

ДИНАМИКА ПЛОТНОСТИ РЕЦЕПТОРОВ К ФАКТОРУ РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

М.Г. Шурыгин, И.А. Шурыгина, О.В. Каня

(Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН, г. Иркутск,
директор — член-корр. РАМН, проф., д.м.н. Е.Г. Григорьев)

Резюме. На модели экспериментального инфаркта миокарда (n=45) определена плотность рецепторов к фактору роста фибробластов в зоне интактного миокарда, инфарктной и пограничной зонах. Выявлено, что плотность рецепторов к FGF меняется в динамике развития патологического процесса. Показана низкая плотность FGFR1 в зоне инфаркта миокарда начиная с 6 часов наблюдения. Отмечена повышенная экспрессия FGFR в зоне пограничного миокарда, начиная с 6 часов наблюдения с достижением максимума на 3-7 сутки, что по мнению авторов отражает интенсивность репаративных процессов в данной зоне, а также определяет данную зону как основной источник роста молодой соединительной ткани, замещающей зону повреждения миокарда.

Ключевые слова: FGF, FGFR, инфаркт миокарда.

DYNAMICS OF RECEPTORS DENSITY TO FIBROBLASTS GROWTH FACTOR IN EXPERIMENTAL MYOCARDIAL INFARCTION

M.G. Shurigin, I.A. Shurigina, O.V. Kanya

(Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk)

Summary. Using a rat model of myocardial infarction (n=45), we examined receptors density to fibroblasts growth factor in zone of intact myocardium, infarct and frontier and intact zones. Our findings showed that receptors density to fibroblasts growth factor (FGF) changes in dynamics of pathological process. Low density FGFR1 in myocardial infarction zone since 6 hours of observation has been shown. There has been noted increased expression of FGFR in zone of frontier myocardium since 6 hours of observation with reaching maximum at 3-7 days, that may point out to intensity of reparative processes in the present zone, as well as define the present zone as the main source of growth of new connective tissue, substituting zone of myocardium lesion.

Key words: FGF, FGFR, myocardial infarction.

Сноска: Работа выполнена при поддержке грантов П803 «Проведение поисковых научно-исследовательских работ по направлению «Физико-химическая молекулярная и клеточная биология» и П1250 «Проведение поисковых научно-исследовательских работ по направлению «Фундаментальная медицина и физиология» в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы.

Впервые информация о выделении фактора роста фибробластов была опубликована в 1975 году D. Gospodarowicz [3], который вел поиск соединения, ответственного за митогенную активность экстрактов гипофиза в отношении фибробластов — был выделен основной фактор роста фибробластов (bFGF, по современной номенклатуре — FGF2). Как выявили дальнейшие исследования, существует ряд белков, имеющих структурное и функциональное сходство с основным факторами роста фибробластов. В основе большинства белков семейства лежит константная последовательность из 120 аминокислотных остатков, 6 из которых попарно связаны между собой [2].

В настоящее время факторы роста фибробластов представляют собой семейство структурно родственных полипептидов, которое у человека представлено 22 членами (FGF1-FGF14 и FGF16-FGF23) из 23, обнаруженных у животных. Все они сравнительно низкомолекулярные (7-38 кДа) гепаринсвязывающие белки, среди которых наиболее изученными являются основной и кислый факторы [4]. Ни один из известных к настоящему времени факторов не обладает таким широким спектром эффектов на такое большое количество клеточных типов, как основной фактор роста фибробластов. Кроме фибробластов клетками-мишенями для FGF2 в плане пролиферативного эффекта являются эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов, хондроциты, меланоциты и др. [7]. Кроме этого, фактор принимает участие в дифференцировке адипоцитов, подавляет апоптоз нейронов и стимулирует выработку IL-6 [1, 6].

Действие представителей семейства FGF связано с активацией тирозинкиназных рецепторов FGF четырех основных типов (FGFR1-FGFR4) [2]. При этом FGFR1 обладает высокой аффинностью к FGF1-FGF3 и FGF10 [2].

Развитие инфаркта миокарда, как известно, сопровождается значительным повышением уровня FGF2 в первые часы после начала заболевания. Увеличение индекса экспрессии FGF2 находится в строгой временной зависимости от динамики репаративных процессов [5]. Однако до настоящего времени не исследована динамика экспрессии рецепторов к данному фактору роста в динамике заболевания.

Цель исследования: определить плотность рецепторов к фактору роста фибробластов при экспериментальном инфаркте миокарда.

