

УДК 611.13/16

ГИСТОЛОГИЯ

А. М. Чилингарян, М. А. Чилингарян

# Безынъекционное выявление кровеносного микрососудистого русла сердца человека на толстых и ультратолстых срезах

(Представлено академиком АН Армянской ССР В. В. Фанарджяном 10/VII 1986)

Сложное строение и высокая плотность внутрисердечного микрососудистого русла (МСР) человека предъявляет специфические требования, которым не всегда соответствуют общепринятые инъекционные методы. Даже после удачной инъекции сосудов сердца, являющейся нелегкой задачей (<sup>1</sup>), МСР можно исследовать на срезах толщиной не более 80 мкм. На более толстых срезах, необходимых для пространственного изучения артериол и венул, всякое исследование становится невозможным вследствие наложения друг на друга окрашенных капиллярных сетей. Именно ограниченными возможностями инъекционных методов можно объяснить тот факт, что до сих пор строение МСР в разных отделах сердца остается далеко не выясненным вопросом (<sup>2</sup>). Этим и обуславливается наличие самых противоречивых данных и высказываний о строении венозных микрососудов сердца. Поэтому, чтобы получить определенные сведения о венозных сосудах, недавно прибегли к методу пластической реконструкции компонентов МСР (<sup>3</sup>). Вполне понятно, что в этих условиях получение надежной и адекватной информации об изменениях различных звеньев МСР при различных заболеваниях и патологических состояниях становится крайне трудным.

Дальнейший прогресс в этом направлении будет возможным только при наличии новых методов, отвечающих следующим требованиям:

1) Обеспечению на толстых срезах толщиной 50—100 мкм избирательного и контрастного выявления МСР с дифференцировкой артериального, венозного и капиллярного русел.

2) Выявлению артериальных и венозных микрососудов со своими разветвлениями на ультратолстых срезах 300 мкм и более с подавлением окраски капиллярного русла. Отсутствие методов со сходной характеристикой показывает, что их разработка на основе современного уровня микроскопической и ангиологической техники будет сталкиваться с непреодолимыми трудностями. Поэтому для решения этих вопросов мы прибегли к той теоретической и методической базе, которая нами создавалась за последние 20 лет в области изучения нервных и сосудистых структур. На основе этих исследований можно говорить о новом, гистоангиологическом, пути изучения МСР со своими специальными методами (<sup>4,5</sup>). Однако использование этих методов, разработанных для выявления внутриорганных МСР кошек,

не обеспечивало получение удовлетворительных результатов у человека. Успешное решение этого вопроса во многом зависело от создания условий для проведения исследований с учетом закономерности концентрационного взаимоотношения (<sup>6-8</sup>), позволяющей ввести целенаправленную и программную разработку новых методов. Эта цель была достигнута благодаря использованию аммиачных буферов высокой молярности (буферы эти впервые вводятся в микроскопическую и гистохимическую практику).

Исследования проводились на сердцах 9 людей в возрасте 50—75 лет с различной патологией, полученных на аутопсии в течение 6—24 ч после смерти. Кусочки различных отделов, охватывающих всю стенку сердца, от 3 до 24 ч фиксировались в 4%-ном формалине при 4°. Из них готовились замороженные срезы толщиной 50—100 и 300—600 мкм в зависимости от цели исследования. Иногда готовились срезы той же толщины из нефиксированных кусочков сердца. Толстые срезы от 6 до 24 ч инкубировались в смеси следующего состава: 1) 6 Н аммиачный буфер рН 10,8 и 11,2. 3—5 мл (для приготовления буфера с рН 10,8 берутся 6 Н аммиак 20 мл и 1 Н хлористый аммоний 6 мл; для буфера с рН 11,2—6 Н аммиак 20 мл и 1 Н хлористый аммоний 4 мл); 2) 0,1 М хлористый кальций 2—5 мл; 3) 0,5%-ный раствор АТФ («Реанал») 1—2 мл доводится водой до 10 мл.

Ультратолстые срезы (300—600 мкм) 2—4 ч инкубировались в другой смеси, состоящей из: 1) 6 Н аммиачный буфер рН 10,3 5 мл (для его приготовления берутся 6 Н аммиак 20 мл и 1 Н хлористый аммоний 20 мл); 2) 1 М хлористый кальций 0,5—2 мл; 3) 0,5%-ный раствор АТФ 1—2 мл доводится водой до 10 мл.

В обоих случаях последующая обработка с некоторыми изменениями сроков пребывания срезов в растворах уксуснокислого свинца, уксуснокислого аммония и сульфида натрия проводилась по основным методам (<sup>4,5</sup>).

