

**Министерство юстиции Республики Казахстан
РГКП «Центр судебной медицины Министерства юстиции РК»**



**Использование поляризационной микроскопии в судебно-гистологической
практике**

Составитель: Оспанова К.Е., судебно-медицинский эксперт-гистолог, к.м.н.
(Центр судебной медицины МЗ РК). **Рецензент:** Манекенова К.Б., заведующая
кафедрой патологической анатомии МУА, профессор, д.м.н.

Астана 2016

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1	Наименование методики	Использование поляризационной микроскопии в судебно-гистологической практике
2	Шифр специальности методики	24.1 Судебно-гистологическое исследование (медицинское)
3	Информация о разработчике	Составитель: Оспанова К.Е., судебно-медицинский эксперт-гистолог, к.м.н. (Центр судебной медицины МЗ РК). Рецензент: Манекенова К.Б., заведующая кафедрой патологической анатомии МУА, профессор, д.м.н.
4	Сущность методики	Выявление морфологических изменений при использовании поляризационной микроскопии
4.1	Экспертные задачи, решаемые методикой	Подтверждение и(или) установление судебно-медицинского диагноза
4.2	Объекты исследования	Аутопсийный материал (фрагменты внутренних органов и частей трупа, забор которых производится во время вскрытия)
4.3	Методы исследования	Поляризационная микроскопия
4.4	Краткое поэтапное описание методики	<p>Поляризационная микроскопия является методом, позволяющим выявлять правильно ориентированные структуры поляризующие свет, а миофибриллы обладают способностью к двулучепреломлению, что позволяет поляризационной микроскопии обнаруживать их изменения при патологических состояниях.</p> <p>Для исследования срезов мышечной ткани в поляризованном свете можно использовать любой биологический микроскоп, имеющий простейшее приспособление для поляризационной микроскопии: два поляризационных фильтра (можно использовать поляризационные фильтры для фотографии).</p>

		<p>Один из них (поляризатор) помещают непосредственно под конденсором микроскопа. При отсутствии такового, для исследования можно приспособить любой биологический микроскоп, который должен иметь вращающийся центрирующийся предметный столик и достаточно сильный источник освещения (проекционные лампы накаливания, ксеноновые лампы).</p> <p>Предпочтительны микроскопы со встроенными источниками освещения. В микроскопах с наклонным и бинокулярным тубусом лучше расположить анализатор между объективом и призмами тубуса, так как последние также частично поляризуют свет. Для наблюдения объектов в поляризованном свете необходимо скрестить плоскости поляризации поляризатора и анализатора. Для этого вращают один из поляризационных фильтров, обычно поляризатор, до такого положения, когда поле зрения станет максимально темным. Затем вращают предметный столик с препаратом до тех пор, пока исследуемая анизотропная структура не станет светиться наиболее ярко (ось двулучепреломляющего объекта расположена под 45 градусов по отношению к плоскости поляризации света). Если двулучепреломляющий объект имеет неровные (извитые) контуры, то для рассмотрения отдельных его участков необходимо все время поворачивать столик (который должен быть хорошо центрирован).</p>
5.	Дата одобрения методики Ученым Советом	Протокол №2 от 05.12.2016 г.
6.	Должностное лицо, составившее паспорт экспертной методики	Имамбаева Н.Е., СМЭ высшей квалификационной категории отдела научного и методического обеспечения РГКП «Центр судебной медицины» МЮ РК

ОГЛАВЛЕНИЕ**Использование поляризационной микроскопии в судебно-гистологической практике**

1. Общие положения..... 5
2. Перечень использованных источников..... 14

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ В СУДЕБНО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

При первичных повреждениях клеток сердца вследствие заболеваний и других патологических ситуациях, а также кардиотоксических воздействиях, возникающие морфологические признаки повреждения не специфичны. Основными изменениями мышечных клеток сердца являются дистрофия и некробиоз, лежащие в основе очаговых метаболических повреждений сердца и инфарктах миокарда, начальные стадии которых обнаруживаются с трудом. Использование же поляризационной микроскопии позволяет выявить ранние стадии повреждения кардиомиоцитов практически сразу после повреждающего воздействия.

