

КАРДИОЛОГИЯ

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА ПРИ ЕГО ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М.Л. Благонравов

Кафедра общей патологии и патологической физиологии РУДН
Ул. Миклухо-Маклая, д. 8, Москва, 117198, Медицинский факультет

У кроликов моделировали очаговую ишемию левого желудочка путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии. Через 24, 72 и 120 часов после операции измерялось систолическое и диастолическое артериальное давление, реальное и максимально достижимое давление в левом желудочке сердца, производилась морфометрия полутонких срезов миокарда. Установлено, что уже на самых ранних сроках процесса в перинфарктной области резко усиливается синтез коллагена, увеличивается площадь деструкции миофибрилл, а интенсивность апоптоза имеет тенденцию к снижению. При этом уменьшается насосная функция и сократительный потенциал левого желудочка. Полученные данные позволяют сделать следующий вывод. Снижение сократительной активности левого желудочка при его ишемическом повреждении связано не только с возникновением очага некроза, но также с развитием комплекса морфологических изменений в макроскопически неповрежденной зоне миокарда.

В ряде исследований установлено, что на фоне очаговой ишемии левого желудочка возникают выраженные морфологические и ультраструктурные изменения в участках миокарда с нарушенным кровоснабжением, в которых, однако, еще не развился массивный некроз [1, 4]. Также в последние годы появились данные о развитии воспалительной инфильтрации в так называемой перинфарктной зоне левого желудочка [5]. В связи с этим есть основания предполагать, что изменение функциональных показателей сердца при окклюзии одной из ветвей коронарных артерий обусловлено не только появлением крупного некротического очага, но также развитием сложной морфологической перестройки в жизнеспособных зонах сердечной мышцы.

Вместе с тем в настоящее время появляется все больше публикаций, посвященных апоптозу кардиомиоцитов при различных заболеваниях сердца и внесердечной природы. В наших предыдущих исследованиях, а также в работах других авторов было установлено, что в интактном миокарде имеется определенный «фоновый» уровень апоптоза [2, 3, 7]. При этом среди исследователей нет единого мнения относительно того, в какую сторону меняется его интенсивность в динамике ишемического процесса [6, 8].

Таким образом, представляется закономерным изучение морфологических особенностей (включая апоптоз) и функциональной активности миокарда левого желудочка при развитии в нем очагового ишемического повреждения.

Методика исследования. Эксперимент был поставлен на 28 самцах кроликов породы «Шиншилла» весом 2,5—3,0 кг, которые были распределены на следующие 4 группы: 1 контрольная (интактные животные) и 3 опытных (животные с ишемическим повреждением миокарда на сроках 24, 72 и 120 часов от начала патологического процесса). Моделирование ишемии миокарда выполнялось путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии на границе ее средней и нижней трети в стерильных условиях. Далее во всех сериях эксперимента производилось исследование сосудистого тонуса, функциональной активности и морфологии миокарда левого желудочка (ЛЖ). С этой целью применялись следующие методики. На аппаратно-программном комплексе «Микард», представляющем собой совмещенный с ПК аналогово-цифровой преобразователь с электроманометрическими датчиками, под наркозом измеряли величину систолического и диастолического артериального давления (АД сист. и АД диаст.), давления в левом желудочке сердца в условиях реальной гемодинамики (ВДр ЛЖ), а также при пятисекундной окклюзии восходящей аорты (максимально достижимое внутрижелудочковое давление, ВДм ЛЖ). Для изучения функциональных показателей сердечно-сосудистой системы брали по 5 животных из каждой группы.

