

На правах рукописи

ГУТОР

Сергей Сергеевич

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И
МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСТОЯНИЯ МИОКАРДА ДЛЯ
ИСХОДОВ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ
КАРДИОМИОПАТИЕЙ

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Суходоло Ирина Владимировна

Официальные оппоненты:

Д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патологической анатомии лечебного факультета ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России

Надеев Александр Петрович

Д-р мед. наук, г.н.с. лаборатории функциональной морфологии и патофизиологии ФГБУ «НИИ ФФМ» СО РАМН

Максимов Валерий Федорович

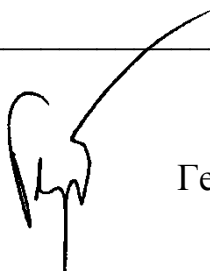
Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2015 года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России и на сайте www.ssmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 201_ года.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Герасимов Александр Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Сердце – орган, болезни которого в XXI веке вышли на 1 место по смертности и инвалидизации в России и мире. Основная масса сердца – миокард, который состоит из кардиомиоцитов и межклеточного матрикса, обеспечивает интенсивную работу органа и поддерживает гомеостаз всего организма. Кардиомиоцит – функционально ведущая клетка миокарда, норма и патология которого давно описана. Так, типовой реакцией миокарда на ишемию является гибель кардиомиоцитов, замещение погибших клеток соединительной тканью и гипертрофия живых кардиомиоцитов. Гипертрофия кардиомиоцитов по мере повышения нагрузки на единицу миокардиальной ткани, относительное уменьшение плотности капилляров в миокарде и количества митохондрий в кардиомиоцитах создают предпосылки для «изнашивания» миокарда, механической дисфункции и последующей сердечной недостаточности [Antunes P. et al., 2005]. Эти морфологические изменения в сочетании с разрастанием соединительной ткани приводят к дилатации камер сердца и развитию ишемической кардиомиопатии (ИКМП) [Burch H. A., 1970; Felker G. M., 2002].

Современные методы лечения ИКМП включают в себя реваскуляризацию миокарда, пластику митрального клапана (МК) или его протезирование, реконструкцию полости левого желудочка (ЛЖ), пересадку сердца, искусственный левый желудочек и трансплантацию стволовых клеток [Дземешкевич С.Л., Стивенсон Л.У., 2009; Ватутин Н.Т. и др., 2010; L. Menicanti, M. Di Donato, 2002].

Оптимальным и самым распространенным в качестве хирургического лечения больных ИКМП методом является эндовентрикулопластика по V. Dog в сочетании с аортокоронарным шунтированием [Бойцов С.А. и др., 1999; Дземешкевич С.Л., Стивенсон Л.У., 2009; Н.Ю. Осовская, 2011; В.И. Урсуленко, 2008; В. Maisch, 1996]. Смертность пациентов в раннем послеоперационном периоде составляет 6,9%, а при одновременной пластике МК может достигать 10% [Агеев Ф.Т., 2000; Урсуленко В.И., 2008; Menicanti L., Di Donato M., 2002; Jugdutt V.I., 2003]. Кроме того, в отдаленном послеоперационном периоде у 10-25% пациентов размеры камер сердца и показатели гемодинамики вновь возвращаются к дооперационному состоянию (происходит повторное ремоделирование ЛЖ) [Агеев Ф.Т. и др., 2004; Дземешкевич С.Л., 2009]. Возможность прогнозирования неблагоприятных исходов на до- или интраоперационном этапе позволит скорректировать тактику хирургического лечения и послеоперационного ведения пациента в пользу уменьшения риска неблагоприятных исходов.

Степень разработанности темы исследования. Поиски морфологических предикторов неблагоприятных послеоперационных исходов хирургического лечения больных кардиомиопатиями зарубежные и российские исследователи начали вести более 15 лет назад [Шипулин В.М. и др., 2009; Казаков В.А., 2011; Ferramola ML et al., 2012; Moreira L.F., 2001].

В современной литературе, посвященной проблемам прогнозирования исходов ИКМП, ключевая роль отводится морфофункциональному состоянию миокарда и его морфометрической оценке [Ушаков А.В., Горянская И.Я., 2012; Беленков Ю.Н., 2002; Бойцов С.А. и др., 1999; Казаков В.А., 2010, 2011; Hare JM et al., 1992].

Литературные данные свидетельствуют о достоверном увеличении диаметра кардиомиоцитов (КМЦ) левого желудочка у больных ИКМП, однако, исследователи трактуют этот факт по-разному [Казаков В.А., 2011; Ferramola ML et al., 2012; Moreira L.F., 2001]. Так, например, данный фактор является предиктором повторного ремоделирования ЛЖ по данным исследований Moreira L.F. и соавторов [Moreira L.F. et al., 2001], но не является таковым по данным исследований В.А. Казакова [Казаков В.А., 2011]. Другие исследователи говорят о том, что в качестве прогностического фактора повторного ремоделирования ЛЖ можно использовать количество кардиомиоцитов в состоянии апоптоза [Canty JM Jr, Suzuki G., 2012].

В 2007 был запатентован «Способ прогнозирования послеоперационного ремоделирования сердца у больных ишемической кардиомиопатией» (патент №2310372). Способ позволяет прогнозировать повторное ремоделирование сердца в отдаленном послеоперационном периоде (через 1 год после операции), основываясь на одновременном наличии патоморфологической картины миокардита и следующих показателей состояния миокарда: паренхиматозно-стромальное отношение $<1,5$, трофический индекс $<0,010$, зона перикапиллярной диффузии (отношение диаметра капилляров к их удельному объему) >1000 мкм и индекс Керногана (отношение толщины сосудистой стенки артериол к радиусу их просвета) $>1,6$ [В. М. Шипулин, И. В. Суходоло, В. А. Казаков и др., 2007].

Среди клинических характеристик пациента предикторами повторного ремоделирования ЛЖ и прогрессирования сердечной недостаточности являются возраст более 55 лет и показатели конечно-систолического индекса (КСИ) ЛЖ более 80 мл/м² [Казаков В.А., 2011].

Вместе с тем, хирургическое лечение ИКМП нередко сопровождается смертью пациентов в раннем послеоперационном периоде. Среди большого количества параклинических и клинических дооперационных показателей (размеры ЛЖ, конечно-систолический индекс (КСИ) ЛЖ, фракция выброса (ФВ) ЛЖ, митральная недостаточность, количество сегментов, пораженных асинергией, легочная гипертензия и т.д.) не выявлено ни одного ведущего для прогноза ранней смерти больного после оперативного вмешательства [Yamaguchi A. et al., 2005; Fishbein M.C. et al., 1978; Athanasuleas C.L. et al., 2004; Yamaguchi H. et al., 2000; Schroder J.N. et al., 2005; Shipulin V. et al., 2012; Di Donato M. et al., 1997; Wakasa S., 2014]. Морфологические предикторы ранней послеоперационной гибели больных ИКМП не изучены.

Данные эхокардиографии (ЭхоКГ) и магнитно-резонансной томографии сердца говорят о различном функциональном состоянии миокарда стенок ЛЖ, а также о неравномерности вовлечения миокарда в процесс ремоделирования

сердца при ИКМП. Это обстоятельство актуализирует вопрос прогностической значимости именно морфологических показателей миокарда с учетом его функционального состояния в месте взятия биопсии.

