

Морфология рыхлой соединительной ткани при экспериментальном краш-синдроме

А.В. Азнаурян, Дж.А. Саркисян, А.С. Азнаурян, А.З. Азнаурян

Кафедры гистологии и патологической анатомии ЕрГМУ им. М. Гераци

375025, Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: синдром длительного раздавливания, строма, клетка, волокна, микроциркуляторное русло

Синдром длительного раздавливания (СДР), синдром длительного сдавления, краш-синдром (КС) – это далеко не полный перечень терминов, применяемых для названия тяжелой патологии, возникающей при различных катаклизмах и несчастных случаях – землетрясениях, войнах, террористических актах. Вероятность стихийных бедствий и катастроф по-прежнему сохраняется на высоком уровне, и поэтому проблема изучения КС не только не потеряла своей актуальности, но в последние годы выдвигается в число приоритетных в связи с высокой сейсмической активностью на Земле и повышением роли антропогенных факторов. Разрушительное Спитакское землетрясение 1988 года, повлекшее за собой многочисленные человеческие жертвы, сделало эту проблему особенно актуальной для Республики Армения, в связи с чем изучение механизмов, клеточных ультраструктурных основ поражения внутренних органов при КС является сегодня одной из наиболее важных задач теоретической и практической медицины Армении.

СДР – сложный симптомокомплекс, развивающийся после возобновления кровотока в поврежденных тканях, характеризуется вовлечением в патологический процесс многих органов и систем организма, механической травмой, интоксикацией, острой почечной, печеночной и сердечной недостаточностью [5].

За последние годы выполнен ряд важнейших экспериментальных исследований на моделях, имитирующих СДР. Исследованы и описаны гистологические и ультраструктурные изменения в сердце, почках, печени, легких, а также в поврежденных скелетных мышцах при экспериментальном СДР [2]. Несмотря на достигнутые успехи в изучении структурных и ультраструктурных изменений жизненно важных органов в ранние сроки СДР, в литературе отсутствуют данные, посвященные изучению изменения рыхлой соединительной ткани в различных органах при экспериментальном СДР. При этом важное значение имеет структурно-функциональное состояние тех клеточных структур соединительной ткани, которые

являются источником синтеза многих биологически активных веществ, использующихся при образовании основного вещества и волокнистых структур рыхлой соединительной ткани. Вместе с тем деполимеризация отмеченных структур, которая наблюдается при различных патологических состояниях (инфекции, стресс, гипоксия и др.), способствует развитию органо-патологии и иммунопатологии.

Исходя из вышеизложенного целью настоящего исследования является комплексное гистологическое, гистохимическое, электронно-микроскопическое исследование рыхлой соединительной ткани в динамике до одного месяца после декомпрессии при экспериментальном СДР.

Материал и методы

Объектом исследования послужили белые беспородные крысы-самцы массой 130–150 г. Животные были подвергнуты экспериментальному СДР, который воспроизводили на специальной установке в виде локальной компрессии силой одной тазовой конечности [1]. Длительность экспозиции составляла 1 час. Для всех серий опытов материал брался после одномоментной декапитации животных. Для морфологического исследования были приготовлены пленчатые препараты из подкожной рыхлой соединительной ткани по методу Ясвоина. Были взяты также кусочки органов: печени, легкого, сердца, почек, селезенки и лимфатических узлов. Образцы ткани, а также пленчатые препараты брали на 1, 7, 30-е дни после декомпрессии.

Препараты окрашивались гистологическими, гистохимическими методами.

Часть материала была подвергнута электронно-микроскопическому и биофизическому исследованию в те же сроки после одночасовой экспозиции на установке.

Были произведены измерения вязкоупругости

свойств волокнистых структур рыхлой соединительной ткани при экспериментальном СДР. Для характеристики вязкоупругих свойств волокнистых структур использовались величины — модуль Юнга (модуль одноосного сжатия) и логарифмический декремент затухания, характеризующий внутреннее трение молекул.