Чувствительность метода поляризационной микроскопии для диагностики измененных кардиомиоцитов основана на том, что нарушения энергетического обмена тот час же отражаются на состоянии сократительного аппарата мышечных клеток сердца - миофибриллах, которые реагируют на повреждающие воздействия ограниченным набором структурных нарушений, не специфических для того или иного повреждающего фактора или агента.

Характер изменений структуры миофибрилл определяет тинкториальные особенности саркоплазмы поврежденных кардиомиоцитов и является прогностическим признаком исхода повреждения клетки.

Выделяют следующие стереотипные самостоятельные формы острой патологии кардиомиоцитов: **контрактурный тип** повреждения, при котором в клетке возникает патологическое тотальное или очаговое сокращение миофибрилл, **внутриклеточный миоцитоллизис** характеризуется очаговым лизисом миофибрилл, **глубчатый распад** миофибрилл, возникающий в результате одномоментного мозаичного сокращения групп саркомеров и лизиса не сократившихся участков миофибрилл.

Поляризационная микроскопия является методом, позволяющим выявлять правильно ориентированные структуры поляризующие свет, а миофибриллы обладают способностью к двулучепреломлению, что позволяет поляризационной микроскопии обнаруживать их изменения при патологических состояниях.

Для исследования срезов мышечной ткани в поляризованном свете можно использовать любой биологический микроскоп, имеющий простейшее приспособление для поляризационной микроскопии: два поляризационных фильтра (можно использовать поляризационные фильтры для фотографии). Один из них (поляризатор) помещают непосредственно под конденсором микроскопа. При отсутствии такового, для исследования можно приспособить любой биологический микроскоп, который должен иметь вращающийся центрирующийся предметный столик и достаточно сильный источник освещения (проекционные лампы накаливания, ксеноновые лампы). Предпочтительны микроскопы со встроенными источниками освещения. В

микроскопах с наклонным и бинокулярным тубусом лучше расположить анализатор между объективом и призмами тубуса, так как последние также частично поляризуют свет. Для наблюдения объектов в поляризованном свете необходимо скрестить плоскости поляризации поляризатора и анализатора. Для этого вращают один из поляризационных фильтров, обычно поляризатор, до такого положения, когда поле зрения станет максимально темным. Затем вращают предметный столик с препаратом до тех пор, пока исследуемая анизотропная структура не станет светиться наиболее ярко (ось двулучепреломляющего объекта расположена под 45 градусов по отношению к плоскости поляризации света). Если двулучепреломляющий объект имеет неровные (извитые) контуры, то для рассмотрения отдельных его участков необходимо все время поворачивать столик (который должен быть хорошо центрирован).

Распространенная ошибка - изгиб структуры оценивается как участок исчезновения анизотропии.

Исследовать и фотографировать препараты следует при сравнительно низких значениях апертуры конденсора. При использовании панкратических конденсоров значение их апертуры устанавливается примерно вдвое меньше, чем апертура объектива. В обычных конденсорах несколько суживают апертурную диафрагму. Полевая диафрагма должна быть прикрыта так, чтобы ограничивать поле зрения. Освещение должно быть установлено по Клеру: изображение источника света проецируется в апертурную плоскость, а полевой диафрагмы в плоскость объекта. Режим критического освещения (когда изображение источника света проецируется на объект), применяемый в люминесцентной микроскопии, для поляризационного исследования не пригоден. Для перехода к исследованию в обычном свете достаточно удалить или повернуть поляризатор. Поворачивая поляризатор, можно удобно регулировать яркость поля зрения. Блоки ткани следует вырезать и ориентировать таким образом, чтобы мышечные волокна интересующего слоя миокарда были срезаны продольно. Миофибриллы в поляризованном свете обнаруживают характерную поперечную исчерченность, связанную с чередованием анизотропных (А) и изотропных (I) дисков. Соответственно первые обладают ярко выраженным положительным двулучепреломлением и кажутся светлыми в поляризованном свете (в обычном свете они темные), тогда как I-диски почти полностью лишены способности к двулучепреломлению и в поляризованном свете выглядят темными (в обычном свете - светлые). В середине А - дисков различают менее анизотропную Н - зону, в которой, в свою очередь, проходит более темная М - полоска. Изотропные диски делятся пополам темными 2 - полосками, которые считаются границами саркомеров. При сильном сокращении мышцы в результате перекрытия миофиламентов возникают так называемые «полосы сокращения», в результате чего исчерченность кажется вдвое густой. В литературе можно встретить неправильное применение термина «полосы сокращения» к субсегментарным контрактурам, которые будут описаны ниже. Обычно в препаратах миокарда

