

В.П. Захарова, К.В. Руденко, Е.В. Руденко, Е.В. Левчишина, А.А. Третьяк

Использование метода MSB в модификации Зербино-Лукаевич для диагностики морфофункционального состояния миокарда

Национальный институт сердечно-сосудистой хирургии им. Н.М. Амосова АМН Украины, г. Киев

Ключевые слова: миокард, морфофункциональное состояние, гистологическое изучение, метод ОКГ.

Предложено использование метода MSB в модификации Зербино-Лукаевич (ОКГ) для определения морфофункционального состояния кардиомиоцитов. Работа проведена в эксперименте на изолированных сердцах крыс (18 наблюдений), а также на изучении материала аутопсий (51 наблюдение). Показано, что при использовании данной методики неизменные кардиомиоциты окрашиваются в бурый цвет, зоны гиперсокращения – в ярко-красный, участки некроза кардиомиоцитов приобретают ярко-желтую окраску. Миокард в состоянии кардиopleгии или гибернации окрашивается в голубой цвет. Гипертрофированные кардиомиоциты в стадии декомпенсации также приобретают голубые оттенки.

Використання методу MSB у модифікації Зербіно-Лукаевич для діагностики морфофункціонального стану міокарда

В.П. Захарова, К.В. Руденко, О.В. Руденко, О.В. Левчишина, О.А. Третьяк

Запропоновано використання методу MSB у модифікації Зербіно-Лукаевич (ОЧБ) для визначення морфофункціонального стану кардіоміоцитів. Робота проведена в експерименті на ізольованих серцях щурів (18 спостережень), а також на вивченні матеріалів аутопсій (51 спостереження). Показано, що при використанні цієї методики незмінені кардіоміоцити фарбуються у бурий колір, зони гіперскорочення – в яскраво-червоний, ділянки некрозу кардіоміоцитів набувають яскраво-жовтого забарвлення. Міокард у стані кардіopleгії або в гібернації забарвлюється в блакитний колір. Гипертрофовані кардіоміоцити у стадії декомпенсації також набувають блакитних відтінків.

Ключові слова: міокард, морфофункціональний стан, гістологічне дослідження, метод ОЧБ.

Патологія. – 2010. – Т.7., №2. – С. 105–106

The use of MSB method in Zerbino-Lukasevich modification for diagnostics of morphofunctional state of myocardium

V.P. Zakharova, K.V. Rudenko, O.V. Rudenko, O.V. Levchishina, O.A. Tretyak

The use of MSB method is offered in modification of Zerbino-Lukasevich (ORB) for determination of the morphofunctional state of cardiomyocytes. The work conducted in an experiment on the isolated hearts of rats (18 supervisions) and also on the study of material of autopsies (51 supervisions). It is demonstrated that in this method unchanged cardiomyocytes make a brown color, the areas of hypercontraction – bright red, the areas of necrosis of cardiomyocytes acquire the brilliant yellow colouration. Myocardium in the state of cardioplegia or hibernation is coloured in a blue colour. Hypertrophied cardiomyocytes in a stage of decompensation also acquire blue tints.

Key words: myocardium, morphofunctional state, histological study, method ORB.

Pathologia. 2010; 7(2): 105–106

Патология сердца, как известно, занимает главное место в структуре заболеваемости и смертности среди населения. Это может быть связано со многими факторами экзо- и эндогенного характера и проявляться в виде врожденных и приобретенных пороков сердца, ишемической болезни сердца и разнообразных вариантов кардиомиопатий. Однако, в патогенезе всех заболеваний сердца в качестве ведущей составляющей выступает повреждение миокарда, осуществляющего основную функцию сердца [1]. Грубые изменения миокарда в виде его некроза при инфаркте, лейкоцитарной инфильтрации при миокардитах, гипертрофии с фиброзом при аортальном стенозе и др. легко определяются с помощью стандартных методов гистологических исследований [3]. Однако более тонкие изменения кардиомиоцитов (КМЦ), а также разные их функциональные состояния часто можно определить лишь с помощью электронной микроскопии – высокотехнологического метода, который требует значительных материальных и временных затрат [4]. Вместе с тем, патоморфологи, исследующие

операционный и секционный материал больных с сердечно-сосудистой патологией, часто сталкиваются с необходимостью дать оперативно адекватную оценку морфофункционального состояния миокарда.

