

На правах рукописи

Кожевников Михаил Леонидович

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ВЕРОЯТНОСТИ
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ЛЕВОГО
ЖЕЛУДОЧКА У БОЛЬНЫХ С ПРИОБРЕТЕННЫМИ ПОРОКАМИ
СЕРДЦА

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология
14.00.06 – кардиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ТОМСК – 2009 г

Работа выполнена в ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава и в НИИ кардиологии СО РАМН

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор

Суходоло
Ирина Владимировна

доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

Шипулин
Владимир Митрофанович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Потапов Алексей Валерьевич

доктор медицинских наук, профессор

Гарганеева Алла Анатольевна

Ведущая организация:

ГОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита состоится « ____ » _____ 2009 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (634050, г. Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета

Автореферат разослан « ____ » _____ 2009 года

Ученый секретарь
диссертационного совета



Герасимов А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Хроническая сердечная недостаточность является самым распространенным, тяжелым и прогностически неблагоприятным исходом многих заболеваний сердечно-сосудистой системы. Одной из причин хронической сердечной недостаточности могут быть приобретенные пороки, которые составляют 20 - 25% от всех органических заболеваний сердца (Митрофанова Л.Б., Ковальский Г.Б., 2007; Коцова О.Т., 2008). Хроническая сердечная недостаточность развивается у больных с митральной и аортальной регургитацией как прямой результат чрезмерной нагрузки на сердце объемом циркулирующей крови (Zile M. et al., 1984; Rozich J.D. et al., 1992; Флоря В.Г., 1997; Шевченко Ю.Л. и др., 1998; Бокерия Л.А. и др., 2001; Carabello V.A., 2004; Jeffrey D., Barry H., 2006).

Лечение больных с клапанной патологией сердца сводится к хирургической коррекции пороков, поскольку попытки терапевтических воздействий, как правило, остаются малоэффективными. Отдаленные результаты хирургического лечения показывают, что у части оперированных пациентов после восстановления существующих гемодинамических нарушений происходит повторное ремоделирование (дилатация) левого желудочка (ЛЖ) и прогрессирование сердечной недостаточности (Carabello V., 1987). «Ремоделирование» - это изменения структурно-геометрического и функционального статуса сердца (Флоря В.Г., 1997; Кузнецов Г.Э., 2002; Mann D.L., 2004).

Успехи в предупреждении, диагностике и лечении заболеваний сердца во многом зависят от степени изученности структурных изменений, происходящих в нем. Миокард в различных отделах сердца характеризуется структурно-функциональной гетерогенностью (Кузнецов Г.Э., 2003; Дземешкевич С.Л. и др., 2004; Непомнящих Л.М., 2007). Тем не менее, было показано, что между рядом морфометрических параметров миокарда ЛЖ и ушка правого предсердия (ПП) и возможным ремоделированием ЛЖ в послеоперационном периоде у больных с ишемической кардиомиопатией прослеживаются определенные закономерности (Казаков В.А. и др., 2006; Shipulin V.M. et al., 2007). Не исключено, что дооперационное исследование морфофункционального состояния миокарда у больных с клапанной патологией, также позволит выявить прогностические признаки неблагоприятного течения послеоперационного периода у данной категории больных.

Морфогенез важнейших общепатологических процессов в сердце давно и детально изучается (Hatt P.Y. et al., 1970; Непомнящих Л.М., 1991; Spinale F.G. et al., 1999; Бокерия Л.А. и др., 2001; Лушникова Е.Л. и др., 2004; Mann D.L., 2004; Непомнящих Л.М., 2007; Гончарова Н.С., 2008). Изменение количественного соотношения паренхимы и стромы миокарда бесспорно считается основным субстратом его ремоделирования (Галочкина М.В., 1995; Кузнецов Г.Э., 2003; Herpel E., 2006).

Клиницистам важно знать, в какой мере параметры ремоделирования ЛЖ, выявляемые в клинике неинвазивными инструментальными методами, соответствуют морфологическим изменениям миокарда на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях.

Сведения о количественной оценке паренхимы миокарда, как правило, обсуждаются без учета отдаленных клинических результатов хирургического лечения, либо исследования ограничиваются изучением структурно-геометрических моделей ЛЖ (Ganau A. et al., 1990; Галочкина М.В., 1995; Гиляревский С.Р., 1996; Морова Н.А., 2003; Железнев С.И., 2006). Таким образом, на сегодняшний день комплексных работ, посвященных поиску морфологических признаков вероятности послеоперационного ремоделирования ЛЖ у больных с приобретенными пороками сердца не проводилось.

Выбор нами миокарда ушка ПП и папиллярной мышцы ЛЖ в качестве объекта исследования неслучаен. При митральной и аортальной недостаточности в первую очередь возникают изменения в миокарде левых отделов сердца, но возможность его интраоперационного взятия ограничивается иссечением головки папиллярной мышцы, вследствие риска послеоперационных осложнений. При этом взятие миокарда ушка ПП является куда более доступным. Хирургическая коррекция приобретенных пороков сердца проводится в условиях искусственного кровообращения, что позволяет совершенно безопасно для жизни пациента интраоперационно брать материал миокарда ушка ПП до подключения аппарата искусственного кровообращения на этапе канюляции полых вен.

Цель работы: выявить тканевые, клеточные и субклеточные маркеры возможного послеоперационного ремоделирования миокарда у больных с приобретенными пороками сердца с перегрузкой левого желудочка.

Задачи исследования:

1. Установить идентичность или выявить отличия между морфофункциональными характеристиками миокарда левого желудочка, папиллярной мышцы левого желудочка и ушка правого предсердия у людей без признаков сердечно-сосудистой патологии.
2. Установить, имеются ли отличия в морфофункциональном состоянии миокарда ушка правого предсердия и папиллярной мышцы левого желудочка при сердечно-сосудистой недостаточности, возникшей в связи с приобретенными пороками сердца с перегрузкой левого желудочка.
3. Оценить клеточные и тканевые механизмы компенсаторно-приспособительных реакций миокарда у больных с различным клиническим течением приобретенных пороков сердца с перегрузкой левого желудочка.
4. Выявить морфологические признаки возможного послеоперационного ремоделирования миокарда левого желудочка у больных с приобретенными пороками сердца с перегрузкой левого желудочка.

