

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И АВТОРАДИОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЖИВЛЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ МИОКАРДА У ВЗРОСЛЫХ БЕЛЫХ КРЫС

В настоящей работе мы попытались дать морфологическую и автордиографическую (с применением H^3 -тимидина) характеристику процесса заживления и регенерации миокарда у взрослых крыс после электродиатермокоагуляции участка левого желудочка сердца.

Методика. У белых беспородных крыс-самцов весом 250 г в строго определенном месте повреждали с помощью электродиатермокоагулятора стенку левого желудочка [10]. При этом возникал конический очаг повреждения, диаметром и высотой равный приблизительно 5×4 мм и вершиной уходящий к эндокарду. По два животных забивали через 7, 13 и 21 день после операции, за 1 час до забоя внутрибрюшинно вводя H^3 -тимидин в дозе 1μ С/г веса (удельная активность H^3 -тимидина 3 кюри/г). Вырезанные участки миокарда с очагом повреждения заливали в парафин, поперечные срезы, толщиной 7μ , покрывали эмульсией типа «М», полученной из НИКФИ. Далее срезы окрашивали по ван Гизону, гематоксилин-эозинном, азури-П-эозинном. Под световым микроскопом подсчитывали число митозов и меченных изотопом ядер клеток соединительной ткани и мышечных волокон сердца на 1 000 ядер каждой ткани и число указанных элементов на 1 000 ядер в одних и тех же полях зрения. Ядра подсчитывали в интактном миокарде и в поврежденном: в зоне, отдаленной от очага повреждения; в зоне культей мышц; и в зоне, условно названной нами центральной. Культями мышц мы считали топографически четко отграниченные концы мышечных волокон; отростками, или регенерирующими, мышечными волокнами—тонкие, как правило, гистологически не дифференцированные базофильные саркоплазматические отростки с эмбрионального типа ядрами: светлыми, крупными, с 1—2 крупными ядрышками и четкой ядерной оболочкой. Регенерирующие мышечные отростки, изолированные мышечные и соединительнотканые клетки, расположенные внутри от культей мышц, мы относили к центральной зоне. Мышечные и соединительнотканые элементы центральной зоны подсчитывали в участке, непосредственно прилежащем к культям мышц, где по топографии и размерам ядер до известной степени можно было различить эти элементы. Мышечные ядра обычно имели значительно большие размеры, чем ядра клеток соединительной ткани. Дальше от культей к центру различить миогенные и соединительнотканые элементы было невозможно. Для точной идентификации свободных мышечных элементов необходимо применение специальных методов: электронной микроскопии, меченых антител и др. Поэтому наше различие указанных элементов было весьма относительным. Однако в какой-то мере попытаться применить его, с нашей точки зрения, было необходимо потому, что давно и хорошо известно, что в очаге повреждения мышцы сердца возникают так называемые миогенные грануляции, содержащие элементы не только соединительной ткани, но и мышечные: от культей мышц отделяются клетки, которые входят в грануляции, но миобласты и мышечные волокна не образуют [2, 3, 5, 7, 18]. Наличие миогенных клеток, содержащих в своей цитоплазме миофибриллы, было установлено в зоне инфарк-

та миокарда у кроликов с помощью электронного микроскопа [3]. Метод меченых антител пока, к сожалению, не позволяет отличить миогенные клетки от соединительнотканых в очаге повреждения миокарда у взрослых крыс [11, 14].

Гистологическое исследование показало, что после диатермокоагуляции происходит полный некроз тканей в коническом участке повреждения миокарда, лизис их и замещение грануляциями. При этом мы, как и другие исследователи [18], могли констатировать факт образования «миогенных грануляций». Через 7 дней после операции от культей мышц к центру очага повреждения образуется широкий пояс грануляций, состоящий из гистиоцитов, фибробластов, кровеносных сосудов и небольшого количества лимфоцитов и сегментированных лейкоцитов. Кроме того, в некоторых участках краевой зоны, в непосредственной топографической близости к культям мышц и в связи с ними появляются крупные свободные миогенные клетки (рис. 1). В центральной части очага повреждения сохраняется большой массив некротизированных безъядерных мышц с очагами геморрагии. Он инвазируется фибробластами, гистиоцитами и гранулоцитами.



Рис. 1. Срез миокарда в области культей мышц (7 дней после операции). Видны культы мышц, клетки соединительной ткани, некоторые с тимидиновой меткой, и свободные миогенные клетки (m), есть меченая метафаза мышечной клетки (mm). Гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 60X.

