

М.Г. Шурыгин, Н.Н. Дремина, В.В. Мальшев, И.А. Шурыгина

**КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ГИСТОПАТОЛОГИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА  
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОСНОВНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ***НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)  
Институт эпидемиологии и микробиологии НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)  
Иркутский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росздрава» (Иркутск)*

На экспериментальной модели инфаркта миокарда у крыс линии Wistar изучено влияние основного фактора роста фибробластов на процессы ремоделирования миокарда в срок от 2 часов до 30 суток. Доказано, что под влиянием FGF2 наблюдается большая выраженность инфильтративной фазы воспаления как в зоне некроза, так и в пограничной зоне, нарушается процесс превращения фибробластов в фиброциты, в ранние сроки увеличивается количество эндотелиоцитов в интактном миокарде.

**Ключевые слова:** фактор роста фибробластов, инфаркт миокарда, эксперимент

**QUANTITATIVE HISTOPATHOLOGY OF MYOCARDIAL INFARCTION  
BY BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR ADMISSION**

M.G. Shurygin, N.N. Dremina, V.V. Malyshev, I.A. Shurygina

*SC RRS ESSC SB RAMS, Irkutsk  
Scientific Institute of Epidemiology and microbiology SC ME ESSC SB RAMS, Irkutsk  
Irkutsk Branch of Sv. Fyodorov's «IRTC Eye Microsurgery», Irkutsk*

Influence of basic fibroblast growth factor on myocardial remodeling in experimental model of myocardial infarction at Wistar rats was investigated. In case of FGF2 influence we observed more strong infiltrative phase as in necrosis so in border zone, process transition fibroblastes to fibrocytes is disturbed, in early time point quantity of endoteliocytes increases in intact myocardium.

**Key words:** fibroblast growth factor, cardiac infarction, experiment

Формирование зоны постинфарктного кардиосклероза (ПИКС) носит сложный и многоступенчатый характер, в котором одно из ведущих мест занимают фибробласты и факторы, стимулирующие их активность [2, 4, 9]. К числу подобных факторов относится фактор роста фибробластов (Fibroblast Growth Factor, FGF) — мощный модулятор клеточной дифференцировки, пролиферации и подвижности клеток [6, 8]. FGF представляет собой многочисленную группу пептидов, среди которых наибольшее биологическое значение в качестве индуктора фиброгенеза играет так называемый основной фактор роста фибробластов (FGFb или по новой классификации FGF2) [3, 7]. Конечно, встречаются работы, в которых определена динамика FGF при остром инфаркте миокарда (ИМ) [5], однако, нами не найдено в доступной литературе дальнейшего развития этого направления. Значимость же процесса формирования кардиосклероза в постинфарктный период, а также недостаточное изучение этого аспекта позволили нам считать проведение данного исследования актуальным.

**Цель исследования** — изучить воздействие FGF2 на формирование зоны постинфарктного кардиосклероза.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Исследование было проведено на модели инфаркта миокарда у 86 крыс линии Wistar весом

200 — 250 г в возрасте 9 мес. Эксперимент на животных 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). Все оперативные вмешательства проводились в асептических условиях.

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНФАРКТА МИОКАРДА**

Для моделирования ИМ выполняли левостороннюю торакотомию и проводили диатермокоагуляцию передней межжелудочковой артерии диатермокоагулятором «F.L. Fischer Bipolator 17601» током с частотой 350 кГц в течение 1 сек. В качестве наркоза внутривенно вводили кетамин, дроперидол и атропин в дозе 50, 0,5 и 0,15 мг на кг веса соответственно. Для предотвращения развития инфекции однократно внутримышечно вводили гентамицин в дозе 5 мг/кг.

