

Динамика изменения площади капиллярного русла миокарда при организации инфаркта миокарда

Смоленский областной институт патологии
Смоленская государственная медицинская академия
e-mail: ksu1546@yandex.ru

Реферат

Приводятся данные иммуногистохимического исследования капиллярного русла миокарда в различные временные периоды организации инфаркта. Исследовалась зона некроза, пограничная зона и отдаленные участки миокарда. Приведены особенности экспрессии CD34 в исследуемых группах, а также результаты статистического исследования, выявляющие различную реакцию капиллярного русла миокарда исследуемых зон на возникновение очага некроза, а также различный характер компенсаторных процессов при организации острого и повторного инфаркта миокарда.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, микроциркуляторное русло.

Korneva Yu. S., Dorosevich A. E.

Dynamic of changing of the square of capillary bed during organization of myocardial infarction

Smolensk State Institute of Pathology
Smolensk State Medical Academy
e-mail: ksu1546@yandex.ru

Abstract

In the article there is description of immunohistochemical investigation of microcirculatory bed of myocardium in different stages during organization of myocardial infarction. In investigation zone of necrosis, border zone and distant zones of heart were included. Description of peculiarities of expression of CD34 in experimental groups and results of statistical analysis, revealing different reaction of microcirculatory bed to formation of focus of necrosis. Also different variants of compensation during organization of acute and recurrent myocardial infarction were shown.

Keywords: myocardial infarction, microcirculatory bed.

Введение

Организация инфаркта миокарда (ИМ) является очень сложным, комплексным процессом, начиная с первых минут коронарной атаки и заканчивая формированием соединительнотканного рубца. Микроциркуляторное русло миокарда обеспечивает кардиомиоциты кислородом и питательными веществами, соответственно, изменения его структуры должны быть соизмеримы с компенсаторными изменениями кардиомиоцитов для предотвращения апоптоза паренхиматозных элементов и прогрессирования фиброза. Роль капиллярного русла в патогенезе ИМ в настоящее время широко обсуждается. Это связано, в первую очередь, с доказанной ролью сохраняющейся обструкции капилляров при восстановлении магистрального кровотока.

Однако в литературе в основном имеются данные о реакции микроциркуляторного русла зоны некроза и пограничной зоны при возникновении ИМ [2] и практически отсутствуют сведения об «эволюции микроциркуляторного русла» в процессе организации очага некроза [11], что является крайне важным компенсаторным механизмом в условиях развившейся сердечной недостаточности.

Цель исследования

Выявить морфологические особенности и динамику изменения площади капиллярного русла (ПКР) как в зоне повреждения и пограничных участках, так и в интактных зонах на различных этапах организации острого и повторного ИМ.

Материал и методы исследования

В исследование были включены фрагменты миокарда, забранные во время некропсии у 105 больных, умерших от ИМ и постинфарктного кардиосклероза (ПИКС). На основании микроскопической картины все случаи были разделены на следующие группы: острый инфаркт миокарда давностью 1–2 дня (ОИМ1); повторный инфаркт миокарда такой же давности (ПИМ1); острый и повторный инфаркт миокарда давностью 3–5 дней (ОИМ2 и ПИМ2 соответственно); острый и повторный инфаркт миокарда давностью более 7 дней (ОИМ3 и ПИМ3 соответственно). Отдельную группу составили 30 случаев ПИКС, представляющего собой финальную стадию организации ИМ с формированием грубоволокнистой соединительной ткани, замещающей очаг повреждения (табл. 1).

Распределение случаев в исследуемых группах

Таблица 1

ПИКС	ОИМ1	ОИМ2	ОИМ3	ПИМ1	ПИМ2	ПИМ3
30	17	11	11	16	9	11
Всего: 105						

Забирались кусочки миокарда объемом 1 см³ из центра зоны повреждения (ЛЖ1), пограничной зоны (ЛЖ2), а также отдаленных интактных зон — центра межжелудочковой перегородки (МЖП) и центра правого желудочка (ПЖ). После окраски гематоксилином и эозином и обзорной микроскопии было проведено иммуногистохимическое исследование с моноклональными антителами CD34 (clone QBEnd-10, DAKO, Дания).

