

© Большакова Г.Б., 2009
УДК 616.126-002-002-056.83-091.8

СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕПАРАЦИИ МИОКАРДА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Г.Б.Большакова

Учреждение Российской академии медицинских наук научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, г. Москва

Возрастные особенности репарации миокарда исследовали на моделях повреждения фетального и взрослого сердец крыс. Были прооперированы плоды в возрасте 16 - 21 суток, новорожденные животные и взрослые самцы. Анализировали изменения объемной плотности некротизированной ткани, клеток, мигрирующих в область повреждения, кровеносных сосудов, коллагеновых волокон, кардиомиоцитов вокруг очага повреждения через 1, 2, 3, 4, 5, 7 и 10 суток после операции. Корреляционный анализ показал, что в сердцах 16-суточных плодов происходит увеличение области повреждения за счет сохранившейся некротизированной ткани. Факторный анализ с использованием метода главных компонент выявил два фактора, «фактор образования рубца» и «фактор участия клеток в репарации», объясняющие соответственно 40,66 % и 28,36% общей дисперсии признаков. Эти факторы включают как восстановительные (синтез коллагена, пролиферация кардиомиоцитов), так и деструктивные (некроз, фагоцитоз) составляющие. Различная степень их выраженности на разных этапах адаптивного кардиогенеза обуславливает возрастные и индивидуальные особенности регенерации миокарда.

Репаративные возможности миокарда на разных этапах онтогенеза еще недостаточно изучены, но представляют значительный интерес для теоретической биологии и практической медицины. Ранее было установлено, что репарация поврежденного сердца плодов крыс протекает своеобразно: резорбция некротизированной ткани замедлена, площадь некроза через 30 суток после операции увеличивается почти в пять раз [2]. Для точной оценки особенностей репарации миокарда и изучения степени взаимовлияния составляющих ее процессов необходимо применение математических методов анализа данных, которые успешно используются в кардиологии [4].

Целью работы было изучить взаимосвязи основных морфологических компонент области повреждения и выявить основные факторы, влияющие на репарацию миокарда, поврежденного на разных этапах онтогенеза.

Материалы и методы

Исследование проведено на 112 плодах белых нелинейных крыс в возрасте 16, 17, 18, 19 и 21 суток внутриутробного развития, 51 новорожденном животном и 41 взрослом самце. Плоды получали у самок с датированной беременностью. Плодам и новорожденным наносили механическую травму миокарда, составляющую приблизительно 20% относительного объема всего миокарда. Ранее была доказана воспроизводимость данного повреждения [2]. Группу сравнения

составили взрослые животные с механической травмой миокарда такого же относительного объема. Оперирование и вывод животных из эксперимента осуществляли под эфирным наркозом. При работе с экспериментальными животными руководствовались приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. На проведение эксперимента получено разрешение биоэтической комиссии ГУ НИИ морфологии человека РАМН (протокол №5 от 12.04.2007). На гистологических препаратах сердец, взятых через 1, 2, 3, 4, 5, 7 и 10 суток после операции и окрашенных гематоксилин-эозином, азур-эозином и азаном по Гейденгайну, проводили морфометрический анализ области повреждения методом «полей» [1], выделив основные элементы учета, отражающие морфологические изменения в посттравматический период: некротизированная ткань, клетки, мигрирующие в область повреждения, просвет сосудов, коллагеновые волокна, кардиомиоциты вокруг очага повреждения. Анализировали изменения объемной плотности этих элементов в очаге повреждения. Для анализа использовали ранговую корреляцию Спирмена. С целью визуализации корреляций между признаками, выявления структуры данных и нахождения как можно меньшего числа скрытых общих факторов, точно описывающих наблюдаемые связи между составляющими область повреждения миокарда использовали компонентный и факторный анализ. Выделение факторов было проведено с использованием метода главных компонент, метод вращения - Варимакс нормализованный [3]. Данные были проанализированы с помощью программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.), Microsoft® Excel 2003 и Sigma Stat 3.5 (Systat Software, Inc.).

Результаты и их обсуждение

Корреляционный анализ позволил выявить связи между составляющими области повреждения, специфические для различных возрастных групп.

У оперированных взрослых животных корреляция между абсолютной площадью некротизированной ткани и площадью области повреждения отрицательна ($r = -0,62$). С увеличением срока после операции в этой группе положительно коррелирует доля коллагеновых волокон (коэффициент корреляции $r = 0,91$) и отрицательно - доля некротизированной ткани ($r = -0,84$). Между долями некротизированной ткани и коллагеновых волокон коэффициент корреляции составляет $-0,87$. Эти данные свидетельствуют о быстром замещении поврежденной ткани рубцом.