Результаты и обсуждение

Фибробласты. В результате исследований у интактных крыс в подкожной рыхлой соединительной ткани на светооптическом уровне при окраске пленчатых препаратов гематоксилин-эозином выявляется большое количество клеточных элементов, среди которых преобладают фибробласты. Выявляются фибробласты с множеством отростков со светлым ядром, овальной формы. Контур ядра ровные. Выявляются также малоотростчатые юные фибробласты, веретеновидной или звездчатой формы, ядра которых светлые, овальной формы, занимают большую часть клеток, содержат несколько ядрышек. Цитоплазма юных фибробластов резко базофильная. Наблюдаются фиброциты с крыловидными отростками, ядра занимают большую часть объема цитоплазмы. Объем цитоплазмы значительно меньше, чем в зрелых фибробластах. Среди разных форм фибробластов в поле зрения значительную часть клеток составляют зрелые, активно функционирующие фибробласты.

На 1-е сутки после индуцированного КС у подопытных животных в подкожной рыхлой соединительной ткани отмечаются изменения конфигурации фибробластов, при этом контуры клеток более извилистые, четко выражаются набухшие отростки клеток, вследствие чего фибробласты хорошо выявлялись. Цитоплазма клеток наиболее базофильна, выглядит пенистой, от нее отделяются мелкие фрагменты (лаброцитоз). Ядро клеток несколько увеличено, контуры ядра неровные. Выявляются также юные фибробласты с двумя или тремя отростками. Ядра юных фибробластов светлые, овальной формы.

На 7-е сутки после декомпрессии в подкожной рыхлой соединительной ткани подопытных животных выявляется резкий полиморфизм фибробластов. Выявляются крупные и мелкие клетки, а также гипертрофированные фибробласты (рис.1). Контуры клеток и их ядра неровные, цитоплазма клеток менее базофильна. Преобладают молодые формы фибробластов [4].

На 30-е сутки после экспериментального КС у подопытных животных в пленчатых препаратах подкожной рыхлой соединительной ткани выявляются фибробласты, морфологически сходные с фибробластами подкожной рыхлой соединительной ткани интактных животных. Отмечается также наличие гипертрофированных фибробластов.

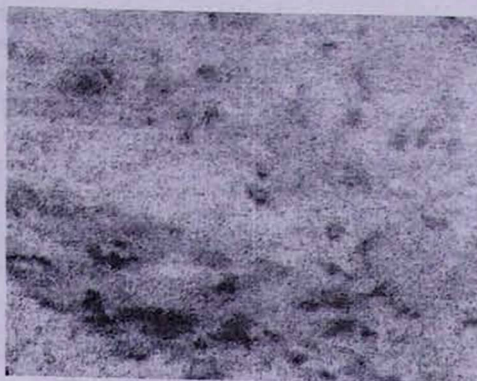


Рис. 1. Гипертрофированные фибробласты в подкожной рыхлой соединительной ткани (7-е сутки после декомпрессии); окраска гематоксилин-эозином, х 400

Тучные клетки. В подкожной рыхлой соединительной ткани интактных животных выявляются тучные клетки крупных размеров с короткими чуть широкими отростками. Лаброциты равномерно расположены между другими клеточными элементами, насыщены гранулами, равных размеров, которые β-метахроматичны при окраске толлуидиновым синим, пиронинофильны при окраске по Браше. Тучные клетки постоянно встречаются вблизи кровеносных сосудов. Выявляются также тучные клетки, расположенные цепочками (5–10 клеток) с наименьшим расстоянием между ними [3].