Ремоделирование сердца вовлекает в свою орбиту большое количество местных тканевых, клеточных и молекулярных факторов, инициирующих и усугубляющих патологический процесс [Дземешкевич С.Л., Стивенсон Л.У., 2009]. В этой связи понятно желание исследователей сопоставить глубину морфологических изменений в миокарде с колебаниями количества молекулярных маркеров в периферической крови больных ИКМП. Кандидатами на молекулярные маркеры неблагоприятных исходов до- и послеоперационного течения ИКМП являются: предшественники натрийуретического пептида (pro-ANP, NT-proBNP), маркеры обмена коллагена (матриксные металлопротеиназы 1, 3, 9 и их ингибиторы 1, 2, С-терминальный пропептид коллагена) и цитокины (TGF- β , IL-6, α -ФНО, hs-CRP) [Дядык А.И. и др., 2008]. Однако же, системных исследований по этому поводу проведено не было.

Цель: оценить значимость морфологических и молекулярных показателей состояния миокарда, как прогностических маркеров ранней послеоперационной смертности и неблагоприятных отдаленных результатов хирургического лечения больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой.

Задачи:

1. Сопоставить морфофункциональное состояние миокарда левого желудочка с различным характером кинеза его стенок (нормо-, гипо-, дис- и акинез) по данным ЭхоКГ у больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой.

2. Выявить прогностическую значимость морфологических и морфометрических показателей миокарда ушка правого предсердия и ЛЖ у больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой.

3. Выявить прогностическую значимость предшественников натрийуретических пептидов (pro-ANP, NT-proBNP), биохимических маркеров обмена коллагена (MMP-1,-3,-9, TIMP-1,-2, С-терминальный пропептид коллагена) и цитокинов (TGF- β , IL-6, α -ФНО, hs-CRP) для исходов хирургического лечения больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой.

4. Разработать программу для прогнозирования неблагоприятных результатов хирургического лечения больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой.

Научная новизна. Впервые дана описательная и морфометрическая характеристика миокарда стенок ЛЖ больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой с учетом сократительной способности в зоне проведения биопсии. Показано, что миокард из разных зон кинеза стенок ЛЖ характеризуется сочетанием различных патологических изменений КМЦ и

стромы. Впервые установлено, что для получения прогностически ценной информации на основании морфометрического анализа биоптата необходимо учитывать именно сократительную способность миокарда, а не его топографию. Впервые показано, что морфологическое изучение участков гипо- и дискинеза стенки ЛЖ позволяет прогнозировать раннюю послеоперационную смертность, а нормо- и акинеза – повторное remodelирование ЛЖ в отдаленном послеоперационном периоде. Впервые доказано, что морфометрические характеристики миокарда ушка правого предсердия (УПП) наиболее информативны для прогноза ранних и поздних послеоперационных осложнений при ИКМП.

Впервые проведено иммуногистохимическое (ИГХ) фенотипирование инфильтрата миокарда, являющегося признаком клинически не идентифицированного миокардита. Установлено, что клетки воспалительного инфильтрата являются преимущественно CD-3+, CD-8+, что свидетельствует об интенсификации Т-клеточного иммунного ответа.

Проведена оценка молекулярных показателей периферической венозной крови: снижение концентрации TGF- β является предиктором ранней послеоперационной смерти, а повышение концентрации MMP-3 и -9 – отдаленного послеоперационного прогрессирования сердечной недостаточности у больных ИКМП. Разработаны две программы для ЭВМ, позволяющие в автоматическом и полуавтоматическом режимах проводить морфометрию гранул натрийуретического пептида на электронограммах миокарда УПП, удельные объемы стромы и паренхимы, ядер клеток стромы и кардиомиоцитов, общего отека миокарда на светооптических микрофотографиях срезов, окрашенных гематоксилином и эозином.

Теоретическая и практическая значимость. Описательная и количественная оценка миокарда УПП и разных отделов стенки ЛЖ с учетом его сократительной способности (по данным ЭхоКГ) позволила проанализировать морфофункциональные взаимоотношения в миокарде ЛЖ у лиц с ишемической кардиомиопатией и передневерхушечной аневризмой. Анализ участков миокарда гипо- и дискинеза ЛЖ служит для предикции ранней послеоперационной смерти, а участки нормо- и акинеза ЛЖ – для отдаленного послеоперационного прогрессирования сердечной недостаточности. Установлено, что наиболее ценными в прогностическом плане являются участки миокарда УПП: их морфометрический анализ позволяет прогнозировать и ранние, и отдаленные неблагоприятные исходы хирургического лечения больных ИКМП. Оценка прогностической значимости морфометрических и молекулярных показателей состояния миокарда позволит создать оптимальный алгоритм тактики хирургического лечения больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой. По полученной в работе системе уравнений можно на дооперационном этапе по удельному объему (УО) ядер клеток стромы и диаметру капилляров миокарда УПП предсказать количественные характеристики геометрии и функционального состояния

левого желудочка через год после вентрикулопластики. Разработанное программное обеспечение может быть использовано для сокращения сроков проведения и объективизации исследования миокарда на светооптическом и ультраструктурном уровнях.

Методология и методы исследования. Дизайн исследования позволяет провести широкую оценку морфологических и молекулярных показателей в репрезентативной группе больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой, сопоставить эти данные с ранней послеоперационной летальностью и клинической оценкой эффективности работы сердца в отдаленном послеоперационном периоде.

Адекватный набор современных гистологических, иммуногистохимических, электронно-микроскопических, морфометрических и биохимических методов позволяет получить новые знания, достоверность и значимость которых будет оценена с помощью адекватных статистических методов исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. Морфофункциональное состояние миокарда больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой не одинаково в различных участках стенки ЛЖ и представлено сочетанием в разной степени выраженных диффузных и очаговых изменениях паренхимы и стромы органа, что обуславливает различия прогностической значимости оценки биоптатов из отделов сердца с различным кинезом.

2. Наибольшей прогностической значимостью обладает анализ миокарда УПП, так как его морфометрические характеристики позволяют предсказывать ранние и отдаленные неблагоприятные исходы у больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой.

3. Исследование молекулярных маркеров прогрессирования хронической сердечной недостаточности, воспаления и дегенерации соединительнотканного матрикса миокарда в крови больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой позволяет прогнозировать ранние и отдаленные послеоперационные исходы хирургического лечения на дооперационном этапе.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов исследования обеспечена достаточным объемом выборки, сравнительной однородностью группы больных, использованием стандартизированных методов гистологических, иммуногистохимических, биохимических исследований, применением адекватных методов статистической обработки данных.

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе, 4 коллективных монографии, 2 работы в зарубежной печати, 6 полнотекстовых статей в журналах из перечня ВАК РФ, получено 1 свидетельство на программу для ЭВМ.