длина саркомеров (то есть расстояние между 2 -полосками) в зависимости от состояния органа и условий фиксации, составляет 1,7-2,2 мкм, причем около 2/3 этой величины приходится на А - диски.

Кроме миофибрилл, способностью к поляризации света, обладают коллагеновые волокна, однако отличить их нетрудно: в сомнительных случаях можно повернуть поляризатор и рассмотреть ту же структуру в обычном свете. Иногда коллагеновые волокна имеют волнистую форму и поэтому в поляризованном свете кажутся исчерченными. При вращении предметного столика видно, что различные участки волокна становятся попеременно то светлыми, то темными, в зависимости от того, под каким углом к плоскости поляризации света они оказываются. Это позволяет легко отличить волнистую структуру от исчерченности.

Исследования в поляризованном свете можно проводить на замороженных и на парафиновых срезах (после депарафинизации), неокрашенных и окрашенных, заключенных в различные среды. Это дает возможность сочетать на одном и том же срезе поляризационное исследование с гистохимическим или иммуно-топографическим, сопоставляя изменения сократительного аппарата с гистохимическими изменениями клетки.

Поляризационно-микроскопическое исследование можно применять при большинстве методов окраски и гистохимических реакций, за исключением некоторых, при которых А - диски миофибрилл слишком плотно окрашены (например, окрашивании железным гематоксилином Геиденгайна) или в клетках образуется слишком плотный осадок, особенно если зерна осадка поляризуют свет. Хорошо сочетается поляризационно-микроскопическое исследование с окрашиванием гематоксилином и эозином, по Ван Гизоу, по Браше, толуидиновым синим, ШИК-реакцией и др. Некоторые красители, например эозин, усиливают эффект поляризации.

При фотографировании окрашенных препаратов в поляризованном свете можно нейтрализовать эффект окраски, вводя дополнительные фильтры того же света, что и краситель. Так, препараты с ШИК - реакцией фотографируют в поляризованном свете, вводя дополнительный красный фильтр (пленка должна быть сенсibilизированной).

На полутонких срезах из материала, залитого в полимеры для электронной микроскопии, поляризационно-микроскопическое исследование лучше всего проводить (без дополнительного окрашивания и без удаления среды) в 70° этиловом спирте.

Параллельно с поляризационным, бывает полезно проводить фазово-контрастное исследование. Это можно делать на одном и том же микроскопе, не сдвигая препарата, используя фазовые объекты и вводя в осветительную систему соответствующие фазовые кольца. Поляризатор при этом нужно удалить или повернуть так, чтобы поле зрения было светлым.

Результат фазово-контрастного исследования существенно зависит от среды, в которую заключен препарат. Чем больше показатель преломления

среды отличается от показателя преломления объекта, тем сильнее выражен контраст и тем грубее изображение. При совпадении показателей преломления среды и объекта фазовое изображение отсутствует. Показатель преломления твердых сред для заключения гистологических препаратов (канадский бальзам, полистирол) близок к показателю преломления тканей и поэтому проводить фазово-контрастное исследование в этих средах нельзя. Если препарат уже заключен, можно растворить среду ксилолом и проводить исследование в жидкой среде. Лучше всего пользоваться диме-тилфталатом, в котором фазовое изображение выглядит не слишком контрастным, но весьма четким. Заключение в глицерин или в воду дает более грубое изображение светлым. Хорошо сочетается поляризационно-микроскопическое исследование с окрашиванием гематоксилином и эозином, по Ван Гизоу, по Браше, толуидиновым синим, ШИК-реакцией и др. Некоторые красители, например эозин, усиливают эффект поляризации.