Через 13 дней после операции лизис коагулированных тканей в очаге повреждения практически заканчивается, лишь в самом центре его остаются небольшие островки некротизированных мышц. Очаг повреждения заполняется грануляциями. У культей мышц соединительная ткань более зрелая, плотная, чем в центре очага, и содержит много тесно прилегающих друг к другу и переплетающихся между собой кол-

лагеновых волокон. В ряде мест в грануляции вырастают тонкие мышечные отростки с ядрами (рис. 2).

Через 21 день после операции очаг повреждения заполнен созревающей плотной рубцовой соединительной тканью. В некоторых участках от культей мышц краевой зоны в рубец вырастают довольно длинные, узкие отростки мышечных волокон (рис. 3). Отдельные мышечные волокна и островки их встречаются также в глубине, в самом центре очага повреждения, независимо от культей мышц.

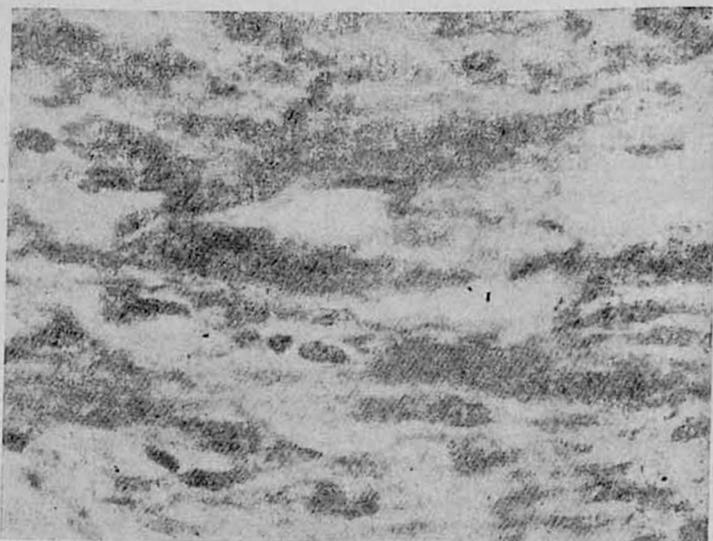


Рис. 2. Регенерация мышечных отростков от культей мышц. (13 дней после операции). Гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 60X.

Результаты количественного исследования мышечных и соединительнотканых ядер неповрежденного миокарда и миокарда в разные сроки после его повреждения, меченых ядер и ядер в состоянии митоза представлены в табл. 1. Результаты статистической обработки по методу Стьюдента данных о числе меченых ядер, меченых и немеченых митозов, рассчитанные на 1000 мышечных ядер и отдельно на 1000 ядер клеток соединительной ткани, представлены в табл. 2.

Данные табл. 1 и 2 показывают следующее:

1. Даже в неповрежденном миокарде имеется небольшое количество ($2,27 \pm 1,38$ при $P < 0,95$) меченых мышечных ядер и их митозов. После повреждения миокарда во все сроки опыта число их не изменяется в зоне, отдаленной от очага повреждения, и в центральной зоне. В зоне культей мышц число митозов меченых мышечных ядер увеличивается через 7 дней после операции и составляет 10:1000, а в интактном миокарде 1:1000. Однако различия между числом меченых H^3 -тимидином мышечных ядер в интактном миокарде, с одной стороны, и таковым в

Таблица 1

Включение H^3 -тимидина в ядра мышечных волокон и клеток соединительной ткани сердца крыс при диатермокоагуляции на 1000 ядер

Опыты	Отдаленная зона и интактный миокард								Центральная зона								Зона культей мышц							
	соединит. ткань		мышечн. волокна		митозы				соединит. ткань		мышечн. волокна		митозы				соединит. ткань		мышечн. волокна		митозы			
	Н	М	Н	М	соед. ткань		мышцы		Н	М	Н	М	соед. ткань		мышцы		Н	М	Н	М	соед. ткань		мышцы	
					Н	М	Н	М					Н	М	Н	М					Н	М	Н	М
Интактный миокард 1	691	5	303	1	—	—	1	—																
Интактный миокард 2	718	5	277	—	—	—	—	—																
7 дней после операции 1	622	8	369	—	1	—	—	—	823	31	120	2	22	—	1	1	762	21	205	5	3	3	—	1
7 дней после операции 2	709	3	273	—	12	—	3	—	863	65	30	3	36	3	—	—	752	40	156	5	36	2	7	2
13 дней после операции 1	718	5	276	1	—	—	—	—	844	24	131	1	—	—	—	—	757	15	225	2	1	—	—	—
13 дней после операции 2	733	6	259	—	2	—	—	—	894	17	89	—	—	—	—	—	788	31	177	2	1	—	1	—
21 дней после операции 1	755	2	243	—	—	—	—	—	933	14	53	—	—	—	—	—	806	16	175	2	—	—	1	—
21 дней после операции 2	746	9	245	—	—	—	—	—	945	6	49	—	—	—	—	—	875	13	111	1	—	—	—	—

Обозначения: Н—немеченые; М—меченые.

