

ОЦЕНКА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ЖИЗНЕСПОСОБНОГО МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

А.И. Стельмашенко¹, Л.В. Борисова¹, С.С. Гутор^{1,2}, И.В. Суходоло¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск

²Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук

E-mail: a_n_g_e_1181095@mail.ru

EVALUATION OF ENERGY METABOLISM OF VIABLE MYOCARDIUM IN PATIENTS WITH ISCHEMIC CARDIOMYOPATHY

A.I. Stelmashenko¹, L.V. Borisova¹, S.S. Gutor^{1,2}, I.V. Suhodolo¹

¹Siberian State Medical University, Tomsk

²Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

Исследование посвящено изучению жизнеспособности миокарда в качестве маркера благоприятного послеоперационного исхода у больных ишемической кардиомиопатией (ИКМП) с передневерхушечной аневризмой. В пределах проведенного исследования была сделана попытка охарактеризовать состояние "жизнеспособного" миокарда в соответствии с энергетическим обменом (ЭО) миокарда стенки левого желудочка (ЛЖ) и разной степенью его сократительной активности. Объектом исследования стал миокард больных ИКМП с передневерхушечной аневризмой. Всем пациентам была проведена магнитно-резонансная томография (МРТ) с целью определения кинезов стенок, а также сцинтиграфия – для оценки перфузии стенок ЛЖ. Активность ферментов основного метаболического пути миокарда выявлялась тетразолиевым методом по Lojda. Оценка ферментативной активности производилась по интенсивности окрашивания структуры миокарда с помощью программы ImageJ. В результате было выдвинуто предположение, что функциональная активность миокарда в большей степени определяет изменение сократимости миокарда по сравнению с его морфологическим состоянием. Вследствие оценки ферментативной активности была выявлена гетерогенность кардиомиоцитов (КМЦ) по активности ферментов ЭО (сукцинатдегидрогеназа – СДГ, лактатдегидрогеназа – ЛДГ, 3-гидроксибутиратдегидрогеназа – 3-ГБДГ). Таким образом, "жизнеспособным" миокардом в рамках данного исследования называется популяция КМЦ со сниженной сократительной активностью и повышенной активностью 3-ГБДГ и ЛДГ.

Ключевые слова: ишемическая кардиомиопатия, предиктор послеоперационного исхода, жизнеспособный миокард, энергетический обмен миокарда, лактатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, 3-гидроксибутиратдегидрогеназа.

This research aimed to study the myocardial viability as a marker of a favorable postoperative outcome in patients with ischemic cardiomyopathy (ICMP) with anterior apical aneurysm. An effort was made to describe the state of a 'viable' myocardium according to the energy exchange (EE) of the left ventricular (LV) myocardium and the varying degrees of its contractile activity. The object of the study was the myocardium in patients with ICMP with anterior apical aneurysm. MRI study was performed in all patients to determine the kinesis; scintigraphy was used to assess perfusion of the LV walls. The enzymes activities of the main metabolic pathway of the myocardium were detected with the tetrazolium method proposed by Lojda. The evaluation of enzymatic activities was performed based on the intensity of myocardial structure staining using ImageJ software. As a result, we proposed the hypothesis that functional activity of the myocardium largely determined changes in the myocardial contractility rather than in the morphological state. Evaluation of the enzymatic activities allowed to reveal heterogeneity of cardiomyocytes (CMC) in regard to their activities of EE enzymes (lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, and 3-hydroxybutyrate dehydrogenase). Therefore, in this study, CMC population with reduced contractile activity and with increased activity of 3-GBDG and LDH is considered viable myocardium.

Key words: ischemic cardiomyopathy, postoperative outcome predictor, viable myocardium, myocardial energy metabolism, lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, 3-hydroxybutyrate dehydrogenase.