Животные были разделены на 2 группы: контрольная и основная (табл. 1). В контрольной группе исследование проводилось при естественном течении ИМ, а в основной группе животным вводили внутрисердечно FGF2 в дозе 100 нг однократно через 1,5 часа после операции моделирования ИМ. По окончании эксперимента животных выводили через 2, 6, 12 часов, 1, 3, 7, 14 и 30 суток. Сердце извлекали для дальнейших морфологических

Распределение животных по группам и срокам наблюдения

Группа	Срок выведения								Всего
	2 ч.	6 ч.	12 ч.	24 ч.	3 сут.	7 сут.	14 сут.	30 сут.	
FGF	5	5	5	5	5	6	5	5	41
Контроль	6	5	5	6	5	6	6	6	45

ких исследований, фиксировали 10% нейтральным формалином, изготавливали серийные срезы толщиной 3 мкм и окрашивали их гематоксилин-эозином, производили подсчет количества клеточных элементов в трех зонах: зоне инфаркта, пограничной и интактной зонах.

**МОРФОМЕТРИЯ**

Морфометрию проводили с использованием программы ImageJ Национального института здоровья (США) с набором модулей для медицинской морфометрии от Wayne Rasband. Применялся планиметрический метод [1] в модификации с использованием подсчета клеточных элементов на 1 микрофотографии (ув. 400х). Подсчет велся в 3 зонах – интактного миокарда, пограничной зоне, зоне инфаркта. Подсчитывались: эндотелиальные клетки, фибробласты, фиброциты, лимфоциты, сегментоядерные лейкоциты, макрофаги. В тексте значения полученных параметров приведены в виде: Медиана [25 – 75 % квантили]. Значимость различий распределений между сравниваемыми группами определена по критерию Манна – Уитни.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Развитие ИМ у экспериментальных животных протекало 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 и межклеточных пространств, некробиотическими изменениями в кардиомиоцитах.

Уже через 2 ч. 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 – 12 ч. после операции наблюдался распад кардиомиоцитов (фрагментация и гомогенизация отдельных мышечных волокон, саркоплазма гомогенизирована на распадом на глыбки, кариолизис, эозинофилия цитоплазмы). Развивалась инфильтрация зоны инфаркта клеточными элементами, среди которых преобладали нейтрофилы. Обнаруживались единичные лимфоциты и макрофаги, а количество сидерофагов зависело от выраженности внутритканевых геморрагий. По периферии зоны некроза определялись отдельные расширенные сосуды, заполненные полиморфно-

ядерными лейкоцитами, наблюдались краевое стояние нейтрофилов.

К 12-часовому сроку преобладали полиморфно-ядерные лейкоциты в стадии распада, что является свидетельством отсутствия новых очагов некроза. Явления распада некротизированных мышечных волокон нарастали.

К концу суток после моделирования инфаркта количество нейтрофилов в зоне некроза снижалось, но сохранялось большое количество сидерофагов.

Через 3 сут. в зоне некроза происходили значительные изменения клеточного состава. Вслед за стадией нейтрофильной инфильтрации в очаге некроза начали преобладать резорбция и организация. Отмечалось большое количество вновь образованных сосудов синусоидного и капиллярного типов, вокруг которых происходило развитие большого количества фибробластов, что характеризует образование грануляционной ткани.

На 7 сут. в зоне некроза 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 клазматоза.

На 14 сут. в зоне формирования постинфарктного рубца отмечается дальнейшее созревание грануляционной ткани с уменьшением количества сосудов. Снижалось количество фибробластов. На 30 сутки в зоне инфаркта формировался соединительнотканый рубец. Количество клеточных элементов и сосудов уменьшалось, увеличивалось количество фиброцитов.

Однако при общности порядка смены клеточных популяций в зоне инфаркта миокарда нами выявлены значительные различия в динамике и выраженности этих процессов в анализируемых группах.

