, обратимы. Диффузный фиброз стромы у молодых крыс исчезает в первые недели эксперимента, а мелкие рубцы, возникшие на месте коагуляционного некроза мышечных волокон, исчезают в пределах трех месяцев.

12. Изменения стромы при адреналиновом повреждении миокарда связаны с дистрофическими и некробиотическими изменениями мышечных клеток. Взаимоотношения паренхимы и стромы миокарда в условиях данного эксперимента могут быть объяснены на основании представлений о динамическом равновесии между десмопластическими и десмолитическими процессами в строме и о ведущей роли функционального состояния паренхиматозных элементов в регуляции этих процессов.

МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИИ ДОКЛАДЫВАЛИСЬ:

1. На заседании Ленинградского научного общества патологоанатомов 13 октября 1964 г.
2. На Всесоюзном совещании по биофизике (Красноярск, 1965 г.).
3. На IV Всесоюзном съезде патологоанатомов — демонстрация (Кишинев, 1965 г.).
4. На VII Всесоюзном съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Тбилиси, 1966 г.).
5. На конференции по проблеме «Компенсаторные приспособления при патологии сердечно - сосудистой системы». (Минск, 1966 г.).
6. На Всесоюзном совещании по проблемам соединительной ткани (Новосибирск, 1966 г.).
7. На Всесоюзной конференции по биогенным аминам (Москва, 1967 г.).
8. На II Всесоюзной конференции по билюминесценции (Новосибирск, 1967 г.).
9. На Всесоюзном совещании по проблемам соединительной ткани (Новосибирск, 1968 г.).

СПИСОК РАБОТ, СОДЕРЖАЩИХ МАТЕРИАЛЫ ДИССЕРТАЦИИ

1. О некоторых патологических изменениях миофибриллярного аппарата миокарда. Тр. Ленинградского научного общества патологоанатомов. Л., 1965, вып. 6, стр. 123—126, (совместно с Л. А. Семеновой).
2. Усиление аутолюминесценции при метаболических повреждениях миокарда. В кн. «Управляемый биосинтез и биофизика популяций», Красноярск, 1965, стр. 180 (совместно с Л. А. Семеновой).
3. Контрактура мышечных сегментов миокарда как проявление его дистрофических изменений. Известия Сибирского отделения АН СССР, 1965, № 4, вып. 1, стр. 125—128 совместно с Л. А. Семеновой).
4. Влияние коротковолнового ультрафиолетового облучения на люминесценцию биологических объектов, возбуждаемую длинноволновой ультрафиолетовой областью. Докл. АН СССР, 1966, т. 167, № 3, стр. 681—682.
5. Миофибриллы миокарда в условиях дистрофии и некробиоза. Архив патологии, 1966, № 1, стр. 44—48 (совместно с Л. А. Семеновой).

6. Повреждение сократительного аппарата мышечных сегментов миокарда в эксперименте и их роль в возникновении острой сердечной недостаточности. В кн. «Компенсаторные приспособления при патологии сердечно-сосудистой системы». Минск, 1966, стр. 88—89 (совместно с Л. А. Семеновой).

7. Взаимоотношения стромы и паренхимы в формообразовательных процессах. Тезисы докладов 7-го Всесоюзного съезда анатомов, гистологов и эмбриологов, Тбилиси, 1966, стр. 146—147.

8. Влияние коротковолнового ультрафиолетового облучения на люминесценцию некоторых биологических объектов в видимой части спектра. В кн. «Биоэнергетика и биологическая спектрофотометрия», М., «Наука», 1967, стр. 291—295, (совместно с А. Д. Груздевым).

9. Динамика изменений мышечных волокон сердца при адреналиновых повреждениях. Архив патологии, 1967, № 1, стр. 34—39.

10. Изменения в мышечных элементах сердца при очаговых метаболических повреждениях миокарда. В кн. «Труды IV Всесоюзного съезда патологоанатомов», 1967, стр. 187—189 (совместно с Л. А. Семеновой).

11. Повреждающее действие адреналина на сократительный аппарат миокарда. В кн. «Биогенные амины. Материалы Всесоюзной научной конференции», М., 1967, стр. 250—251 (совместно с Л. А. Семеновой).

12. Реакция стромы миокарда при адреналиновых повреждениях сердца. В кн. «Соединительная ткань в норме и патологии», М., «Наука», стр. 368—376 (совместно с Л. А. Семеновой).

13. О морфологических проявлениях фибрилляции желудочков сердца в эксперименте. Кардиология, 1968, № 4, стр. 100—102, (совместно с Л. А. Семеновой и Р. А. Мартынюк).

14. Аутоиммунные проявления при экспериментальных некробиотических повреждениях миокарда. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1968, № 8, стр. 20—23 (совместно с Е. П. Семеновым и Л. А. Семеновой).

15. О некоторых изменениях сократительного аппарата миокарда при фибрилляции желудочков. Архив патологии, 1968, № 8, стр. 62—67 (совместно с Л. А. Семеновой и Р. А. Мартынюк).

16. Сравнительное поляризационно-микроскопическое и иммуногистографическое исследование миофибрилл при дистрофии

ческих и некробиотических изменениях миокарда. Архив патологий, 1968, № 12 стр. 3—7 (совместно с Л. А. Семеновой, С. Ф. Целлариус и Н. К. Ерисковской).

17. К вопросу о ранних стадиях повреждения миокарда при экспериментальном ортостатическом коллапсе у кроликов. Известия Сибирского отделения АН СССР, в печати, (совместно с Л. А. Семеновой и Т. А. Леоновой).