Научная новизна

Впервые детально проанализировано морфофункциональное состояние с измерением большого количества морфометрических параметров миокарда различных отделов сердца у лиц без сердечно-сосудистой патологии и у больных с клапанной патологией сердца при перегрузке левого желудочка на фоне хронической сердечной недостаточности.

Установлено, что миокард левого желудочка, папиллярной мышцы левого желудочка характеризуются идентичным строением и имеет сходные морфометрические параметры с миокардом ушка правого предсердия, и по состоянию любого из этих отделов можно судить о состоянии миокарда в целом.

Наличие умеренного фиброза, низкого значения трофического индекса, высокого значения зоны перикапиллярной диффузии в сочетании с воспалительной инфильтрацией миокардиальной стромы в миокарде ушка правого предсердия у больных с недостаточностью митрального и аортального клапанов являются факторами, обуславливающими повторное ремоделирование сердца в послеоперационном периоде.

При низких дооперационных значениях фракции выброса левого желудочка, в отличие от высоких, удельный объем миофибрилл и митохондрий в конденсированной конфигурации в кардиомиоцитах ушка правого предсердия снижается, митохондриально-миофибрилярное отношение повышается, в цитоплазме отмечается выраженное накопление гранул гликогена.

Практическая значимость

На основании детального анализа состояния миокарда получены морфометрические критерии, ответственные за послеоперационное ремоделирование левого желудочка на момент операции, что может изменить сложившуюся тактику хирургической коррекции пороков. Полученные данные будут способствовать оптимизации предоперационной подготовки и послеоперационного ведения пациентов с приобретенными пороками сердца с перегрузкой левого желудочка. Результаты исследования используются в теоретическом курсе на кафедрах морфологии и общей патологии и патологической анатомии ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава.

Положения, выносимые на защиту

1. Морфофункциональные изменения в миокарде папиллярной мышцы левого желудочка и ушка правого предсердия у больных с митральной и аортальной недостаточностью, обусловленной ревматизмом, имеют одинаковую направленность, что дает основание использовать любой из доступных отделов сердца для суждения о состоянии миокарда в целом.
2. Наличие умеренного фиброза, низкого значения трофического индекса, высокого значения зоны перикапиллярной диффузии в сочетании с воспалительной инфильтрацией миокардиальной стромы у больных с митральной и аортальной недостаточностью являются факторами, ведущими к ремоделированию сердца.
3. Возможным ультраструктурным субстратом послеоперационного ремоделирования сердца является снижение удельного объема миофибрилл кардиомиоцитов с повышением митохондриально-миофибрилярного отношения, при снижении удельной доли митохондрий в конденсированной конфигурации.

Апробация работы

Основные положения работы доложены и обсуждены:

- на VI-м ежегодном семинаре молодых ученых «Актуальные вопросы диагностики, фармакотерапии и хирургического лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы», г. Томск (2005);
- на 80-й Всероссийской студенческой научной конференции, г. Казань (2006);
- на конференции «Вопросы морфологии XXI века», посвященной 100-летию кафедры медицинской биологии СПбГМА им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург (2008);
- на 18th World Congress World Society of Cardio-Thoracic Surgeons, Kos Island, Greece (2008).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, 2 из которых в рецензируемых журналах из списка ВАК.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 109 страницах машинописного текста, содержит 8 таблиц и иллюстрирована 39 рисунками, из которых 5 гистограмм и 34 микрофотографии. Состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов и списка цитируемой литературы. Список литературы включает 192 источника (109 - на русском и 83 - на иностранном языке).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Объектом исследования стал миокард ушка правого предсердия (ПП) и в 11 случаях - папиллярная мышца левого желудочка (ПМ ЛЖ) 46 пациентов обоего пола (30 мужчин и 16 женщин), оперированных по поводу приобретенных пороков сердца (ППС). На проведение биопсий было получено разрешение этического комитета НИИ кардиологии СО РАМН. Взятие биопсийного материала проводилось во время оперативного лечения ППС в отделе сердечно-сосудистой хирургии (руководитель отдела – д-р мед. наук, профессор В.М. Шипулин) НИИ кардиологии СО РАМН в период с февраля 2004 года по май 2006 года.

В качестве контрольного материала был взят миокард ушка ПП, ЛЖ сердца у 20 человек (17 мужчин и 3 женщины), ПМ ЛЖ и ЛЖ у 8 человек (6 мужчин и 2 женщины) в возрасте от 40 до 65 лет без признаков сердечно-сосудистой патологии, погибших в результате острой травмы.

Миокард ушка ПП и ПМ ЛЖ всех больных подвергся гистологическому исследованию. Ушко ПП 13 пациентов и ПМ ЛЖ 3 больных были взяты для проведения электронно-микроскопического исследования.

Во всех клинических случаях этиологией ППС стал ревматизм. У 26 пациентов преобладала митральная недостаточность, у 20 больных - недостаточность аортального клапана. Клинико-инструментальное обследование пациентов ИБС не выявило. Гипертоническая болезнь сопутствовала 24% больных. Пациенты с выраженной гипертрофией миокарда и активностью ревматического процесса были исключены из настоящего исследования. По частоте назначаемых лекарственных средств и их дозах на этапах проспективного наблюдения (длительность наблюдения 1 год) пациенты с ППС существенно не различались. Клиническая характеристика больных представлена в табл.1.