Введение

ЭО клетки представляет собой комплекс сложных химических реакций, конечным продуктом которых является получение энергии в виде аденозинтрифосфата (АТФ) и других макроэнергетических соединений. Задачей ЭО в миокарде является обеспечение адекватного поступления макроэнергетических фосфатных соединений для вос-

полнения непрерывного расхода АТФ и креатинфосфата (КФ) во время сердечных сокращений, в процессе обмена ионов и, в меньшей степени, в ходе других энергозависимых процессов [7, 8]. Основными энергетическими субстратами для КМЦ служат глюкоза, жирные кислоты, кетоновые тела и аминокислоты. В норме до 95% энергии в сердце обеспечивается за счет окислительного фос-

форилирования и лишь 5% – за счет гликолиза и утилизации кетоновых тел [1]. При ишемии ключевая роль отводится активации анаэробных процессов окисления глюкозы, при которых из пирувата синтезируется молочная кислота и две молекулы АТФ, что не может обеспечить всей энергетической потребности КМЦ. В результате усиления гликолиза происходит истощение запаса гликогена и накопление пировиноградной и молочной кислот в клетках. Избыток лактата, пирувата и других органических кислот приводит к возникновению метаболического ацидоза, который становится одним из повреждающих факторов и приводит к нарушению функции КМЦ.

ИКМП – осложнение ишемической болезни сердца (ИБС), развивается в 5–35% случаев у больных ИБС. В основе этого заболевания лежит ишемия сердца, которая приводит к гибели КМЦ, замещению их соединительной тканью, что сопровождается дилатацией камер сердца [2]. Как правило, при ИКМП повреждение миокарда происходит в течение длительного времени, при этом включаются долгосрочные компенсаторные механизмы.

Оптимальным методом лечения данной группы больных является уменьшение размеров желудочка методом вентрикулопластики по В. Дору в модификации Л. Мениканти и восстановление кровоснабжения миокарда с помощью аортокоронарного шунтирования (АКШ). Однако в отдаленном послеоперационном периоде у части пациентов происходит повторное “ремоделирование” сердца и прогрессирование сердечной недостаточности, т.е. возврат гемодинамических и анатомических показателей сердца к дооперационным значениям.

Принимая во внимание большое число случаев рецидива заболевания, имеет смысл поиск предикторов неблагоприятного послеоперационного исхода на до- и интраоперационном этапах. Ранее в качестве предикторов рассматривалось одновременное наличие патоморфологической картины миокардита и некоторые показатели морфофункционального состояния миокарда. В дальнейших исследованиях в качестве прогностических предикторов выступала морфологическая оценка стенки ЛЖ с разной степенью сократимости и молекулярные показатели состояния миокарда. На современном этапе существуют основания в качестве маркера успешного восстановления сократительной функции миокарда после проведения реваскуляризации и резекции ЛЖ оценивать жизнеспособность миокарда.

Термин “жизнеспособный” миокард включает в себя такие понятия, как “гибернация” и “оглушение” [3]. По современным данным, “оглушение” и “гибернация” являются стадиями одного патологического процесса и представляют собой компенсаторно-приспособительную реакцию миокарда, обусловленную острой или длительной гипоперфузией соответственно.

Исследование “жизнеспособного” миокарда продолжается долгое время, но до сих пор не выяснен механизм развития данного состояния, однако ясно одно – чем больше доля жизнеспособных КМЦ, тем более успешным будет восстановление сократительной способности миокарда ЛЖ у больных ИКМП.

