

УДК 616—001.4+616—002.44

А. А. ХАНИН, К. С. АБРАМЯН, Д. В. МЕЛИК-ТАНГЯН

КИСЛАЯ И ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗЫ В СОСУДАХ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИХ, ДЛИТЕЛЬНО НЕ ЗАЖИВАЮЩИХ РАН И ЯЗВ

В работе представлены данные по изучению гистохимической активности и распределению кислой и щелочной фосфатаз в сосудах посттравматических, длительно не заживающих ран и язв. Обсуждается роль этих ферментов и лизосом в генезе сосудистой патологии при изъязвлении ран.

В длительно не заживающих ранах и язвах при затяжном течении воспалительных процессов в тканях возникает целый ряд изменений, среди которых особый интерес и значение приобретают поражения сосудов. Из небольшого числа описаний сосудистой патологии в районе «стационарных» язвенных процессов следует отметить работу С. С. Вайля [3]. Автор, обнаружив набухание и фибриноидный некроз стенок сосудов, облитерацию, васкулиты, счел возможным эти изменения сравнить по механизму происхождения с таковыми при ревматическом склерозе. Впоследствии сосудистому фактору в генезе процессов изъязвления ран уделялось внимание в работах ряда исследователей [5, 6, 13]. Были описаны гиалиновая дегенерация сосудов, накопление в их стенке кислых мукополисахаридов, отложения фибрина и явления эластоза [11, 37]. Учитывая эти сведения и характер предшествующих изъязвлению процессов, весьма привлекательной становится гипотеза С. С. Вайля [3] о гиперэргическом генезе поражения сосудов. В цепи доказательств этой гипотезы, на наш взгляд, важное значение имеет гистохимическая характеристика активности и локализации кислой и щелочной фосфатазы. Это объясняется тем, что кислая фосфатаза в настоящее время используется как своеобразный маркер лизосом [19, 22, 25, 31, 32], которым, помимо участия в процессах внутриклеточного пищеварения, фагоцитоза [2, 38, 39], отводится существенная роль в аутоиммунных процессах [10, 26, 29].

Не менее важная роль отводится щелочной фосфатазе. Она принимает участие в образовании фибриллярных белков и в переносе метаболитов через клеточные мембраны [24, 32]. В 1961 г. были опубликованы наблюдения, показывающие прямую связь между содержанием щелочной фосфатазы в эндотелии кровеносных сосудов и проницаемостью гематоэнцефалического барьера [36].

ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ
 (ФФН) 3 ИИИИ
 ВОЗЛЕДЬ ТЕМНОСФ

Материалом для настоящего исследования служили ткани радикально иссеченных при хирургическом вмешательстве посттравматических, длительно не заживающих ран и язв давностью от 8 месяцев до 27 лет. Материал фиксировался в холодном формалине в течение суток, срезы готовились на замораживающем микротоме. Кислая и щелочная фосфатазы определялись по методу Гомори с установленной 2-часовой инкубацией при общепринятых значениях pH. Контрольные срезы инкубировались в среде без β -глицерофосфата, а некоторые срезы до инкубации обрабатывались в течение 20 мин. раствором Люголя. Дополнительно проводилась подкраска препаратов гематоксилин-эозином. При просмотре препаратов мы сочли возможным выделить по интенсивности окраски кислой фосфатазы 3 состояния (низкое, среднее, высокое), а щелочной—2 состояния (низкое и высокое).

Результаты исследования показали следующее. Кислая фосфатаза в сосудах длительно не заживающих ран и язв выявляется диффузно в цитоплазме эндотелия, в межэндотелиальных пространствах, в слое гладкомышечных волокон и адвентиции. Помимо этого, фермент обнаруживается в гранулярных структурах, находящихся (при различных состояниях) в цитоплазме или вне клеток (рис. 1а, д, е, з). Размеры этих гранулярных структур колеблются в пределах 0,3—0,6 мк и соответствуют таковым у лизосом.

По локализации и активности кислой фосфатазы в капиллярах и венах можно выделить 6 типов. Первый—фермент в эндотелии не обнаруживается; второй—кислая фосфатаза слабой активности выявляется в цитоплазме эндотелия диффузно с наличием единичных гранул высокой и средней активности. Этот тип характерен также для эндотелия молодых почкующихся капилляров (рис. 1з). Третий тип—кислая фосфатаза средней активности выявляется диффузно в цитоплазме с наличием единичных гранул высокой активности. При четвертом типе распределения и активности фермента на этом же фоне гранулы отсутствуют. Пятый и шестой тип—фермент высокой активности диффузно распределяется в цитоплазме с наличием или отсутствием гранул высокой активности.