Основные положения работы доложены и обсуждены на Всероссийской 68-ой и 70-ой Итоговой научной студенческой конференции им. Н.И. Пирогова

(Томск, 2009, 2011); Юбилейном десятом ежегодном семинаре «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии» (Томск, 2009); XVII международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Современные техника и технологии» (Томск, 2011); международной конференции «ImageJ User and Developer Conference» (Luxembourg, Mondorf-Les-Bains, 2012); Всероссийской конференции молодых ученых «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии» (Томск, 2013); The Third Postgraduate Consortium International Workshop – ICST 2013 (Томск, 2013); XIV ежегодном научно-практическом семинаре «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии» (Томск, 2014); Объединенном XII Конгрессе МАМ и VII Съезде ВНОАГЭ (Тюмень, 2014) и совещании кафедры морфологии и общей патологии (Томск, 2014) ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

Диссертация изложена на 131 странице машинописного текста, содержит 28 таблиц и иллюстрирована 46 рисунками. Состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Список литературы включает в себя 146 источников (53 на русском и 93 на иностранном языках).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн и объект исследования. Объектом исследования стал миокард 36 больных ИКМП обоого пола (средний возраст составил $56,2 \pm 7,8$ лет) с передневерхушечной аневризмой. У всех пациентов во время операции на этапе аневризмэктомии брали биопсии миокарда передней, задней, боковой стенки ЛЖ и межжелудочковой перегородки (МЖП) со стороны ЛЖ с сопоставлением зоны взятия материала с её сократимостью (участки нормо-, гипо-, а- и дискинеза), и во время канюляции предсердия – миокард УПП. Для поиска и оценки молекулярных маркеров на дооперационном этапе забиралась венозная кровь у 77 больных ИКМП, и у 17 добровольцев сопоставимого возраста без заболеваний сердечно-сосудистой системы, выступивших в качестве контрольной группы исследования. Все пациенты находились на стационарном лечении в отделении сердечно-сосудистой хирургии ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН с 2009 по 2013 года. На основании изменения ФВ в до- и послеоперационных ЭхоКГ данных все обследованные пациенты были разделены на 3 группы: группа I с неизменной или уменьшенной ФВ через год, группа II с увеличенной ФВ через год, группа III – пациенты, умершие в раннем послеоперационном периоде (30 дней). Объем выборок в различных группах представлен в *Таблица 1*.

Суммарный объем забираемого для изучения материала составлял не более 2 мм^3 для биоптата и до 8 мл для крови.

Таблица 1. Количество пациентов, у которых был взят материал (биоптат и кровь) в различных группах исследования

Группа	Материал	Кол-во материала	Кол-во пациентов
Группа I (с неизменной или уменьшенной ФВ через год)	Биоптат	35	7
	Кровь	13	13
Группа II (с увеличенной ФВ через год)	Биоптат	60	14
	Кровь	34	34
Группа III (пациенты, умершие в раннем послеоперационном периоде)	Биоптат	45	9
	Кровь	4	4
Пациенты, которые не прошли повторное обследование	Биоптат	30	6
	Кровь	26	26
Группа больных ИКМП (Группы I-III + пациенты, отдаленный послеоперационный исход которых не удалось оценить по различным причинам)	Биоптат	180	36
	Кровь	77	77
Контрольная группа	Кровь	17	17

Клинические критерии отбора пациентов, включенных в настоящее исследование:

- наличие участков а- и дискинеза ЛЖ;
- конечно-диастолический индекс ЛЖ $> 100 \text{ мл/м}^2$;
- конечно-систолический индекс ЛЖ $> 80 \text{ мл/м}^2$;
- конечно-диастолическое давление ЛЖ $> 30 \text{ мм рт. ст.}$;
- фракция выброса ЛЖ $< 40\%$;
- длительность ишемической болезни более 1 года;
- стеноз $> 75\%$ ствола левой коронарной артерии или проксимальный стеноз передней нисходящей артерии, или стенозы, превышающие 75% , не менее чем в двух коронарных артериях.

Критериями исключения пациентов из исследования считали:

- наличие органических пороков сердца ревматической и инфекционной этиологии;
- острый инфаркт миокарда;
- острое нарушение мозгового кровообращения;
- правожелудочковая недостаточность;
- тяжелая легочная гипертензия не связанная с митральной недостаточностью.

У всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании, одобренном этическими комитетами ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России и ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН.

Клинические и инструментальные методы исследования. На дооперационном этапе все пациенты проходили клиническое обследование, включающее ЭхоКГ на аппарате Acuson 128 XR/10. Для изучения геометрии

ЛЖ и его систолической функции оценивались следующие показатели: конечно-диастолический индекс (КДИ) ЛЖ, КСИ ЛЖ, ФВ ЛЖ. Для изучения нарушений локальной сократимости миокарда ЛЖ была оценена сократимость 16 его сегментов по 4-х бальной системе: 1 – нормокинез, 2 – гипокинез, 3 – акинез, 4 – дискинез. Была оценена степень митральной недостаточности. Все клинические и инструментальные методы исследования проводились в ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН.

Гистологические методы. Образцы миокарда, полученные интраоперационно, фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, промывались в проточной воде и обезвоживались в растворе на основе изопропилового спирта IsoPrep (БиоВитрум, Санкт-Петербург). Далее – заливались в парафиновую среду для заливки HISTOMIX® (БиоВитрум, Санкт-Петербург). Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм, полученные при помощи санного микротомы MC-2, окрашивали гематоксилином и эозином (BioOptica, Италия). Окрашенные препараты заключались в монтирующую среду BioMount (BioOptica, Италия). При ИГХ исследовании оценивались CD-маркеры: CD3, CD68, CD34 (Novocastra Laboratories, UK), CD8, CD4, CD20 (Thermo Scientific, USA). Препараты изучались в световом микроскопе Axioskop 40 (CarlZeiss, Германия). Микрофотографии препаратов получали с помощью фотокамеры Canon G10 (Япония).

Методы электронно-микроскопического исследования. Для морфометрической оценки гранул натрийуретического пептиды были взяты образцы миокарда УПП у 22 больных ИКМП фиксировали в 2,5 % растворе глутарового альдегида на 0,2М какодилатном буфере с pH = 7,2 при температуре +4 °С и постфиксировали в 1 % растворе OsO₄ на холоде в течение 4 часов. В дальнейшем дегидратировали биоптаты в этаноле восходящей концентрации, заливали в смесь эпона и аралдита. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB III (Швеция). Полутонкие срезы окрашивали 1 % раствором азура II и просматривали в световом микроскопе. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и изучали их в электронном микроскопе JEM-100 CX (Япония).

Биохимические методы. Определение содержания в крови больных ИКМП предшественников натрийуретических пептидов (pro-ANP и NT-proBNP), матриксных металлопротеиназ (MMP) 1, 3, 9 и тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMP) 1 и 2, цитокинов (TGF- β , IL-6, α -ФНО, hs-CRP) и C-терминального пропептида коллагена проводили иммуноферментным методом с помощью стандартных наборов фирм: pro-ANP и NT-proBNP – Biomedica (Австрия); MMP-1 и MMP-9 – Quantikine® (R&D Systems, США); MMP-3, TIMP-2 и TIMP-1 – Biosource (Бельгия), Human TGF-бетта 1 Platinum – eBioscience (Австрия), IL-6, альфа-ФНО – БЕСТ (Россия), C-Terminal Propeptide – BioPorto Diagnostics (Дания), hs-CRP – ALPCO Diagnostics (США).

Морфометрические и статистические методы исследования. Проводили морфометрию УО капилляров, паренхимы, стромы, ядер КМЦ и

клеток стромы, перинуклеарного отека в кардиомиоцитах и интерстициального отека методом точечного счета в 5–7 случайных полях зрения (1 мм^2) с помощью программ обработки графических изображений (AxioVision, CarlZeiss; ImageJ, NIH USA) [Автандилов, Г. Г., 1990; Глаголев, В. В., 1968]. Измерение диаметров КМЦ и капилляров производили на продольных срезах на уровне ядра КМЦ или эндотелиоцита. Дополнительно оценивали: паренхиматозно-стромальное отношение (ПСО), трофический индекс (ТИ) и зону перикапиллярной диффузии (ЗПКД). ПСО – это отношение УО паренхимы миокарда к УО стромы; ТИ – это отношение УО капилляров к УО паренхимы; ЗПКД – отношение диаметра капилляров к их УО [Автандилов, Г. Г., 1990]. Морфометрию ультраструктур проводили на оцифрованных негативных фотопластинках с увеличением 5600. Измеряли следующие морфометрические характеристики гранул предсердных КМЦ: площадь, циркулярность (приближенность к вписанной окружности), округлость (приближенность к описанной окружности), максимальный, минимальный диаметры и их отношение, количество и УО гранул в 1 мкм^2 ткани [Автандилов, Г. Г., 1990]. Для автоматизации морфометрии миокарда разработаны алгоритмы нахождения УО паренхимы, ядер КМЦ, ядер клеток стромы, стромы и отека на светооптическом уровне и гранулометрии на электронных микрофотографиях в виде модулей к программе ImageJ. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ SPSS 17 for Windows. Все статистические показатели считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Морфология миокарда ЛЖ больных ИКМП