Нами замечено, что при окрашивании препаратов сердечной мышцы методом MSB [5] в модификации Зербино-Лукаевич (ОКГ) [2] для определения фибрина в интрамуральных коронарных сосудах, КМЦ приобретают разную окраску. Возникло предположение, что тинкториальные свойства КМЦ при данном методе окрашивания зависят от их функционального состояния.

Цель работы

Определить особенности окрашивания КМЦ методом MSB (ОКГ) в зависимости от их функционального состояния.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на изолированных сердцах взрослых беспородных лабораторных крыс массой 200–250 г, содержащихся на стандартном пищевом рационе вивария. Эксперимент выполняли в соответствии с «Загальними етичними принципами експериментів на

тваринах» (20 вересня 2001 р., Київ, Україна).

Были сформированы 3 группы. 1 группу (6 наблюдений) представляли препараты сердец, полученные на фоне фибрилляции желудочков при реперфузии после этапа гипоксии. 2 группу (6 наблюдений) составляли препараты сердец, которые подвергались действию кустодиола – кардиоплегического раствора внутриклеточного действия, вызывающего торможение метаболических процессов (Доктор ф. Келер Хеми Гмбх, Германия). В контрольную группу вошли 6 наблюдений без какого-либо вмешательства. Кроме того, исследовали миокард, полученный при аутопсиях, в т. ч. 12 наблюдений больных, скончавшихся в остром периоде инфаркта миокарда; 9 больных, умерших на операционном столе на фоне кардиopleгии при операциях на сердце; 5 умерших от сердечной недостаточности, связанной с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП); 25 пациентов, скончавшихся от причин, не связанных с патологией миокарда.

Препараты сердца фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, по общепринятой гистологической методике изготавливали парафиновые блоки, делали срезы толщиной 5–10 мкм, которые окрашивали гематоксилином – эозином для обзорной микроскопии, а также по методу ОКГ. Гистологическое исследование препаратов проводили на микроскопе Olympus BX-41 с использованием программного обеспечения DP-Soft.

Результаты и их обсуждение

При изучении миокарда, полученного во время кардиopleгии, КМЦ были окрашены преимущественно в серо-голубой цвет (рис. 1, цв. вкладка 5). КМЦ сердец животных контрольной группы приобретали разные оттенки бурого цвета (рис. 2, цв. вкладка 5). В препаратах, полученных при реперфузии миокарда, зоны пересокращения выделялись их ярко-красным окрашиванием (рис. 3, цв. вкладка 5). На остальном протяжении препаратов данной группы одни КМЦ были бурой окраски, другие – голубой или смешанной. Кроме того, в зонах пересокращения КМЦ иногда набухали, гомогенизировались и становились ярко-желтого цвета (рис. 4, цв. вкладка 5).

Подобную полихромную картину наблюдали в зонах острого инфаркта миокарда на секционном материале. В других отделах миокарда данной группы больных встречались КМЦ, которые при обзорной микроскопии выглядели неизменными, однако при окраске миокарда по методу ОКГ выделялись КМЦ голубым цветом на фоне бурого окрашивания других КМЦ (рис. 5, цв. вкладка 6). Это позволяет рекомендовать метод ОКГ для выявления ранних стадий гипоксического пораже-

ния миокарда. Препараты сердечной мышцы больных, скончавшихся в условиях кардиopleгии, были почти на всем протяжении серо-голубого или голубого цвета, как в экспериментальных сердцах II группы. Лишь в 3 секционных случаях в некоторых участках миокарда при большом увеличении можно было различить легкий буроватый оттенок миофибрилл.

КМЦ больных, страдавших ГКМП, были значительно увеличены в диаметре, при этом в зонах наиболее выраженной гипертрофии часть из них при окрашивании методом ОКГ утрачивала бурый цвет, цитоплазма вакуолизировалась, миофибриллы, а затем и саркоlemma, лизировались. Разрушенные мышечные клетки замещались волокнами волокнистой соединительной ткани.