У 16-суточных плодов, напротив, выявлена сильная положительная корреляционная связь между абсолютной площадью некротизированной ткани и площадью области повреждения ($r = 0,98$). Следовательно, после травмы, нанесенной 16-суточным плодам, область повреждения расширяется за счет увеличения количества некротизированной ткани. Корреляция между сроком после операции и долей коллагеновых волокон также сильная и достоверно не отличается от таковой во взрослой группе ($r = 0,91$, $p = 0,4$), корреляция с долей некроза слабее ($r = -0,36$) и достоверно меньше, чем у взрослых ($p = 0,002$). О том, что замещение некротизированной ткани рубцовой происходит медленнее, свидетельствует и более слабая корреляционная связь между долями некротизированной ткани и коллагеновых волокон ($r = -0,45$), также статистически значимо отличающаяся от предыдущей группы ($p = 0,002$). В отличие от группы взрослых животных, у которых кардиомиоциты, окружающие повреждение, морфологически не сходны с более отдаленными, у плодов, оперированных в возрасте 16 суток, с увеличением срока после операции происходит возрастание

доли кардиомиоцитов, «окаймляющих» область повреждения и хаотично ориентированных ($r = 0,88$), что может указывать на пролиферацию мышечных клеток в приранековой зоне.

Группа новорожденных оперированных крысят по исследованным показателям отличается от группы взрослых животных и статистически значимо отличается от группы оперированных 16-суточных плодов. По-видимому, функциональное созревание систем, обеспечивающих образование полноценного рубца, происходит в постнатальном периоде..

В результате компонентного анализа сводных данных по всем возрастным группам и срокам после операции было выявлено пять главных компонент (Табл. 1).

Таблица 1.

Матрица нагрузок признаков на компоненты (значимые нагрузки выделены полужирным шрифтом)

Изученные параметры	Компонента 1	Компонента 2	Компонента 3	Компонента 4	Компонента 5
НЕКР	0,93	0,04	0,34	0,08	-0,10
МИГР	-0,25	-0,83	0,09	-0,48	-0,04
СОСУДЫ	0,53	0,01	-0,84	-0,14	-0,03
КОЛЛАГ	-0,94	0,04	-0,19	0,28	-0,10
КРАЕВ	-0,26	0,81	0,09	-0,51	-0,03
Описанная дисперсия, %	43,15	27,29	17,32	11,79	0,44
Накопленный процент	43,15	70,44	87,77	99,55	100,00

Условные обозначения: НЕКР – некротизированная ткань; МИГР – клетки, мигрирующие в область повреждения; СОСУДЫ – кровеносные сосуды; КОЛЛАГ – коллагеновые волокна; КРАЕВ – кардиомиоциты в околораневой области.

Вклад первой главной компоненты в суммарную дисперсию составляет 43,15%, второй главной компоненты — 27,29%, третьей — 17,32%, и т.д. Поскольку общий вклад первых трех компонент в суммарную дисперсию равен 87,77% и в них входят все исходные признаки, ими можно ограничиться для дальнейшего анализа.

Первую главную компоненту, тесно связанную с долей некротизированной ткани и коллагеновых волокон (с отрицательным знаком), являющимися ее противоположно направленными и почти равновеликими составляющими (соответственно $-0,93$ и $0,94$). Вторая компонента также представлена двумя основными компонентами почти одинаковой величины – доли мигрирующих клеток (с отрицательным знаком), предположительно осуществляющих фагоцитоз [2], несущих факторную нагрузку $-0,83$, и краевых мышечных волокон, пролиферирующих по краю повреждения (факторная нагрузка $0,82$). На третью компоненту наибольшую нагрузку оказывает доля кровеносных сосудов. График проекции переменных в пространстве главных компонент дает графическую

интерпретацию разнонаправленных связей между признаками (Рис. 1). В изученной нами модели репарации основным из определяющих характеристик репарации является сохранение некротизированной ткани и наличие коллагеновых волокон в области повреждения, а также миграция клеточных элементов в очаг и пролиферация кардиомиоцитов на краю дефекта.