Оценку морфологического состояния миокарда левого желудочка проводили методом световой микроскопии полутонких срезов, которые изготавливались следующим способом. Животных под наркозом забивали экстирпацией сердца. Сердца перфузировали через восходящую аорту 2,5%-м раствором глутарового диальдегида. Участки папиллярных мышц левого желудочка иссекались, дофиксировались четырехокисью осмия при pH 7,2—7,4 и заливались в смесь эпона с аралдитом. На ультрамикротоме Reichert—Jung—Ultracut (Австрия) приготавливались полутонкие срезы, которые окрашивались по Antoni et al. Далее препараты исследовались под световым микроскопом Nikon Eclipse E 400 при иммерсионном увеличении (1000×). С помощью сетки Г.Г. Автандилова проводилась морфометрия в тридцати полях зрения в каждой серии исследования (на морфологическое исследование брали по 2 животных из каждой группы). Определялось в объемных процентах содержание мышечных волокон, клеточных ядер, коллагена, кровеносных сосудов, участков деструкции мышечных волокон и внеклеточных пространств. Интенсивность апоптоза кардиомиоцитов оценивали с помощью методики, разработанной на кафедре общей патологии и патофизиологии РУДН. При морфометрии подсчитывалось общее количество клеточных ядер, а среди них — число ядер, лежащих либо в полностью разрушенных клетках, либо вне клеток и даже в кровеносных сосудах. Такие ядра мы условно назвали «свободно лежащими ядрами» (СЛЯ). Отношение количества СЛЯ к общему количеству ядер оценивалось нами как «индекс апоптоза».

Статистическая обработка результатов производилась с помощью статистических программ, разработанных на кафедре общей патологии и патологической физиологии РУДН, а также программы «Biostat». При этом использовали *t* критерий Стьюдента (за достоверную принималась разность средних при

$p \leq 0,05$). Проводился корреляционный анализ, позволяющий оценить связь между отдельными процессами и параллелизм в их развитии.

Результаты исследования. Через сутки после моделирования очаговой ишемии левого желудочка сердца происходит достоверное снижение систолического и диастолического АД (рис. 1, табл. 1). На 3-и сутки наблюдается повышение обоих этих показателей по сравнению с 1-ми сутками, но тем не менее они остаются достоверно ниже, чем в контрольной группе. На 5-е сутки и систолическое, и диастолическое АД возвращаются на исходный уровень.

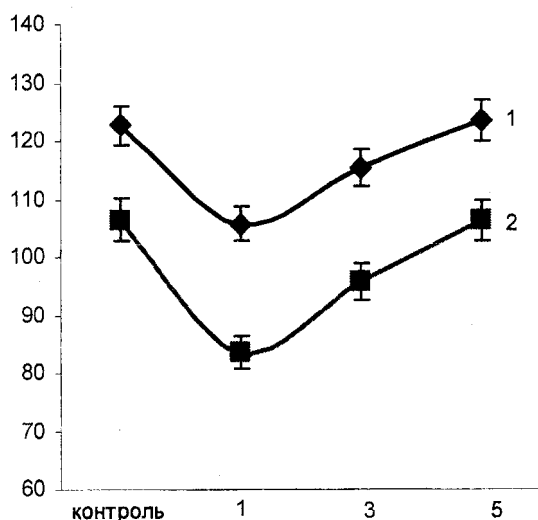


Рис. 1. Артериальное давление кроликов в динамике очаговой ишемии левого желудочка сердца:

1 — АД сист.; 2 — АД диаст. По вертикали — мм рт. ст.
По горизонтали — сроки исследования (сут.)

Таблица 1

Артериальное давление и сократительная активность левого желудочка сердца в динамике ишемического процесса, мм рт. ст. (M ± m)

Показатель	Контроль	Ишемия 1 сут.	Ишемия 3 сут.	Ишемия 5 сут.
АД сист.	122,7 ± 1,6	105,7 ± 2,9*	115,3 ± 2,9*	123,5 ± 1,95
АД диаст.	106,6 ± 0,97	83,5 ± 2,8*	95,8 ± 1,7*	106,4 ± 2,1
ВДр ЛЖ	135,7 ± 3,2	110,6 ± 3,1*	115,6 ± 2,8*	117,4 ± 1,1*
ВДм ЛЖ	182,8 ± 3,4	131,8 ± 3,7*	139,9 ± 3,8*	144,6 ± 3,8*

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочками отмечены данные, достоверно отличающиеся от контроля.

Можно предположить, что при резком ослаблении сократительной способности миокарда ЛЖ, вызванном очаговой ишемией, снижается фракция выброса, в результате чего наблюдается падение как систолического, так и диастолического АД на ранних сроках процесса. Однако в дальнейшем, по-видимому,

происходит включение центральных механизмов регуляции сосудистого тонуса, что и приводит к его нормализации.

