

МОРФОЛОГИЯ КОМПЕНСАТОРНО-ПРИСПОСОБИТЕЛЬНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ МИОКАРДА У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ТРАНСПОЗИЦИЕЙ МАГИСТРАЛЬНЫХ СОСУДОВ

Е.Э. Кливер, А.М. Волков, П.М. Ларионов, Д.В. Субботин, Д.С. Сергеевичев, Ю.Н. Горбатов

Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина

cpssc@nriicp.ru

Ключевые слова: транспозиция магистральных сосудов, гиперплазия и гипертрофия миокарда, флюоресцентные методы.

Важной задачей современного этапа развития кардиохирургии является поиск путей точной диагностики, определение наиболее информативных признаков в лечении сложных, ранее считавшихся неоперабельными врожденными пороками сердца (ВПС), к числу которых относится транспозиция магистральных сосудов (ТМС) [10]. Сложность лечения этих пороков заключается в необходимости правильно оценить возможности желудочков сердца в обеспечении адекватного сердечного выброса [4, 6]. Эта оценка должна основываться на определении возможных временных границ в возрастных периодах, благоприятных для проведения результативной коррекции порока сердца. На сегодняшний день еще не вполне установлены взаимоотношения процессов физиологического роста сердца и развития компенсаторной гипертрофии миокарда, особенно в раннем периоде жизни. Известно, что в покое, и во время дополнительного стресса, на функцию желудочков оказывает влияние существенное взаимодействие генной трансформации, структурных изменений обусловленных гемодинамическими и вегетативными факторами [7, 11, 13, 15]. Однако полученные экспериментальные данные подтверждают то, что возраст, также является очень важным фактором в определение типа, скорости и функциональной особенности реакции миокарда на перегрузку давлением [8, 9, 14]. Хирургическая коррекция должна быть выполнена в оптимальной фазе сердечного роста, предрасполагающего к нормальной функции желудочков, что устранит неблагоприятные эффекты ВПС на другие жизненно важные органы, поэтому целью работы явилась оценка особенностей гипертрофического и гиперпластического типа компенсации в возрастном аспекте у кардиохирургических больных с транспозицией магистральных сосудов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использован аутопсийный материал миокарда 68 умерших в послеоперационном периоде больных до 1 года с ТМС, а также 10 детей аналогичного возраста умерших от внесердечных причин. Пациенты с ТМС были разделены на 2 группы в зависимости от анатомических вариантов: I группа, так называемая простая форма ТМС – ТМС с дефектом

межпредсердной перегородки (ДМПП) и интактной межжелудочковой перегородкой (ИМЖП) – 37 больных (до 1 мес. – 19, 1–6 мес. – 18) и II группа – ТМС с ДМПП и с дефектом межжелудочковой перегородки (ДМЖП) – 31 пациент (до 1 мес. – 7, 1–6 мес. – 13 и 6–12 мес. – 11).

После вскрытия сердца и освобождения полостей от крови и сгустков, проводилось его взвешивание и вычисление абсолютной и относительной массы. Кушочки миокарда для гистологического исследования иссекались из передней, задней и верхушечной части левого и правого желудочков сердца, фиксировали в 10% растворе формалина на фосфатном буфере и заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм готовились на микротоме фирмы Microm HM 550 и окрашивались гематоксилин – эозином, по методу ван-Гизон с комбинированной докраской эластике орсеином, так же проводилась постановка PAS-реакции, метода импрегнации срезов серебром (по Гомори) и окраска трихромомом Массона с добавлением голубого анилина.

Обзорную гистологию и морфометрические исследования проводили с помощью программно микроскопного комплекса, который включал в себя световой микроскоп Axioskop 40 немецкой фирмы ZEISS, цифровую видеокамеру AxioCam MRc и компьютер Pentium 4.