У больных, скончавшихся от причин, не связанных с патологией миокарда, КМЦ диффузно окрашивались в коричневато-бурый цвет. Во всех случаях как экспериментальных, так и клинических наблюдений, элементы интерстициальной соединительной ткани были голубого цвета. Обращало на себя внимание то, что гладкомышечные клетки в артериях миокарда и стенки аорты в препаратах, обработанных методом ОКГ, также как и КМЦ, в разных условиях проявляли разные тинкториальные свойства. Эластические мембраны в этих случаях окрашивались, в основном, в желтый цвет (рис. 6, цв. вкладка 6).

Выводы

В миокарде, окрашенном по методу ОКГ, КМЦ, находящиеся в состоянии кардиopleгии и гибернации, приобретают серо-голубую окраску; работающие КМЦ – буроватую; зоны гиперсокращения окрашиваются в ярко-красный цвет. Некротизированные участки миокарда отличаются ярко-желтой окраской. Метод может быть предложен для выявления ранних стадий поражения КМЦ, для оценки качества кардиopleгии при операциях на сердце, а также для выявления признаков декомпенсации в гипертрофированных КМЦ.

Литература

1. Руководство по кардиологии / под ред. В.Н. Коваленко. – К.: Морион, 2008. 1424с.
2. Зербино Д.Д. Методика для определения возраста фибрина при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. // Арх. патологии. – 1984. – № 8. – С. 72–75.
3. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Лилли Р. – М.: Мир, 1969. – 603 с.
4. Непомнящих Л.М. Патологическая анатомия и ультраструктура сердца / Непомнящих Л.М. – Новосибирск: Наука, 1981. – 322 с.
5. Lendrum A.C. Studies on the character and staining of fibrin / Lendrum A.C., Fraser D.S., Slidders W., Henderson R. // J. Clin. Path. – 1962. – № 15. – P. 401–413.

Сведения об авторах:

Захарова В.П., д. мед. н., глав. научн. сотр., НИССХ им. Н.М. Амосова АМНУ.
Руденко К.В., к. мед. н., зам. глав. врача, НИССХ им. Н.М. Амосова АМНУ.
Руденко Е.В., к. мед. н., ст. научн. сотр., НИССХ им. Н.М. Амосова АМНУ.
Левчишина Е.В., врач-кардиолог, НИССХ им. Н.М. Амосова АМНУ.
Третьяк А.А., врач-анестезиолог, НИССХ им. Н.М. Амосова АМНУ.

Адрес для переписки:

Захарова Валентина Петровна, 03150, г. Киев, ул. Красноармейская, 80, кв. 6.
Тел.: (067) 7200364, (044) 2704395.

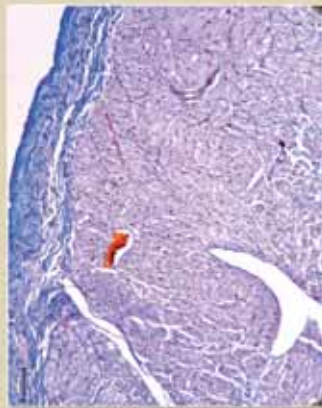


Рис. 1. Эксперимент. Миокард после кардиоплегии с кустодилолом. КМЦ окрашены в серо-голубой цвет, соединительная ткань эпикарда – в голубой, фибрин в просвете венулы – в оранжевый. Окраска ОКТ. Ув. x 100.

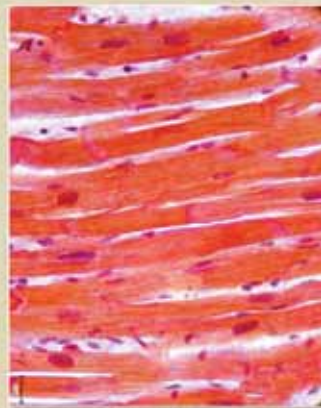


Рис. 2. Эксперимент. Некремный миокард без кардиоплегии. Функционально активные КМЦ окрашены в бурый цвет. Окраска ОКТ. Ув. x 400.