В мелких артериях и венах распределение и активность кислой фосфатазы имеет несколько иной характер, обусловленный наличием в них разных гистоструктур и функциональной неоднозначностью. В артериях отмечаются следующие типы: первый—в эндотелии кислая фосфатаза низкой активности выявляется диффузно с наличием единичных гранул низкой и средней активности. В гладкомышечном слое и адвентиции фермент средней активности диффузно распределен с наличием единичных гранул средней и высокой активности в цитоплазме клеточных элементов. Второй тип—аналогичная картина, но в эндотелии диффузно распределенный фермент средней активности. Третий тип—кислая фосфатаза высокой активности обнаруживается только в эндотелии с диффузным распределением в цитоплазме. Четвертый тип—фермент средней активности диффузно распределен в эндотелии и низ-

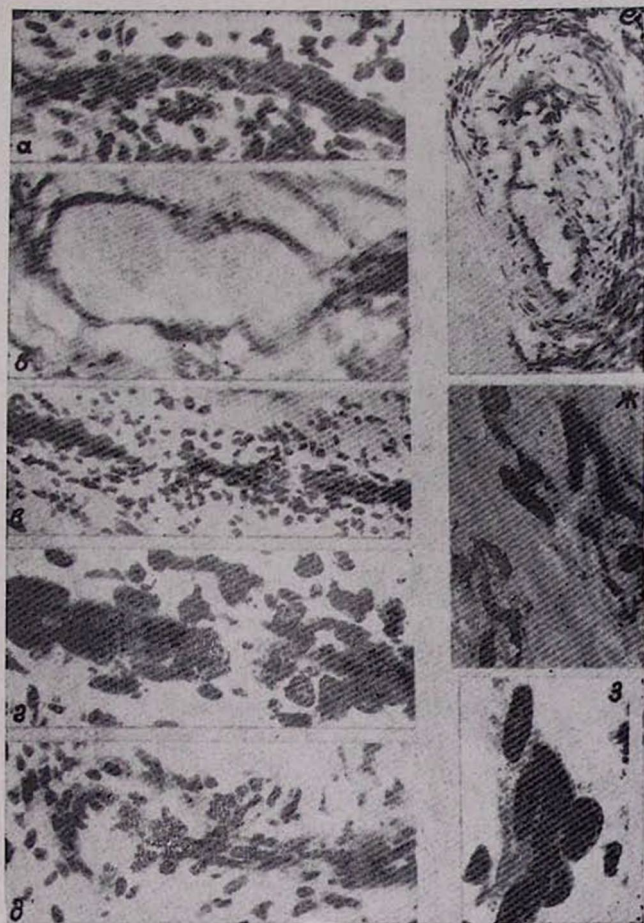


Рис. 1. Распределение и активность кислой и щелочной фосфатаз в сосудах посттравматических, длительно не заживающих ран и язв. Увеличение: а, д—об. 40, Гамаль 3; б—об. 40, Гамаль 1,7; в—об. 20, Гамаль 3; г, з—об. 90, Гамаль 3; е, ж—об. 20, Гамаль 1,7.

кой активности в остальных слоях, гранулы отсутствуют. Этот тип характерен и для вен. Помимо этого, в венах отмечаются еще два типа локализации и активности кислой фосфатазы. Первый тип—диффузно выявляемая кислая фосфатаза низкой активности локализуется в эндотелии и мышечном слое и отсутствует в адвентиции. Единичные гранулы высокой активности обнаруживаются только в гладкомышечных клетках. Второй тип—диффузное распределение фермента средней активности наблюдается в цитоплазме эндотелия и слабой активности—в адвентиции; гранулы отсутствуют (рис. 1 е).

Описанные выше типы распределения и активности кислой фосфатазы, наблюдаемые в различных участках исследуемой ткани, не носят однозначного характера и представляют собой наиболее общее морфологическое выражение (нередко даже в одном сосуде чередуются участки с различными типами распределения и активности).