Подсчет ПКР осуществлялся при помощи компьютерной программы «ВидеоТест 4.0. Морфология», в которой были созданы методики для дифференцировки тканевых структур, измерения их морфометрических (общая площадь, периметр) и оптических параметров (яркостные и цветовые составляющие, оптические плотности). При получении изображения от микроскопа и видеокамеры использовано увеличение микроскопа $\times 400$. Изображения в 10 полях зрения каждого микропрепарата обрабатывались с помощью фильтров программы. При этом использовано ручное выделение масок объектов и фаз с установкой двух порогов интенсивности для составляющих цветовой модели. Для подсчета выбирались поля зрения с поперечным срезом кардиомиоцитов, попадание в поле зрения сосудов крупного калибра исключалось, поля зрения для измерения ПКР не перекрывались. Подсчет проводился на микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия), совмещенном с видеокамерой Progress C10 Plus (Jenoptik Jena, Германия). Результаты измерений были получены в пикселях. Для изучения динамики изменения ПКР проводилось попарное сравнение полученных показателей в одноименных исследуемых зонах сердца в группах последовательно сменяющихся стадий организации ИМ. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы «Excel», с применением непараметрического критерия Манна–Уитни с аппроксимацией нормальным распределением (статистика Z). Уровень достоверности $p < 0,05$ считали статистически значимым.

Результаты исследования и их обсуждение

При ремоделировании наблюдается следующая последовательность стадий «ОИМ — ПИКС — ПИМ» с соответствующей сменой морфологической картины в зависимости от давности ИМ. Поэтому целесообразно сравнивать ПКР в различных зонах сердца в представленной выше последовательности.

После иммуногистохимического выявления эндотелиоцитов с помощью моноклональных антител CD34 данные клеточные элементы приобретали насыщенно-коричневую окраску, очерчивая капилляры и интиму более крупных сосудов.

В группах ОИМ1 и ПИМ1 характер изменений капилляров был двояким: в одних случаях капилляры были спавшиеся (чаще в ПИМ1), в других — наоборот, резко полнокровны со стазами эритроцитов (ОИМ1), причем данные изменения наблюдались с разной выраженностью во всех исследуемых зонах; экспрессия CD34 в обеих группах была выраженной. В группах ОИМ2 и ПИМ2 микроциркуляторное русло зоны повреждения претерпевало существенные изменения: вместе с некрозом кардиомиоцитов разрушению подвергались все структуры, обеспечивающие кровоснабжение, начиная от капилляров и заканчивая сосудами крупного калибра.

Среди практически бесструктурных масс все еще можно было различить щелевидные пространства, выстланные набухшими эндотелиоцитами. Слабоположительная экспрессия CD34, топографически совпадающая с этими структурами, подтверждает факт одновременной гибели эндотелиоцитов в условиях ишемии. Экспрессия CD34 была более яркой в очагах с менее выраженной клеточной инфильтрацией. Обращали на себя внимание выраженные расстройства микроциркуляции в виде микротромбов, стазов в капиллярах эпикарда. Данное явление наиболее часто наблюдалось в пограничной зоне. Сосудистое русло в зоне ЛЖ1 групп ОИМ3 и ПИМ3 было представлено пестрой морфологической картиной новообразованных сосудов в грануляционной ткани, заместившей некроз. Одни сосуды имели вид трубчатых, очень плотно упакованных образований с небольшим диаметром, другие представлены крупными дилатированными полостями; встречались также щелевидные полости, напоминающие капилляры. Второй тип чаще локализовался на границе грануляционной ткани и сохранных кардиомиоцитов. В некоторых случаях ПИМ3 в эпикарде зоны ЛЖ1 определялись крупные клетки, имеющие яркое мембранное окрашивание с CD34; похожие отдельно лежащие клетки часто выявлялись в самой грануляционной ткани.