Материал и методы

Объектом исследования стал миокард 21 больного ИКМП мужского пола (средний возраст пациентов составил $59 \pm 6,4$ лет) с передневерхучечной аневризмой, которые находились на стационарном лечении в отделении сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии (Томск) в период 2012–2016 гг. Всем пациентам была проведена пластика ЛЖ по В. Дору в модификации Л. Мениканти с АКШ. Во время операции на этапе аневризмэктомии были взяты биопсии миокарда в средних отделах ЛЖ передней, задней, боковой стенок и МЖП со стороны ЛЖ с сопоставлением зоны взятия материала с ее сократимостью (участки нормо-, гипо-, а-, дискинеза). С целью определения кинезов стенок всем пациентам проводилась МРТ. У всех пациентов получено информированное согласие; данное исследование одобрено этическими комитетами ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и НИИ кардиологии (Томск). Приготовление гистологических препаратов осуществлялось стандартным способом: биоптаты фиксировались в 10%-м формалине в течение 24 ч, промывались в проточной воде и обезживались в изопропиловом спирте IsoPrep (БиоВитрум, Санкт-Петербург), далее образцы заливались в гомогенизованную парафиновую среду для заливки HISTOMIX (БиоВитрум, Санкт-Петербург). Парафиновые срезы толщиной 5 мкм были получены при помощи полуавтоматического микротомы МЗП-01 “Техном”, окрашивались гематоксилином и эозином. Гистологические препараты изучали в проходящем свете на микроскопе Axioskop 40 фирмы Carl Zeiss (Германия). Для проведения гистохимических реакций использовали свежемороженные в жидком азоте биоптаты. Срезы толщиной 10 мкм получали в криостате при температуре -18°C . Ферментативную активность СДГ, ЛДГ, 3-ГБДГ выявляли тетразолиевым методом по Lojda. Активность ферментов оценивали по интенсивности окрашивания структуры с помощью программы ImageJ (NIH, USA). Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета статистических программ SPSS 17 (SPSS Inc, USA).

Результаты

По результатам гистохимического исследования активности ферментов на свежемороженных срезах миокарда ЛЖ отмечалась неоднородность в окрашивании КМЦ. В КМЦ гранулы диформазана имели различные размеры (от пылевидных до крупных) и располагались в основном вдоль миофибрилл, реже – диффузно, в некоторых КМЦ подчеркивалась поперечная исчерченность. В ядрах и вставочных дисках активность не выявлялась.

При помощи кластерного анализа все КМЦ были разделены на группы сравнения по активности фермента. Результат кластерного анализа представлен в таблице 1.

По результатам оценки локальной сократимости миокарда ЛЖ посредством МРТ были сформированы 3 группы сравнения: группа 1 – миокард из зон нормокинеза (19 биоптатов), группа 2 – миокарда из зон гипокинеза (18 биоптатов) и группа 3 – акинетичные зоны (27 биоптатов).

При сравнении процентного содержания КМЦ с различной активностью ферментов (СДГ, 3-ГБДГ, ЛДГ) в разных зонах кинеза (нормо-, гипо-, а-) были получены следующие статистически достоверные результаты: в зоне гипокинеза снижается по сравнению с нормокинезом содержание КМЦ с низкой активностью ЛДГ, а количество КМЦ со средней активностью ЛДГ повышается; в зонах акинеза происходит снижение фракции КМЦ с низкой активностью 3-ГБДГ по сравнению с нормокинезом и увеличение в гипокинезе и акинезе количества КМЦ с высокой активностью данного фермента; в зонах гипокинеза происходит статистически достоверное снижение количества КМЦ с высокой активностью СДГ по сравнению с нормокинезом и снижение этой же фракции КМЦ в акинезе по сравнению с гипокинезом. Данные по количеству КМЦ с разной степенью активности ферментов в разных зонах кинеза приведены в таблице 2.

Таблица 1

Диапазоны оптической плотности для групп кардиомиоцитов с различной активностью ферментов

Показатели	СДГ	ЛДГ	3-ГБДГ
Низкая активность	0,00–0,19	0,00–0,15	0,00–0,21
Средняя активность	0,20–0,41	Выше 0,16	0,22–0,41
Высокая активность	Выше 0,42	–	Выше 0,42

Обсуждение

В литературе имеются данные, согласно которым нарушения локальной сократимости обусловлены качественными морфологическими изменениями данного участка [2, 4, 5]. По данным С.С. Гутора (2015), степень нарушения локальной сократимости зависит от удельного объема стромы, удельного объема паренхимы и удельного объема внутриклеточного отека [4]. Снижение удельного объема паренхимы и увеличение удельного объема стромального компонента в миокарде приводит к ухудшению его сократительной способности [6]. В результате проведенного исследования не было найдено статистически достоверных корреляционных связей степени нарушения локальной сократимости с морфометрическими показателями миокарда, однако было выдвинуто предположение, что нарушение сократимости обусловлено не только соотношением стромального и паренхиматозного компонента, но и функциональным состоянием самих КМЦ. Показанные в работе С.С. Гутора зависимости между структурными компонентами миокарда и его функциональным состоянием относятся к категории “слабых”, что вместе с данными, полученными в настоящем исследовании, позволяет предположить, что состояние ЭО КМЦ оказывает большее влияние на нарушение локальной сократимости.