При фотографировании окрашенных препаратов в поляризованном свете можно нейтрализовать эффект окраски, вводя дополнительные фильтры того же света, что и краситель. Так, препараты с ШИК - реакцией фотографируют в поляризованном свете, вводя дополнительный красный фильтр (пленка должна быть сенсibilизированной).

На полутонких срезах из материала, залитого в полимеры для электронной микроскопии, поляризационно-микроскопическое исследование лучше всего проводить (без дополнительного окрашивания и без удаления среды) в 70° этиловом спирте. Параллельно с поляризационным, бывает полезно проводить фазово-контрастное исследование. Это можно делать на одном и том же микроскопе, не сдвигая препарата, используя фазовые объекты и вводя в осветительную систему соответствующие фазовые кольца. Поляризатор при этом нужно удалить или повернуть так, чтобы поле зрения было светлым.

Результат фазово-контрастного исследования существенно зависит от среды, в которую заключен препарат. Чем больше показатель преломления среды отличается от показателя преломления объекта, тем сильнее выражен контраст и тем грубее изображение. При совпадении показателей преломления среды и объекта фазовое изображение отсутствует.

Показатель преломления твердых сред для заключения гистологических препаратов (канадский бальзам, полистирол) близок к показателю преломления тканей и поэтому проводить фазово-контрастное исследование в этих средах нельзя. Если препарат уже заключен, можно растворить среду ксилолом и проводить исследование в жидкой среде. Лучше всего пользоваться диме-тилфталатом, в котором фазовое изображение выглядит не слишком контрастным, но весьма четким. Заключение в глицерин или в воду дает более грубое изображение. В фазовом контрасте в мышечных волокнах можно видеть мио-фибриллы (А-диски темные, хорошо видны 2 - полосы и полосы сокращения), ядра, митохондрии, вакуоли, можно оценивать общую плотность цитоплазмы. Однако из-за обилия деталей трактовать фазово-

контрастные картины значительно труднее, чем поляризационные.

Методика взятия материала для поляризационно-микроскопического исследования миокарда. Сердце при аутопсии предпочтительно вскрывать по току крови (метод Абрикосова) и затем фиксировать его в 10% нейтральном формалине. Из фиксированного сердца вырезаются кусочки. Если берутся несколько кусочков, то они маркируются. При необходимости берутся кусочки миокарда, вырезаемые по ходу крупных коронарных сосудов. Срезы с блоков тканей, залитых в парафин, окрашиваются гематоксилином и эозином, заключаются в полистирол и покрываются чистыми покровными стеклами.

Морфологические типы изменений мышечных клеток сердца.

Контрактурный тип повреждений возникает в момент повреждающего воздействия. Различают три степени контрактурных изменений:

I степень - анизотропия дисков А усилена, изотропные диски I не укорочены, поперечная исчерченность четкая.

II степень - сближение дисков А за счет истончения изотропных дисков.

III степень - изотропные диски полностью исчезают, анизотропные диски сливаются в сплошной анизотропный конгломерат.