У животных, получавших FGF2, пик нейтрофильной реакции в зоне инфаркта в отличие от контрольной группы приходился на 6 ч. (в контроле – на 12 ч.) и был достоверно более выраженным (на 6 ч. 197 [12 – 230] в сравнении с 5,5 [2 – 11] в контроле,  $p < 0,05$  (фото 1, 2, стр. 256), на 12 ч. 90 [26 – 94] и 47 [9 – 48] соответственно,  $p < 0,05$ ) (рис. 1). Максимум лимфоцитарной инфильтрации в группе FGF тоже регистрировался в более ранние сроки – 3-и сут. против 7-х сут. В пограничной зоне выраженность нейтрофильной реакции у животных, получавших FGF внутрисердечно, также была

Динамика количества инфильтративных элементов в зоне инфаркта  
(среднее и дов. интервал)

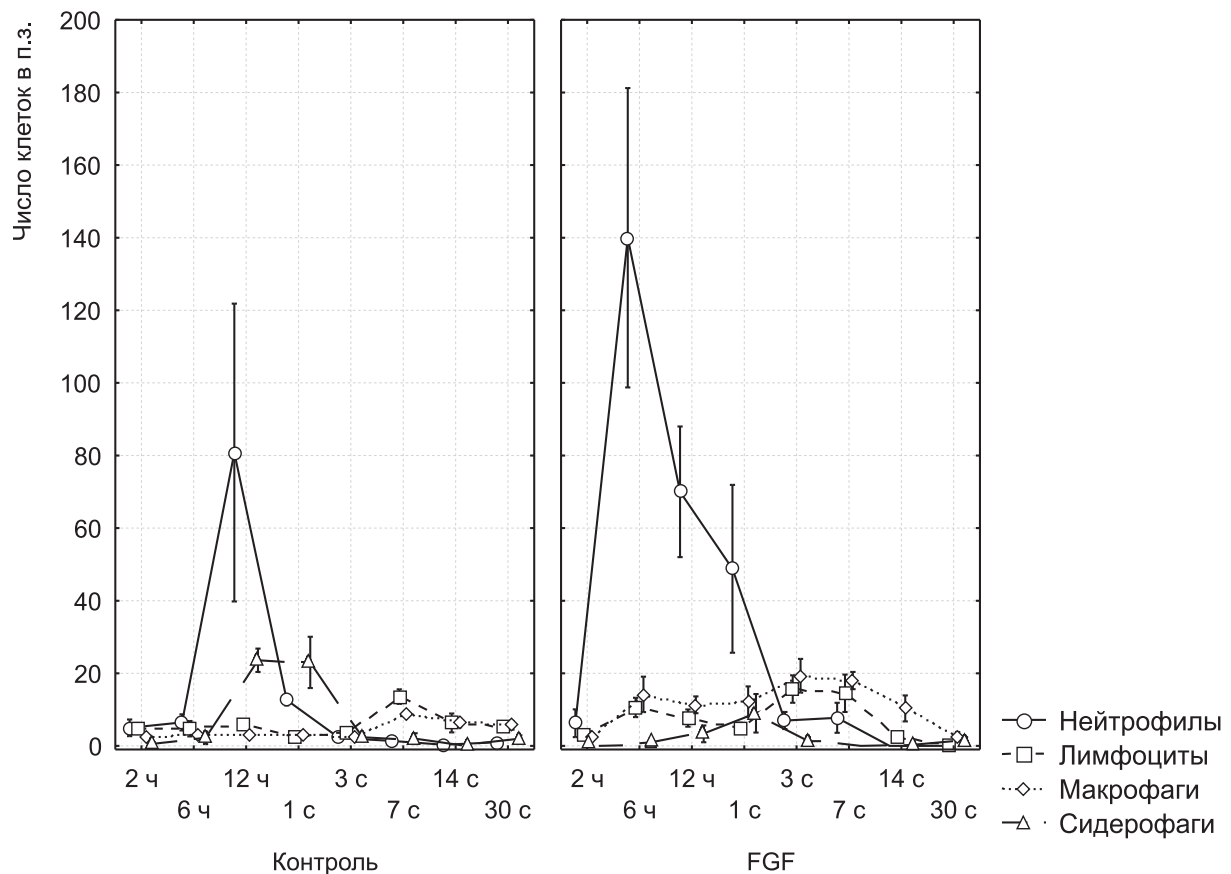


Рис. 1. Динамика количества инфильтративных клеточных элементов в зоне инфаркта миокарда.