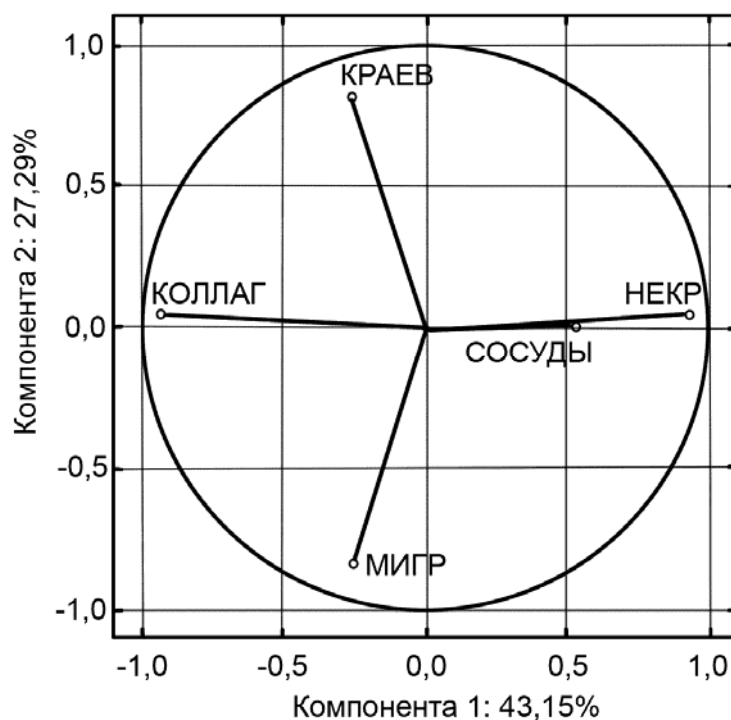


Рис. 1. Проекция переменных в пространстве главных компонент (1 x 2).

Условные обозначения: НЕКР – некротизированная ткань; КОЛЛАГ – коллагеновые волокна; МИГР – клетки, мигрирующие в область повреждения; СОСУДЫ – кровеносные сосуды; КРАЕВ – кардиомиоциты в околораневой области.

Анализируя изменения характеристик области повреждения на основании результатов факторного анализа, мы установили, что параметрами, определяющими репарацию, являются два фактора, расположенные в порядке убывания значимости (Табл. 2):

Таблица 2.

Факторные нагрузки (значимые факторные нагрузки выделены полужирным шрифтом)

Изученные параметры	Факторные нагрузки	
	Фактор 1	Фактор 2
ВОЗР	0,71	0,45
СРОК	0,51	-0,75
НЕКР	-0,88	0,14

МИГР	0,31	0,74
СОСУДЫ	-0,55	-0,03
КОЛЛАГ	0,92	-0,18
КРАЕВ	0,12	-0,81
Описанная дисперсия, %	40,66	28,36
Накопленный процент	40,66	69,03
Условные обозначения: ВОЗР – возраст во время операции; СРОК – срок после операции в сутках; остальные те же, что в таблице 1.		

– «фактор образования рубца», определяемый убыванием объема некротизированной ткани и возрастанием количества коллагеновых волокон, причем ход этих процессов определяется возрастом, в котором произведена операция (40,66 % общей дисперсии признаков);

– «фактор участия клеток в репарации», определяемый миграцией клетками в область повреждения, затихающей по мере увеличения срока после операции, и пролиферацией кардиомиоцитов по краю дефекта (28,36 % общей дисперсии признаков). Описанная дисперсия составляет 69,03%, что свидетельствует о достаточной адекватности разработанной модели.

Выводы

1. Несмотря на отчетливые возрастные особенности заживления миокарда, в процессе репарации всегда участвуют два основных фактора, характеризующих образование рубца и участие клеточных элементов в репарации.
2. Эти факторы включают как восстановительные (синтез коллагена, пролиферация кардиомиоцитов), так и деструктивные (некроз, фагоцитоз) составляющие.
3. Различная степень выраженности составляющих репарации на разных этапах адаптивного кардиогенеза обуславливает возрастные и индивидуальные особенности регенерации миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. / Автандилов Г.Г.; - М.: Медицина, 1990.-384 с.
2. Большакова Г.Б. Способность к восстановлению миокарда плодов крыс / Г.Б.Большакова // Онтогенез. - 1990. –Т. 21. - № 4. - С.409-415.
3. Калинина В.Н. Введение в многомерный статистический анализ. / В. Н. Калинина, В. И. Соловьев: Учебное пособие . — М.: ГУУ, 2003, – 66 с.
4. Поливода С. Н. Ремоделирование артерий эластичного типа у больных гипертонической болезнью: диагностическая значимость пульсового давления /С.Н.Поливода, А. А. Черепок, Р. А. Сычев //

Клиническая медицина : Научно-практический журнал. - 2004. – Т. 82.-N 9 .
- С. 35-39.

AGE-RELATED STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF MYOCARDIAL REPARATION

G.B.Bolshakova

The models of mechanical myocardial damage in fetuses of rats at 16 - 21 embryonic days of age, neonate rats and adult male rats was used. For an age-related comparison, volume fractions of necrotized tissue, collagen fibers, vessels, migrating cells and of myocytes at the edge of lesion were determined in the damaged area on postoperative days 1, 2, 3, 4, 5, 7 and 10. Correlation analysis demonstrated that in fetal hearts damaged on day 16 of gestation necrotized tissue persisted in the damaged area and contributed to its size. Factor analysis using the principal component option was employed to identify the main factors influencing the heart reparation. Two factors were identified, "scarring" and "cells in the damaged area", accounting for 40,66% and 28,36% of the variance, respectively. These factors involve both restorative components such as collagen synthesis and myocyte proliferation and destructive components, namely necrosis and phagocytosis. The intensity of their participation in repair processes determines age-related changes in the myocardial reparation.