Микроскопическая картина сосудистого русла в очагах постинфарктного кардиосклероза имела наибольшую полиморфность. Отмечалось 3 основных варианта микроциркуляторного русла в рубце:

1) практически полное отсутствие васкуляризации с редко встречающимися единичными спавшимися щелевидными структурами, разбросанные по плотному бесклеточному рубцу;

2) рубцы с выраженной васкуляризацией, представленной многочисленными вытянутыми щелевидными полостями типа капилляров;

3) рубцы, васкуляризация которых была представлена крупными сосудами, типа артериол и венул, с практически полным отсутствием капилляров.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наблюдалась тенденция усиления плотности капиллярного русла по периферии рубца и ее снижение ближе к центру. В некоторых случаях в самом рубце или эпикарде над рубцом встречались крупные единичные CD34-позитивные клетки, аналогичные вышеописанным в группе «ОИМ3 — ПИМ3».

При микроскопической оценке капиллярного русла в интактных зонах сложно было выявить морфометрические особенности — в разной степени наблюдалась дилатация капилляров либо уменьшение их количества в поле зрения за счет гипертрофии кардиомиоцитов.

Поэтому для наиболее убедительной оценки изменения площади сосудистого русла при организации ИМ был проведен статистический анализ для попарного сравнения одноименных показателей в различных временных группах.

Результаты статистического анализа распределений показателей площади капиллярного русла в группах «ОИМ1 — ОИМ2» (табл. 2). Для всех зон данных сравниваемых групп были обнаружены статистически значимые различия ($p < 0,01$) показателей ПКР. Причем для зон ЛЖ1, МЖП и ПЖ данный показатель был большим в группе ОИМ1 по сравнению с ОИМ2, в для зоны ЛЖ2 — в группе ОИМ2 по сравнению с ОИМ1.

Результаты статистического анализа распределений показателей площади капиллярного русла в группах «ОИМ2 — ОИМ3» (табл. 2). Статистически значимые различия ПКР с большим значением в группе ОИМ3 ($p < 0,05$) в сравнении с ОИМ2 выявлены только для зоны ПЖ. Для остальных зон статистически значимых различий не было выявлено ($p > 0,05$).

Результаты статистического анализа распределений показателей площади капиллярного русла в группах «ОИМ3 — ПИКС» (табл. 2). Для всех исследуемых зон, за исключением МЖП, значения показателей ПКР значимо больше в группе ОИМ3 ($p < 0,01$ для ЛЖ1 и ПЖ; $p < 0,05$ для ЛЖ2) по сравнению

с группой ПИКС. В зоне МЖП медиана статистического распределения этого показателя больше для группы ПИКС ($p < 0,01$).

Результаты статистического анализа распределений показателей площади капиллярного русла в группах «ПИМ1 — ПИМ2» (табл. 2). Статистически значимые различия ($p < 0,01$) выявлены только для зоны ЛЖ2, указывающие на большую ПКР в группе ПИМ2 в сравнении с ПИМ1. Для остальных исследуемых зон статистически значимых различий выявлено не было.

Результаты статистического анализа распределений показателей площади капиллярного русла в группах «ПИМ2 — ПИМ3» (табл. 2). Статистически значимые различия выявлены для зон ЛЖ1 ($p < 0,01$), ЛЖ2 ($p < 0,01$) и ПЖ ($p < 0,05$). Причем значение ПКР в зонах ЛЖ1 и ПЖ статистически значимо больше в группе ПИМ3 в сравнении с группой ПИМ2, но меньше по значению для зоны ЛЖ2 в группе ПИМ3.

Результаты статистического анализа распределений показателей площади капиллярного русла в группах «ПИМ3 — ПИКС» (табл. 2). Статистически значимые различия ПКР были вычислены во всех исследуемых зонах. Показатели ПКР с большим значением вычислены в зонах ЛЖ1 ($p < 0,01$), МЖП ($p < 0,01$) и ПЖ ($p < 0,05$) для группы ПИМ3 по сравнению с ПИКС. В зоне ЛЖ2 данный показатель был достоверно выше в группе ПИКС ($p < 0,01$).