Материалы и методы

Проведен хронический эксперимент на 45 самках крыс линии Wistar весом 220-250 г в возрасте 9 мес. (выполнено на базе отдела экспериментальной хирургии с виварием НЦПВХ СО РАМН г. Иркутска). Эксперимент выполнялся в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Инфаркт миокарда моделировали методом диатермокоагуляции межжелудочковой артерии крысы. В качестве наркоза внутривенно вводили комбинацию в составе: кетамин из расчета 50 мг на кг массы, дроперидол — 0,5 мг на кг массы, атропин — 0,15 мг на кг.

Животных выводили из эксперимента через 2 ч., 6 ч., 12 ч., 1, 3, 7, 14 и 30 суток после операции. Сердце экспериментального животного фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином и иммуногистохимическим методом с помощью набора Novolink Polymer DetectionSystem (Novocastra RE7150-K). В качестве первичных антител при иммуногистохимическом окрашивании применяли антитела к FGF рецепторам 1 типа (FGFR1) (F-5421, Lot 064K 4838, Sigma) в рабочем разведении 1:250. Докрашивали гематоксилином. Закрывали в среду Permanent Slide Mounting Medium (Novocastra RE7137, Lot 713708).

Оценивали плотность рецепторов FGFR1 в зоне инфаркта, пограничной зоне и «интактном» миокарде.

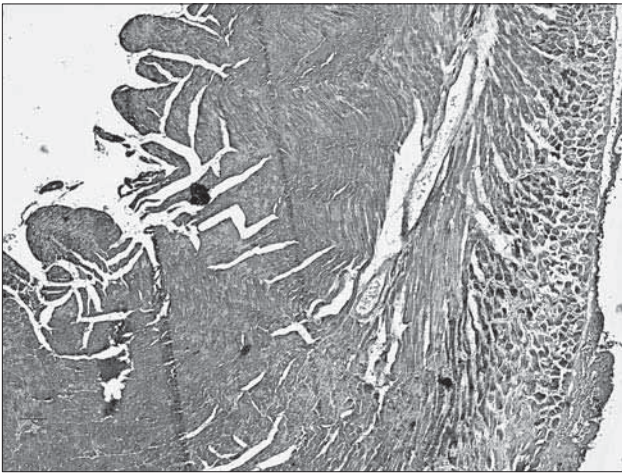


Рис. 1. 2 часа после моделирования инфаркта миокарда. Равномерное распределение плотности FGFR1 в жизнеспособном миокарде. Неспецифическая окраска некротизированных мышечных волокон. Иммуногистохимия (краситель DAB, первичные антитела к FGFR1, докрашено гематоксилином).

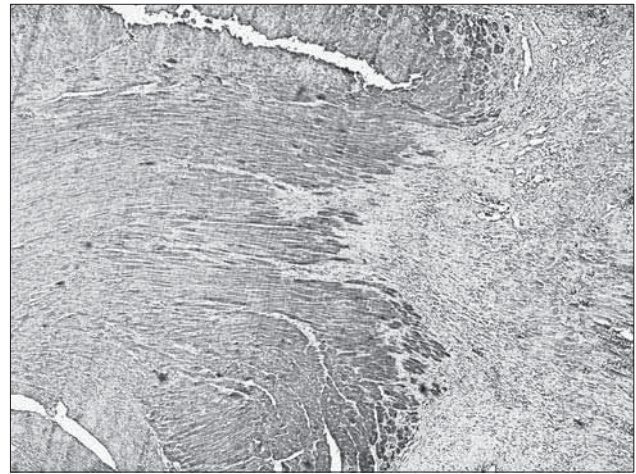


Рис. 2. 7 суток после моделирования инфаркта миокарда. Низкая плотность FGFR1 в зоне формирования постинфарктного рубца, интенсивно окрашенная перинфарктная зона. Иммуногистохимия (краситель DAB, первичные антитела к FGFR1, докрашено гематоксилином).

Результаты и обсуждение

При моделировании инфаркта миокарда процесс протекал согласно классическим канонам: в первые часы после операции (до 6 ч.) гистопатология в зоне инфаркта характеризовалась расстройством кровообращения: неравномерным полнокровием, стазами в капиллярах, обширными кровоизлияниями, а также отеком стромы, некробиотическими изменениями в кардиомиоцитах.

Уже через 2 часа после операции в зоне некроза наблюдались обширные кровоизлияния, стаз в капиллярах, вакуолизация цитоплазмы кардиомиоцитов, утрата поперечной исчерченности, набухание ядер кардиомиоцитов, кариопикноз, единичные нейтрофилы и лимфоциты, макрофаги. Через 6 часов после операции наблюдался распад кардиомиоцитов (фрагментация и гомогенизация отдельных мышечных волокон, саркоплазма гомогенизирована с распадом на глыбки, кариолизис, эозинофилия цитоплазмы). Среди инфильтративных клеточных элементов встречались нейтрофилы, единичные лимфоциты, макрофаги, сидерофаги.