зонах культей мышц, отдаленной и центральной, поврежденного миокарда во все сроки опыта—с другой, статистически недостоверны.

2. Различия в числе меченых ядер клеток соединительной ткани в интактном миокарде, с одной стороны, и таковым в отдаленной от очага повреждения зоне миокарда во все сроки опыта—с другой, статистически недостоверны.

3. Через 7 дней после операции число меченых ядер клеток соединительной ткани в центральной зоне и зоне культей мышц по сравнению с таковым в интактном миокарде или в зоне, отдаленной от очага повреждения, статистически достоверно возрастает ($P < 0,95$).

4. Через 21 день после операции различия в числе меченых H^3 -тимидином ядер клеток соединительной ткани, подсчитанных в различных зонах поврежденного миокарда, по сравнению с таковым в интактном миокарде статистически не существенны.

5. Мышечные ядра в интактном миокарде и в зоне, отдаленной от очага повреждения миокарда, включают изотоп в меньшем числе, чем ядра клеток соединительной ткани, но эти различия статистически не существенны.

6. В неоперированном миокарде и в зонах, отдаленных от очага повреждения миокарда, отношение числа ядер клеток соединительной ткани к числу мышечных ядер составляет 2,6.

7. Соотношение ядер клеток соединительной ткани и мышечных ядер в центральной зоне и зоне культей мышц оперированного миокарда по сравнению с таковым в неоперированном миокарде статистически достоверно ($P = 0,05$) увеличивается. Или: число ядер клеток соединительной ткани на 1000 разных (мышечных и неммышечных) клеточных ядер увеличивается после повреждения миокарда в центральной зоне и в зоне культей мышц. При этом между отношением числа ядер клеток соединительной ткани к мышечным ядрам в центральной зоне и зоне культей мышц поврежденного миокарда нет статистически достоверных различий. Число ядер клеток соединительной ткани на 1000 разного происхождения ядер в центральной зоне статистически достоверно не отличается от такового в зоне культей мышц.

Количественные данные показывают, что диатермокоагуляционное повреждение миокарда у взрослых крыс мало влияет на активность синтеза ДНК и митотическую активность в мышечных ядрах сердца на 7—21-й день после операции. Возможно, что эта активность была бы более высокой в сроки до 7 дней после операции. Известно, что при экспериментально вызванном инфаркте миокарда у взрослых крыс активность синтеза ДНК повышается в ядрах культей мышц через 2 и 4 дня после операции [15]. В нашей работе, как и в вышеупомянутой, редкие митозы мышечных ядер наблюдались даже в неповрежденном миокарде. Диатермокоагуляционное повреждение больше влияет на усиление синтеза ДНК и митотическую активность ядер клеток соединительной ткани миокарда в ранние сроки опыта (7 дней после операции), чем в более поздние.

Таблица 2

Количество (в промилле) меченных H^3 -тимидином мышечных и соединительнотканых ядер в миокарде у крыс при диатермокоагуляции, заживлении и регенерации ($M \pm \sigma$)

Опыты	Отдаленная зона и интактный миокард						Центральная зона						Зона культей мышц						
	соединительная ткань			мышечные волокна			соединительная ткань			мышечные волокна			соединительная ткань			мышечные волокна			
	меч. ядра	меч. мит.	немеч. мит.	меч. ядра	меч. мит.	немеч. мит.	меч. ядра	меч. мит.	немеч. мит.	меч. ядра	меч. мит.	немеч. мит.	меч. ядра	меч. мит.	немеч. мит.	меч. ядра	меч. мит.	немеч. мит.	
Интактный миокард	6,27± 1,41*	0	0	2,27± 1,38	0	0													
7 дней после операции	8,31± 1,67*	0	9,1± 1,74*	0	0	5,3± 2,26	58± 3,74*	9,2± 1,73	24± 2,41*	35,6± 10,36	6,6± 4,47	6,6± 4,47	42± 3,74	5,6± 1,41	25± 8,3	25± 5,56	7,5± 3,2	17,5± 4,69	
13 дней после операции	6,9± 2,64	0	1,1± 0,11	1,5± 0,11	0	0	25± 2,44	0,25± 0,1	0,5± 0,1	2,04± 2,23	0	0	30,9± 2,82	0	1,3± 0,3	10,3± 3,31	0	2,2± 1,35	
21 день после операции	7,9± 1,66	0	0	0	0	0	11± 1,63	0	0	0	0	0	16,7± 4,0	0	0	12,2± 4,17	0	3,07± 2,23	

Примечание: во всех случаях принят 95% уровень вероятности.