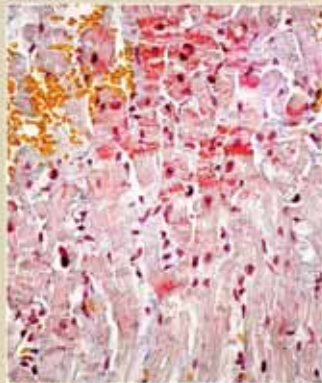


Рис. 3. Эксперимент. Миокард во время реперфузии. Зоны гиперсокращения. КМЦ окрашены в ярко-красный цвет. КМЦ в состоянии гиберации имеют серо-голубой цвет, эритроциты – желтый. Окраска ОКТ. Ув. x 400.

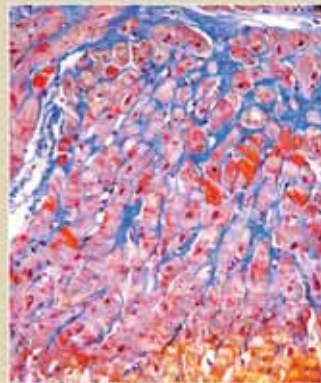


Рис. 4. Аутопсия. Миокард в зоне инфаркта. Дистрофические КМЦ в зонах гиперсокращения и некрозированные КМЦ в зоне инфаркта окрашены в ярко-желтый цвет, участки интерстициального фиброза – в голубой цвет. Окраска ОКТ. Ув. x 400.

(Рис. 1–4 в статье В.Л. Захаровой, К.В. Руденко, Е.В. Руденко, Е.В. Левицкой, А.А. Третьяка «Использование метода MSB в модификации Зербино-Лукашевич для диагностики морфофункционального состояния миокарда» С. 105–106)

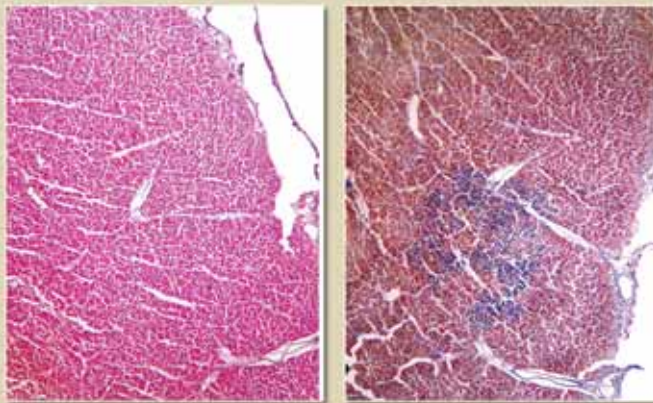


Рис. 5. Аутопсия. Острый инфаркт миокарда. При обзорной микроскопии изменения КМЦ не видны. При окраске ОКГ в той же зоне виден очаг гипертрофии КМЦ голубого цвета. Слева – гематоксилин и эозин. Ув. x 40. Справа – ОКГ. Ув. x 40.

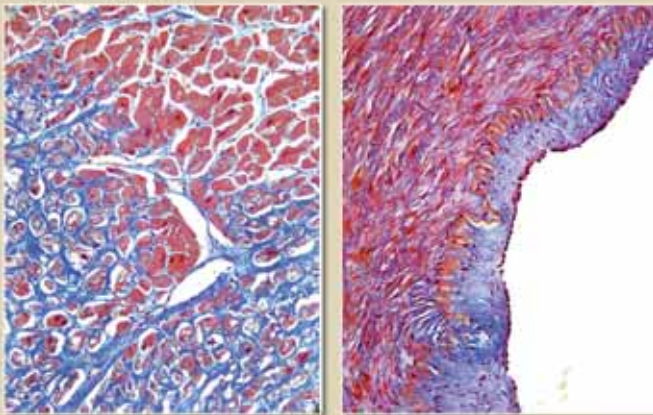


Рис. 6. Аутопсия. ГКМП. Слева – гипертрофия КМЦ в фазе декомпенсации и фиброза. ОКГ. Ув. x 200. Справа – склеротизированная коронарная артерия с гофрированной внутренней эластической мембраной. ОКГ. Ув. x 400.

(Рис. 5, 6 в статье В.П. Захаровой, К.В. Руденко, Е.В. Руденко, Е.В. Левчицкой, А.А. Третьяка «Использование метода MSB в модификации Зербино-Лукаевич для диагностики морфофункционального состояния миокарда» С. 105-106)