Таблица 1

Клиническая характеристика больных, включенных в настоящее исследование (M±m)

Данные	(n=46)
Возраст, (годы)	49,9±12,6
НК, ф.к. по NYHA (Нью-Йоркская классификация ассоциации сердца)	2,3±0,5
ФВ ЛЖ, %	50,6±14,8
КДИ ЛЖ, мл/м ²	125,1±35,6
Недостаточность митрального и аортального клапанов, степень	2,5±0,5
Гипертоническая болезнь, стадия	2,2±0,8

2. Гистологические методы исследования

Предварительная обработка исследуемого материала, фиксированного в 10% растворе нейтрального формалина, производилась по стандартной методике. Срезы окрашивали гематоксилином-эозином и по методу Маллори. Препараты изучались с помощью обычной световой и поляризационной микроскопии. Для количественной характеристики изменений применяли морфометрические методы – измерение удельного объема (УО) отека, сосудов, паренхимы и стромы миокарда методом точечного счета (Глаголев В.В., Чечулин Ю.С., 1968; Автандилов Г.Г., 1973, 1990). С помощью окулярного микрометра производили измерение диаметра кардиомиоцитов (КМЦ) на продольных срезах на уровне ядра клеток. Оценка степени фиброза миокарда проводилась на основании Марбургской класси-

фикации (World Heart Federation Consensus Conferences Definition of Inflammatory Cardiomyopathy (Myocarditis) 1997). Максимальную степень фиброза выявленную нами принимали как «выраженный фиброз – III степень фиброза». Минимальная и средняя степени фиброза выявленные нами принимали как «незначительный и умеренный фиброз – I и II степени фиброза соответственно» в соответствии с Марбургской классификацией. Для количественной характеристики взаимоотношений паренхимы миокарда и обменного звена микроциркуляторного русла оценивали паренхиматозно-стромальное отношение (ПСО), трофический индекс (ТИ) и зону перикапиллярной диффузии (ЗПКД) (Автандилов Г.Г., 1990).

Морфометрические индексы

$$ПСО = \frac{V_v (\text{паренхимы}) (\text{мм}^3 / \text{мм}^3)}{V_v (\text{стромы}) (\text{мм}^3 / \text{мм}^3)}$$

$$ТИ = \frac{V_v (\text{капилляров}) (\text{мм}^3 / \text{мм}^3)}{V_v (\text{паренхимы}) (\text{мм}^3 / \text{мм}^3)}$$

$$ЗПКД, \text{ мкм} = \frac{\text{Диаметр капилляров (мкм)}}{V_v (\text{капилляров}) (\text{мм}^3 / \text{мм}^3)}$$

3. Методы электронно-микроскопического исследования

Для электронно-микроскопического исследования был взят миокард ушка ПП 13 пациентов (11 мужчин и 2 женщины, средний возраст составил $49,9 \pm 12,6$ года) с ППС и у 3 из них иссекалась головка ПМ ЛЖ. Образцы не более 2 мм^3 фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на 0,2М какодилатном буфере с $\text{pH} = 7,2$ при температуре $+4^\circ\text{C}$ и постфиксировали в 1% растворе OsO_4 на холоде в течение 4-х часов (Уикли И.Б., 1975; Карупу В.Я., 1984). В дальнейшем дегидратировали биоптаты в этаноле восходящей концентрации, заливали в эпон-812. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB III (Швеция). Полутонкие срезы окрашивали 1% раствором толуидинового синего и просматривали в световом микроскопе. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом и изучали их в электронном микроскопе JEM-100 CX (Япония). Вычисляли УО миофибрилл, митохондрий КМЦ методом точечного счета (Глаголев В.В., Чечулин Ю.С., 1968; Автандилов Г.Г., 1990). Оценивали митохондриально-миофибрилярное отношение, как отношение УО митохондрий к УО миофибрилл.

4. Методы электронно-гистохимического исследования

Ультратонкие срезы миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ получали по описанной выше методике. Для выявления гликогена в КМЦ проводили окисление 3% иодной кислотой в течение 30 минут по Перри (Гайер Г., 1974). Частицы гликогена контрастируются интенсивно, а другие компоненты ткани – умеренно. Гранулы гликогена в β -форме представлены моногранулярным гликогеном, в α -форме - розетками.

5. Методы ультразвукового исследования сердца

Эхокардиографическое и доплер-кардиографическое исследование выполнялось на аппарате "Ultramark-9" (ATL, США) и Aloka – SSD 2200 в одно- и двухмерном режимах с использованием стандартных методик. С помощью клинических инструментальных методов оценивали основные параметры систолической и диастолической функции сердца на дооперационном этапе, в раннем и отдаленном периодах, которыми явились значения фракции выброса и конечно-диастолического индекса ЛЖ (последний учитывает, конечно-диастолический объем ЛЖ и площадь поверхности тела пациента) (Струтынский А.В., 2007).

6. Математическая обработка результатов

Проводили вычисление ряда морфометрических параметров, как на тканевом, так и на ультраструктурном уровнях по данным обычной световой и электронной микроскопии: удельных объемов паренхимы, стромы, общего отека миокарда, сосудов и капиллярного звена микроциркуляторного русла, митохондрий, миофибрилл кардиомиоцитов. Вычисляли паренхиматозно-стромальное отношение, трофический индекс, зону перикапиллярной диффузии и митохондриально-миофибрилярное отношение. Достоверность полученных данных проверяли с помощью непараметрического критерия Вандер-Вардена (Корюкин В.И., Корюкина Е.В., 2000). Разницу значений в сравниваемых группах считали достоверной при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Функциональная морфология миокарда левого желудочка, капиллярной мышцы левого желудочка и ушка правого предсердия в норме

Статистический анализ морфометрических параметров миокарда ушка ПП, ЛЖ и ПМ ЛЖ не выявили различий в показателях УО капилляров, сосудов, зоны перикапиллярной диффузии и трофического индекса, наиболее полно отражающих функциональное состоя-

ние миокарда в сравниваемых отделах сердца (табл.2).