Заключение

Капиллярная сеть миокарда играет важную роль в транспорте кислорода и питательных веществ к кардиомиоцитам. Повышенная капиллярная плотность обеспечивает более высокую активность миокардиального кровотока, перфузии и метаболизма миокарда в условиях ишемии [2].

Нарушение перфузии миокарда может произойти не только при стенозе крупных эпикардиальных артерий, но и при обструкции либо чрезмерной дилатации капилляров.

Значение статистики Z при аппроксимации критерия Манна–Уитни нормальным распределением с уровнем достоверности (p) при попарном сравнении показателей площади капиллярного русла в исследуемых зонах сердца при ИМ различной давности

Таблица 2

Группа	ЛЖ1		ЛЖ2		МП		ПЖ	
	Z	p	Z	p	Z	p	Z	p
ОИМ1—ОИМ2	6,1	<0,01	−4,02	<0,01	5,97	<0,01	8,0	<0,01
ОИМ2—ОИМ3	0,79	0,42	−0,78	0,43	1,76	0,78	−2,1	<0,05
ОИМ3—ПИКС	5,9	<0,01	2,2	<0,05	−3,2	<0,01	4,5	<0,01
ПИМ1—ПИМ2	−1,6	0,097	−2,7	<0,01	−0,85	0,39	−0,96	0,33
ПИМ2—ПИМ3	−5,1	<0,01	6,1	<0,01	0,56	0,57	−2,09	<0,05
ПИМ3—ПИКС	8,4	<0,01	−3,8	<0,01	2,2	<0,05	5,9	<0,01

Эти механизмы активно изучаются и могут включать экстракапиллярные компоненты, микроэмболы или функциональные нарушения, подразумевающие дисфункцию эндотелиоцитов [12]. В настоящее время широко обсуждается роль микрообструкции микроциркуляторного русла в прогрессировании ИМ даже после восстановления магистрального кровотока [3, 6, 8, 9, 12]. В нашем исследовании также часто наблюдались расстройства микроциркуляции в виде лейкоцитарных, эритроцитарных стазов, наблюдаемых не только в зоне некроза, но и в отдаленных зонах. Различный характер новообразованных сосудов в грануляционной ткани и различная степень васкуляризации соединительно-тканного рубца в группе ПИКС при отсутствии прямой связи с предшествующей терапией позволяет задуматься о мобилизации в процессе организации ИМ собственных клеток, способных трансформироваться в эндотелиоциты в зоне некроза и пограничной зоне. Данный факт подтверждается обнаружением в грануляционной ткани и некоторых рубцах с хорошей васкуляризацией крупных, отдельно лежащих CD34-позитивных клеток. Аналогичные клетки были обнаружены в эпикарде больных, умерших от ИМ. Известно, что предшественники эндотелиальных клеток также дают позитивное окрашивание с CD34, поэтому, вероятно, именно они были выявлены в ходе исследования. Учитывая, что процесс ангиогенеза происходит путем образования трубчатых структур из имеющихся капилляров [4, 11], в данном случае речь может идти о васкулогенезе — образовании капилляров *de novo*. Образующиеся в процессе васкулогенеза капилляры среднего и крупного диаметра [10] также описаны в нашем исследовании. Данный факт позволяет задуматься, что именно перикапиллярное окружение влияет на выход клеток — предшественников эндотелиоцитов из сохраненных капилляров с формированием новых коммуникаций.