Указанные изменения миофибрилл носят «сегментарный» характер, захватывая всю мышечную клетку (мышечный сегмент) и могут обозначаться как «сегментарные контрактуры». Сегментарные контрактуры I и II степени обратимы, III степени - необратимы и характеризуют тяжелое повреждение мышечной клетки. К концу первых суток в некротизированных клетках при поляризационной микроскопии еще выявляется сплошная, но ослабленная анизотропия. При разрушении некротизированной клетки макрофагами и лейкоцитами анизотропия исчезает. Субсегментарные контрактуры - фокальные множественные контрактуры отдельных групп саркомеров. Резко сокращенные участки миофибрилл чередуются с несколько растянутыми саркомерами, непрерывность миофибрилл при этом сохраняется. В поляризованном свете в этом случае клетка частично или полностью лишена нормальной поперечной исчерченности, а участки миофибрилл, находящиеся в состоянии контрактуры, образуют ярко светящиеся поперечные полосы или множественные анизотропные глыбки. Этот вид контрактуры отражает наиболее легкую и обратимую форму повреждения, обусловленную временными нарушениями возбудимости клетки или травматическими моментами (взятие биопсии ушка, миокарда, массаж сердца). Субсегментарные контрактуры в субэпикардальном и субэндокардиальном слое характерны для фибрилляции желудочков сердца.

Внутриклеточный миоцитоллиз - острое повреждение кардиомиоцитов, характеризующееся дезагрегацией и лизисом миофибрилл на части территории кардиомиоцита - как бы растворение миофибрилл на некотором протяжении мышечной клетки, а прилегающие участки по продолжению клетки и мышечных волокон сохраняют нормальную исчерченность. При

мелкоочаговых рассеянных повреждениях миокарда почти все клетки с внутриклеточным миоцитоллизом восстанавливают структуру в течение 1-2 суток; через 12-18 часов очаги миоцитоллиза становятся мелкими, округлыми, а на темном фоне, видны тонкие анизотропные волокна новообразующихся фибрилл. По краям таких очажков видны хорошо поляризующие свет ободки, состоящие из миозина. Глыбчатый распад миофибрилл на глыбки в результате очагового мозаичного лизиса и контрактуры отдельных групп саркомеров. В поляризованном свете определяется исчезновение поперечной исчерченности, вместо которой видны множественные глыбки анизотропной субстанции, хаотично чередующиеся с участками, лишенными анизотропных структур. Глыбчатый распад отражает тяжелое необратимое повреждение кардиомиоцитов - некроз и является наиболее распространенным типом повреждения кардиомиоцитов. В таких случаях мышечные волокна миокарда, как правило, сохраняют поперечную исчерченность. В некоторых случаях наблюдается фрагментация миокарда (как агональное явление), при которой происходит поперечный разрыв миофибрилл и саркоплазмы. С атональным периодом связаны также наблюдающиеся изредка единичные клетки с контурными изменениями I и II степеней.

Характеристика миокарда людей, умерших от острой сердечной недостаточности - очаговые метаболические повреждения миокарда. К ним относятся дистрофические и некробиотические изменения кардиомиоцитов, связанные с нарушением коронарного кровообращения, возникающие в основном вторично, как осложнение основного заболевания, способные привести к острой сосудистой недостаточности и смерти. Установлено, что метаболические повреждения кардиомиоцитов являются частой непосредственной причиной смерти новорожденных при тяжелых формах асфиксии и гемолитической болезни у детей раннего возраста. Указанные изменения мышцы сердца возникают при пороках сердца, в случае развития пневмонии или инфекционных заболеваний. У взрослых - при пороках сердца, гипертонической болезни, острых и хронических заболеваниях легких, различных опухолях в том числе феохромоцитоме, нарушениях мозгового кровообращения, черепно-мозговых травмах, длительном наркозе, острой массивной кровопотере, различных отравлениях и др. Для очаговых метаболических повреждений миокарда характерна локализация в субэндокардиальных слоях левого желудочка сердца, в папиллярных мышцах и межжелудочковой перегородке. Они представлены единичными клетками или группами клеток (от 2-5 до 20-30) с преобладанием контрактур III степени и первичным глыбчатым распадом миофибрилл. Клеточная инфильтрация вокруг некротизированных групп кардиомиоцитов наблюдается через 6-10 часов существования этих повреждений, внедрение клеток инфильтрата в погибшие кардиомиоциты через 12-18 часов. К концу 1-х суток мелкие очаги некроза почти полностью резорбируются клетками инфильтратов.