В результате анализа внутриклеточной активности ферментов основных метаболических путей было выяснено, что популяция КМЦ по активности ферментов ЭО является гетерогенной. Было выделено три пула клеток с

Таблица 2

Доли КМЦ с различной степенью активности ферментов ЭО в зонах с разной степенью нарушения локальной сократимости

Ферменты		Кинезы			Сравнение	
		Группа 1(нормокинез)	Группа 2(гипокинез)	Группа 3(акинез)	Значение критерия	Уровень значимости
ГБДГ	Низкая активность	1,000 (0,995–1,000)	0,1403±0,124	0,570±0,326	U ₁₂ =8,000 U ₁₃ =18,000 U ₂₃ =46,000	p ₁₂ =0,062 p ₁₃ =0,047* p ₂₃ =0,823
	Средняя активность	0,000 (0,000–0,005)	0,2953±0,197	0,407±0,334	U ₁₂ =14,000 U ₁₃ =24,500 U ₂₃ =41,500	p ₁₂ =0,314 p ₁₃ =0,148 p ₂₃ =0,575
	Высокая активность		0,5153±0,370	0,010 (0,000–0,030)	U ₁₂ =3,500 U ₁₃ =17,500 U ₂₃ =27,500	p ₁₂ =0,003* p ₁₃ =0,009* p ₂₃ =0,104
СДГ	Низкая активность	0,683±0,278	0,615±0,286	0,570±0,396	U ₁₂ =26,000 U ₁₃ =33,000 U ₂₃ =35,000	p ₁₂ =0,336 p ₁₃ =0,209 p ₂₃ =0,457
	Средняя активность	0,2603±0,225	0,300±0,172	0,410±0,375	U ₁₂ =35,500 U ₁₃ =48,500 U ₂₃ =39,500	p ₁₂ =0,962 p ₁₃ =0,939 p ₂₃ =0,709
	Высокая активность	0,0573±0,073	0,015 (0,050–0,237)	0,000 (0,000–0,000)	U ₁₂ =24,000 U ₁₃ =10,000 U ₂₃ =15,000	p ₁₂ =0,246 p ₁₃ =0,001* p ₂₃ =0,006*
ЛДГ	Низкая активность	1,000 (0,955–1,000)	0,640±0,180	0,965 (0,430–0,990)	U ₁₂ =7,000 U ₁₃ =29,000 U ₂₃ =19,500	p ₁₂ =0,014* p ₁₃ =0,786 p ₂₃ =0,110
	Средняя активность	0,000 (0,000–0,045)	0,360±0,180	0,035 (0,010–0,570)	U ₁₂ =7,000 U ₁₃ =29,000 U ₂₃ =19,500	p ₁₂ =0,014* p ₁₃ =0,786 p ₂₃ =0,110

Примечание: * – статистически значимые различия при p<0,05.