При этом в показателях УО паренхимы, стромы и диаметра КМЦ были выявлены различия (табл.2). Паренхиматозно-стромальное отношение и диаметр кардиомиоцитов достоверно ниже в ушке ПП по сравнению с аналогичными параметрами миокарда левого отдела сердца. В норме на миокард ушка ПП приходится меньше нагрузки, чем на ЛЖ, поэтому паренхиматозно-стромальное отношение и значения диаметра КМЦ несколько ниже (Юрина Н.А, Радостина А.И., 1995; Мяделец О.Д., 2002; Stenger R.J., Spiro D., 1961).

Таким образом, миокард ЛЖ, ПМ ЛЖ у людей без признаков сердечно-сосудистой патологии характеризуются идентичным строением. В качестве контрольного материала одинаково может использоваться и миокард ЛЖ и ПМ ЛЖ. Паренхиматозно-стромальное отношение и значения диаметра кардиомиоцитов ниже в ушке ПП по сравнению с левым отделом сердца.

Таблица 2

Морфометрические показатели удельного объема (УО) паренхимы, стромы, сосудов, капилляров, диаметра кардиомиоцитов (КМЦ), зоны перикапиллярной диффузии (ЗПКД), паренхиматозно-стромального отношения (ПСО), трофического индекса (ТИ) миокарда ЛЖ, ПМ ЛЖ и ушка ПП людей без признаков сердечно-сосудистой патологии, критерий Ван-дер-Вардена ($M \pm m$)

Миокард	ЛЖ	ПМ ЛЖ	ушко ПП
УО паренхимы, мм ³ /мм ³	0,827±0,006	0,831±0,008	0,734±0,042*
УО стромы, мм ³ /мм ³	0,095±0,009	0,097±0,012	0,113±0,023*
УО сосудов, мм ³ /мм ³	0,078±0,007	0,072±0,008	0,072±0,009
УО капилляров, мм ³ /мм ³	0,066±0,008	0,064±0,009	0,062±0,007
Диаметр КМЦ (мкм)	13,2±1,35	13,0±1,4	10,1±0,94*
ЗПКД (мкм)	68,7±10,3	72,5±9,1	69,8±32,3
ПСО	8,76±0,82	8,68±1,06	6,77±1,42*
ТИ	0,080±0,010	0,077±0,010	0,086±0,013

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверность различий между миокардом ушка ПП и ЛЖ, ПМ ЛЖ.

Морфофункциональное состояние миокарда ушка правого предсердия и папиллярной мышцы левого желудочка у больных с приобретенными пороками сердца с перегрузкой левого желудочка

Миокард ушка ПП и ПМ ЛЖ у больных с ППС ревматической природы характеризуется следующими признаками нарушения гемодинамики: спазм и запустевание мелких артерий и артериол. Микро-

циркуляторное звено сосудистого русла полнокровно, нередко отмечали явления стаза эритроцитов в капиллярах, прекапиллярах и артериолах. Мелкие вены и венулы полнокровны, в разной степени выражен периваскулярный и общий отёк.

Строма миокарда ушка ПП либо отечна, либо увеличена в объеме, коллагеновые волокна извитые, иногда набухшие. У части больных в строме миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ обнаруживался смешанный (лимфоцитарно-макрофагальный) инфильтрат, количество клеток которого (> 14 на мм^2 ткани в соответствии с Марбургской классификацией - World Heart Federation Consensus Conferences Definition of Inflammatory Cardiomyopathy (Myocarditis) 1997) указывало на миокардит. Фиброз в миокарде ушка ПП был незначительным (I степень по Марбургской классификации) и, в редких случаях, умеренным - II степень. В папиллярной мышце, напротив, фиброз был на одну степень выше по той же классификации: умеренным и выраженным. Наряду с атрофированными и извитыми КМЦ, имеются гипертрофированные КМЦ, очаги которых зачастую расположены в полях фиброзной ткани.

Следует отметить выраженный полиморфизм ядер КМЦ миокарда ушка ПП: увеличение их размеров и изменения формы. Чаще всего форма ядер КМЦ овальная с нечеткими волнообразными контурами. Нередко ядра принимают форму «спирали», «бобовидную», «зигзага» и т.д.

В поляризованном свете на гистологических препаратах миокарда ПМ ЛЖ, окрашенных гематоксилином и эозином, наряду с неизменными участками цитоплазмы наблюдали повреждённые участки, в которых преобладали субсегментарные контрактуры I, II, реже III степени, различающиеся усилением свечения анизотропных дисков и разной степенью укорочения изотропных дисков, единичные участки миоцитолитоза. Описанные изменения носят мозаичный характер и встречаются как в ПМ ЛЖ, так и в миокарде ушка ПП.

Изучение сократительного аппарата миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ на полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, выявило редукцию миофибриллярного аппарата сердечных миоцитов. При этом отмечали структурно-функциональную гетерогенность КМЦ, проявляющуюся в изменении тинкториальных характеристик цитоплазмы, массивные перикапиллярные отеки. Общий отек, дистрофия

КМЦ с редукцией сократительного аппарата чаще встречались и были более очевидными именно в миокарде ушка ПП.

Все описанные изменения в миокарде ушка ПП были схожи с таковыми в ПМ ЛЖ у больных с приобретенными пороками сердца с перегрузкой ЛЖ. Вместе с тем, глубина и направленность патологических изменений в миокарде ушка ПП и ПМ ЛЖ дает основание считать, что для суждения о состоянии миокарда в целом можно использовать как биоптаты миокарда ушка ПП, так и ПМ ЛЖ. По имеющимся литературным данным кардиомиоциты ушка ПП вполне отражают морфофункциональное состояние миокарда в целом (Фролов В.А., 1989; Флоря В.Г., 1997; Казаков В.А. и др., 2006).