Мелкоочаговые метаболические повреждения кардиомиоцитов могут быть

множественными или единичными и привести к развитию фибрилляции желудочков сердца, которая может возникать в 1-е часы после появления очаговых повреждений миокарда, когда эти очаги практически могут быть определены только в поляризованном свете. Если в обычном свете определяются очаги повреждения на стадии некроза и клеточной инфильтрации, то в поляризованном свете могут быть найдены свежие очаги конт-рактурно измененных клеток или клеток с глыбчатым распадом миофибрилл, свидетельствующих о повторной волне некротизации миокарда, т.к. фибрилляция и асистолия сердца чаще всего возникают на стадии свежих повреждений, резко нарушающих проходимость и ритм сокращения.

Острая коронарная недостаточность. Ранние стадии инфаркта миокарда. Обычные методы гистологического исследования позволяют диагностировать инфаркт миокарда только на некротической стадии, то есть через 6-8 часов после нарушения коронарного кровообращения. В значительном же числе случаев скоропостижной смерти причиной смерти является острый инфаркт миокарда, приведший в первые минуты или часы к остановке сердца, который может быть диагностирован с помощью поляризационной микроскопии.

В первые минуты и часы острой коронарной недостаточности или ишемии в миокарде выявляются множественные мелкие очаги повреждения миокарда, характеризующиеся глыбчатым распадом миофибрилл

В первые 2-3 часа нарушения кровообращения определяются крупные и мелкие очаги повреждения миокарда, локализующиеся по периферии бассейна кровоснабжения артерии, в которой произошло нарушение кровообращения.

Начиная с 4-х часов очаги глыбчатого распада в зоне инфаркта увеличиваются в размерах, сливаются между собой, и в типичных случаях формируют широкую периферическую зону ишемии. Часть клеток с глыбчатым распадом миофибрилл пропитываются белками плазмы крови.

Через 6-8 часов зона инфаркта миокарда начинает выявляться при обычной световой микроскопии. Определяются эозинофилия и комковатость саркоплазмы, некробиотические изменения ядер в поврежденных мышечных клетках, стазы в капиллярах, выход форменных элементов крови за пределы капилляров.

По периферии зоны ишемии в кардиомиоцитах наблюдается дистрофия, некробиоз. При нарушении кровообращения в большом объеме сердечной мышцы миокард центральной зоны, быстро и полностью лишенный притока крови, аутолизируется, аналогично трупному аутолизу. Эти изменения получили название цитолиза. При обычной микроскопии зона цитолиза определяется по снижению окрашиваемости мышечных ядер или их полному лизису, что становится заметным через 12-24 часа. В поляризованном свете через 4-6 часов в аутолизированных кардиомиоцитах обнаруживается явление «перерастяжения» миофибрилл - темные изотропные диски расширяются; высота изотропных дисков может равняться или превышать высоту светлых, анизотропных дисков, что делает поперечную исчерченность миофибрилл

грубой, заметной даже при обычной световой микроскопии.

Если кровообращение в коронарной артерии восстанавливается, в клетках с явлением цитоллиза при контакте с плазмой крови также возникает глыбчатый распад миофибрилл что создает впечатление массивности инфарктирования по сравнению со случаями инфаркта миокарда, имеющего слоистое строение, поскольку до полного лизиса мышечных ядер в центральной зоне миокарда в обычном свете выглядит неповрежденным.

Следует отметить, что при вскрытии трупов через 8-24 и более часов после смерти в нормальном миокарде могут быть выражены явления аутолиза, проявляющиеся очаговым ослаблением окрашиваемости ядер и расширением изотропных дисков миофибрилл. Поэтому для диагностики повреждения миокарда надо ориентироваться в первую очередь на повреждения типа глыбчатого распада, а затем для определения общего объема (или площади) ишемии, выявить зону цитоллиза, прилежащую к зоне глыбчатого распада, отличающуюся от нормальной, посмертно аутолизированной, мышечной ткани большей степенью аутолитических изменений.