Биоптаты миокарда для проведения флуориметрии фиксировали в 4% растворе формалина на фосфатном буфере. Далее образцы миокарда отмывались в растворе дистиллированной воды с последующей проводкой по криопротектантам (растворы сахарозы 5% – 2 ч, 10% – 2 ч и 15% в течение 12 ч). Флуориметрия гистологических препаратов проводилась с использованием микроскопа Axioskop 40FL и камеры AxioCamHRc. При комнатной температуре +24°C, выполнялись компьютерные изображения по 20 с каждого гистологического препарата. Объектив Zeiss Plan-Neofluar × 40. Полученные изображения обрабатывались с помощью программного обеспечения AxioVision 3.1 (Carl Zeiss).

Для проведения флуориметрии миокарда использовались следующие флуоресцентные метки: этидиум бромид и пропидиум иодид. Срезы окрашивались в фосфатном буфере pH=7,4 содержащем

$5,0 \times 10^{-3}$ г/л этидиума бромида 5 мин при $+25^\circ\text{C}$ далее фиксировались и изготавливались постоянные препараты. После чего проводилась флуориметрия гистологических препаратов (поглощение 510–523 нм, испускание 595–605 нм).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Excel. Достоверность различий средних величин и корреляционных взаимоотношений проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гипертрофические изменения сердца достаточно быстро прогрессируют с возрастом, превышая должные возрастные показатели в 2 раза у новорожденных и 2,5 раза у детей раннего возраста. Сравнение данных по абсолютной и относительной массе сердца больных ТМС с ранее полученными [2] аналогичными показателями у пациентов с изолированным ДМЖП и тетрадой Фалло (ТФ) показало что абсолютная масса сердца, уже у новорожденных с ТМС практически в 1,5 раза превышает аналогичный показатель пациентов с ТФ, который у них проявляется только в возрасте от 1 до 16 лет.

Наибольший максимум сближения данных параметров отмечается в возрасте 8–11 лет, но и здесь сохраняется разница более чем на 1/3. Несколько иная картина прослеживается при сравнении динамики абсолютной и относительной массы сердца у больных с изолированным ДМЖП. Здесь также отмечается более быстрое развитие этого показателя у пациентов с ТМС, у которых в периоде новорожденности абсолютная масса сердца практически одинакова с аналогичным у больных с изолированным ДМЖП в возрасте 1–3 года, а к возрасту 1–6 мес. в группе ТМС с ИМЖП он уже превосходит данный показатель в более старших возрастных группах у больных с изолированным ДМЖП (таблица).

При проведении морфометрического исследования отмечено, что нарастание мышечной массы ЛЖ к 6–12 мес. быстрее идет у пациентов ТМС с ДМЖП, при практически стабильном или даже чуть сниженным аналогичным показателем в группе ТМС с ИМЖП. Это объясняется у последних развитием ацидоза и системной гипоксии ткани, так как большой и малый круг кровообращения почти не сообщаются, и как следствие этого быстро развивается декомпенсация с нарастанием сердечной недостаточности. Также следует отметить, что у детей ТМС с ДМЖП увеличение толщины мышечного волокна идет плавно, так как площадь патологических сообщений больше и, следовательно, насыщение крови кислородом возрастает тоже. В ПЖ, в отличие от контрольной группы, незначительное снижение данного показателя к 1–6 мес. отмечается в обеих исследуемых группах с последующим его ростом в группе ТМС с ДМЖП к возрасту 6–12 мес.).

Гемодинамически первая группа больных с ТМС характеризуется двунаправленным сбросом, объем которого при изолированном шунтировании на уровне предсердий будет зависеть от растяжимости предсердий, разницы давления в них в разные фазы сердечного цикла, размера межпредсердного дефекта и разницы сопротивления малого и большого круга кровообращения. Так как большой и малый круг кровообращения (БКК и МКК) при ТМС разобщены, основным механизмом компенсации является увеличение объема циркулирующей крови, что приводит к переполнению МКК [1]. При этом анатомическом варианте ТМС функциональная нагрузка на желудочки практически одинакова, что подтверждается полученными результатами при окраске миокарда этидиумом бромидом, которые указывают на то, что пик активного синтеза наработки генетического материала, в обоих желудочках сердца в этой группе, по сравнению с контрольными (рис. 1, а), приходится на период новорожденности и проявляется резким снижением интенсивности окраски на флуоресценции (рис. 1, б).

