

Э. Ф. БАРИНОВ, Е. Н. КУЛАГИНА

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ И ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОНОРСКОГО СЕРДЦА ПРИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНСЕРВАЦИИ

Выяснение тонких морфологических механизмов тканевого метаболизма, дополняющее более ранние биохимические, гистологические и физиологические исследования консервированного сердечно-легочного препарата (СЛП), достигалось использованием электронной микроскопии и световой гистохимии и являлось предметом настоящего исследования.

СЛП выделялся по наиболее распространенной методике Робичека, позволяющей консервировать сердце в сроки от 1,5 до 8 часов. Выполнено 20 экспериментов на собаках. Для решения вопроса об обратимости развивающихся в процессе консервации структурных и метаболических изменений выполнялась 30-минутная экстракорпоральная перфузия (ЭКП) СЛП от собаки «промежуточного» хозяина. Комплексная оценка состояния физиологических и биохимических критериев перфузии позволяла дифференцировать адекватную и неадекватную консервацию [1]. В данной статье проанализированы лишь результаты адекватной перфузии, продолжительность которой составляла 7—8 часов. Ультроструктура миокарда желудочков и ферментативная активность (СДГ, НАД-, НАДФ-диафорозы, ЛДГ, ЦХО, АТФ-азы) исследовались через 2—3 часа после выделения препарата из организма и в последующем с часовым интервалом. Сопоставление электронномикроскопических и гистохимических картин в стенке правого и левого желудочков контрольной группы собак (5 наблюдений) позволяло при анализе выделять типичные изменения, связанные с консервацией, что имеет особо важное значение при интерпретации полученных результатов.

Адекватная перфузия длительностью 2—3 часа сопровождалась незначительным изменением ультроструктуры миоцитов. Большинство из них сохраняло свое обычное строение и не отличалось от субклеточной организации миоцитов контрольных животных. Саркоплазма просветлена преимущественно в участках миоцитов, прилежащих к капиллярам, каналцы Т-системы расширены. Митохондрии набухшие, матрикс их просветлен, межкristные пространства несколько расширены. Обращает на себя внимание уменьшение в мышечных клетках количества гранул гликогена. При гистохимическом изучении в стенке желудочков

трансплантата наблюдалось усиление активности СДГ, более резкое увеличение активности НАД-, НАДФ-диафоразы, ЦХО. Происходящее одновременно значительное усиление активности ЛДГ и АТФ-азы может свидетельствовать о выраженной активации гликогенолиза и высокой сократительной функции миокарда.

Таким образом, при адекватной перфузии в первые два часа происходило не только усиление тканевого дыхания, но и довольно резкое увеличение гликогенолиза в миоцитах, что морфологически выявлялось в исчезновении неравномерности распределения ферментов и появлении большого количества однородных зерен диформаза [5].



Рис. 1А. Ультраструктура миокарда правого желудочка через 6 часов аутоперфузии: инвагинация ядерной оболочки, агрегация хроматина. Скопления в околоядерной зоне лизосом (Л) и митохондрий. Я—ядро. $\times 20000$.

Через 4—6 часов адекватной перфузии в кариоплазме отмечалась агрегация хроматина, незначительное расширение перинуклеарного пространства, открытие ядерных пор (рис. 1а). В околоядерной зоне увеличивалось количество лизосом и митохондрий с включениями жира. Элементы саркоплазматического ретикулума незначительно расширены. Между миофибриллами на уровне Z-полосок были видны расширенные поперечные трубочки саркоплазматического ретикулума. В просвете трубочек наблюдались хлопьевидные, средней электронной плотности структуры. Набухание митохондрий сопровождалось уменьшением электронной плотности матрикса, дезорганизацией крист. В отдельных митохондриях наблюдалось расслоение наружных оболочек вплоть до разрушения. Капилляры спавшиеся, клетки эндотелия набухшие, в цитоплазме эндотелиальных клеток уменьшалось количество пиноцитоз-

ных пузырьков. Значительно выражен отек саркоплазмы, в которой уменьшалось число гранул гликогена и рибонуклеопротеидов, увеличилось число капель жира. Исчезновение гликогена из мышечных клеток, по-видимому, было связано с нарушением процессов аэробного окисления и усиления анаэробного гликолиза, происходящего без обратного ресинтеза гликогена. Эти данные подтверждаются проведенными параллельно гистохимическими исследованиями (очаговое снижение активности СДГ, НАД-, НАДФ-диафоразы и повышенная активность ЛДГ). Изучение спектра макроэргов в миокарде желудочков через 4—6 часов консервации при ЭКП указывает на обратимость ранних изменений в фонде аденозинфосфатов. В стенке левого желудочка концентрация АТФ увеличивалась на 33,4, АДФ—на 30,9%; в правом желудочке концентрация АТФ возрастала на 33,7, АДФ—на 31,9% по сравнению с их содержанием перед ЭКП. Возникающие изменения обусловлены увеличением фосфорилирующей активности митохондрий. Интересно отметить, что восстановление содержания макроэргов протекало параллельно процессам накопления гликогена. Через 30 мин. ЭКП содержание гликогена составляло в левом желудочке 115,2, в правом—101% от контроля.

При более длительной консервации (7—8 час.) изменения ультраструктуры усиливаются: их можно наблюдать в большем числе миоцитов, где они становились более выраженными.