выше, достоверно отличаясь от контроля в сроки 6 (35,5 [24 – 47] в FGF и 3,5 [3 – 4] в контроле,  $p < 0,05$ ) и 12 (101,5 [59 – 203,5] в FGF и 33 [30 – 36] в контроле) ч. после моделирования инфаркта. Максимум нейтрофильной реакции в пограничной зоне в обеих группах приходился на 12 ч.

Макрофагальная реакция, хоть и была умеренно выражена у всех экспериментальных животных, в группе FGF получила большее развитие, чем в контроле (24 [8 – 26] в сравнении с 8 [8 – 9]), с максимумом на 3-и сут. (в контроле – на 7-е сут.).

В то же время количество сидерофагов в зоне инфаркта было достоверно ниже, чем в контроле на 12 (22 [14 – 28] в контроле и 1 [0 – 9] в группе FGF,  $p < 0,05$ ) и 24 часа после операции (23 [8 – 38] и 0 [0 – 8] соответственно,  $p < 0,05$ ). Больше количество сидерофагов в контрольной группе было связано с большей выраженностью геморрагического компонента в зоне развития некроза.

Кроме изменений, зарегистрированных в области некроза и пограничной зоне, выявлены значимые различия и при исследовании интактного миокарда. При этом, если в контрольной группе в областях миокарда, удаленных от зоны повреждения, морфологических изменений на различных сроках после операции не выявлено, то у животных, получавших FGF, наблюдалась лимфоцитар-

ная (3-и сут.) и макрофагальная (1 и 3-и сут.) инфильтрация, а также обращал на себя внимание достоверный рост количества эндотелиоцитов в интактном миокарде по сравнению с контрольной группой животных, начиная с 6 ч. после моделирования миокарда (94 [91 – 98] в сравнении с 82 [70,5 – 90,5] в контроле) и до конца наблюдения (30 сутки – 106 [93 – 108] в группе FGF и 75 [75 – 86] в контроле) (фото 3 и 4, стр. 256; рис. 2).

Максимальная выраженность фибробластической реакции в обеих группах приходилась на 7-е сут. после моделирования инфаркта миокарда, однако в группе животных, получавших FGF, сохранялась на таком же высоком уровне и на 14-е сут., а у животных контрольной группы количество фибробластов к концу 2-й недели наблюдения было достоверно ниже (179 [178 – 292] в группе FGF, 94,5 [81 – 108] в контроле,  $p < 0,05$ ) (рис. 3). В то же время рост количества фиброцитов в зоне инфаркта у животных, получавших FGF, на 14 (фото 5, 6, стр. 256) и 30-е сут. достоверно отставал от наблюдаемого в контрольной группе (на 30-е сут. в группе FGF 79 [47 – 113] в сравнении с 152 [148 – 156] в контроле,  $p < 0,05$ ). В пограничной зоне максимум выраженности фибробластической фазы в обеих группах животных приходился на 7-е сут., однако уровень фибробластов у животных, получавших FGF, был достоверно выше (222

Динамика количества эндотелиоцитов  
(среднее и дов. интервал)