Среднестатистические данные абсолютной и относительной массы сердца, толщины миокарда желудочков детей с ИМЖП и ДМЖП при ТМС

ВПС	Масса сердца (г)		Толщина стенки (см)		Абсолютная масса (в % к норме)	Относительная масса (в % к норме)
	абсолют.	должная	ПЖ	ЛЖ		
ИМЖП (n=37)						
До 1 мес.	45,2±2,2*	22,2±1,8	0,53±0,04	0,55±0,04	204,5	97,3
1–6 мес.	63,8±5,7*	25,7±1,8	0,62±0,04	0,69±0,05	246,2	140,0
ДМЖП (n=31)						
До 1 мес.	45,7±2,6*	22,3±1,9	0,51±0,05	0,46±0,05	209,1	96,1
1–6 мес.	56,1±5,5*	26,2±1,8	0,61±0,88	0,66±0,88	215,4	164,4
6–12 мес.	95,4± 10,7*	35,8±2,1	0,69±0,05	0,59±0,04	237,5	133,3

* $p < 0,05$ различия достоверны по отношению к должному весу

Вторая группа больных с ТМС гемодинамически характеризуется наличием двух сообщений – на уровне межпредсердной и межжелудочковой перегородок (ДМПП и ДМЖП), что улучшает смешивание крови на уровне желудочков за счет перекрестного сброса. При маленьких размерах ДМЖП давление в МКК повышается незначительно, при больших размерах ДМЖП оно выравнивается в обоих кругах кровообращения, что приводит к развитию высокой легочной гипертензии (ВЛГ) и нарастанию гипоксемии [5, 8]. При этом анатомическом варианте ТМС в связи с увеличением объема крови на оба желудочка приходится большая функциональная нагрузка по сравнению с 1 группой больных, что проявляется у них снижением уровня флуоресценции в грудном возрасте (1–6 мес.). По нашему мнению это характеризует начало процессов ремоделирования сердца с включением в возрасте старше 6 мес. гиперпластических процессов, связанных с полиплоидизацией ядерного материала и последующим развитием гипертрофических явлений [3, 12], что обусловлено сложившимися после рождения соответствующими гемодинамическими условиями.

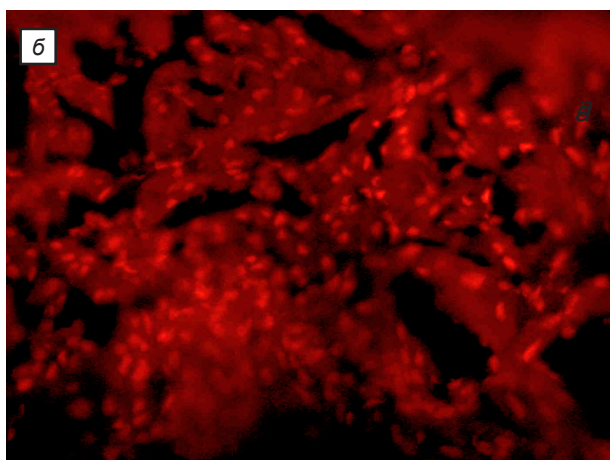
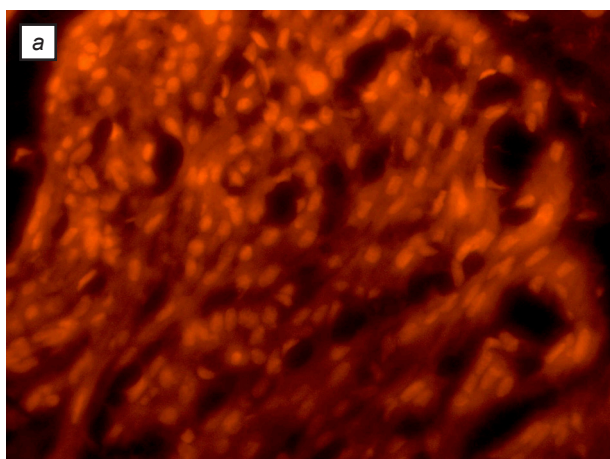


Рис. 1. Миокард ЛЖ новорожденного. Контрольная группа (а) высокая интенсивность флуоресценции. ТМС с ИМЖП (б). Резкое снижение интенсивности флуоресценции. Ув. $\times 260$. Filter set 14, BP510–560 nm, FT580, LP 590 nm. Окраска этидием бромидом.