На поздних стадиях инфаркта миокарда 12-48 часов при поляризационной микроскопии в зонах макрофагально-лейкоцитарной инфильтрации выявляются мышечные волокна в состоянии глыбчатого распада и цитоллиза, аналогичные обнаруживаемым на ранних стадиях процесса. Кардиомиоциты с цитоллизом резорбируются клетками инфильтратов. В отдаленных от зоны инфаркта участках миокарда непостоянно обнаруживаются мелкие фокусы миоцитоллиза, контрактур и глыбчатого распада миофибрилл.

Повторный острый инфаркт миокарда. Повторный острый инфаркт миокарда возникает часто в участках мышцы сердца, прилежащих к рубцовым изменениям, оставленным предыдущим инфарктом, и носит очаговый характер. При поляризационной микроскопии на ранней, донекротической стадии четко выявляются крупные и мелкие очаги глыбчатого распада миофибрилл в кардиомиоцитах, прилежащих к рубцам и вокруг склерозированных сосудов.

Рецидивирующий инфаркт миокарда. При световой микроскопии в зоне инфаркта определяются рубцы в стадии созревания, рубцующиеся гранулемы, инфильтраты из мононуклеарных клеток и множественные очаги коагуляционного некроза в стадии резорбции клетками воспалительных инфильтратов. В поляризованном свете выявляются свежие очаги глыбчатого распада миофибрилл в группах кардиомиоцитов. Рецидивирующий инфаркт часто возникает в изолированных рубцами участках ткани миокарда.

Фибрилляция желудочков сердца. При фибрилляции желудочков сердца возникают изменения в 2-5 рядах мышечных волокон, прилежащих к эпикарду и эндокарду желудочков сердца и межжелудочковой перегородки. Эти изменения заключаются в возникновении субсегментарных контрактур миофибрилл, которые определены только в поляризационной микроскопии. Для выявления субсегментарных контрактур в указанных слоях миокарда

необходима правильная вырезка материала - мышечные волокна субэпикарда и эндокарда должны быть срезаны продольно.

Миокард при внезапной и скоропостижной смерти. Группа экспертов ВОЗ в 1964 г. определила внезапную смерть при ишемической болезни сердца как смерть, наступившую неожиданно в течение 6 часов от начала заболевания у здорового до этого человека или у больного, находившегося в удовлетворительном состоянии. Период, включающий внезапность и неожиданность ненасильственной смерти, в 1970 г. был продлен до 24 часов от начала острых симптомов. Внезапная смерть - смерть у практически здорового человека или с незначительными клиническими симптомами, наступающая в течение первых минут после появления признаков острой сердечной недостаточности. В поляризованном свете продольных срезов субэпикардальных, субэндокардиальных слоев миокарда и межжелудочковой перегородки выявляются контрактуры миофибрилл, отражающие состояние фибрилляции желудочков сердца.

При скоропостижной смерти летальный исход наступает в ближайшие десятки минут или часов (до 24 часов) после появления признаков сердечной недостаточности. В поляризованном свете видны преднекротические изменения мышцы сердца метаболического или ишемического характера, различные стадии инфаркта миокарда, фибрилляция желудочков сердца, характеризующие острую сердечную недостаточность.

Алкогольная кардиомиопатия. При макроскопическом исследовании для алкогольной кардиомиопатии характерны гипертрофия миокарда обоих желудочков, расширение полостей сердца и диффузный мелкоочаговый кардиосклероз, часто не связанный с коронарным атеросклерозом. При световой микроскопии определяются выраженный диффузный кардиосклероз, не связанный с поражением сосудов (минимальные атеросклеротические изменения в венечных артериях), гипертрофия и атрофия кардиомиоцитов. Строма миокарда при алкогольной интоксикации состоит преимущественно из молодой соединительной ткани сравнительно бедной коллагеном. Большее значение при алкогольной кардиомиопатии имеет появление жировой ткани в межмышечных промежутках.