Наряду с этим, при изучении кислой фосфатазы нами отмечены, независимо от давности раневого процесса и гистоархитектоники ткани, различные патологические изменения стенок сосудов. Эти изменения могли иметь место в пределах одного сосуда, на отдельных его участках и в разных стадиях могли встречаться во многих сосудах. Анализ их позволил выявить не только характер изменения, но и проследить его в динамике. В первую очередь следует выделить те участки сосудов, в которых не обнаруживаются контуры эндотелия, ядра выглядят «голыми», большей частью гиперхромные с узурированными краями и фрагментирующиеся (рис. 1 а, д). В этих участках кислая фосфатаза слабой активности выявляется диффузно с наличием гранул средней и высокой активности. Эти места носят характер вздутий, наблюдаемых по ходу сосуда (рис. 1 б). Очевидно, следующей стадией деградации сосудистой стенки является повышение на этом фоне активности (до средней) диффузно распределенного фермента, которое сочетается с полным исчезновением описанных выше измененных ядер (рис. 1 а, г, д). И, наконец, местами, наряду с отсутствием структурности сосудистой стенки или же ее части, отмечается исчезновение кислой фосфатазы (рис. 1 а, г, д). Очевидно, эта стадия образования «прорех» может иметь самостоятельное значение в сосудистой патологии.

При оценке активности и распределения кислой фосфатазы в сосудах различных участков тканей язвы и прилегающей измененной кожи мы обнаружили существенные различия, обусловленные, по всей вероятности, характером морфологической деградации, химизмом, глубиной нарушения обменных процессов и наличием иммунного фона (наличие иммуннобластов, плазмочитарная и лимфоидная инфильтрация). Так, в сосочковом слое кожи и ее глубже лежащих слоях преобладает 2- и 3-й тип, а в непосредственной близости к ране—5- и 6-й тип распределения и активности кислой фосфатазы. Одновременно здесь же отмечается увеличение количества сосудов с различными стадиями разрушения и «прорехами». В ряде случаев в местах «прорех» отмечаются тромботические массы. В патологических грануляциях, которые зачастую представлены весьма незначительным слоем, эти явления носят бо-

лее выраженный характер. Здесь преобладает 3-, 5- и 6-й тип распределения и активности фермента. Это же относится к подлежащей зоне тотального фиброза и гиалиноза.

Щелочная фосфатаза в сосудах выявляется диффузно. В отличие от кислой фосфатазы мы не обнаружили в ней гранулярных структур. Для капилляров характерно преобладание высокой активности фермента, однако в тканях самой язвы таких капилляров значительно больше. В некоторых сосудах чередуются участки с высокой и низкой активностью (рис. 1 ж). Нередки случаи, когда в отдельных участках сосуда щелочная фосфатаза не обнаруживается. В препаратах с подкраской гематоксилин-эозином в них отсутствует структурность. Эти участки соответствуют «прорехам», обнаруженным и при изучении кислой фосфатазы.

Таким образом, анализ характера распределения и активности кислой и щелочной фосфатаз в сосудах длительно не заживающих ран и язв указывает на наличие глубоких изменений, играющих не последнюю роль в патогенезе этой патологии. В частности, наличие высокой активности щелочной фосфатазы в сосудах тканей язвы и прилегающей измененной кожи указывает на напряженность воспалительного процесса. Рядом авторов это показано при развитии грануляционной ткани и опухолевого роста, при инфарктах миокарда [1, 27, 30]. При оптимальном течении раневого процесса по мере созревания грануляционной ткани и стабилизации матрикса активность щелочной фосфатазы снижается, а в рубцах она практически отсутствует [27, 30]. Вместе с тем нами обнаружена высокая активность фермента в сосудах зоны фиброза и гиалиноза кожи и язвы (рис. 1 ж). По-видимому, активность щелочной фосфатазы в сосудах зависит от степени деструкции ткани и характера протекающих в ней патологических процессов. Так, в очагах склероза и гиалиноза клубочков при хроническом гломерулонефрите активность щелочной фосфатазы была значительно снижена или отсутствовала [1]. Не исключается связь высокой активности фермента с процессами инфицирования и иммуногенеза [14, 15, 18], а обнаруженная в 1966 г. прямая связь между содержанием щелочной фосфатазы в эндотелии кровеносных сосудов и проницаемостью гематоэнцефалического барьера [36] имеет, очевидно, более широкий диапазон значений. Это подтверждается, в частности, наличием повышенной проницаемости сосудов язвы [9]. С другой стороны, наблюдаемая нами в ряде сосудов пестрота активности фермента в сочетании с его отсутствием и деструкцией стенки, является в целом отражением глубоких тканевых изменений.