Проведенный статистический анализ результатов флюориметрии выявил достоверные различия по снижению интенсивности флуоресценции этидиума бромида у пациентов до 6 мес. с последующим увеличением активности метки (рис. 2, а). Это связано с развитием гиперпластических изменений нарастающих после 6 мес. Гиперплазия характеризуется полиплоидизацией генетического материала, увеличивая количество ядерного ДНК [3, 12], а этидиум бромид интерколирует двухцепочечную ДНК, приводя к усилению интенсивности флуоресценции метки. Измерение флуоресценции пропидиума иодида не показало достоверно значимых различий между контролем и исследуемыми образцами (рис. 2, б). Принимая во внимание, что пропидиум иодид интерколирует разрывы ДНК, то есть окрашивает генетический материал, подвергающийся разрушению, можно сделать вывод, что у пациентов с врожденными пороками сердца идет физиологический процесс ремоделирования миокарда связанный с гиперпластическими и гипертрофическими изменениями.

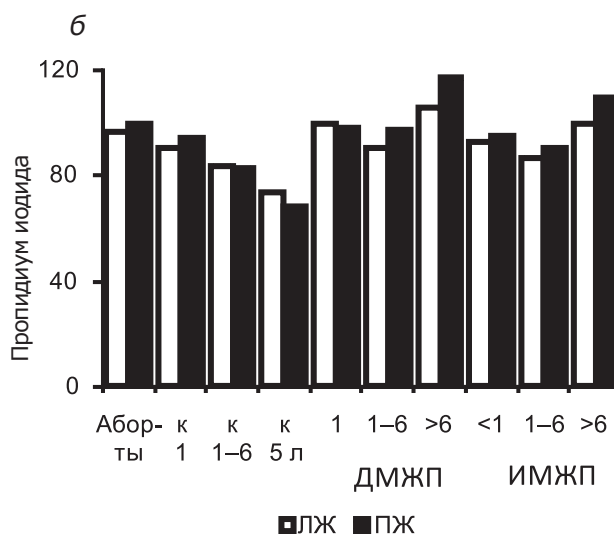
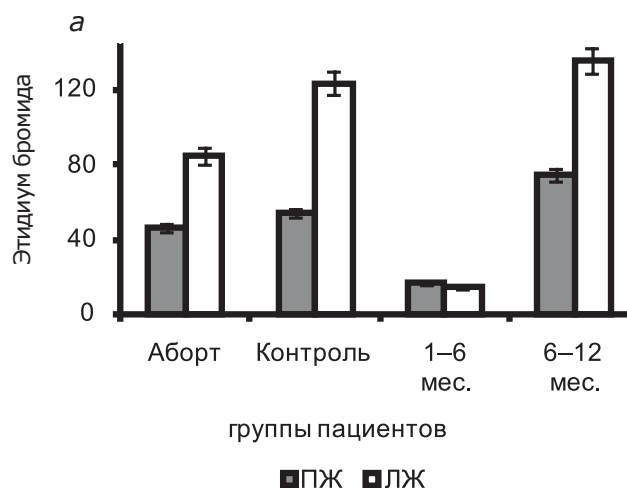


Рис. 2. Изменение интенсивности флуоресценции этидиума бромида (а) и пропидиума иодида (б).

Учитывая динамику интенсивности изученных выше морфологических процессов, происходящих в миокарде детей с ТМС в возрасте до 1 года, можно отметить, что на макрометрическом уровне гипертрофические изменения с возрастом прогрессируют, достигая к 6–12 мес. практически трехкратной разницы к должествующим показателям. При этом на микроскопическом уровне в первой группе в обоих желудочках сердца отмечается некоторое снижение диаметра мышечного волокна. Во второй группе данный параметр в ЛЖ плавно повышается с возрастом, а в ПЖ умеренно снижается к 1–6 мес., затем вновь повышаясь к 6–12 мес., что при проведении флуоресцентных методов исследования проявляется, сначала падением интенсивности флуоресценции этидиума бромиды у детей в возрасте до 6 мес. с последующим его возрастанием к 1 году, тем самым указывая на преобладание гипертрофических и гиперпластических процессов в данном возрасте.