Острая смерть. В случаях острой смерти в миокарде в поляризованном свете наряду с участками его обычного строения, в которых четко видно чередование анизо- и изотропных дисков, постоянно обнаруживаются области, в которых наблюдается усиление двулучепреломления со сближением анизотропных дисков и слиянием их в сплошной светящийся конгломерат (контрактурные сокращения). Оно может захватывать как целые сегменты волокна, так и отдельные миофибриллы. Может быть образование фрагментированных волокон и зернисто-глыбчатый распад. В случаях острой, внезапной смерти от травм, острого кислородного голодания различных типов, отравления этиловым алкоголем преобладают указанные изменения в миофибрилярном аппарате, но выраженность изменений зависит от целого ряда эндогенных и экзогенных факторов. Наименее отчетливые контрактурные сокращения наблюдаются у лиц молодого возраста, погибших быстро (на месте

происшествия) от несовместимых с жизнью повреждений при отсутствии алкоголя в организме. Пожилой возраст потерпевших, наличие соматической патологии, алкоголемии приводит к появлению множественных участков контрактурных сокращений, нередко диффузных. Особенно резко подобные изменения выражены при отравлении этиловым алкоголем, при сочетанных процессах - механическая травма или асфиксия на фоне тяжелой алкогольной интоксикации.

По данным Т.М. Уткина и соавт., миоцитоллизис чаще встречался у лиц пожилого возраста, умерших скоропостижно от различных форм ишемической болезни сердца. В этих случаях, наряду с участками контрактурных сокращений, обнаруживались участки «выпадения» (растворения) миофибрилл по ходу волокон,

С целью дифференциальной диагностики между скоропостижной смертью от ИБС и острым отравлением этиловым алкоголем необходимо, кроме миокарда, подвергнуть поляризационной микроскопии срезы надпочечников. В пучковой зоне последних в норме находится большое количество веществ с анизотропным эффектом: холестерин и его эфиры фосфатиды, цереброзиды, миелины и т.д. Выявление этих веществ обычными гистологическими методами сложно и нельзя получить постоянные препараты, пригодные для хранения. В то же время, двулучепреломляющие липоиды могут дать истинную информацию о функциональном состоянии коркового слоя надпочечников, например, при алкогольной интоксикации. Известно, что алкоголь является мощным стимулятором коры надпочечников, что в совокупности с агонией приводит к резкому обеднению коркового слоя холестерином, что четко документируется с помощью поляризационного микроскопа. Для исследования можно использовать срезы надпочечников, полученные на замораживающем микротоме из фиксированного в формалине материала, заключенные без окрашивания в поливиниловый спирт.

При смерти от острого отравления этанолом происходит резкое обеднение коркового слоя холестерином, чего не наблюдается при скоропостижной смерти от заболеваний сердца (ИБС, гипертоническая болезнь).

Перечень использованных источников:

1. «Инструкция по организации и производству судебно-медицинской экспертизы» (Приказ МЗ РК от 20 мая 2010г. № 368) – Астана, 2010.
2. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники. — 1967.
3. Микроскопическая техника: Руководство / Под редакцией Саркисова Д.С. и Перова Ю.Л.— М.: Медицина, 1996. ISBN 5-225-02-820-9).
4. Шмидт В. Ткани животных организмов в поляризованном свете. – F. Cohen, Bonn, 1924.
5. Кактурский Л.В. Поляризационная микроскопия. Микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1996.

6. Целлариус Ю.Г., Семенова Л.А., Непомнящих Л.М. Патологоанатомическая диагностика преднекротических изменений и инфаркта миокарда методом поляризационной микроскопии. Методические рекомендации. – М.: Минздрав СССР, 1979.
7. Габинский Я.Л., Яковлев Ю.Р., Яковлева С.Б. Текстуальный атлас: инфаркт миокарда и информационно-аналитические возможности поляризационной микроскопии. – Екатеринбург: Изд. Екатеринбургский инфарктный центр, 1994.
8. Гринберг Л.М. Поляризационная микроскопия в патологоанатомической практике. – Екатеринбург, 1995