Морфологические изменения в ЛЖ были изучены в передней, боковой, задней стенках ЛЖ и МЖП со стороны ЛЖ с учетом функционального состояния сегмента по данным ЭхоКГ. Соотношение локализации биопсии и сократительной способности миокарда в этом сегменте находились в статистической зависимости ($X = 113,949$, $p < 0,001$). В случаях, когда кинез боковой и задней стенок совпадал, то совпадали и морфологические находки в миокарде обоих отделов сердца с незначительными отличиями, тогда как зоны с различным функциональным состоянием сильно отличались морфологически. На основании полученных нами данных можно предположить, что локализация миокарда имеет второстепенное значение по сравнению с его функциональным состоянием в месте взятия биопсии.

1.1. Морфология миокарда стенки ЛЖ больных ИКМП в зоне нормокинеза

При микроскопическом исследовании нормокинетического миокарда стенки ЛЖ повсеместно встречались гипертрофия и полиморфизм ядер КМЦ. Более чем в 50% случаев, в нормокинетическом миокарде стенки ЛЖ больных ИКМП встречался перинуклеарный отек КМЦ, неравномерное окрашивание цитоплазмы КМЦ, интерстициальный отёк, расширение перикапиллярных пространств. Менее чем в 50% случаев, в нормокинетических участках стенки миокарда ЛЖ встречалась волнообразная деформация КМЦ. Липоматоз в

нормокинетических участках миокарда ЛЖ больных ИКМП, умерших в раннем послеоперационном периоде (III группа), встречается чаще, чем у пациентов II группы с увеличенной ФВ через год. Диаметр капилляров был статистически достоверно снижен в I группе пациентов ($t=-2,51$; $p=0,03$) и составил $-4,658\pm 0,531$, по сравнению с аналогичным показателем во II группе $-5,605\pm 0,588$.

1.2. Морфология миокарда стенки ЛЖ больных ИКМП в зоне гипокинеза

При микроскопическом исследовании гипокинетического миокарда стенки ЛЖ повсеместно регистрировалась кардиомегалия, полиморфизм ядер КМЦ, неравномерное уплотнение цитоплазмы, которое нередко сочеталось с миоцитололизом и глыбчатым распадом КМЦ. У 70% пациентов в миокарде стенки ЛЖ больных ИКМП из зоны гипокинеза наблюдался в разной степени выраженный диффузный, периваскулярный или плексиморфный фиброз, в 35% случаев сочетающийся с небольшим количеством лимфоцитов, расположенных периваскулярно или диффузно в соединительной ткани. Фиброз был более выражен в зонах гипокинеза по сравнению с зонами нормокинеза у одного и того же пациента. Более, чем у половины пациентов в гипокинетическом миокарде наблюдались ветвящиеся и звездчатые КМЦ, перинуклеарная вакуолизация КМЦ, скопления гранул липофусцина и утолщение эндокарда.

Статистически достоверных отличий в частотах встречаемости данных признаков среди групп с различным послеоперационным исходом найдено не было. Морфометрия миокарда из зоны гипокинеза стенки ЛЖ больных ИКМП показала наличие статистически достоверных отличий в УО интерстициального отека в группах II и III, который составил в группе II с увеличенной ФВ через год $-0,039$ ($0,024-0,078$), и в III группе пациентов, умерших в раннем послеоперационном периоде, $-0,017$ ($0,012-0,023$).

1.3. Морфология миокарда ЛЖ больных ИКМП в зоне акинеза

Миокард из зоны акинеза также демонстрировал полиморфизм, увеличение размеров и гиперхромную ядра КМЦ. В акинетических участках миокарда отмечался фиброз разной степени выраженности, в 58% сопровождающийся инфильтрацией соединительной ткани. Более чем у половины пациентов в акинетическом миокарде ЛЖ наблюдались спазм артериол и общий интерстициальный отек. Немного реже встречались пролиферация гладкомышечных клеток в стенке артериол, миоцитололиз, неравномерное окрашивание цитоплазмы, фрагментация и глыбчатый распад КМЦ. Изредка встречались перинуклеарный отёк, звездчатые и ветвящиеся КМЦ.

В акинетическом миокарде ЛЖ больных ИКМП плексиморфный кардиомиофиброз встречался статистически достоверно чаще в I группе, чем во II группе, а расширение перикапиллярных пространств статистически достоверно чаще возникало в III группе по сравнению со II группой. В миокарде ЛЖ из зоны акинеза УО ядер клеток стромы больше в I группе ($0,019\pm 0,009$), чем во II группе ($0,010\pm 0,007$). УО стромы и перинуклеарного отека, ПСО выше, а УО паренхимы ниже в I группе, по сравнению с III группой.

1.4. Морфология миокарда ЛЖ больных ИКМП в зоне дискинеза

При микроскопическом исследовании миокарда дискинетической стенки ЛЖ больных ИКМП повсеместно встречались увеличение размеров и полиморфизм ядер КМЦ, в 50% сопровождающиеся гиперхромией. В отличие от акинетического миокарда ЛЖ больных ИКМП в дискинетическом практически повсеместно встречался плексиморфный кардиомиофиброз и в 70% ветвление КМЦ. У половины пациентов в дискинетическом миокарде ЛЖ больных ИКМП наблюдался перинуклеарный отек КМЦ, миоцитоллиз, неравномерное уплотнение цитоплазмы КМЦ, интерстициальный отек.

В миокарде ЛЖ больных ИКМП из зоны дискинеза статистически достоверно отличалась частота встречаемости перинуклеарного отека у пациентов I-III групп с различными послеоперационными исходами. Морфометрия миокарда в зоне дискинеза показала, что УО паренхимы и диаметр КМЦ статистически достоверно больше в I группе (с неизменной или уменьшенной ФВ через год после операции), составляя – $0,620 \pm 0,059$ и $23,0$ ($23,9-27,2$), соответственно, по сравнению с III группой пациентов, умерших в раннем послеоперационном периоде, – $0,481 \pm 0,130$ и $19,2$ ($18,6-20,8$). УО стромы меньше во II группе ($0,209 \pm 0,097$), чем в III группе ($0,323 \pm 0,115$).

2. Зависимость морфологических изменений и сократительной способности миокарда ЛЖ

Нормокинетические участки миокарда ЛЖ больных ИКМП характеризовались полиморфизмом и увеличением размеров ядер КМЦ, наличием участков перерастяжений «миокардиальных волокон», малым количеством соединительной ткани. В зонах гипокинеза утолщаются прослойки соединительной ткани между КМЦ и вокруг сосудов, появляется перинуклеарный отек КМЦ, неравномерное окрашивание цитоплазмы КМЦ, эндокард незначительно утолщен (Рисунок 1).