различной степени активности ферментов (СДГ, ЛДГ, 3-ГБДГ): низкой, средней и высокой. В зонах со сниженной сократимостью было выявлено уменьшение количества КМЦ с высокой активностью СДГ, но сохранение постоянного пула со средней активностью фермента указывает на резервацию кислородзависимых процессов окисления в миокарде с различной степенью нарушения локальной сократимости; повышенная активность ЛДГ и 3-ГБДГ свидетельствует о переходе миокарда преимущественно на окисление глюкозы, так как для получения одинакового количества энергии при окислении глюкозы требуется меньше кислорода, чем при окислении жирных кислот. Увеличение количества КМЦ в гипокинетических участках с высокой активностью 3-ГБДГ также говорит и о высокой утилизации кетоновых тел кардиомиоцитами. Получение энергии при метаболизме данных веществ не требует энергозатрат, поэтому является подходящим, в отличие от окисления глюкозы и жирных кислот, способом восполнения запасов энергии в виде восстановленных эквивалентов НАД⁺. Количество АТФ, полученное при метаболизме лактата (18 АТФ) и кетоновых тел (26 АТФ), достаточно для поддержания жизнеобеспечения клетки. В концепции “гибернарованного” миокарда угнетение сократительной функции рассматривается не как следствие энергодефицита, а как адаптивная реакция КМЦ на снижение перфузии с целью сохранения жизнеспособности, которая позволяет избежать дефицита энергии. Таким образом, можно предположить, что клетки в зонах гипокинеза с повышенной активностью 3-ГБДГ и ЛДГ представляют собой “гибернарованные” КМЦ.

Заключение

В условиях длительной ишемии для поддержания жизнедеятельности миокарда КМЦ вынуждены переключаться на окисление лактата и кетоновых тел. Такой переход обусловлен изменением активности ферментов основных метаболических путей миокарда, снижение КМЦ с высокой активностью СДГ и, наоборот, повышение КМЦ с высокой активностью ЛДГ и 3-ГБДГ в зонах гипокинеза указывает на возможность того, что эта популяция КМЦ представляет собой “жизнеспособный миокард”.

Литература

1. Олейников Д.А., Яшин А.В. Энергетический обмен миокарда в норме и при патологии [Электронный ресурс] // РВЖ. МДЖ. – 2015. – № 5. – С. 38–41. – URL: <http://cyberleninka.ru/article/n/energeticheskiy-obmen-miokarda-v-norme-i-pri-patologii#> (дата обращения 19.11.2016).
2. Дземешкевич С.Л., Стивенсон Л.У. Дисфункции миокарда и сердечная хирургия. Классификация, диагностика, хирургическое лечение. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2009. – 352 с.

3. Сайфулина Г.Б. Оценка жизнеспособности миокарда при ишемической болезни сердца, осложненной выраженной дисфункцией левого желудочка // Казан. мед. журн. – 2012. – Т. 93, № 5. – С. 806–810.
4. Гутор С.С. Прогностическая значимость морфологических и молекулярных показателей состояния миокарда для исхода хирургического лечения больных ишемической кардиомиопатией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2015. – 131 с.
5. Фундаментальные аспекты лечения сердечной недостаточности в кардиохирургии / под ред. В.М. Шипулина, Р.С. Карпова. – Томск : STT, 2009. – 262 с.
6. Роговская Ю.В. Морфология нарушения локальной сократимости миокарда в случаях тяжелой левожелудочковой дисфункции // Бюл. СО РАМН. – 2011. – Т. 31, № 4. – С. 50–53.
7. Stanley W.C. Metabolic link between ischemia and cardiac dysfunction // Heart Metab. – 2005. – No. 27. – P. 30–33.
8. Ussher J.R., Lopaschuk G.D. Clinical implications of energetic problems in cardiovascular disease // Heart Metab. – 2006. – No. 32. – P. 9–17.

Поступила 10.01.2017

Сведения об авторах

Стельмашенко Ангелина Игоревна, студентка 4-го курса медико-биологического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, специальность “медицинская биохимия”.

Адрес: 634050, г. Томск, Московский тракт, 4.

E-mail: a_n_g_e_1181095@mail.ru.

Борисова Людмила Викторовна, студентка 6-го курса медико-биологического факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, специальность “медицинская биохимия”.

Адрес: 634050, г. Томск, Московский тракт, 4.

E-mail: lucibor@yandex.ru.

Гутор Сергей Сергеевич, канд. мед. наук, доцент кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории радионуклидных методов исследования Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.

Адрес: 634050, г. Томск, Московский тракт, 4; 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.

E-mail: ssgutor@gmail.com.

Суходоло Ирина Владимировна, докт. мед. наук, профессор, заведующая кафедрой морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Адрес: 634050, г. Томск, Московский тракт, 4.

E-mail: suhodolo@sibmail.com.