ВЫВОДЫ

1. Комплексное изучение морфологии миокарда, включающее макрокардиометрический, гистологический и флуоресцентный методы исследования, позволяет не только дифференцировать гипертрофические и гиперпластические процессы в нем при ВПС, но и оценить их качественные и количественные характеристики по степени некротизационных, апоптотических и атрофических изменений начиная с момента рождения ребенка.
2. Оптимальным периодом сердечного роста, predisполагающего к нормальной функции желудочков, в пределах которого возможно выполнение результативной кардиохирургической коррекции для пациентов ТМС с ИМЖП является неонатальный период, а для ТМС с ДМЖП период новорожденности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адкин Д.В., Гнусаев С.Ф., Ильин В.Н. // *Педиатрия*. 2002. № 3. С. 88–91.
2. Волков А.М. Зависимость структурной компенсации в сердце от типа коронарного кровоснабжения при тетраде Фалло и врожденном межжелудочковом дефекте / Сб. науч. тр. НИИПК МЗ РСФСР «Адаптация и компенсация при пороках сердца», Новосибирск, 1983.

3. Маслов Л.Н., Рябов В.В., Сазонова С.Н. // *Успехи физиологических наук*. 2004. № 3. Т. 35. С. 50–60.
4. Castaneda A.R. // *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1991. V. 9. Suppl. 2. P. 151–154.
5. Castaneda A.R. // *Acta Chir. Austriaca*. 1993. V. 25. № 2. P. 80–82.
6. Castaneda A.R., Trusier G.A., Paul M. H. et al. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1998. V. 95. № 1. P. 14–28.
7. De Lange T. // *Oncogene*. 2002. V. 21. P. 523–540.
8. Fujii A.M., Gelpi R.J., Mirsky I. et al. // *Circ Res.* 1988. V. 62. P. 462.
9. Isoyama S., Wei J.Y., Izumo S. et al. // *Circ Res.* 1987. V. 61. P. 337.
10. Kirklin J.W., Barratt-Boyes B.G. // *Cardiac Surgery*. New-York, 1986. P. 1129–1217.
11. Khan A.S., Lynch C.D., Sane D.C. et al. // *J. Gerontol.* 2001. V. 56. P. B364–B371.
12. Liu Y., Cigola E., Chenq W. et al. // *Lab. Invest.* 1995. V. 73. P. 771–787.
13. Mallat Z., Fornes P., Costagliola R. et al. // *Gerontol.* 2001. V. 56. P. M719–M723.
14. Re R.N. // *Am. J. Cardiol.* 1987. V. 60. P. 100–104.
15. Simpson P.C. // *Am. J. Cardiol.* 1988. V. 62. 13G.

MORPHOLOGY OF COMPENSATORY/ADAPTIVE MYOCARDIAL CHANGES IN CARDIAC PATIENTS WITH TRANSPOSITION OF GREAT VESSELS

Ye.E. Kliever, A.M. Volkov, P.M. Larionov, D.V. Subbotin, Yu.N. Gorbatykh

Of congenital heart diseases (CHD), the ones with expressed hypoxaemia, and specifically with transposition of great vessels (TGV), present a real challenge for cardiac surgeons, cardiologists and neonatologists. In the context of new technologies being used in CHD surgery, studying compensatory hypertrophy of the myocardium in this pathology has acquired a new meaning. Up to now, there has been no full explanation of neither the nature of the factors limiting on-going hypertrophy nor the mechanisms of myocardium dysfunction. Notwithstanding the fact that hypertrophy and hyperplasia are two different, clear-cut processes, both frequently occur together while compensating anatomic/hemodynamic disorders in CHD patients. In this study a comparative evaluation of hypotrophic/hyperplastic-type compensation of myocardium in infants with TGV has been carried out by using morphological methods.

Key words: transposition of great vessels, myocardial hyperplasia, myocardial hypertrophy, fluorescent methods.