На 1-е сутки после декомпрессии у подопытных крыс в пленчатых препаратах из подкожной рыхлой соединительной ткани выявляется активная дегрануляция тучных клеток. Часто встречаются глыбчатые формы тучных клеток. Выявляется дегрануляция с выбросом одиночных гранул, затем в поле зрения встречались также активно дегранулированные клетки до полного ее распада (рис.2). Сохранившиеся лаброциты выглядят рыхлыми, интенсивность окраски снижена. Выявляются массивные участки сплошь усеянные метахроматическими гранулами. Морфометрические исследования свидетельствуют, что уже на данном сроке эксперимента выявляется уменьшение количества тучных клеток по сравнению с количеством тучных клеток у интактных животных, а также снижается диаметр клеток.

На 7-е сутки после экспериментального КС вновь наблюдается активная дегрануляция. Встречаются также “беззернистые” клетки с мелкой зернистостью, интенсивность окраски снижена. Подавление количества лаброцитов выявляется и на 7-е сутки после декомпрессии. Выявляются молодые тучные клетки более малых размеров с четкими контурами и с множеством ортохроматических гранул в цитоплазме. Такие клетки расположены периваскулярно.

Количество тучных клеток в подкожной рыхлой соединительной ткани на 30-е сутки эксперимента приближается к количеству тучных клеток в подкожной рыхлой соединительной ткани интактных крыс. Выявляются дегранулированные лаброциты, ядра которых не различимы.



Рис. 2. Подкожная рыхлая соединительная ткань. Активная дегрануляция тучных клеток на 1-е сутки после декомпрессии; окраска толлуидиновым синим, х 400

Макрофаги. При введении туши в пленчатых препаратах подопытных животных выявляются макрофаги крупных размеров с множеством отростков, с одним ядром. Гистиоциты расположены небольшими группами или поодиночке. Ядра макрофагов небольшого размера, округлые, реже бобовидные. Цитоплазма клеток базофильная [7].

Плазматические клетки. Морфометрические исследования показали, что на 1-е сутки после декомпрессии в пленчатых препаратах подопытных животных определяется угнетение синтеза РНК в клетках плазматического ряда по сравнению с контрольной группой животных, что определялось при цитофотографии.

На 7-е сутки после декомпрессии основную массу антителообразующих клеток составляют плазматические клетки. Зрелые плазмциты характеризуются низкой интенсивностью окраски ядер, цитоплазма менее базофильна. Большинство плазмцитов гипертрофированные [9]. В пленчатых препаратах подкожной рыхлой соединительной ткани отмечается угнетение синтеза РНК в клетках плазматического ряда по сравнению с контрольной группой животных.

Исследование межклеточного вещества рыхлой соединительной ткани на светооптическом уровне показало, что при окраске контрольных препаратов гематоксилин-пикрофуксином по Ван-Гизону выявляются коллагеновые волокна в виде волнообразно изогнутых, лентовидных тяжей, расположенных мощными пучками (рис.3) [10].

На 1-е сутки после декомпрессии в пленчатых препаратах подопытных животных выявляется набухание, гомогенизация, а также резорбция коллагеновых волокон. При этом выявляется переход структурированного белка в подвижную и легко резорбирующуюся жидкость, что выявляется при окраске препаратов



Рис. 3. Волнообразно изогнутые лентовидные тяжи коллагеновых волокон в подкожной рыхлой соединительной ткани у контрольных животных; окраска по Ван-Гизону, х 400

по Ван-Гизону. Указанные изменения персистируют на 7-е сутки после экспериментального КС, а на 30-е сутки наблюдается частичное восстановление данных структур.

В подкожной рыхлой соединительной ткани интактных животных хорошо выражены эластические волокна при окраске пленчатых препаратов орсеином. Густо расположенные и идущие в различных направлениях, они представлены большей частью тонкими волокнами, анастомозирующими друг с другом и образующими широкопетлистую сеть.

Через сутки после декомпрессии при окраске по Массону выявляется выпрямление эластических волокон и распад их на фрагменты (рис.4). Выявляются эластические волокна в виде коротких обрывов и фрагментов. Определялись также эластические волокна в виде спиралевидных нитей, зерен, глыбок, волоконцев. На 7-е сутки выявляется зернистая фрагментация эластических волокон. По ходу эластических волокон определяются спирали, завитки, клубочки.