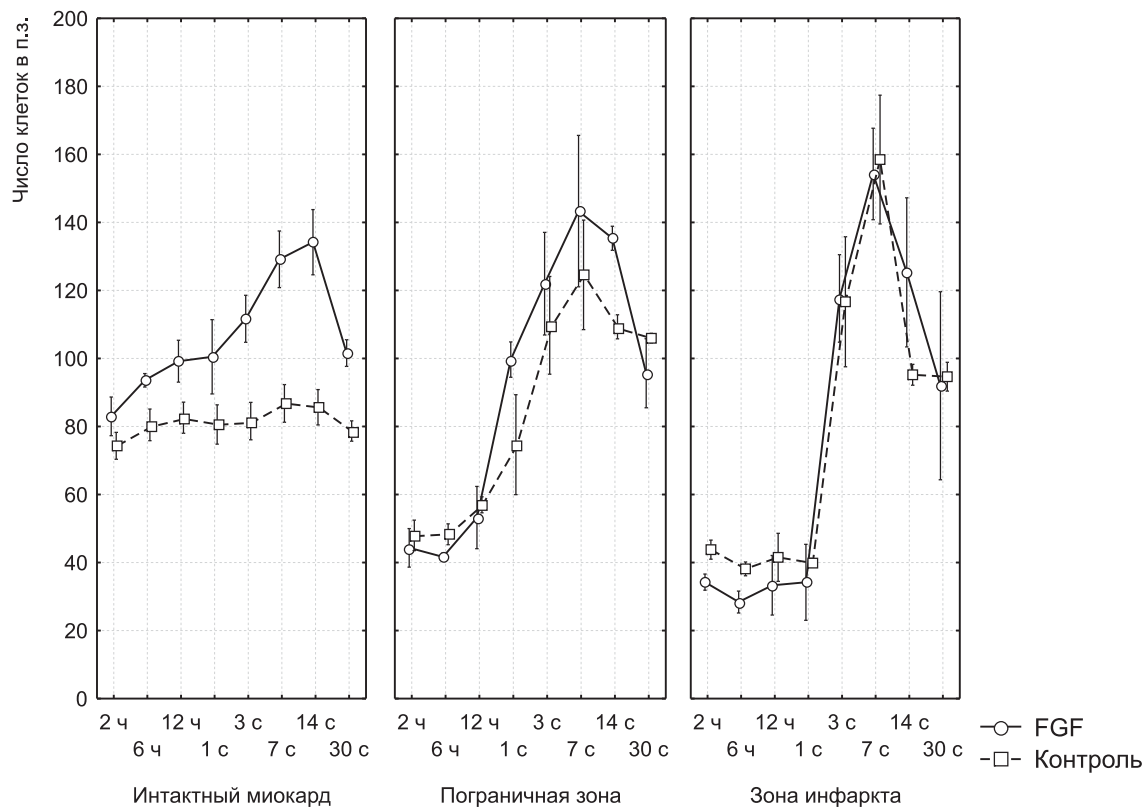


Рис. 2. Динамика количества эндотелиоцитов.

Динамика количества фибробластов и фиброцитов в зоне инфаркта  
(среднее и дов. интервал)