На 1-е сутки после моделирования ишемии также отмечается достоверное и весьма значительное снижение ВДр ЛЖ. В последующие сроки эксперимента данный показатель начинает постепенно увеличиваться, однако, вплоть до 5 суток, он остается достоверно ниже контрольного значения (рис. 2).

Обращает на себя внимание изменение разницы между реальным и максимально достижимым давлением в полости ЛЖ на протяжении процесса. На первые сутки мы наблюдаем сокращение интервала между двумя этими показателями (за счет более резкого падения ВДм ЛЖ), а в последующие сроки (3 и 5 суток) заметной динамики уже не отмечается. Кроме того, абсолютное значение ВДм ЛЖ остается достоверно ниже нормы во все сроки наблюдения.

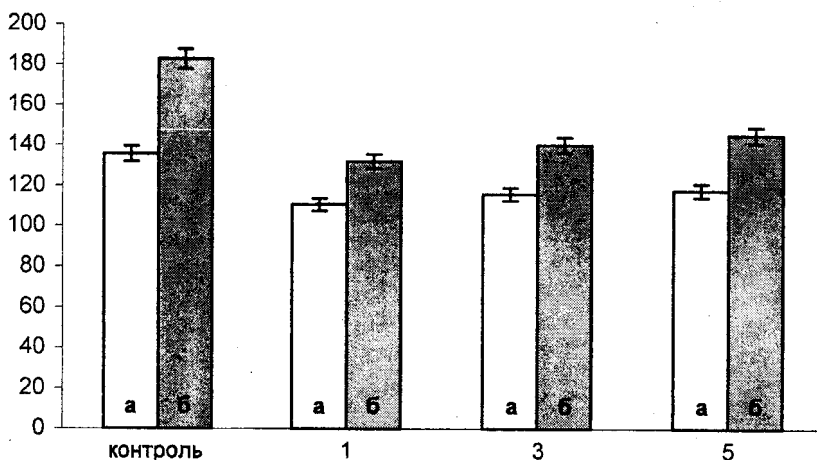


Рис. 2. Реальное и максимальное внутрижелудочковое давление ЛЖ сердца в динамике очаговой ишемии:

а — ВДр ЛЖ; б — ВДм ЛЖ. По вертикали — мм рт. ст.
По горизонтали — сроки исследования (сут.)

Таким образом, можно сказать, что сократительный потенциал ЛЖ при инфаркте угнетается в значительно большей степени, чем его реальная контрактильная функция.

При морфометрии полутонких срезов миокарда левого желудочка были обнаружены следующие особенности. На всем протяжении исследования отмечается постепенное снижение относительного объема мышечной массы, что в первую очередь можно объяснить развитием выраженного внеклеточного отека (табл. 2). При этом, начиная уже с первых суток процесса и в последующие два срока исследования (3 и 5 суток) происходит интенсивное и достоверное нарастание количества коллагена в миокарде. Следует обратить внимание на наличие отрицательной достоверной корреляционной связи средней силы в паре «мышечные волокна — коллаген» во все сроки исследования, что, на наш взгляд, может свидетельствовать об усилении фибропластических процессов

в миокарде в ответ на снижение доли мышечных волокон в перинфарктной зоне ЛЖ уже в самые ранние сроки после окклюзии одной из ветвей левой коронарной артерии. Активизация фиброза также косвенно подтверждается увеличением количества фибробластов в ткани миокарда ЛЖ, выявляемом при микроскопическом исследовании препаратов. Возможно, усиление коллагенообразования способствует укреплению сохраняющей жизнеспособность ткани, предотвращая разрыв миокарда или возникновение его аневризмы.