В отношении кислой фосфатазы в сосудах длительно не заживающих ран и язв нам не удалось найти специальных гистохимических исследований. Наши предыдущие данные, а также данные ряда авторов [17, 21, 37] показали, что в сосудах кожи кислая фосфатаза в норме не обнаруживается. При регенерации кожи в эксперименте установлено значительное повышение активности

фермента и его ослабевание при дифференцировке регенерационной бластомы [7, 12, 16, 17]. В сосудах длительно не заживающих ран и язв отмечается наличие кислой фосфатазы различной активности в диффузном распределении и в виде гранул независимо от сроков течения процесса. Вероятно, выявляемые по наличию кислой фосфатазы мелкие гранулы, размером 0,3—0,6 мк, локализующиеся в цитоплазме и при гибели клетки вне ее, являются лизосомами (первичными и вторичными). Кислая фосфатаза в лизосомах эндотелия и адвентициальных клеток в последнее время была обнаружена в аорте и поллой вене [40], в лизосомах дегенерирующего эндотелия капилляров кожного гомотрансплантата [44]. По всей вероятности, диффузное распределение фермента большей или меньшей активности в цитоплазме происходит при выходе его из лизосом вследствие лабильности их мембран. Проникновение лизосомных гидролаз в ядро вызывает высвобождение ДНК [34], которая может быть причиной образования антинуклеарных антител. На этом фоне происходит аутолиз клеток эндотелия. При этом часть лизосом, обнаруживаемых в виде гранул высокой и средней активности, оказывается в межклеточном субстрате сосудов. В свою очередь, при разрушении их в этих условиях происходит диффузия фермента и аутолиз «голых» ядер и их остатков, а также межклеточного субстрата, что в конечном итоге приводит к самоперевариванию стенки сосуда. Все эти явления имели место как в тканях самой язвы, так и в окружающей коже. Число пораженных таким образом сосудов довольно велико. Этот процесс характерен и для мелких артерий и вен мышечного типа. При этом зачастую поражается мышечный слой (рис. 1е), что вызывает атонию сосуда. Природа изложенных явлений еще не выяснена. Однако известно, что причиной увеличения проницаемости лизосомных мембран могут быть продукты жизнедеятельности микробов [28, 43], дефицит белка [33], гипоксия [20, 23, 41]— факторы, имеющие в той или иной мере место при разбираемом раневом процессе [4, 8]. В наших исследованиях, проведенных методом полярографического определения pO_2 , установлен острый дефицит кислорода ($26,7 \text{ мка} \pm 0,28$ в контроле и $18,2 \text{ мка} \pm 2,9$ в язве. $P > 0,01 < 0,002$). При применении в практике лечения посттравматических, длительно не заживающих ран и язв ультрафиолетового облучения, провоцирующего лабильность лизосом [42], происходит резкое обострение процесса с явлениями аллергического высыпания и значительного увеличения раневого отделяемого.

Мы считаем возможным квалифицировать описанные сосудистые поражения как проявление васкулярной реакции на фоне длительной сенсibilизации дезинтегрированным раневым субстратом.

Таким образом, полученные нами данные по распределению и активности кислой и щелочной фосфатаз иллюстрируют роль этих ферментов в генезе сосудистой патологии при изъязвлении посттравматических ран кожи.

26. *De Weck A. S.* Therap. Umschau, 1969, 26, 12, 673.
27. *French J. E., Beënditt E. D.* Arch. Path., 1954, 57, 352.
28. *Hirsch J. S.* Nouvelle rev. franc. hématol., 1956, 5, 4, 553.
29. *Hartmann F.* Klin. Wochenschr., 1969, 47, 11, 568.
30. *Kopf A.* Arch. Dermatol., 1957, 75, 1, 1.
31. *Maggi V., Carbonell A. W.* Histochem. J., 1969, 1, 5, 383.
32. *Moog E.* Biol. Revs., 1946, 21, 41.
33. *Poche R.* Zbl. allg. Path., path. Anat., 1957, 96, 395.
34. *Rita G. A., Baccino F. M.* Boll. Soc. ital. biol. sper., 1970, 46, 7, 337.
35. *Samorajski T., McCloud O.* Lab. Invest., 1961, 10, 492.
36. *Sanohyl J.* Acta chir. plast., 1968, 10, 1, 51.
37. *Spier H. W., Martin K.* Arch. Klin. exp. Dermatol., 1956, 202, 2, 210.
38. *Strauss W.* Enzyme Cytology. London, 1967, 239.
39. *Strauss W. J.* Cell. Biol., 1964, 20, 295.
40. *Ts'ao C. H.* Arch. Path., 1970, 89, June, 500.
41. *Verity M. A.* Calif. Med., 1965, 103, 4, 267.
42. *Welssman G.* Lancet, 1964, 2, 1373.
43. *Welssman G., Becker B., Wiederman G. W.* Am. J. Path., 1965, 46, 129.
44. *Wiener J., Latter R. G., Pearl J. S.* Am. J. Path., 1969, 55, 3, 295.