Через 12 часов после операции отмечали максимальную выраженность нейтрофильной реакции в зоне инфаркта. По периферии зоны некроза определялись отдельные расширенные капилляры и посткапиллярные венулы, стаз, краевое стояние нейтрофилов, массивная нейтрофильная инфильтрация. Преобладали полиморфно-ядерные лейкоциты в стадии распада, что свидетельствовало об ограничении очага некроза. Явления распада мышечных волокон нарастали. Количество сидерофагов достигало максимума. Через 24 часа количество нейтрофилов в зоне некроза снижалось, сохранялся высокий уровень сидерофагов.

Через 3 сут. в зоне некроза картина резко менялась, вслед за стадией нейтрофильной инфильтрации в очаге некроза начали преобладать резорбция некротических масс. Отмечалось большое количество фибробластов, начинала формироваться грануляционная ткань, что проявлялось резким возрастанием количества сосудов синусоидного и капиллярного типов. Выявлялись единичные фиброциты.

На 7 суток в зоне некроза усиливались резорбтивные процессы, происходило замещение некротизированных мышечных волокон молодой соединительной тканью. Плотность упаковки фибробластов нарастала, достигая максимума за все сроки наблюдения. Параллельно происходили изменения части фибробластов, характерные для

кларматоза. Макрофагальная реакция была слабо выражена во все сроки наблюдения, с максимумом на 7 сутки.

На 14 суток в зоне формирования постинфарктного рубца отмечалось дальнейшее созревание грануляционной ткани с уменьшением количества сосудов. Снижалось количество фибробластов при одновременном нарастании количества фиброцитов. На 30 суток в зоне инфаркта формировался соединительнотканый рубец. Количество клеточных элементов и сосудов уменьшалось, количество фиброцитов превышало количество фибробластов.

В пограничной зоне пик нейтрофильной реакции приходился на 12 часов, с 12 часов до 3 суток наблюдался рост количества капилляров и эндотелиоцитов на единицу площади с постепенным снижением их количества к 30 суткам. С 3 суток начиналась фибробластическая фаза, максимально выраженная на 7 сутки.

При изучении динамики плотности рецепторов к FGFR1 выявлено, что через 2 часа после моделирования ИМ наблюдается равномерное распределение плотности не зависимо от анатомической зоны и наличия или отсутствия ишемического повреждения (рис. 1). Уже через 6 часов после моделирования ИМ и до конца наблюдения (30 суток) зона инфаркта миокарда была окрашена значительно слабее по сравнению с «интактной» зоной (рис. 2). Плотность рецепторов в пограничной зоне нарастала с 6 часов наблюдения с достижением максимума на 3-7 сутки, в этот период плотность рецепторов в данной зоне значительно превосходила показатели не только зоны инфаркта, но «интактного» миокарда (рис. 2). На 14 и 30 суток плотность рецепторов в пограничной зоне снижалась и не отличалась от плотности рецепторов в «интактном» миокарде.

В зоне «интактного» миокарда плотность рецепторов была максимальной в сроки 12-24 часа с последующим снижением плотности рецепторов.

Таким образом, плотность рецепторов к FGF2 в миокарде при инфаркте миокарда меняется в динамике развития патологического процесса. Низкая плотность FGFR в зоне инфаркта миокарда является отражением гибели клеток, несущих на себе специфические рецепторы. Повышенная экспрессия FGFR в зоне пограничного миокарда, начиная с 6 часов наблюдения с достижением максимума на 3-7 сутки отражает интенсивность репаративных процессов в данной зоне, а также определяет данную зону как основной источник роста молодой соединительной ткани, замещающей зону повреждения миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alzheimer C., Werner S. Fibroblast growth factors and neuroprotection// Adv. Exp. Med. Biol. — 2002. — Vol. 513. — P. 335-351.
2. Fernig D.G., Gallagher J.T. Fibroblast growth factors and their receptors: a network controlling tissue growth, morphogenesis and repair// Prog. Growth Factor Res. — 1994. — Vol. 5, N4. — P. 353-377.
3. Gospodarowicz D., Rudland P., Lindstrom J., Benirschke K. Fibroblast growth factor: its localization, purification, mode of action, and physiological significance //Adv. Metab. Disord. — 1975. — Vol. 8. — P. 301-335.
4. Ornitz D.M. FGFs, heparan sulfate and FGFRs: complex interactions essential for development// Bioessays. — 2000. — Vol. 22, N2. — P. 108-112.
5. Qu Z., Liebler J.M., Rowers M.R., et al. Mast cells are a major source of basic fibroblast growth factor in chronic inflammation and cutaneous hemangioma// Am. J. Pathol. — 1995. — Vol. 147, N3. — P. 564-573.
6. Rodel J., Woytas M., Groh A., et al. Production of basic fibroblast growth factor and interleukin-6 by human smooth muscle cells following infection with Chlamydia pneumoniae// Infect. Immun. — 2000. — Vol. 68, N6. — P. 3635-3641.
7. Senger D.R., VanDe Water L. VEGF expression by epithelial and stromal cell compartments: resolving a controversy// Am. J. Pathol. — 2000. — Vol. 157, N1. — P. 1-3.