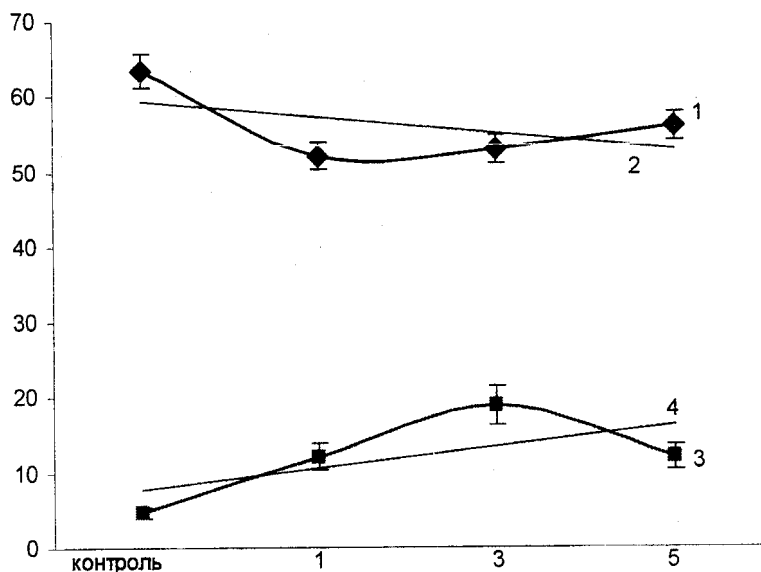


Рис. 3. Мышечная масса и коллаген миокарда ЛЖ в динамике очаговой ишемии:

1 — мышечная масса ЛЖ, 3 — коллаген ЛЖ, 2 и 4 — логарифмическое выражение изменений мышечной массы и содержания коллагена соответственно (линии тренда). По вертикали — объемные проценты. По горизонтали — сроки очаговой ишемии (сут.)

Количественный анализ «ядерного аппарата» ЛЖ позволяет установить достоверное снижение общего числа ядер кардиомиоцитов к 5-м суткам эксперимента. При этом имеется лишь тенденция к уменьшению количества «свободно лежащих ядер», а также индекса апоптоза, который на 5-е сутки возвращается на исходный уровень. Таким образом, есть основания утверждать, что усиления интенсивности апоптоза кардиомиоцитов на начальных сроках очаговой ишемии ЛЖ не происходит. С чем же связано уменьшение общего количества ядер в миокарде? Можно предположить, что часть ядер гибнет в результате апоптоза, интенсивность которого хоть и имеет тенденцию к снижению, но все же не падает до нулевого уровня. При этом, по-видимому, затормаживается процесс регенерации клеточных ядер и в конечном итоге их общее количество существенно уменьшается.

Обращает на себя внимание отчетливая тенденция к увеличению объемной доли участков деструкции по мере развития очаговой ишемии. Таким образом, снижение удельного веса миофибрилл в ишемизированной зоне миокарда ЛЖ

при окклюзии коронарной артерии можно скорее связать с некротической гибелью кардиомиоцитов нежели с апоптозом, а замещение поврежденной ткани миокарда происходит, по-видимому, за счет диффузного фиброза.

Таблица 2

Морфометрия левого желудочка сердца в динамике ишемического процесса, об. % (M ± m)

Показатель	Контроль	Ишемия 1 сут.	Ишемия 3 сут.	Ишемия 5 сут.
Мышечные волокна	63,5 ± 2,05	52,13 ± 1,5*	53,0 ± 1,85*	56,07 ± 1,24*
Ядра	1,17 ± 0,21	0,7 ± 0,19	1,0 ± 0,19	0,53 ± 0,13*
СЛЯ	0,23 ± 0,12	0,17 ± 0,08	0,07 ± 0,05	0,17 ± 0,07
Индекс апоптоза, отн. ед.	0,08 ± 0,05	0,07 ± 0,04	0,03 ± 0,02	0,13 ± 0,06
Коллаген	4,8 ± 1,68	12,17 ± 1,71*	18,97 ± 1,34*	12,07 ± 1,12*
Сосуды	7,07 ± 1,33	3,97 ± 0,57*	2,3 ± 0,59*	2,23 ± 0,88*
Участки деструкции	1,6 ± 0,73	2,03 ± 0,41	3,23 ± 0,52	2,9 ± 0,36
Внеклеточные пространства	21,9 ± 1,44	29,0 ± 1,71*	21,5 ± 1,22	26,2 ± 1,07*

Возвращаясь к функциональному состоянию левого желудочка, следует отметить, что его изменение в нашем исследовании отчетливо связано с особенностями морфологии миокарда. Так, при корреляционном анализе по средним значениям была обнаружена сильная достоверная отрицательная связь в парах «ВДр ЛЖ — коллаген» и «ВДм ЛЖ — коллаген» ($\rho = -0,76$ и $-0,79$ соответственно), а также отрицательная связь средней силы в парах «ВДр ЛЖ — участки деструкции» и «ВДм ЛЖ — участки деструкции» ($\rho = -0,56$ и $-0,6$ соответственно). Это свидетельствует о том, что ухудшение насосной функции миокарда ЛЖ во многом определяются деструкцией миофибрилл и развитием заместительного склероза.