Ультраструктура кардиомиоцитов ушка правого предсердия и папиллярной мышцы левого желудочка у больных с приобретенными пороками сердца с перегрузкой левого желудочка

Электронно-микроскопическое исследование кардиомиоцитов ушка ПП и ПМ ЛЖ выявило ряд ультраструктурных повреждений ядра и органелл. Ядра располагались в центре миокардиальной клетки, редко смещались в подсарколеммальную зону и отличались полиморфизмом, образуя огромное количество инвагинаций. Наблюдали ядрышки с сегрегацией фибриллярного и гранулярного компонентов, реже встречались кольцевидные ядрышки. Отмечали расширение цистерн саркоплазматического ретикулума. Перинуклеарные пространства почти всегда были расширены и содержали округлые гранулы гликогена в β -форме (моногранулярный гликоген), зачастую образуя гигантские поля.

Розетки α -формы гликогена обнаруживались между миофибриллами, митохондриями и расширенными цистернами саркоплазматической сети. При этом между розетками определялась крошковидная зернистость, разрезающая гликогеновые поля.

Обращает на себя внимание появление множественных вакуолей в кардиомиоцитах ушка ПП и ПМ ЛЖ, которые обнаруживались уже на этапе полутонких срезов при окраске толуидиновым синим. Вакуоли были округлой или овальной формы, от 1 до 3,4 мкм в диаметре, находились под сарколеммой или в непосредственной близости от ядра. Они формировались из скоплений гранул гликогена, крошковидной зернистости, мембранных структур. Подобные структуры были обнаружены и в межклеточном пространстве.

Сократительный аппарат миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ у больных с ППС демонстрировал признаки регенераторно-пластической недостаточности: «таяние», мелкоочаговый и диффузный лизис миофибрилл, нарушение нормальной ориентации миофибрилл и отдельных миофиламентов в саркомерах, особенно вблизи вставочных дисков. В большей степени были лизированы I-полосы, в которых располагаются тонкие (актиновые) филаменты. При фрагментации миофибрилл отмечались локальные просветления цитозоля, такой тип повреждения КМЦ описывается как внутриклеточный миоцитоллизис (Шперлинг И.Д., 1987).

Признаками альтеративной недостаточности КМЦ, регистрируемые у всех больных с ППС, были контрактурные повреждения миофибрилл I степени, являющиеся обратимыми: четко выраженные Z-линии, границы А- и I-дисков «размыты», миофибриллы умеренно уплотнены, нечетко определяются Н-зоны и М-линии. Реже отмечали контрактуры миофибрилл II и III степеней. В этом случае наблюдали уплотнение миофибрилл и частую периодическую поперечную исчерченность, образованную парными Z-полосами сокращения.

Наблюдаемый в большинстве КМЦ ушка ПП мелкоочаговый и диффузный лизис миофибриллярных пучков, был менее выражен, а порой отсутствовал в кардиомиоцитах ПМ ЛЖ.

При исследовании энергетического аппарата КМЦ ушка ПП и ПМ ЛЖ наблюдали скопление митохондрий в околоядерной зоне с разной степенью деградации структур, зачастую образующих поля, занимающие обширную часть клетки. Встречались митохондрии с редукцией крист и просветлением митохондриального матрикса. Наблюдали митохондрии как в конденсированной, так и ортодоксальной конфигурациях. Митохондрии с расширенными интракристарными промежутками и пространством между наружной и внутренней мембраной и плотным матриксом соответствуют конденсированной конфигурации этих органелл и отражают повышенный синтез АТФ. Ортодоксальная конфигурация митохондрий характеризуется не расширенными интракристарными и межмембранными промежутками и умеренно плотным матриксом и отражают низкую функциональную активность (Авцын А.П., Шахламов В.А., 1979). В миокарде ушка ПП наблюдали гигантские митохондрии в конденсированной конфигурации размером до 4 саркомеров в длину.

При ультраструктурном исследовании системы гемомикроциркуляции миокарда в ушке ПП и ПМ ЛЖ у всех больных с ППС встречали функционирующие и реже запустевшие капилляры, в которых отмечали утолщение базальной мембраны, складчатость люминальной поверхности эндотелиальных клеток и редукцию просвета капилляров. Наблюдали массивные перикапиллярные отеки с отдельными волокнистыми структурами, представленными коллагеновыми волокнами.

Таким образом, электронно-микроскопическое исследование выявило признаки альтеративной и регенераторно-пластической недостаточности КМЦ ушка ПП и ПМ ЛЖ у больных с клапанной патологией, что не противоречит данным литературы (Кузнецов Г.Э., 2003; Непомнящих Л.М., 2007).

В отличие от ишемической кардиомиопатии первичный глыбчатый распад миофибрилл в КМЦ отсутствовал. Возможно, отсутствие тяжелых форм повреждения сократительного аппарата КМЦ у больных с клапанной патологией связано с более адекватным кровоснабжением миокарда. При этом реже отмечали запустевшие капилляры в миокарде больных с клапанной патологией. Вакуолизация КМЦ и накопление гранул гликогена были более выражены у больных с ППС, а не ишемической кардиомиопатией, что вероятно является результатом нарушения метаболизма КМЦ в условиях хронической недостаточности кровообращения (Соколова Р.И., Жданов В.С., 2002; Дземешкевич С.Л. и др., 2004; Непомнящих Л.М., 2007).

Морфологические признаки вероятности послеоперационного ремоделирования сердца у больных с сердечно-сосудистой недостаточностью при приобретенных пороках сердца с перегрузкой левого желудочка

Исследование морфофункционального состояния интраоперационных биопсий миокарда ушка правого предсердия у больных с клапанной патологией выявило ряд морфометрических параметров, на основании которых возможно прогнозирование ремоделирования миокарда в послеоперационном периоде. Ранее были обнаружены морфологические предикторы послеоперационного ремоделирования сердца у больных с ишемической кардиомиопатией (Kazakov V.A. et al., 2006; Shipulin V.M. et. al., 2007).

Систолическая дисфункция ЛЖ диагностируется при фракции выброса (ФВ) < 45% (Беленков Ю.Н., 2002). Показано, что при таких

Рис. 1. Динамика фракции выброса и конечно-диастолического индекса ЛЖ у больных с ППС с разными результатами оперативного лечения.