Информация об авторах: 664003, г. Иркутск, ул. Борцов революции, 1.

Шурыгин Михаил Геннадьевич — д.м.н., зав. отделом;

Шурыгина Ирина Александровна — д.м.н., в.н.с.;

Каня Олег Витославович — зав. отделом.

Тел./факс (3952)290369, e-mail shurygin@rambler.ru

© САМОТЁСОВ П.А., ДРАЛЮК М.Г., ШНЯКИН П.Г. — 2010

ВАРИАНТНАЯ АНАТОМИЯ ЦЕНТРАЛЬНЫХ ПЕРФОРИРУЮЩИХ АРТЕРИЙ ВИЛЛИЗИЕВОГО МНОГОУГОЛЬНИКА

П.А. Самотёсов, М.Г. Дралюк, П.Г. Шнякин

(Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, ректор — д.м.н., проф. И.П. Артюхов; кафедра оперативной хирургии с топографической анатомией, зав. — д.м.н., проф. П.А. Самотёсов; кафедра нейрохирургии и неврологии ИПО, зав. — д.м.н., проф. Дралюк М.Г.)

Резюме. Проведённое анатомическое исследование выявило варианты строения центральных перфорирующих артерий головного мозга, способствующие углублению знаний о этиопатогенезе цереброваскулярных заболеваний.

Ключевые слова: возвратная артерия Гюбнера, медиальные стриарные артерии, лентикюлостриарные артерии, задние таламоперфорирующие артерии, вариантная анатомия.

VARIANT ANATOMY OF CENTRAL PERFORATING ARTERIES OF WILLIS POLYGON

Samotesov P.A., Dralyuk M.G., Shnyakin P.G.

(Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky)

Summary. Conducted anatomical examination revealed the versions of the structure of the central perforating arteries of the brain, which promote to get a deeper knowledge of the etiopathogenesis of cerebrovascular diseases.

Key words: recurrent Gyubnera artery, medial striatal artery, lentikulostratial artery, dorsal talamoperforating artery, variant anatomy.

Смертность от цереброваскулярных заболеваний находится на 3-ем месте во всех экономически развитых странах [1,7]. Внутримозговые кровоизлияния занимают от 10 до 30% от всех инсультов [2,7,11]. Нетравматические внутримозговые кровоизлияния случаются вследствие приобретённых изменений или пороков развития центральных перфорирующих артерий головного мозга. Несмотря на большой объём информации, посвящённой строению центральных перфорирующих артерий головного мозга, не достаёт сведений о вариантах строения, не вписывающихся в общую схему [3]. В то время как типичное строение, по которому составлена анатомическая номенклатура, в каждой анатомической области или внутреннем органе наблюдается не чаще, чем в 30% случаев [4,6]. Особый интерес представляют именно крайние варианты анатомической нормы, на стыке которых возможен срыв компенсаторных возможностей организма и развитие патологии [9].

Цель работы: Изучить вариантную анатомию центральных перфорирующих артерий Виллизиевого многоугольника головного мозга.

Материалы и методы

Исследовано 40 препаратов головного мозга, изъятых у лиц, умерших от причин, не связанных с пора-

жением головного мозга. В изъятном мозге перевязывались сонные и позвоночные артерии, после чего в сосудистое русло вводился раствор нейтрального формалина и мозг фиксировался 1 сутки. На следующий день пункционно в сосудистое русло вводился раствор метиленовой сини до тех пор, пока не прокрашивались все артерии Виллизиевого многоугольника. Путём микропрепаровки и удаления арахноидальной оболочки, выделялись следующие центральные перфорирующие артерии: артерия Гюбнера и медиальные стриарные артерии (ветви А1 сегмента передней мозговой артерии), лентикюлостриарные артерии (ветви М1 сегмента средней мозговой артерии), задние таламоперфорирующие артерии (ветви Р1 сегмента задней мозговой артерии). Артерия Гюбнера, медиальные стриарные и лентикюлостриарные артерии проникали в паренхиму мозга через переднее продырявленное вещество, а задние таламоперфорирующие артерии — через заднее продырявленное вещество, в глубине межножковой ямки.

Статистическая обработка материалов с использованием пакета Ms Excel 9,0. Значимые различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Возвратные артерии Гюбнера, кровоснабжающие переднее бедро внутренней капсулы и головку хвостатого