На 30-е сутки наблюдается частичное восстановление данных структур.

При биофизическом исследовании волокнистых образований было установлено, что на 7-е сутки после декомпрессии у подопытных животных в пленчатых препаратах выявляется повышение модуля одноосного сжатия волокнистых образований и снижение логарифмического декремента затухания, что свидетельствует о механическом нарушении волокнистых образований. Через месяц после декомпрессии определялось

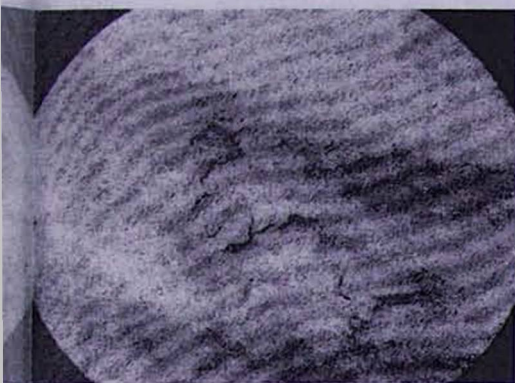


Рис. 4. Распад эластических волокон на фрагменты в под-
кожной рыхлой соединительной ткани на 1-е сутки после
декомпрессии; окраска по Массону, х 630

значительное восстановление модуля Юнга и логариф-
мического декремента затухания.

Полученные данные свидетельствуют об измене-
ниях структурной организации волокнистых образо-
ваний рыхлой соединительной ткани при экспери-
ментальном СДР.

В проведенных нами исследованиях микроцирку-
ляторного русла рыхлой соединительной ткани при
экспериментальном СДР в пленчатых препаратах
подкожной рыхлой соединительной ткани подопыт-
ных животных уже через сутки после декомпрессии
выявлялись структурно-функциональные изменения,
которые выражались в виде нарушения непрерывно-
сти капиллярной сети, а также в интенсивности окра-
шивания, и некоторые морфометрические изменения
(рис. 5).

На 1-е сутки после декомпрессии увеличение диа-
метра составляло 50%. В отличие от этого плотность
капилляров увеличивалась незначительно (на 11%).
За счет увеличения среднего диаметра капилляров
отмечалось увеличение объемной поверхности капи-
лляров и их емкости соответственно на 65,8 и
160%.

На 7-е сутки после декомпрессии подкожной рых-
лой соединительной ткани подопытных животных
выявляются единичные мелкие капилляры, которые
не имеют анастомозов с окружающей капиллярной
сетью. Стенки капилляров окрашиваются более ин-
тенсивно. Наблюдалось также увеличение как объем-
ной поверхности капилляров (на 10,9%), так и емко-
сти капиллярного русла (на 34%). Увеличивается
диаметр и общая длина капиллярного русла.

На 30-е сутки после экспериментального КС в
подкожной рыхлой соединительной ткани подопыт-
ных крыс выявлялась почти непрерывная капилляр-
ная сеть, контуры всех капилляров ровные. Морфо-
метрические данные приближаются к результатам,
полученным от интактных животных [8].



Рис. 5. Нарушение непрерывности капиллярной сети под-
кожной рыхлой соединительной ткани на 1-е сутки после
декомпрессии; окраска по методу Чилингаряна, х 400

Исследования стромы внутренних органов пока-
зали, что через сутки после индуцированного КС у
подопытных крыс в строме сердца выражено набуха-
ние коллагеновых волокон со сглаживанием фибрил-
лярности и гомогенизацией отдельных пучков. В
миокарде выявляется расплавление соединительной
ткани и превращение ее в аморфное, пестро окрашен-
ное, выделяющееся на фоне мышечных волокон ве-
щество. Выявляется фрагментация ретикулярных
волокон.