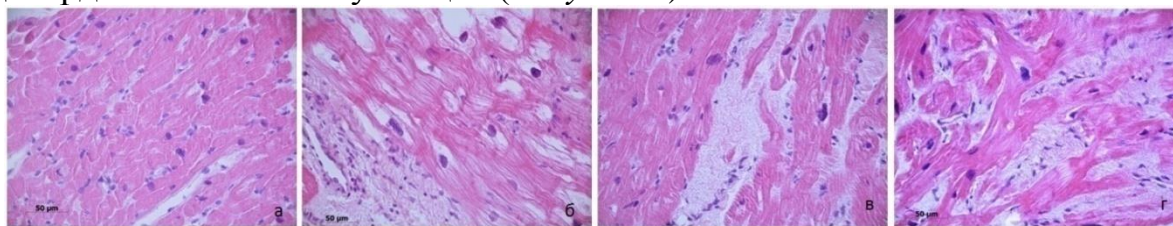


Рисунок 1. Миокард ЛЖ больных ИКМП: а – из зоны нормокинеза, полиморфизм и гипертрофия ядер КМЦ, волнообразная деформация волокон; б – из зоны гипокинеза, слабовыраженный диффузный фиброз, периваскулярный фиброз, неравномерное окрашивание цитоплазмы КМЦ; в – из зоны акинеза, «лакунарный» фиброз, ветвление КМЦ; з – из зоны дискинеза, диффузный фиброз, звездчатые КМЦ, неравномерное окрашивание цитоплазмы КМЦ. Ув. – 400х. Окраска: гематоксилин-эозин.

В зонах акинеза, на фоне диффузного фиброза, образуются «лакуны», общее количество КМЦ снижается. Оставшиеся КМЦ повреждены в меньшей степени, чем в зонах гипокинеза. Появляется больше ветвлений «миокардиальных волокон» и звездчатых КМЦ. В зонах а- и дискинеза встречается пролиферация гладкомышечных клеток стенок артериол. В дискинетических участках миокарда ЛЖ больных ИКМП фиброз ярко выражен,

в КМЦ обнаруживаются вакуолизация и неравномерное окрашивание цитоплазмы, фрагментация и «расщепление» миофибрилл. В эндокарде таких участков появляются капилляры и более крупные сосуды, нередко воспалительная инфильтрация. Обнаружены статистически значимые корреляционные связи кинезии сегмента в ряду нормо-гипо-а-дискинез с УО паренхимы ($r=-0,205$, $p=0,02$), УО стромы ($r=0,310$, $p<0,001$) и УО перинуклеарного отека ($r=-0,216$, $p = 0,02$).

3. Морфология миокарда ушка правого предсердия больных ИКМП

При микроскопическом исследовании миокарда УПП 36 больных ИКМП повсеместно встречалась увеличение размеров и полиморфизм ядер КМЦ, волнообразная деформация КМЦ. Более чем у половины пациентов в миокарде УПП наблюдались: перинуклеарный отек, гиперхроматоз ядер КМЦ, неравномерное окрашивание цитоплазмы и глыбчатый распад миофибрилл КМЦ, фиброз разной степени выраженности, интерстициальный отек. Реже встречались: кариолизис, лизис «миокардиальных волокон», звездчатые КМЦ, дискомплексация миокардиальных волокон, спазм артериол, незначительный инфильтрат, выбухание ядер эндотелиоцитов в просвет капилляров, полнокровие и утолщение эндокарда.

Гиперхромия и лизис ядер КМЦ встречался статистически достоверно чаще в III группе пациентов, по сравнению со II группой. Морфометрия миокарда УПП больных ИКМП показала, что УО ядер клеток стромы статистически достоверно ниже в I группе и составил - 0,021 (0,015-0,033), по сравнению со II группой – 0,012 (0,006-0,017). При этом ядерно-цитоплазматическое отношение в КМЦ I группы была достоверно выше ($0,062\pm 0,022$), чем в III группе пациентов, умерших в раннем послеоперационном периоде ($0,042\pm 0,010$). ТИ был достоверно выше во II группе ($0,137\pm 0,047$), по сравнению с III группой ($0,093\pm 0,039$). Корреляционный анализ показал наличие прямой статистической зависимости средней силы ($r=0,378$; $p=0,03$) между диаметром КМЦ и УО перинуклеарного отека, обратной статистической зависимости средней силы ($r=-0,451$; $p=0,01$) между УО паренхимы и диаметром капилляров, обратной статистической зависимости средней силы ($r=-0,443$; $p=0,001$) между УО стромы и УО капилляров. Данные корреляционные зависимости можно трактовать следующим образом: увеличение диаметра КМЦ обусловлено не только гипертрофией КМЦ, но и внутриклеточным отеком, при этом гипертрофия кардиомиоцитов, которая является единственным механизмом увеличения удельного объема паренхимы миокарда, в сочетании с увеличением жесткости стромы, приводит к сдавлению капилляров и уменьшению их диаметра, а разрастание соединительной ткани протекает без пропорционального увеличения удельного объема капилляров.

4. Фенотипирование инфильтрата

Известно, что повторное ремоделирование сердца в послеоперационном периоде у больных ИКМП, как правило, развивается у пациентов с идентифицируемой воспалительной инфильтрацией более 14 клеток на

квадратный миллиметр, являющейся признаком миокардита (В.А. Казаков 2009-2011 гг.). В наших исследованиях инфильтрат идентифицируется у пациентов I и II групп. Для фенотипирования клеток инфильтрата было проведено ИГХ исследование.

По результатам ИГХ исследования можно сделать вывод, что представленный инфильтрат характеризуется наличием CD3+, CD8+ клеток и свидетельствует об активации Т-клеточного звена иммунного ответа (*Рисунок 2, Рисунок 3*), что может быть косвенным свидетельством вирусной этиологии миокардита.

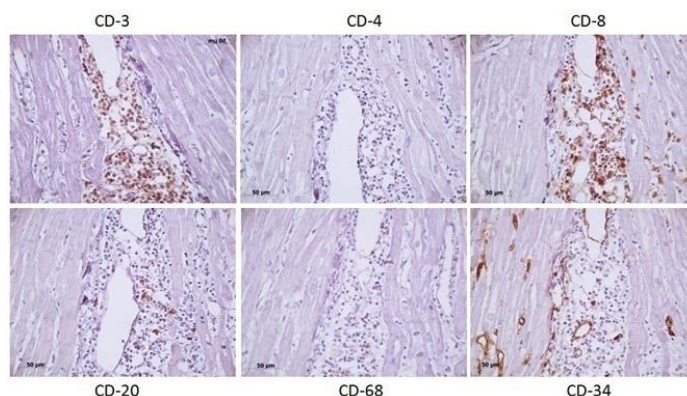


Рисунок 2. Периваскулярный инфильтрат больного ИКМП в группе II с увеличившейся ФВ через год после операции. Ув. 400.

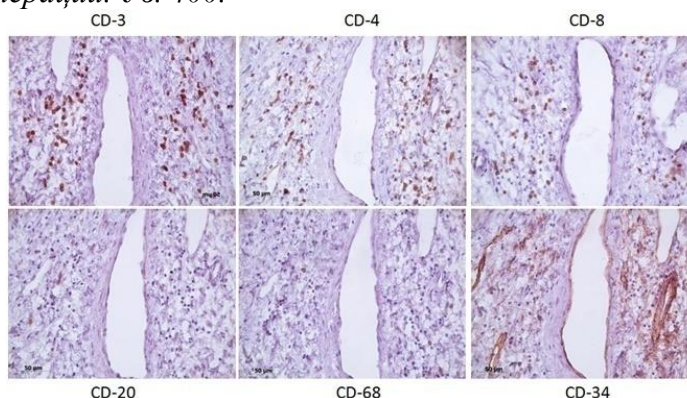


Рисунок 3. Периваскулярный инфильтрат больного ИКМП в группе I с неизменной или уменьшенной ФВ через год после операции. Ув.400.