В миокарде ушка ПП и ПМ ЛЖ больных I группы лимфоцитарная и макрофагальная инфильтрация была идентифицирована в 13% и 36% случаев соответственно, тогда как в миокарде ушка ПП пациентов II группы – в 67%.

Фиброз в миокарде ушка ПП больных I группы был незначительным (I степень по Марбургской классификации) и во всех случаях больных II группы - умеренным (II степень). Возможно, фиброзные изменения в миокарде больных II группы способствовали прогрессированию сердечной недостаточности в отдаленном послеоперационном периоде. Показано, что при увеличении степени фиброза происходит ремоделирование миокарда (Флоря В.Г., 1997; Кузнецов Г.Э., 2003; Непомнящих Л.М. и др., 2002; Katz A., 1990, 1995).

Статистический анализ морфометрических данных не выявил достоверных различий в показателях удельного объема (УО) отека и сосудов, а также диаметра КМЦ между пациентами с удовлетворительным и неудовлетворительным протеканием отдаленного послеоперационного периода (табл. 3).

Следует отметить, что и в I, и во II группе больных обнаружены статистически значимые отличия изучаемых показателей по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

Таблица 3

Морфометрические показатели удельного объема паренхимы, стромы, сосудов, отека, капилляров и диаметра КМЦ ушка ПП у больных с ППС с разными отдаленными результатами оперативного лечения, критерий Ван-дер-Вардена ($M \pm m$)

	Контроль (n=20)	I группа (n=40)	II группа (n=6)
УО паренхимы, мм ³ /мм ³	0,732±0,035	0,672±0,030*#	0,631±0,056*
УО стромы, мм ³ /мм ³	0,123±0,018	0,195±0,026*#	0,249±0,026*
УО сосудов, мм ³ /мм ³	0,069±0,002	0,054±0,004*	0,056±0,012*
УО отека, мм ³ /мм ³	0,076±0,012	0,079±0,045	0,065±0,037
УО капилляров, мм ³ /мм ³	0,063±0,008	0,050±0,005*#	0,040±0,007*
Диаметр КМЦ, (мкм)	10,1±0,91	14,3 ±1,04*	13,3 ±1,87*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

– $p < 0,05$ достоверность различий между группами

Удельный объем капилляров в миокарде больных II группы был достоверно снижен, как по сравнению с нормой, так и по сравнению с

показателями пациентов I группы, у которых повторное remodelирование ЛЖ отсутствовало.

Анализ паренхиматозно-стромального отношения и трофического индекса продемонстрировал, что особенно низки эти показатели были в миокарде у больных II группы, у которых в послеоперационном периоде наблюдалось remodelирование ЛЖ (табл. 4).

Показано, что не адекватное кровоснабжение миокарда приводит к нарушению его биоэнергетики и на фоне прогрессирующего фиброза сопровождается remodelированием сердца (Карпов Ю.А., 1995; Katz A., 1990, 1995).

Напротив, зона перикапиллярной диффузии миокарда ушка ПП была достоверно выше во II группе больных (табл. 4), при низком удельном объеме капилляров, что в целом отражает нарушение обменного звена микроциркуляторного русла и паренхимы.

Таблица 4

Паренхиматозно-стромальное отношение (ПСО), трофический индекс (ТИ), зона перикапиллярной диффузии (ЗПкД) миокарда ушка ПП больных с ППС с разными отдаленными результатами оперативного лечения, критерий Вандер-Вардена ($M \pm m$)

	Контроль (n=20)	I группа (n=40)	II группа (n=6)
ПСО	6,77±0,18	3,49±0,41*#	2,57±0,51*
ТИ	0,086±0,007	0,074 ±0,008*#	0,063±0,007*
ЗПкД (мкм)	82,9±1,8	114,3±8,6*#	165,4±36,9*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

– $p < 0,05$ достоверность различий между группами

Морфометрические параметры миокарда ушка ПП у больных I группы были значительно благоприятнее таковых во II группе.

11 больных, у которых брался биопсийный материал миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ вошли в I группу без повторного remodelирования сердца.

При сравнении морфометрических параметров миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ у больных с клапанной патологией с перегрузкой ЛЖ были выявлены некоторые отличия. Удельный объем стромы был достоверно выше, а паренхиматозно-стромальное отношение ниже в миокарде ПМ ЛЖ (табл. 5, 6).

В целом миокард ушка ПП и ПМ ЛЖ демонстрировал одинаковую направленность изменений, поэтому для прогноза послеопераци-

онного ремоделирования могут быть использованы и тот, и другой отделы сердца.

Таблица 5

Морфометрические показатели удельного объема паренхимы, стромы, отека и капилляров миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ у больных с ППС с благоприятными результатами оперативного лечения, критерий Ван-дер-Вардена ($M \pm m$)

Миокард	Контроль (n=20)		Группа I (n=11)	
	ПП	ЛЖ	ПП	ПМ ЛЖ
УО паренхимы, мм ³ /мм ³	0,732±0,035	0,813±0,008	0,676±0,050*	0,651±0,037*
УО стромы, мм ³ /мм ³	0,123±0,018	0,086±0,005	0,220±0,045*#	0,273±0,042*
УО отека, мм ³ /мм ³	0,076±0,012	0,038±0,006	0,047±0,030	0,033±0,010
УО капилляров, мм ³ /мм ³	0,069±0,002	0,063±0,003	0,053±0,005*	0,053±0,008*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

– $p < 0,05$ достоверность различий между отделами сердца в группе

Таблица 6

Морфометрические показатели диаметра КМЦ, паренхиматозно-стромального отношения (ПСО), трофического индекса (ТИ), зоны перикапиллярной диффузии (ЗПкД) миокарда ушка ПП и ПМ ЛЖ у больных с ППС с благоприятными результатами оперативного лечения, критерий Ван-дер-Вардена ($M \pm m$)

Миокард	Контроль (n=20)		Группа I (n=11)	
	ПП	ЛЖ	ПП	ПМ ЛЖ
Диаметр КМЦ, мкм	10,1±0,91	12,3±0,96	13,4±1,8*	13,5±2,1
ПСО	6,77±0,18	8,59±0,24	3,19±0,67*#	2,46±0,53*
ТИ	0,086±0,007	0,090±0,004	0,078±0,011*	0,081±0,012*
ЗПкД, мкм	82,9±1,8	69,5±2,8	105,8±12,8*	109,0±17,9*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем

– $p < 0,05$ достоверность различий между отделами сердца в группе

У 13 больных I группы, миокард ушка ПП которых (и в 3 случаях ПМ ЛЖ) подвергался электронно-микроскопическому исследованию, прогрессирования сердечной недостаточности в послеоперационном периоде не наблюдалось. При этом оказалось возможным оценить систолическую дисфункцию ЛЖ на основании исходно разных дооперационных показателей ФВ ЛЖ и соответствующих этому ряда морфометрических параметров миокарда ушка ПП.