Обозначение: * — статистическое различие при $P=0,01$.

Почему в диатермокоагуляционном очаге повреждения миокарда в процессе его заживления гистологически обнаруживаются мышечные элементы, а автордиографически стимуляции синтеза ДНК в них установить не удастся? Возможны следующие объяснения. Под световым микроскопом можно за миобласты ошибочно принять фибробласты, или наоборот, за фибробласты—миобласты. С помощью электронного микроскопа выявлено, что много миогенных клеток с миофиламентами и миофибриллами в цитоплазме имеется в грануляции миокарда у кроликов [3] или среди «фибробластов» в эксплантатах сердца куриного эмбриона [17]. Между тем при данных условиях миогенные клетки не дифференцируются в мышечные волокна. Далее, возможно, что миобласты и мышечные волокна в центре очага повреждения возникают не путем пролиферации от культей мышц, а путем миграции каких-то немиогенных клеток (полибластов?) и их метаплазии под индуцирующим влиянием тканеспецифических продуктов распада поврежденных мышечных волокон. Об этом свидетельствуют экспериментальные данные [8, 9, 16]. Может быть, верны все три вышеуказанные возможности.

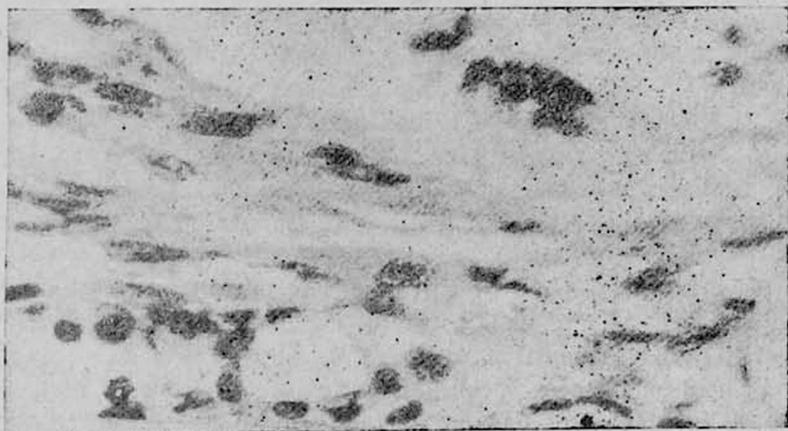


Рис. 3. Регенерация тонких мышечных волокон от культей мышц. (21 день после операции). Гематоксилин-эозин. Ок. 7, об. 60X.

Низкая способность к репаративной регенерации миокарда у взрослых млекопитающих может быть следствием: 1) репрессии синтеза ДНК и пролиферации мышечных ядер сердца и 2) подавления способности миогенных клеток к вторичной дифференцировке. Оба эти явления могут быть обусловлены понижением способности мышечной ткани сердца к разрушению и дедифференцировке и, кроме того, быстрым развитием плотного рубца в очаге повреждения миокарда. Если это верно, то для стимуляции регенерации мышцы сердца или восстановления ее утраченной регенерационной способности нужно усилить явления разрушения и дедифференцировки культей мышц и изменить состояние рубца, разрыхлить его [1, 6, 10, 12, 13].

Возможность получения вторичной дифференцировки мышечных волокон и митозов мышечных ядер склерозированного сердца у взрослого петуха была показана в культуре ткани вне организма в среде, состоящей из чистого эмбрионального экстракта [4]. Все указанные выше данные подтверждают нашу гипотезу о возможности получить в соответствующих условиях регенерацию мышцы сердца у взрослых млекопитающих и, в принципе, у человека.

ВЫВОДЫ

1. При диатермокоагуляционном повреждении участка левого желудочка сердца у взрослых крыс в очаге повреждения возникают миогенные грануляции, в которых, помимо клеток соединительной ткани, образуется, по-видимому, небольшое количество миогенных элементов, миобластов и мышечных волокон, связанных и не связанных с культиями мышц.