На 7-е сутки после экспериментального СДР у
подопытных животных в строме сердца замечается
утолщение коллагеновых волокон в эндо- и эпикар-
де. Отмечается набухание коллагеновых волокон с
ослаблением тинкториальных свойств. Отмечалась
гомогенизация коллагеновых волокон с потерей спо-
собности воспринимать фуксин. При импрегнации
препаратов по методу Гомори выявляется очаговая
фрагментация и распад нежных ретикулиновых во-
локон.

Аналогичные картины в динамике после раздав-
ливания наблюдаются в строме легких, что проявля-
ется в виде выпрямления эластических волокон, рас-
пада последних, набухания и гомогенизацией колла-
геновых волокон. На 1-е и 7-е сутки выявляются
разорванные межальвеолярные перегородки [2], сни-
жение численности макрофагов в легких. В строме
почки определяются указанные изменения, однако в
капсуле они распознаются с меньшей отчетливостью
[6].

В стенках желчных протоков наблюдаются набу-
хание, гомогенизация, распад коллагеновых волокон.
Эластические волокна в стенках сосудов при окраске
орсеином не выявлялись. В печени отмечается незна-
чительное увеличение количества макрофагов на 1-е
и 7-е сутки у подопытных животных, на 30-е сутки
наблюдается снижение численности макрофагов.

В селезенке через сутки, а также через 7 дней и

месяц наблюдается резкое уменьшение количества активных макрофагов по сравнению с макрофагами контрольной группы.

Гистохимические исследования показали, что отмечается подавление активности кислой фосфатазы в селезенке и печени по сравнению с контрольной группой [11]. Слабая активность проявляется бледной окраской цитоплазмы макрофагов и их гранул, ориентированных по внутреннему периметру клеточных мембран, а также в полученных морфометрических данных. Отмечается подавление активности катионных белков в лейкоцитах периферической крови на 1-е сутки после декомпрессии.

На 30-е сутки после декомпрессии у подопытных крыс в строме внутренних органов выявляется разрастание соединительной ткани и частичное восстановление.

Таким образом, изучение функциональной морфологии рыхлой соединительной ткани, ее гистологических и ультраструктурных изменений в динамике (1,7 и 30-е дни) при экспериментальном КС показало, что

компоненты рыхлой соединительной ткани в организме подопытных животных активно реагируют на 1-часовую компрессию задней конечности. Реакция рыхлой соединительной ткани выявляется уже в 1-е сутки после декомпрессии и выражается в морфологической деструкции соединительной ткани, в химической декомпозиции составляющих компонентов и в изменениях структурной организации волокнистых образований. Значительным морфологическим изменением подвергается также микроциркуляторное русло рыхлой соединительной ткани. Наиболее важным являются изменения стромы исследуемых органов при экспериментальном СДР. При этом соединительная ткань сердца и легких проявляет наиболее высокую чувствительность по сравнению с соединительной тканью печени и почек, что связано с особенностью строения соединительной ткани в различных органах. Значительным изменениям подвергаются органы иммунной системы, так как нарушаются сосудистотканевые взаимоотношения в указанных органах и соответственно угнетение их функций.

Поступила 01.11.05

Փոխար շարակցական հյուսվածքի ձեւաբանությունը փորձարարական կրաշ-համախտանիշի ժամանակ

Ա.Վ. Ազնաուրյան, Ջու.Ա. Մարգարյան, Ա.Ս. Ազնաուրյան, Ա.Զ. Ազնաուրյան

Աշխատանքում ուսումնասիրվել են փոխար շարակցական հյուսվածքի հյուսվածքաբանական, հիստոքիմիական, մորֆոմետրիկ փոփոխությունները փորձարարական կրաշ-համախտանիշի տարբեր ժամանակներում:

Փորձից հետո I և VII օրերին փորձարարական կենդանիների երիկամների, թոքերի, լյարդի հենքային հյուսվածքում հայտնաբերվել են փոխար շարակցական հյուսվածքի բջիջների և միջբջջային նյութի ձեւաբանաֆունկցիոնալ փոփոխություններ, որոնք դրսևորվում են ֆիբրոբլաստների ձեւաբանական,

պարարտ բջիջների քանակական տեղաշարժերի ու ապահատիկավորման, մակրոֆագերի հյուսվածքաբանական և հիստոքիմիական փոփոխությունների պլազմացիտար շարքի բջիջներում Ռ-ՆԹ-ի սինթեզի ընկճման ձեւով, ինչպես նաև կոլագենային, էլաստինային և ռետիկուլյար բեւերի քայքայումով:

Որոշակի կառուցվածքաֆունկցիոնալ փոփոխություններ են հայտնաբերվել նաև ենթամաշկային փոխար շարակցական հյուսվածքի միկրոցիրկուլյատոր հումում: Փորձի 30-րդ օրը հայտնաբերվել է բջիջների և միջբջջային նյութի ոչ լրիվ վերականգնում

The morphology of loose connective tissue at experimental crush syndrome

A.V. Aznauryan, J.A. Sarkisyan, A.S. Aznauryan, A.Z. Aznauryan

The histological, histochemical, morphometric peculiarities of loose connective tissue were studied at different stages of experimental crush-syndrome.

On the 1st and 7th days after the experiment we revealed morphofunctional changes of loose connective tissue cells and extracellular substance in the subcutaneous

loose connective tissue, stromal tissues of heart, kidneys, lungs and liver of the experimental animals. These changes were expressed by structural changes of fibroblasts, quantitative changes and degranulation of macrophages, histological and histochemical changes of macrophages, inhibition of the RNA synthesis in plasmoblast

and lymphoblasts, and destruction of collagen, elastic, reticular fibers.

Some structural-functional changes of the microcirculatory bed of subcutaneous loose connective tissue were

revealed in conditions of crush-syndrome. Partial restoration of loose connective tissue components was revealed on the 30th day of the experiment.

Литература

1. Абгарян Г.А., Зильфян А.В., Оганесян О.В. Установка для воспроизведения и изучения в эксперименте патогенеза и терапии синдрома длительного раздавливания. Рац. предложение, выданное ЕрГМУ, N158, 1990, с. 60.
2. Азнаурян А.В., Саакян К.Т. Морфофункциональная характеристика легких при синдроме длительного раздавливания. Рос. Морф. вед. 2001, 1-2, с.175-178.
3. Афанасьева Ю.И., Юрина Н.А. Гистология, цитология и эмбриология. М., 1999, с. 430.
4. Горбунов Н.С., Чукур В.И., Илларионова А.В. Соединительнотканый остов передней брюшной стенки. Красноярская мед. академия. 2003, с. 88.
5. Дубицкий А.Е., Семенов И.А., Ченкий Л.П. Синдром длительного раздавливания тканей. Медицина катастроф, 1993, с. 292-303.
6. Петросян Н.Р. Морфологическая характеристика реактивных изменений в почках, печени, селезенке в ранней стадии синдрома длительного раздавливания (Краш- синдром) в эксперименте. Дисс. канд. мед. наук. 1995, 25 с.
7. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань. М., 1981, 313 с.
8. Сисакян С.А. Новый микроскопический метод выявления капилляров сердца. Кровообращение, 1973, т. 4, 6, с. 3-9.
9. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Иммунодефициты: диагностика и иммунотерапия ГНЦ. М., 2000, 313 с.
10. Aglimov S.R., Skovoroda A.R. Mechanical properties of soft biological tissues, Biofizika, 2000, Nov-Dec. 45(6), p. 1137-1145, Review. Russian PMID, 11155246.
11. Bainton D.F., Ulluot J., Farquhan M.G. The development of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. Origin and content of azurophil and specific granules, J. Expl. Med., 1971, 4, p. 134.