Больные I группы были поделены в зависимости от дооперационных значений ФВ ЛЖ. В группу со значениями ФВ < 45% вошли 6 пациентов с преобладанием митральной недостаточности (5 мужчин и 1 женщина). В группу из 7 больных с ФВ > 45% вошли 5 пациентов с преобладанием недостаточности клапана аорты и 2 больных с преобладанием митральной недостаточности (6 мужчин и 1 женщина).

При ультраструктурном исследовании миокарда ушка ПП обращало на себя внимание появление множественных вакуолей в КМЦ всех больных с ФВ ЛЖ < 45% и у 2 пациентов с ФВ > 45%.

В КМЦ ушка ПП у всех больных с ФВ < 45% встречалась деструкция митохондрий (МХ) с редукцией крист (МХ_{РК}) и просветлением митохондриального матрикса. У всех больных с разными дооперационными значениями ФВ ЛЖ наблюдали МХ как в конденсированной, так и ортодоксальной конфигурациях (МХ_{КДК} и МХ_{ОДК}).

У 2 больных с ФВ > 45% наблюдали гигантские МХ_{КДК} размером до 4 саркомеров в длину.

Морфометрический анализ УО ультраструктур КМЦ ушка ПП подтвердил предположение о редукции сократительного аппарата миокардиальных клеток у всех больных с ППС. Удельный объем МФ был достоверно ниже в КМЦ ушка ПП у больных с ФВ < 45%. По мере уменьшения УО МФ в КМЦ ушка ПП удельная доля всех митохондрий между группами пациентов не различалась, при этом отмечали достоверное увеличение митохондриально-миофибриллярного отношения у больных с ФВ < 45%. Однако, при подсчете МХ с конденсированной и ортодоксальной конфигурациями, отличающихся по функциональной активности, было установлено, что УО МХ_{КДК} был достоверно выше в группе больных с ФВ > 45% (табл. 7).

Таблица 7

Морфометрические показатели ультраструктур - удельного объема митохондрий в конденсированной и ортодоксальной конфигурациях (КДК и ОДК), с редукцией крист (РК) и миофибрилл кардиомиоцитов ушка ПП у больных с ППС с разными дооперационными значениями ФВ ЛЖ, критерий Ван-дер-Вардена (M±m)

ФВ ЛЖ	I группа	
	< 45% (n=6)	> 45% (n=7)
УО миофибрилл, мкм ³ /мкм ³	0,325±0,049*	0,415±0,078
УО митохондрий, мкм ³ /мкм ³	0,133±0,048	0,103±0,022
УО митохондрий КДК, мкм ³ /мкм ³	0,025±0,016*	0,052±0,024
УО митохондрий ОДК, мкм ³ /мкм ³	0,080±0,056	0,034±0,019

УО митохондрий РК, $\text{мкм}^3/\text{мкм}^3$	0,028±0,034	0,017±0,030
Митохондриально-миофибрилярное отношение	0,408±0,126*	0,254±0,067

Примечание: * - $p < 0,05$ достоверность различий между группами.

Таким образом, наличие признаков регенераторно-пластической и альтеративной недостаточности КМЦ ушка ПП у больных с дооперационным значением ФВ ЛЖ $< 45\%$ отражалось в снижении УО МФ с повышением ММО, при снижении удельной доли $\text{MX}_{\text{КДК}}$. При этом можно сделать предварительное заключение, что ультраструктурным субстратом возможного послеоперационного ремоделирования миокарда являются снижение УО МФ $< 0,325$, $\text{MX}_{\text{КДК}} < 0,025$ и повышение ММО $> 0,450$ в КМЦ ушка ПП.

Сопоставление морфофункционального состояния миокарда ушка ПП, взятого во время операции, с результатами обследования больных в послеоперационном периоде показало, что наличие умеренного фиброза ПСО $< 3,0$, низкого значения трофического индекса $< 0,070$, высокого значения зоны перикапиллярной диффузии $> 140,0$ в сочетании с признаками миокардита у 67% больных с ППС являются факторами, обуславливающие ремоделирование сердца в послеоперационном периоде. При ишемической кардиомиопатии в случае негативного послеоперационного периода в миокарде ушка ПП паренхиматозно-стромальное отношение составляло $< 2,7$, трофический индекс $< 0,035$, зона перикапиллярной диффузии $> 536,1$, признаки миокардита встречались у 64% больных (Казаков В.А. и др., 2006; Shipulin V.M. et al., 2007).

ВЫВОДЫ

1. Миокард левого желудочка, папиллярной мышцы левого желудочка и ушка правого предсердия у людей без признаков сердечно-сосудистой патологии имеет сходные морфометрические параметры. Анализ биопсийного материала любого из перечисленных отделов здорового сердца позволяет составить представление о состоянии миокарда в целом.
2. Морфологические изменения миокарда ушка правого предсердия и папиллярной мышцы левого желудочка у больных с клапанной патологией с перегрузкой левого желудочка имеют одинаковую направленность.
3. Наличие умеренного фиброза, низкого значения трофического индекса, высокого значения зоны перикапиллярной диффузии в сочетании с воспалительной инфильтрацией миокардиальной стромы у больных с клапанной патологией с перегрузкой левого желудочка являются факторами, обуславливающими ремоделирование сердца.