2. Авторадиографическое исследование показало, что H^3 -тимидин включается, главным образом, в ядра клеток соединительной ткани, причем в ранние сроки опыта (через 7 дней после операции). Включение изотопа в мышечные ядра сердца значительно более низкое, чем в ядра клеток соединительной ткани.

3. Низкая способность к репаративной регенерации миокарда у взрослых крыс может быть связана с понижением способности к разрушению и дедифференцировке мышечных волокон сердца и с быстрым ростом рубцовой соединительной ткани в очагах повреждения. Пониженные способности к возникновению этих явлений может быть связано с репрессией синтеза ДНК и изменениями в синтезе белка в мышечных ядрах и волокнах.

4. Если вышеуказанная гипотеза верна, то путем усиления разрушения и дедифференцировки мышцы сердца можно дерепрессировать синтез ДНК в мышечных ядрах сердца, изменить синтез белка в сторону усиления процессов восстановления и на этой основе получить регенерацию мышечных волокон сердца. Последней могло бы способствовать торможение роста соединительной ткани в очаге повреждения миокарда.

Институт биологии
развития АН СССР,
г. Москва

Поступило 10/II 1971 г.

Լ. Վ. Պոլեժաև

ՀԱՍՈՒՆ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ԱՌՈՂՋԱԿԱՆ ԵՎ
ՌԵԳԵՆԵՐԱՑԻԱՅԻ ԿԱԶՄԱՐԱՆԱԿԱՆ ԵՎ ԱՎՏՐԱԴԻՐՈԳՐԱԳՐԱԿ
ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա. մ. փ. ռ. ի. մ.

Կատարված փորձերի հիման վրա հեղինակը ենթադրում է, որ սրտամկանի շեղանկացի խթանման համար անհրաժեշտ է ուժեղացնել վնասվածքի օջախի հյուսվածքների թայքայումը, ինչպես նաև վերացնել շարահյուսվածքային սպին:

L. V. POLEZHAEV

MORPHOLOGICAL AND AUTORADIOGRAPHIC INVESTIGATION OF
THE HEALING AND REGENERATION OF MYOCARDIUM IN
GROWN-UP WHITE RATS

S u m m a r y

Relying on experiments made, the writer believes that the stimulation of the regeneration of myocardium requires the intensification of the destruction and dedifferentiation of tissues in the traumatic lesion in addition to the loosening of tela conjunctiva cicatrice.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Андреев С. В., Докукин А. В., Чечулин Ю. С., Бобкова И. Д. Экспериментальная терапия сердечно-сосудистых заболеваний. М., 1968.
2. Аничков Н. Н. О воспалительных изменениях миокарда. СПб. Дисс., 1912.
3. Глаголева В. В. и Чечулин Ю. С. Ультраструктурная основа нарушения функции сердечной мышцы. М., 1968.
4. Григорьев Л. М. Ж. общ. биол., 21, 465—467, 1960.
5. Кашаев П. А. Патогенез рубца сердечной мышцы при проникающих и непроникающих ранениях. Автореф. канд. дисс., Ростов-на-Дону, 1955.
6. Кочетов Н. Н. Сравнительное и экспериментальное исследование миокарда. Докт. дисс., М., 1961.
7. Лавров К. А. Труды гистол. конф. 1947. Изд-во АМН СССР, 117—121, 1949.
8. Полежаев Л. В. Докл. АН СССР, 145, 681—684, 1962.
9. Полежаев Л. В. В сб.: Метаплазия тканей. М., 45—68, 1970.
10. Полежаев Л. В., Ахабадзе Л. В., Музлаева Н. А. и Явич М. П. Стимуляция регенерации мышцы сердца. М., 1965.
11. Рукосуев В. С. Кардиология, 9, 9, 106—110, 1969.
12. Синицын Н. П. Грудная хирургия, 4, 15—18, 1959.
13. Синицын Н. П. В сб.: Регенерация и клеточное деление. М., 384—387, 1968.
14. Скуба Н. Д. Архив патол., 31, 4, 39—42, 1969.
15. Klinge O. Z. Zellforsch., 80, 488—517, 1967.
16. Levander G. Phenomena induction in tissue regeneration. Stockholm, 1964.
17. Olivo O. M., Lucchi M. L. Boll. Soc. ital. biol. sperim., 41, 1320—1322, 1965.
18. Oppel W. Virchows Arch., 164, 406—436, 1901.