На основании полученных результатов можно предположить, что наличие CD4+ клеток может служить предиктором неблагоприятного исхода в отдаленном послеоперационном периоде (*Рисунок 2, Рисунок 3*). Немногочисленные литературные источники, в которых упоминается проведение ИГХ исследования инфильтрата миокарда, как способа подтверждения его наличия у больных ИКМП, также свидетельствуют в пользу CD-3+, CD-68+ и CD-45+ клеток (Seizer P. et al., 2010; Lamparter S. et al, 2006).

6. Влияние пластики МК на выживаемость больных ИКМП в раннем послеоперационном периоде

Во время проведения вентрикулопластики по V. Dog в сочетании с АКШ, по показаниям, проводилась пластика МК опорным кольцом (13 человек, из которых 6 умерших в раннем послеоперационном периоде – 1 группа, оставшиеся 7 человек – 2 группа).

В ходе исследования биопсий миокарда ЛЖ и УПП повсеместно отмечали гиперхроматоз ядер КМЦ, признаки сегментарных и субсегментарных контактур КМЦ, перинуклеарную вакуолизацию КМЦ, диссоциацию и фрагментацию КМЦ, диффузный и периваскулярный кардиосклероз, отек стромы и расширение перикапиллярных пространств. В миокарде ЛЖ больных ИКМП с пластикой МК в 100% случаев определялась в разной степени выраженная инфильтрация круглоядерными клетками. Однако, у пациентов, умерших в раннем послеоперационном периоде (1 группа), инфильтрация была более интенсивная и обнаруживалась во всех исследуемых участках стенки сердца в том числе, в УПП, тогда как у пациентов, выживших в раннем послеоперационном периоде (2 группа), инфильтрат был менее выражен и, как правило, определялся не во всех стенках.

Статистически достоверные отличия с помощью t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни были получены между УО паренхимы миокарда боковой стенки ЛЖ ($0,523 \pm 0,014$ в 1 группе и $0,701 \pm 0,064$ во 2 группе), ТИ миокарда МЖП ($0,12 \pm 0,02$ в 1 группе и $0,09 \pm 0,03$ во 2 группе), интерстициального отёка УПП в 1 группе $0,067$ ($0,047-0,081$) и во 2 группе $0,133$ ($0,122-0,151$), ПСО миокарда боковой стенки ЛЖ в 1 группе $2,09$ ($1,80-2,34$) и во 2 группе $10,13$ ($8,79-10,32$), ЯЦО передней стенки ЛЖ в 1 группе $0,039$ ($0,031-0,050$) и ($0,028$ ($0,014-0,028$) во 2 группе.

Таким образом, снижение паренхиматозно-стромального отношения миокарда боковой стенки ЛЖ может служить маркером ранней послеоперационной смерти у больных ИКМП после вентрикулопластики по V. Dog в сочетании с аорткоронарным шунтированием и пластикой МК.

7. Концентрация натрийуретических пептидов, биохимических маркеров обмена коллагена и цитокинов в крови больных ИКМП

В связи с тем, что до- и интраоперационное исследование миокарда нельзя рекомендовать в качестве скринингового метода прогнозирования, перспективно выявление молекулярных предикторов послеоперационного ремоделирования сердца в крови больных.

В группе больных ИКМП концентрация pro-ANP и NT-proBNP в крови статистически достоверно выше по сравнению с группой здоровых добровольцев (критерий Шапиро-Уилка равнялся $0,912$ и $0,733$ соответственно при $p < 0,001$): pro-ANP составил $6,53$ ($3,93-8,94$) нмоль/л, тогда как в группе контроля – $2,42$ ($1,78-2,77$) нмоль/л; NT-proBNP составил $39,35$ ($23,05-71,26$) фмоль/л, а в группе контроля $6,12$ ($4,45-8,25$) фмоль/л.

С помощью логистической регрессии была получена статистическая модель, позволяющая предсказывать на основе концентрации NTproBNP в периферической крови наличие ИКМП:

1. Вероятность отнесения к группе с ИКМП(p) = $e^f / (1 + e^f)$, где $f = -2,584 + 0,234 * \text{NTproBNP}$ (фмоль/л).
2. Вероятность отнесения к группе здоровых лиц = $1 - p$.

Статистически значимых различий показателей концентрации pro-ANP, NT-proBNP в крови у больных ИКМП с разной динамикой отдаленного послеоперационного периода найдено не было.

Концентрация TGF- β у пациентов, умерших в раннем послеоперационном периоде, статистически достоверно ниже ($2,382 \pm 1,345$), чем у выживших пациентов I группы ($10,253 \pm 6,036$) и II группы ($10,035 \pm 6,253$).

Степень регресса гипертрофии и восстановления функции ЛЖ после операции во многом определяется выраженностью фиброзных изменений в миокарде, зависящих от наличия/отсутствия воспалительной инфильтрации миокарда, от процессов синтеза белков экстрацеллюлярного матрикса и их деградации. Система матриксных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов (ТИМР) является наиболее важной в местной регуляции этих процессов. Концентрации ММП-3 и ММП-9 в крови у больных ИКМП с разной динамикой отдаленного послеоперационного периода статистически достоверно отличались при $p=0,03$ и составили соответственно (в нг/мл): в I группе (с увеличенной ФВ через год) – 5,70 (5,16-7,05) и 455,8 (426-502,6); во II группе (с неизменной или уменьшенной ФВ через год) – 7,11 (6,25-8,49) и 480,8 (447,4-512,4). Чувствительность (Se) и специфичность (Sp) составили: для ММП-3=7,7 нг/мл, Se=84,6 %, Sp=100,0 %; для ММП-9=102,4 нг/мл, Se=53,8 %, Sp=100,0 %.

8. Прогнозирование геометрических и гемодинамических показателей ЛЖ у больных ИКМП через год после операции

Объективными показателями адекватной работы сердца в послеоперационном периоде являются данные ЭхоКГ: ФВ, КДИ и КСИ. Сопоставление этих показателей, полученных в послеоперационном периоде у больных с морфометрическими показателями миокарда позволило построить уравнения множественной регрессии. Выбор показателей для построения модели проводили на основании корреляционного анализа. Получены следующие статистические модели:

$ФВ(1год) = 70,448 - 537,172 * УО \text{ ядер клеток стромы в УПП.}$

$F=12,44; p=0,001; r^2=0,620.$

$КДИ(1год) = 96,202 - 1,291 * ФВ \text{ исходная} + 6,751 * Д \text{ капилляров в УПП.}$

$F=8,59; p=0,03; r^2=0,457.$

$КСИ(1год) = 108,766 - 1,659 * ФВ \text{ исходная.}$

$F=7,59; p=0,016; r^2=0,369.$

Модели были построены на 21 объекте. Коэффициент детерминации r^2 показывает, какая часть дисперсии искомого признака объяснена дисперсией признаков в уравнении. Отметим, анализ корреляционных связей показал, что наибольшей прогностической значимостью для ЭхоКГ показателей в отдаленном послеоперационном периоде обладает миокард УПП и акинетичного миокарда больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой.

9. Программа для прогнозирования послеоперационного ремоделирования ЛЖ у больных ИКМП

9.1. Автоматизация морфометрии гранул предсердного натрийуретического пептида на электроннограммах УПП больных ИКМП. Предсердные КМЦ на электроннограммах содержали различные по величине электронно-плотные гранулы натрийуретического пептида (НУП), морфометрия которых стала объектом автоматизации. Выделение на изображениях гранул НУП основывались на значительной оптической плотности и степени их округлости (функциями «Порог» и «Анализ частиц»).