4. Ультрасруктурное исследование кардиомиоцитов у больных с приобретенными пороками сердца выявило признаки альтеративной и регенераторно-пластической недостаточности. При низких дооперационных значениях фракции выброса левого желудочка удельный объем миофибрилл, митохондрий в конденсированной конфигурации в кардиомиоцитах снижается, митохондриально-миофибрилярное отношение повышается, цитоплазма вакуолизирована с выраженным накоплением гранул гликогена.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кожевников, М.Л. Морфофункциональное состояние миокарда ушка правого предсердия у больных с аортальной недостаточностью [Текст] / М.Л. Кожевников, В.А. Казаков // Вестник РГМУ. – М.: РГМУ. – 2005, № 3 (42). – С. 174.
2. Сравнительная характеристика морфофункционального состояния миокарда ушка правого предсердия у больных с приобретенными пороками сердца и ишемической кардиомиопатией [Текст] / В.М. Шипулин, В.А. Казаков, М.Л. Кожевников [и др.] // Бюллетень НЦССХ им. Бакулева РАМН. – 2005. – Т. 6, № 5. – С. 160.
3. Кожевников, М.Л. Сравнительная характеристика морфофункционального состояния миокарда ушка правого предсердия у больных с приобретенными пороками сердца и ишемической кардиомиопатией [Текст] / М.Л. Кожевников, В.А. Казаков, А.Н. Стасев // Сборник статей по материалам Всероссийской 64-й итоговой научной студенческой конференции им. Н.И. Пирогова. – Томск. – 2005. – С.266-268.
4. Кожевников, М.Л. Сравнительная характеристика морфофункционального состояния миокарда ушка правого предсердия у больных с приобретенными пороками сердца и ишемической кардиомиопатией [Текст] / М.Л. Кожевников, В.А. Казаков, А.Н. Стасев // Сборник статей по материалам VI ежегодного семинара «Актуальные проблемы диагностики, фармакотерапии и хирургического лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы». – Томск. – 2005. – С. 45-48.
5. Кожевников, М.Л. Клинико-морфологические параллели ремоделирования левого желудочка у больных с сочетанными приобретенными пороками сердца [Текст] / М.Л. Кожевников // Сборник статей по материалам Всероссийской 65-й итоговой научной студенческой конференции им. Н.И. Пирогова. – Томск. – 2006. – С.338-340.
6. Стасев, А.Н. Клинико-морфологические параллели ремоделирования левого желудочка у больных с сочетанными приобретенными пороками сердца [Текст] / А.Н. Стасев, М.Л. Кожевников, В.А. Казаков // Сборник статей по материалам VII ежегодного семинара «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии». – Томск. – 2006. – С. 53-55.
7. Кожевников, М.Л. Клинико-морфологические параллели ремоделирования левого желудочка у больных с сочетанными приобретенными пороками сердца [Текст] / М.Л. Кожевников // Материалы 79-й конференции студен-

- ческого научного общества СПбГМА им. И.И. Мечникова «Человек и его здоровье». – Санкт-Петербург – 2006. – С. 188-190.
8. Кожевников, М.Л. Клинико-морфологические параллели ремоделирования левого желудочка у больных с сочетанными приобретенными пороками сердца [Текст] / М.Л. Кожевников // Сб. тез. 80-ой всероссийской студенческой научной конференции, посвященной 1000-летию Казани. – Казань. – 2006. – С.110.
 9. Стасев, А.Н. Клинико-морфологические параллели ремоделирования левого желудочка после коррекции аортальной и митральной регургитации [Текст] / А.Н. Стасев, М.Л. Кожевников, В.А. Казаков // Пятые научные чтения, посвященные памяти академика РАМН Е.Н. Мешалкина, с международным участием – Новосибирск. – 2006. – С.55.
 10. Стасев, А.Н. Клинико-морфологические параллели ремоделирования левого желудочка после коррекции аортальной и митральной регургитации [Текст] / А.Н. Стасев, М.Л. Кожевников // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – Т. 22, №2. – С.133-134.
 11. Ультраструктурные особенности кардиомиоцитов ушка правого предсердия при хронической недостаточности кровообращения у больных с приобретенными пороками сердца [Текст] / М.Л. Кожевников, В.А. Казаков, А.Н. Стасев [и др.] // Вопросы морфологии XXI века. Выпуск 1. Сборник научных трудов, посвященный 100-летию кафедры медицинской биологии СПбГМА им. И.И. Мечникова / Под ред. д.м.н. С.В. Костюкевича. – СПб. : СПбГМА им. И.И. Мечникова, изд. ДЕАН. – 2008. – С. 151-158.
 12. Случаи нанобактериоза у больных с приобретенными пороками сердца [Текст] / М.Л. Кожевников, В.А. Казаков, А.Н. Стасев, И.В. Суходоло, В.М. Шипулин, А.А. Миллер // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 23, № 3. – С. 102 – 104.
 13. Morphological aspects of postoperative left heart remodeling in ischemic and valvular cardiomyopathy [Text] / V. Shipulin, V. Kazakov, B. Kozlov, A. Lezhnev, A. Stasev, M. Kozhevnikov // A Cardiothoracic Multimedia Journal. 18th World Congress World Society of Cardio-Thoracic Surgeons. April 30 – May 3, 2008, Kos Island, Greece. – Vol. 11. – Suppl. 1. – P. 287.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ЗПкД – зона перикапиллярной диффузии
 ИБС – ишемическая болезнь сердца
 КДИ – конечно-диастолический индекс
 КМЦ – кардиомиоцит
 ЛЖ – левый желудочек
 ММО – митохондриально-миофибрилярное отношение
 ППС – приобретенные пороки сердца
 ПП – правое предсердие
 ПСО – паренхиматозно-стромальное отношение
 ТИ – трофический индекс
 ФВ – фракция выброса