Гиалоплазма разрежена, осмиофобна; встречается как внутриклеточный, так и межклеточный отек. Количество гранул уменьшается в отдельных митохондриях до полного исчезновения. Нарушается упорядоченное расположение канальцев, имеет место частичный распад мембран саркоплазматической системы. В сохранивших свою структуру трубочках и цистернах накапливалось гомогенное, средней электронной плотности вещество. Контуры капилляров извитые, наблюдались значительные вариации в толщине цитоплазмы эндотелиальных клеток. Набухание эндотелия приводило к уменьшению просвета капилляров. Обращает на себя внимание увеличение пиноцитозной активности эндотелия капилляров.

В этот период при функциональном исследовании трансплантатов наблюдается резкое снижение сократительной способности миокарда желудочков на 50—70% ($IS=300-400 \text{ с}^{-2}$), уменьшение сердечного выброса и ударного объема сердца в среднем на 70%, а совершаемую миокардом работу на 60—80% можно связать с повреждением саркомеров и митохондрий [2].

В области вставочных дисков отмечалось набухание, нарушение связей между отдельными мышечными клетками. Миофибриллы разобщены, миофиламенты частично гомогенизированы, правильность гексагонального расположения нарушена. Нередко можно было видеть так называемые зоны пересокращения, характеризующие состояние контрактуры и зоны внутриклеточного миоцитолита. В околоядерных зонах наблюдалось отсутствие цитогранул, но отмечалось скопление лизосом и

глыбок липофусцина. Митохондрии овальной или вытянутой формы— в различном состоянии. Большинство из них с плотным матриксом. Отмечалось беспорядочное расположение внутренних перегородок, которые подвергались частичному лизису, снижение электронной плотности матрикса и появление в нем небольших капелек жира. В части таких митохондрий расслоению подвергалась наружная мембрана. Встречались гигантские митохондрии с хорошо выраженной структурой, а также набухшие митохондрии с расширенными межкristными пространствами. Группы измененных митохондрий и элементов цитоплазматической сети в некоторых миоцитах заключены в оболочку, образуя очаги дегенерации (рис. 16).



Рис. 16. Ультраструктура миокарда правого желудочка через 7 час. аутоперфузии: очаг дегенерации (ОД), расширение саркоплазматического ретикулула (Ср), набухание митохондрий (Мх). Мф—миофибрилла. $\times 20000$.

Электронномикроскопические картины повреждения митохондрий согласуются с данными гистохимического исследования. Ферментативная активность митохондрий (окислительно-восстановительные реакции) резко падает. Отмечалось значительное уменьшение числа гранул формазана, диффузное прокрашивание цитоплазмы. При исследовании активности ЛДГ также наблюдалось появление обширных зон закраски саркоплазмы и выпадение гранулированного диформазана, что свидетельствует о снижении дегидрогеназной активности [3, 4]. Интенсивность реакции на АТФ-азу уменьшалась в сосудах крупного и среднего калибра, но сохранялась достаточно высокой в прекапиллярах и капиллярах.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в процессе биологи-

ческой консервации к 7-му часу развиваются необратимые деструктивные процессы, сопровождающиеся декомпенсацией внутриклеточных метаболических процессов, которые и определяют переход адекватной перфузии в неадекватную. Оптимальным сроком защиты «переживающего» трансплантата следует признать 4—6 час., поскольку наблюдаемые изменения ультраструктуры и активности окислительно-восстановительных ферментов носили обратимый характер (при ЭКП отмечалось восстановление содержания макроэргов). В то же время, полученные результаты о возможности перехода адекватной консервации в неадекватную заставляют с осторожностью подходить к рекомендациям, разрешающим пересадку трансплантата только потому, что он в состоянии сокращаться.

Донецкий медицинский институт,
ЦНИЛ Горьковского медицинского института

Поступила 23/1 1979 г.

Է. Ֆ. ԲԱՐԻՆՈՎ, Ե. Ն. ԿՈՒԼԱԳԻՆԱ

ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՊԱՀԱՇՈՏԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ ԴՈՆՈՐԱԿԱՆ ՍՐՏԻ
ԱՆԴՐԱԿԱՌՈՒՑՎԱՍՔԱՅԻՆ ԵՎ ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

«Կենդանի» փոխադրամասուկի պաշտպանության օպտիմալ ժամկետը պետք է համարել ինքնաներհեղուանցմանը համապատասխան 4—6 ժամ, քանի որ անդրկատուցվածքների և օքսիդացնող-վերականգնող ֆերմենտների նկատվող փոփոխությունները կրեցին դարձելի բնույթ:

E. F. Barinov, E. N. Koulagin

Ultrastructural and histochemical characteristics of the donor heart in biological conservation

S u m m a r y

The optimal term of the protection of the „surviving“ transplant is 4—6 hours adequate autoperfusion, since the observed changes of ultrastructure and activity of oxidation-reduction ferments had reversible character.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Баринов Э. Ф. Грудная хирургия, 1973, 4, 38—43.
2. Саркисов Д. С., Втюрина Е. В. Электронномикроскопический анализ повышения выносливости сердца. М., 1969.
3. Струков А. И., Пауков В. С. Архив патологии, 1969, 4, 3—15.
4. Черпаченко Н. М., Соколова Р. И. Архив патологии, 1970, 2, 23—30.
5. Шперлинг И. Д., Гусакова Н. Ф. Архив патологии, 1972, 10, 81—85.