Резюмируя изложенное в данной статье, можно сделать следующие выводы. Во-первых, на ранних стадиях ишемического процесса в левом желудочке развивается сложный комплекс морфологических изменений в так называемой перинфарктной зоне миокарда. Во-первых, характерно преобладание некротической гибели кардиомиоцитов над апоптозом, интенсивность которого имеет даже выраженную тенденцию к снижению на отдельных сроках исследования. Во-вторых, в миокарде уже с первых суток резко усиливается фибропластический процесс, причем он носит отчетливый заместительный характер. Наконец, сократительная активность левого желудочка в условиях реальной гемодинамики, а также его потенциальная работоспособность заметно ухудшаются и это связано не только с наличием очага некроза, но также с изменением морфоструктуры макроскопически неповрежденной области миокарда, а именно — с увеличением площади деструкции миофибрилл и с усилением коллагенообразования.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Фролов В.А., Казанская Т.А., Дроздова и др. Типовые реакции поврежденного сердца. — М. : Издательство Российской Академии наук, 1995. — 328 с.
- [2] Фролов В.А., Дроздова Г.А., Мустяца В.Ф. и др. О возможном механизме обратного развития гипертрофии сердца // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2001. — Т. 132. — № 7. — С. 42—44.
- [3] Фролов В.А., Дроздова Г.А., П. Риегер и др. Начальные механизмы формирования «гипертонического сердца» // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2004. — Т. 137. — № 3. — С. 249—252.
- [4] Хлыстов В.В., Усынин А.Ф., Павленко В.С. и др. Ультраструктура кардиомиоцитов перинфарктной зоны при лечении экспериментального инфаркта миокарда у крыс гексапептидом даларгином // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1988. — Т. 105. — № 3. — С. 362—365.
- [5] Abbate A., Bonanno E., Mauriello A. et al. Widespread myocardial inflammation and infarct-related artery patency // Circulation. — 2004. — V. 110. — № 6. — P. 46—50.
- [6] Abbate A., Bussani R., Biondi-Zoccai G.G. et al. Infarct-related artery occlusion, tissue markers of ischaemia, and increased apoptosis in the peri-infarct viable myocardium // Eur. Heart J. — 2005. — V. 26. — № 19. — P. 2039—2045.
- [7] Kytö V., Saraste A., Saukko P. et al. Apoptotic cardiomyocyte death in fatal myocarditis // Am. J. Cardiol. — 2004. — V. 94. — № 6. — P. 746—750.
- [8] Yaoita H., Oqawa K., Maehara K. et al. Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction // Cardiovasc Res. — 2000. — V. 45. — № 3. — P. 630—641.

MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF LEFT VENTRICULAR MYOCARDIUM DURING EXPERIMENTAL ISCHEMIA**M.L. Blagonravov**

Department of General Pathology and Pathological Physiology RPFU
M-Maklaya st., 8, Moscow, 117198, Medical faculty

In rabbits, focal ischemia of the left ventricle was simulated by ligation of descending branch of the left coronary artery. Systolic and diastolic blood pressure, real and maximal pressure in the left ventricle were measured and morphometry in semithin sections of the myocardium was performed 24, 72 and 120 hours after surgery. It was found that at the initial stages of ischemia pumping ability and potential contractive capacity of the left ventricle were significantly reduced. Morphometry revealed a pronounced increase in collagen content and destruction of myofibrills in peri-infarct area but at the same time cardiomyocyte apoptosis had a marked tendency to inhibition. These data suggest that deminished contractive activity of the left ventricle is due both to infarction and some morphological changes in unaffected myocardial area.

Key words: left ventricle, myocardium, peri-infarct area, collagen, apoptosis.