На окрашенных таким путем толстых срезах выявляются капиллярное русло, фрагменты артериол и венул. Сосуды выявляются за счет отложения в стенке (в эндотелии) черного и коричневого осадка сульфида свинца. Но в артериальных сосудах осадок также откладывается в элементах гладкомышечных клеток (но не венозных сосудах). Поэтому без особого труда на препаратах легко дифференцировать артериальное русло от венозного. Хотя окраска стенки артериол при поздних сроках инкубации становится диффузной, тем не менее разные сосуды легко отличаются.

На препаратах хорошо видна высокая плотность капиллярной сети миокарда. И если в этих условиях окрашивание проводится на более толстых срезах, то микроскопическое исследование действительно станет невозможным вследствие наложения друг на друга окрашенных капиллярных сетей. Поэтому на ультратолстых срезах для предотвращения окраски капилляров, кроме изменения условий реакции, использовался факт неодинаковой скорости образования и растворимости осадка со стенок сосудов различных звеньев МСР сердца. Такой подход в конечном итоге обеспечил получение уникальных результатов, которые невозможны при помощи существующих

методов. На препаратах на бледноокрашенном фоне интенсивно и четко окрашиваются сосуды разных калибров со своими разветвлениями. Большая толщина срезов позволяет проследить сосуды на большом расстоянии, а различие в окраске—дифференцировать артериальные сосуды от венозных и наблюдать ветви их до-, пре- и посткапилляров (рис. 1). Поскольку подробная характеристика строс-



Рис. 1. Общая окраска артериальных (А) и венозных (В) микрососудов. Капиллярное русло не выявлено. Стенка артериальных сосудов окрашена интенсивнее венозных. Левый желудочек. Срез толщиной 500 мкм.  
Микрофото ув. 10

ния артериальных и венозных сосудов не входит в задачу настоящего исследования, мы ограничимся кратким их описанием с целью демонстрации возможностей разработанного метода. В различных отделах сердца артериальные сосуды отличаются относительно простым строением. Крупные артериальные стволы, давая порядковые ветви, в конечном итоге превращаются в прекапилляры.

Венозные сосуды характеризуются исключительно сложным строением, и расположение их редко совпадает с расположением артериальных сосудов. Диаметр крупных венул во много раз превышает диаметр крупных артериол. Стволы могут многократно суживаться и расширяться. Как показано на рис. 2, часто трудно установить порядковые ветви, поскольку крупные стволы могут вливаться в мелкие венулы, образованные из нескольких посткапилляров. Последние имеют различную длину и часто ампуловидно расширены. В стенках венул непостоянно окрашиваются мелкие отростчатые клетки, которые

пока не идентифицированы и выявляются только в венах сердца человека. Многие венулы по своему строению напоминают описанные после инъекции синусоиды (<sup>1</sup>). Однако подобное строение имеют далеко не все венулы. Часто особенно мелкие венулы со своими разветвлениями очень напоминают артериолы (рис. 2), поэтому отличить эти сосуды по морфологическому строению, особенно после инъекции

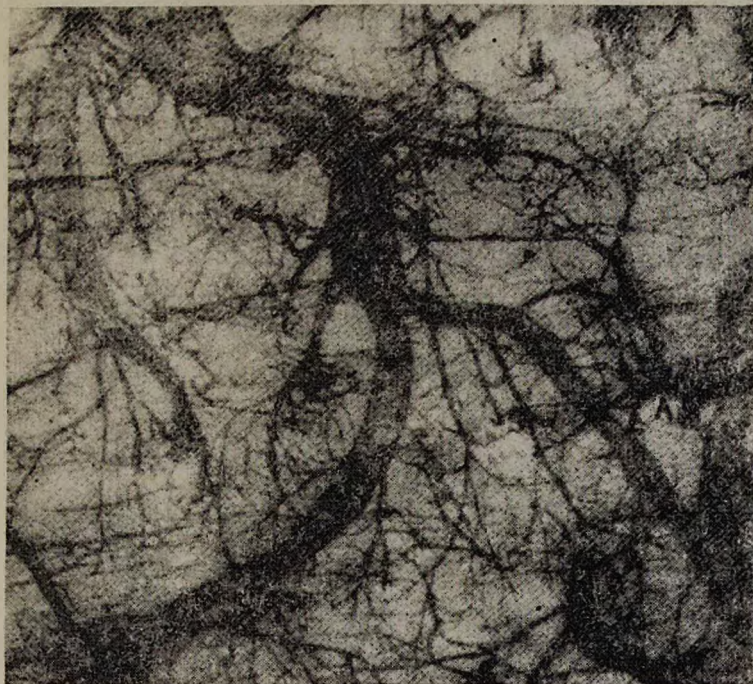


Рис. 2. Деталь рис. 1. Крупный венозный ствол (B), образованный из мелких венул разного калибра. Показано сходство строения ветвей артериальных (A) сосудов с венозными.