Морфометрические показатели электронно-плотных гранул предсердного НУП были получены с помощью разработанного программного комплекса у 22 больных ИКМП I группы (6 человек) и II группы (16 человек). Только отношение минимального диаметра гранул к максимальному (mdevM) достоверно отличалось в группах и обладало достаточной предикторной способностью для создания решающего правила.

Логистической регрессией была получена следующая модель:

$$p(-) = \frac{e^f}{1+e^f}, \text{ где } f = 86,194 - 99,003 * mdevM. Se=0,33; Sp=0,94.$$

Если полученное значение вероятности превышает 0,5 – это свидетельствует о большей вероятности отрицательной послеоперационной динамики.

9.2. Автоматизация морфометрии миокарда ЛЖ больных ИКМП. Для анализа микрофотографий миокарда определена последовательность действий, позволяющая выделять: паренхиму, ядра стромы, строму, отек, - и их УО. На программный комплекс для автоматической морфометрии миокарда было получено свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2013610001. С помощью данной программы был проанализирован миокард 23 пациентов больных ИКМП. Одноименные показатели, полученные в ручном и автоматическом режимах, статистически достоверно попарно отличаются друг от друга по критерию знаковых рангов Уилкоксона, но между ними сохранились корреляционные связи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка значимости морфологических и молекулярных показателей состояния миокарда решает клинические задачи по скринингу и высокоспецифичному прогнозированию неблагоприятных исходов оперативного лечения больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой. Неблагоприятный прогноз может стать показанием для коррекции тактики хирургического вмешательства в пользу первичной пересадки сердца или использования наружного ограничительного эластического мешка. По нашей гипотезе, изменение концентрации молекулярных маркеров в крови может стать основой для скрининговых исследований, тогда как гистологическое состояние миокарда обладает высокой специфичностью для изучаемых неблагоприятных исходов. Для проверки этой гипотезы у больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой оценено морфофункциональное состояние

миокарда УПП и ЛЖ с различным кинезом его стенок по данным ЭхоКГ, концентрации предшественников натрийуретических пептидов (pro-ANP, NT-proBNP), биохимических маркеров обмена коллагена (MMP-1,-3,-9, TIMP-1,-2, С-терминальный пропептид коллагена) и цитокинов (TGF- β , IL-6, α -ФНО, hs-CRP) в крови.

Морфология миокарда ЛЖ у больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой тесно связана с его функциональным состоянием. Кинез участка миокарда коррелирует с уменьшением УО паренхимы, увеличением УО стромы и уменьшением УО перинуклеарного отека в ряду нормо-гипо-а-дискинез. Наши результаты показали, что локализация участка миокарда ЛЖ имеет второстепенное значение, по сравнению с его функциональным состоянием. При этом участки миокарда ЛЖ с различной локальной сократимостью обладают разной прогностической значимостью: участки гипо- и дискинеза ЛЖ позволяют прогнозировать раннюю послеоперационную смертность, а участки нормо- и акинеза ЛЖ – отдаленное послеоперационное прогрессирование сердечной недостаточности.

При микроскопическом исследовании миокарда больных ИКМП повсеместно встречались гипертрофия и полиморфизм ядер КМЦ. В литературе ядрам КМЦ не уделено должного внимания, тогда как, по нашим данным, увеличение частоты встречаемости гиперхроматоза и лизиса ядер КМЦ в миокарде УПП сопряжено с риском смерти в раннем послеоперационном периоде.

Наибольшей прогностической значимостью, по нашим данным, обладает состояние миокарда УПП, позволяющее осуществлять не только прогноз ранних и отдаленных послеоперационных осложнений, но и на основании разработанной системы уравнений предсказать значения геометрических и функциональных характеристик ЛЖ через год после операции. В УПП возможно исследование ультраструктурных характеристик гранул НУП, которые позволяют прогнозировать ухудшение гемодинамических показателей сердца в отдаленном послеоперационном периоде.

Еще одним важным прогностическим фактором неблагоприятных исходов является лимфоцитарная инфильтрация миокарда (не менее 14 клеток на 1 мм²), являющаяся патоморфологическим признаком миокардита, согласно Марбургской классификации [Maisch В., et al., 2000]. По нашим данным, клеточный состав инфильтрата свидетельствует об активации Т-клеточного звена иммунного ответа (CD3+, CD8+), что может быть косвенным свидетельством вирусной этиологии миокардита.

Инфильтрация миокарда круглоядерными клетками регистрировалась у пациентов больных ИКМП с митральной регургитацией 3-4 степени в 100% случаев. По всей видимости, наличие миокардиальной инфильтрации, создает предпосылки для манифестации митральной регургитации и провоцирует увеличение риска ранней послеоперационной летальности до 10%. Снижение ПСО в миокарде боковой стенки ЛЖ в сочетании с распространенным

миокардитом служит маркером ранней послеоперационной смерти у больных ИКМП после вентрикулопластики по V. Dog в сочетании с пластикой МК.

Таким образом, исследование биопсийного материала миокарда больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой имеет значение в прогнозе как ранних, так и отдаленных исходов хирургического лечения этих больных.

По литературным данным, одним из наиболее чувствительных к развитию хронической сердечной недостаточности молекулярных маркеров является НУП и его предшественники [Прибылова Н.Н. и др., 2007; Wang D. Et al., 2014; Grybauskiene R. et al., 2007; Sartipy U. Et al., 2007; Kasama S. et al., 2008; Tsutamoto T. et al., 2001]. Нами была получена статистическая модель, позволяющая предсказывать на основании концентрации NTproBNP в периферической крови наличие ИКМП. Данная модель представляет больше фундаментальный, чем практический интерес, так как иллюстрирует связь между концентрацией NTproBNP в периферической венозной крови и вероятностью наличия ИКМП. Прогностическая значимость предшественников НУП выявлена не была.

Система матричных металлопротеиназ (ММП) и их тканевых ингибиторов (ТИМР) является наиболее важной в местной регуляции процессов синтеза и деградации белков экстрацеллюлярного матрикса. По нашим данным, концентрация ММП-3 и ММП-9 в крови на дооперационном этапе обладает прогностической значимостью, поскольку их количество достоверно выше в группе больных с неблагоприятным исходом отдаленного послеоперационного периода (неизменной или уменьшенной ФВ через год). Таким образом, определение ММП-3,9 можно использовать в качестве скрининговых исследований, но для окончательного прогноза послеоперационных исходов больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой требуются дополнительные исследования. Низкая концентрация трансформирующего фактора роста β является предиктором высокого риска смерти в раннем послеоперационном периоде.

В целях объективизации морфометрических исследований миокарда можно применять разработанный нами программный комплекс для получения морфометрических характеристик в автоматическом и полуавтоматическом режимах.

ВЫВОДЫ

1. Структура миокарда левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой гетерогенна, тесно связана с его функциональным состоянием и представлена сочетанием диффузных и очаговых изменений: участки нормокинеза характеризуются полиморфизмом и гипертрофией ядер кардиомиоцитов, наличием участков перерастяжений миокардиальных волокон, малым количеством соединительной ткани; зоны гипокинеза характеризуются выраженным интерстициальным и периваскулярным фиброзом на фоне перинуклеарного отека кардиомиоцитов; зоны акинеза – образованием «лакун» в участках выраженного фиброза, уменьшением количества кардиомиоцитов, появлением

ветвящихся кардиомиоцитов; зоны дискинеза – выраженным фиброзом, фрагментацией и «расщеплением» кардиомиоцитов, а также гиперплазией мышечной оболочки артериол.