По данным литературных источников, в пограничной зоне объем сосудов возрастает в 1,5 раза в стадию формирования инфаркта и в 2 раза в стадию организации [1]. Данная реакция микроциркуляторного русла подтверждена в нашем исследовании:

получены статистически значимые различия в ПКР в зоне ЛЖ2 как при переходе от ПИМ1 к ПИМ2, так и при переходе ОИМ1 к ОИМ2 в сторону увеличения этого показателя. Как известно, у человека первые очаги ангиогенеза появляются как раз на 3-й день от начала возникновения некроза сердечной мышцы в пограничной зоне [7, 11]. В то же время при ОИМ2 происходит статистически значимое снижение ПКР в других исследуемых зонах, чего не наблюдается при ПИМ2. Затем при переходе от ОИМ2 к ОИМ3 выявляется также увеличение ПКР в зоне ПЖ. Аналогичные изменения выявлены и при переходе от ПИМ2 к ПИМ3, что, вероятно, является компенсаторным процессом — снижение работы левого желудочка приводит к усилению работы правого, а микроциркуляторное русло пытается компенсировать эти потребности. Однако в процессе формирования грануляционной ткани в группе ПИМ3 наблюдается статистически значимое снижение ПМР в пограничной зоне и ее увеличение в зоне некроза, чего не наблюдается при ОИМ3. В дальнейшем при созревании рубца и трансформации ОИМ3 в ПИКС наблюдается статистически значимое снижение ПМР во всех исследуемых зонах, за исключением МЖП, где, наоборот, наблюдается увеличение этого показателя. При переходе от ПИМ3 к ПИКС в зонах ЛЖ1, МЖП и ПЖ наблюдалось статистически значимое снижение ПКР, в то время как в пограничной зоне — ее значимое повышение. Возможно, снижение расчетных показателей ПКР в группе ПИМ3 отражает процессы дилатации полостей сердца с уменьшением поперечного сечения сосудов за счет их растяжения [5].

Таким образом, в ходе организации инфаркта миокарда капиллярное русло претерпевает существенные изменения, затрагивающие саму зону повреждения, а также пограничные и интактные зоны. В процессе компенсации развившейся сердечной недостаточности различные отделы сердца, принимая на себя большую нагрузку, характеризуются увеличением площади капиллярного русла. Кроме того, данные изменения не являются однотипными при организации острого и повторного инфаркта миокарда.

Литература

1. Салбиев К. Д. Морфогенез инфаркта миокарда у человека и в эксперименте (морфометрическое исследование): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1984. 31 с.
2. Сисакян А. С., Оганян В. А., Семерджян А. Б. и др. Влияние фактора ангиогенеза на морфофункциональное состояние миокарда у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда // Росс. кардиолог. журн. 2004. № 2. С. 63–67.
3. Телкова И. Л., Фадеев М. В. Возможный механизм внезапной сердечной смерти при микрососудистом поражении коронарных артерий по данным аутопсии миокарда // Вестник аритмол. 2007. № 4. С. 64–67.
4. Хулуп Г. Я., Ламовская Н. В. Предшественники эндотелиальных клеток: характеристика и роль в сердечно-сосудистой патологии // Медицина. 2008. № 4. С. 10–14.
5. Chilian W. M., Weihrauch D., Stepp D. et al. Does the coronary microcirculation play a role in heart failure? // Dialogues in Cardiovascular Medicine. 1998. Vol. 3. № 3. P. 147–158.
6. Claessen B. E., Bax M., Delewi R. et al. The Doppler flow wire in acute myocardial infarction // Heart. 2010. № 96. P. 631–635.
7. Goncalves L. M. Angiogenic growth factors: potential new treatment for acute myocardial infarction? //

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Cardiovascular Research. 2000. № 45. P. 294–302.

8. Hombach V., Grebe O., Merkle N. et al. *Sequelae of acute myocardial infarction regarding cardiac structure and function and their prognostic significance as assessed by magnetic resonance imaging* // *Eur. Heart J.* 2005. № 26. P. 549–557.

9. Illiceto S. *Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction* // *Heart and Metabolism*. 2001. № 13. P. 2–3.

10. Schmidt-Lucke C., Rossig L., Fichtlscherer S. et al. *Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair* // *Circulation*. 2005. № 111. P. 2981–2987.

11. Sun Y., Kiani M. F., Postlethwaite A. E., Weber K. T. *Infarct scar as living tissue* // *Basic Res. Cardiol.* 2002. № 97. P. 343–347.

12. Weis M. *Prognostic significance of microvascular dysfunction* // *Heart Metab.* 2008. № 40. P. 5–10.