Микрофото ув. 24

тушью, практически невозможно. На препаратах иногда встречаются вено-венулярные анастомозы различного диаметра и длины.

Анализ данных, полученных на толстых и ультратолстых срезах, показывает, что МСР сердца человека является закрытой системой, т. е. во всех случаях артериолы превращаются в прекапилляры, а последние—в капилляры, из которых образуется венозное русло. На препаратах хорошо видны вход и выход артериальных и венозных сосудов из эпикарда и образование сосудистого русла. Однако сосуды, открывающиеся в межмышечные трабекулы, или сосуды, берущие свое начало из эндокарда, не наблюдались. Поэтому мы на основании полученных данных, отличающихся большой достоверностью, не можем констатировать наличие сосудов Вьессена—Тебезия, описанных многими авторами на основании косвенных данных, сосудов, которым приписывается важное функциональное значение. По данным ряда авторов, через эти сосуды оттекает от 25 до 40% общей крови, пропускаемой через сердце (<sup>2,10</sup>).

Полученные результаты и приведенные микрофотографии, как

нам кажется, позволяют утверждать, что основные задачи, которые ставились перед настоящим исследованием, в основном решить удалось. Они с очевидностью показывают фундаментальное значение закономерности концентрационного взаимоотношения в области целенаправленной и программной разработки новых морфологических и гистохимических методов исследования (<sup>7,8</sup>). Эксперименты, проведенные с учетом данной закономерности, показали, что описанные результаты можно получить при разных значениях pH (10—11,5) с использованием множества разнообразных инкубационных смесей, если составлена правильная программа. В этом аспекте предложенные инкубационные смеси являются условными.

На основании полученных данных можно полагать, что предложенные в настоящем сообщении методические приемы помогут внести определенную ясность в строение МСР сердца человека, а самое главное, исследовать наступающие в нем изменения при различных патологических состояниях.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели  
Академии наук Армянской ССР

## 2. Մ. ԶԻՐԻՆԳԱՐՅԱՆ, Մ. Հ. ԶԻՐԻՆԳԱՐՅԱՆ

Մարդու սրտի արյունատար միկրոցիրկուլյատոր հունի հայտնաբերումը ոչ ներառված միջոցով, հաստ և գերհաստ կտրվածքներում

Մարդու սրտից վերցրված և ֆորմալինով ֆիքսված կտրոններից սառեցման միջոցով պատրաստվել են հաստ (50—100 մկմ) և գերհաստ (300—600 մկմ) կտրվածքներ, Այդպիսի կտրվածքների վրա կատարվել են փորձեր ԱՆՖ մեթոդների օգնությամբ հայտնաբերելու ներսրտային միկրոցիրկուլյատոր հոնքը: Կատարված հետազոտությունների շնորհիվ մշակվել են միկրոցիրկուլյատոր հոնքի հայտնաբերման նոր եղանակներ: Հաստ կտրվածքների վրա կարելի է ընտրողաբար հայտնաբերել մազանոթային հոնքը, ինչպես նաև զարկերակների և երակների հատվածները: Գերհաստ կտրվածքներում շնորհիվ մազանոթային հոնքի ռեակցիայի ճնշմանը, առաջին անգամ հնարավորություն է ստեղծվել ընտրողաբար հայտնաբերելու զարկերակային և երակային անոթները իրենց ճյուղավորումներով:

## ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> Н. А. Джавахишвили, М. Э. Комахидзе, З. Г. Цагарели, Сосуды сердца в норме и эксперименте, Мецниереба, Тбилиси, 1982.
- <sup>2</sup> В. И. Козлов, И. И. Новиков, Я. Л. Караганов и др., Арх. анат., № 11 (1981).
- <sup>3</sup> Л. И. Габаин, Арх. анат., № 3 (1985).
- <sup>4</sup> А. М. Чилингарян, Журн. экспериментальной и клинической медицины, т. 17, № 5 (1977).
- <sup>5</sup> А. М. Чилингарян, ДАН АРМССР, т. 82, № 1 (1986).
- <sup>6</sup> А. М. Чилингарян, ДАН АрмССР, т. 40, № 2 (1965).
- <sup>7</sup> А. М. Чилингарян, Микроскопическое изучение кровеносных сосудов и нервной ткани, основанное на применении соединений свинца. Докт. дис. Л., 1968.
- <sup>8</sup> А. М. Чилингарян, в кн.: Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы, Изд-во АН АрмССР, Ереван, 1980.
- <sup>9</sup> С. В. Самойлова, Анатомия кровеносных сосудов сердца, Медицина, Л., 1970.
- <sup>10</sup> С. П. Ильинский, Сосуды Тебезия, Медицина, М., 1971.