2. Наибольшей прогностической значимостью для исходов хирургического лечения больных ишемической кардиомиопатией обладают морфометрические характеристики миокарда ушка правого предсердия. Снижение трофического индекса и ядерно-цитоплазматического отношения кардиомиоцитов – для предсказания ранней послеоперационной смерти, а диаметр капилляров и удельный объем ядер клеток стромы – для прогнозирования значений анатомических и функциональных характеристик сердца через год после операции (конечно-диастолического индекса и фракции выброса).

3. Низкая концентрация трансформирующего фактора роста - β в сыворотке крови больных ишемической кардиомиопатией на дооперационном этапе является предиктором высокого риска смерти в раннем послеоперационном периоде, тогда как высокие концентрации MMP-3 и MMP-9 могут служить маркерами неблагоприятного отдаленного результата хирургического лечения.

4. Разработан программный комплекс, позволяющий осуществлять автоматизированную морфометрию гранул натрийуретического пептида на электронных микрофотографиях миокарда, удельные объемы стромы и паренхимы, ядер клеток стромы и кардиомиоцитов, общего отека миокарда на светооптических микрофотографиях срезов, окрашенных гематоксилином и эозином и прогнозировать отдаленные неблагоприятные результаты хирургического лечения больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для прогнозирования послеоперационных исходов ишемической кардиомиопатии целесообразно использовать следующие морфометрические характеристики миокарда ушка правого предсердия: удельный объем ядер клеток стромы – для неблагоприятного отдаленного исхода, а ядерно-цитоплазматическое отношение и трофический индекс – для смерти в раннем послеоперационном периоде.

2. Для прогнозирования геометрических и функциональных характеристик левого желудочка (конечно-диастолического и конечно-систолического индексов и фракции выброса) у больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой через год после операции предлагаем использовать предложенную в работе систему уравнений.

3. Дооперационные значения концентраций TGF- β в крови больных ишемической кардиомиопатией с передневерхушечной аневризмой можно использовать как скрининговый метод выявления ранней послеоперационной смертности, а MMP-3 и MMP-9 – неблагоприятного отдаленного результата хирургического лечения.

4. У больных ИКМП после вентрикулопластики в сочетании с аортокоронарным шунтированием и пластикой митрального клапана снижение паренхиматозно-стромального отношения миокарда боковой стенки ЛЖ считать маркером ранней послеоперационной смерти.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клинико-морфологические параллели послеоперационного ремоделирования левого желудочка [Текст] / В. А. Казаков, В. М. Шипулин, С. С. Гутор и др. // **Патология кровообращения и кардиохирургия (0,225)**. – 2009. – №4. – С. 23- 27.

2. Корреляционные взаимосвязи гистоморфометрических показателей миокарда различных отделов сердца в норме и при хронической сердечной недостаточности [Текст] / В. А. Казаков, С. С. Гутор, И. В. Суходоло и др. // **Бюллетень сибирской медицины (0,331)**. – 2009. – №3. –С. 43-48.

3. Морфологические аспекты ремоделирования левого желудочка у больных с обширным постинфарктным кардиосклерозом [Текст] / В. А. Казаков, В. М. Шипулин, С. С. Гутор и др. // **Фундаментальные аспекты лечения сердечной недостаточности в кардиохирургии** / под ред. В.М. Шипулина, Р.С. Карпова. – Томск : STT, 2009. – Гл. 4. – 262 с.

4. Поиск молекулярных маркеров послеоперационного ремоделирования левого желудочка у больных ишемической кардиомиопатией [Текст] / В. А. Казаков, И. В. Суходоло, С. С. Гутор и др. // **Сибирский медицинский журнал (0,106)**. – 2010. – Т. 25, №2 (2). – С. 34-38.

5. Гутор, С. С. Использование программы ImageJ для автоматизации морфометрии гранул предсердного натрийуретического пептида на электронных микрофотографиях кардиомиоцитов ушка правого предсердия больных ишемической кардиомиопатией [Текст] / С. С. Гутор, А. В. Сафонова // **Материалы Всероссийской 70-ой итоговой студенческой научной конференции им. Н. И. Пирогова** / [под ред. В. В. Новицкого, Л. М. Огородовой]. – Томск, 2011. – С. 340-341.

6. Morphological Predictors and Molecular Markers of Progressing Postoperative Remodeling of Left Ventricle in Patients with Ischemic Cardiomyopathy [Текст] / V. Shipulin, V. Kazakov, S. Gutor et al. // **Front lines of thoracic surgery** / edited by Stefano Nazari. – Rijeka, Croatia : InTech, 2012. – Ch. 6. – 412 p.

7. Morphometric test-system for patients with ischemic cardiomyopathy [Текст] / S. Gutor, N. Englevskiy, B. Shilov et al. // **User & Developer Conference / Conference Proceedings**. – Mondorf-les-Bains. – 2012. – p. 249-252.

8. CardioMorph : свидетельство об офици. регистрации программы для ЭВМ № 2013610001 Рос. Федерация / С.С. Гутор, Н.А. Энглевский, Б.В. Шилов и др.; правообладатель ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России. – № 2012619384 ; заявл. 01.11.2012 ; зарегистрировано в реестре программ для ЭВМ 09.01.2013. - 1 с.

9. Гутор, С. С. Автоматизация морфометрии гранул атриопептида в кардиомиоцитах [Текст] / С. С. Гутор, В. А. Казаков, Б. В. Шилов. – Saarbrücken, Deutschland : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013. – 63 p.
10. Натрийуретический пептид в развитии и послеоперационном прогрессировании сердечной недостаточности у больных ишемической кардиомиопатией [Текст] / С. С. Гутор, В. А. Казаков, И. В. Суходоло и др. // **Бюллетень сибирской медицины (0,331)**. – 2013. – Т. 12, № 6. – С.25-31.
11. Создание программного комплекса для автоматизации морфометрии миокарда при выборе метода оперативного лечения больных ишемической кардиомиопатией [Текст] / Н. А. Энглевский, С. С. Гутор, Б. В. Шилов, В. А. Казаков и др. // **Врач и информационные технологии (0,309)**. – 2014. - №2. – С. 33-39.
12. Оценка функциональной морфологии миокарда – ключ к успеху в лечении хронической сердечной недостаточности [Текст] / В. М. Шипулин, В. А. Казаков, С. С. Гутор и др. // Хирургическое лечение терминальной стадии сердечной недостаточности / А.М. Чернявский, Ю.П. Островский, А.М. Караськов. – Новосибирск : ФГБУ «ННИИПК им. Акад. Е.Н. Мешалкина», 2014. – Гл. 1. – 431 с.
13. Реконструкция левого желудочка при митральной аннулопластике и коронарном шунтировании [текст] / Р.В. Айманов, С.С. Гутор, С.Л. Андреев, и др. // **Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия (0,158)**. – 2014. -№5. – С.10-12.

Условные сокращения

ИКМП	- ишемическая кардиомиопатия
МК	- митральный клапан
ЛЖ	- левый желудочек
КМЦ	- кардиомиоцит
КСИ	- конечно-систолический индекс
ФВ	- фракция выброса
ЭхоКГ	- эхокардиография
УПП	- ушко правого предсердия
ИГХ	- иммуногистохимия
МЖП	- межжелудочковая перегородка
КДИ	- конечно-диастолический индекс
ММП	- matrix metalloproteinase (матриксные металлопротеиназы)
ТИМР	- tissue inhibitor of metalloproteinase (тканевой ингибитор металлопротеиназы)
Se	- sensitivity (чувствительность)
Sp	- specificity (специфичность)
УО	- удельный объем
ПСО	- паренхиматозно-стромальное отношение
ТИ	- трофический индекс
ЗПкД	- зона перикапиллярной диффузии
НУП	- натрийуретический пептид