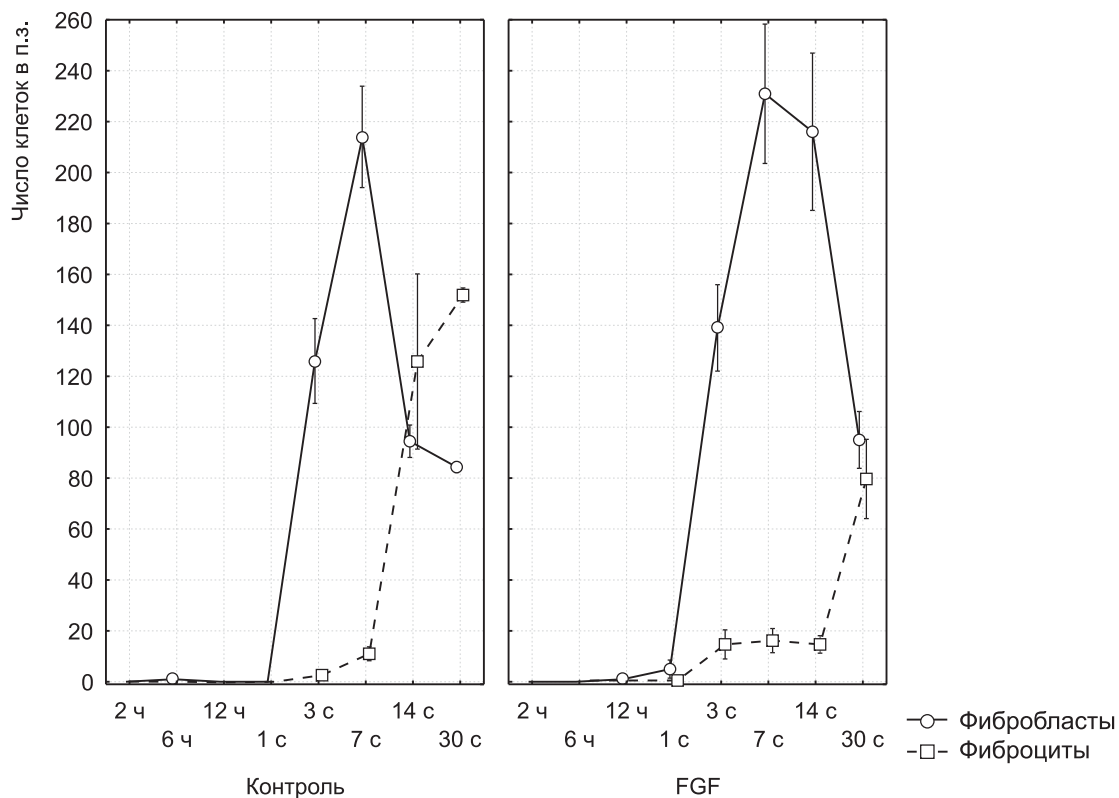


Рис. 3. Динамика количества фибробластов и фиброцитов в зоне инфаркта.

[205–295] по сравнению с 164 [130–182] в контроле,  $p < 0,05$ ). Количество фиброцитов у обеих групп животных нарастало с 3 до 30 суток, однако количество фиброцитов в поздние сроки в группе животных, получавших FGF, было достоверно ниже, чем в контроле (на 30 сутки в группе FGF 55,5 [39–72] в сравнении с 134 [126–142] в контроле,  $< 0,05$ ).

Таким образом, на основании проведенного исследования можно отметить наиболее значимые тенденции в динамике клеточных реакций при раннем однократном введении FGF2 по сравнению с контролем:

1) Большая выраженность инфильтративной фазы воспаления как в зоне некроза, так и в пограничной зоне и появление инфильтративных элементов в интактном миокарде.

2) Нарушение закономерной динамики пулов клеток фибробластического ряда под воздействием FGF2 со снижением трансформации фибробластов в фиброциты.

3) Ранняя активация и увеличение количества эндотелиоцитов в интактном миокарде под влиянием FGF2.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.
2. Хехт А. Введение в экспериментальные основы современной патологии сердечной мышцы / А. Хехт. — М.: Медицина, 1975. — 503 с.

3. Baird A. Fibroblast Growth Factors / A. Baird, P. Bohlen // *Fibroblast Growth Factors in Peptide Growth Factors and their Receptors*. — New York: Springer-Verlag, 1990. — P. 369–418.

4. Booz G.W. Molecular signalling mechanisms controlling growth and function of cardiac fibroblasts // G.W. Booz, K.M. Baker / *Cardiovasc Res*. — 1995. — Oct. Vol. 30 (4). — P. 537–543.

5. Elevated Circulating Levels of Basic Fibroblast Growth Factor and Vascular Endothelial Growth Factor in Patients With Acute Myocardial Infarction / K. Tamura, H. Nakajima, H. Rakue et al. // *Jap. Circ. J.* — 1999. — Vol. 63, N 5. — P. 357–361.

6. Fernig D.G. Fibroblast growth factors and their receptors: an information network controlling tissue growth, morphogenesis and repair / D.G. Fernig, J.T. Gallagher // *Prog. Growth Factor Res*. — 1994. — Vol. 5, N. 4. — P. 353–377.

7. Gospodarowicz D. Fibroblast growth factor / D. Gospodarowicz // *The UCLA symposia on molecular and cellular biology*. — New York, 1989. — Vol. 1, Issue 1. — P. 1–25.

8. Lijnen P.J. Collagen production in cardiac fibroblasts during inhibition of angiotensin-converting enzyme and aminopeptidases / P.J. Lijnen, V.V. Petrov, R.H. Fagard // *J. Hypertens*. — 2004. — Vol. 22, N 1. — P. 209–216.

9. Tiyyagura S.R. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: past, present, and future / S.R. Tiyyagura, S.P. Pinney // *Mt. Sinai J. Med.* — 2006. — Vol. 73, N 6. — P. 840–851.