

ПОСТТРАНСПЛАНТАЦИОННАЯ КАРДИОМИОПАТИЯ: ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ КАРДИОМИОЦИТОВ В СРОКИ ДО 25 ЛЕТ ПОСЛЕ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ СЕРДЦА

Дземешкевич С. Л.^{1,3}, Цыпенкова В. Г.², Фролова Ю. В.¹, Воронина Т. С.¹, Эттингер А. П.²

Российский научный центр хирургии им. академика Б. В. Петровского обладает опытом 30 ортотопических пересадок сердца с максимальным сроком наблюдения 25 лет. 9 пациентов пережили 11-летний период после операции, и у 6 из них на протяжении всего отдаленного периода 11-25 лет проводили ультраструктурное изучение кардиомиоцитов донорского сердца. В настоящей работе приведены результаты изучения митохондриального аппарата: данные свидетельствуют о нарастании деструктивных изменений в митохондриях со временем, что приводит к энергетическому дефициту кардиомиоцитов и прогрессированию посттрансплантационной кардиомиопатии.

Российский кардиологический журнал 2015, 11 (127): 42–45

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-11-42-45>

Ключевые слова: трансплантация сердца, отдаленные результаты, митохондрии, посттрансплантационная кардиомиопатия.

¹ФГБУ Российский научный центр хирургии им. акад. Б. В. Петровского, Москва; ²ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва; ³ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия.

Дземешкевич С. Л.* — д.м.н., профессор, зав. отделением хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности, зав. кафедрой сердечно-сосудистой хирургии №1, Цыпенкова В. Г. — д.м.н., чл.-корр. РАЕН, профессор кафедры морфологии медико-биологического факультета, Фролова Ю. В. — к.м.н., в.н.с. отделения хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности, Воронина Т. С. — врач-кардиолог, м.н.с. отделения хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности, Эттингер А. П. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории экспериментальной хирургии Института трансляционной медицины.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

dzem@med.ru

КМЦ — кардиомиоцит, ОТС — ортотопическая трансплантация сердца.

Рукопись получена 11.08.2015

Рецензия получена 13.08.2015

Принята к публикации 20.08.2015

POST-TRANSPLANTATION CARDIOMYOPATHY: ENERGY-PRODUCING PARTICLE OF CARDIOMYOCYTES AT THE TERMS UP TO 25 YEARS OF ORTHOTOPIC HEART TRANSPLANTATION

Dzemeshevich S. L.^{1,3}, Tsyplenkova V. G.², Frolova Yu. V.¹, Voronina T. S.¹, Ettinger A. P.²

Russian Scientific Center of Surgery named after B. V. Petrovsky has an experience of 30 orthotopic heart transplantations with the maximum follow-up 25 years. Nine patients survived 11-year period after operation, of those in 6 during long-term period of 11-25 years we studied ultrastructural assessment of cardiomyocytes of the donor heart. This article provides the results of mitochondrial particles: the data witnesses on the increase of destruction in mitochondria with time that finally leads to energy deficit of cardiomyocytes and progression of post-transplant cardiomyopathy.

Russ J Cardiol 2015, 11 (127): 42–45

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-11-42-45>

Key words: heart transplantation, long-term results, mitochondria, post transplant cardiomyopathy.

¹FSBSI Russian Scientific Center of Surgery n.a. B. V. Petrovsky, Moscow; ²Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU), Moscow; ³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health, Moscow, Russia.

Ортотопическая трансплантация сердца (ОТС) у взрослых в современной кардиологии обоснованно признается методом выбора в лечении конечной стадии сердечной недостаточности. В то же время отдаленные результаты таких операций демонстрируют определенную стагнацию, несмотря на улучшение технологии на всех этапах лечения. По данным современных европейских и североамериканских регистров, 1, 5, 10 и 15-летняя выживаемость после операции составляет примерно 84, 71, 50 и 30% [1-3]. Среди факторов, снижающих качество жизни и эффективность такого оперативного вмешательства в отдаленном периоде, прежде всего, выделяют васкулопатию трансплантата и онкологические проблемы, как следствие интенсивной иммуносупрессии [4, 5]. Значимую роль в ухудшении отдаленных результатов играет также посттрансплантационная кардиомиопатия,

гипотезу развития которой мы высказали в 1998г. В последующем, оценивая эту концепцию как с клинической, так и с морфологической позиции, мы убеждались в правомочности и жизненности высказанных ранее предположений [4, 6].

Настоящая работа посвящена анализу результатов электронно-микроскопического изучения митохондрий кардиомиоцитов (КМЦ), полученных из биоптатов правого желудочка у пациентов через 11-25 лет после ОТС. Несмотря на большое число публикаций, в которых даны описания митохондрий КМЦ при различных функциональных состояниях и болезнях миокарда, сведения по анализу митохондрий донорского сердца (и, тем более, в обозначенные сроки после трансплантации) крайне ограничены. Представленные в настоящей публикации данные электронно-микроскопической оценки состояния мито-

хондрий КМЦ донорского сердца логично дополняют нашу концепцию посттрансплантационной кардиомиопатии. И, несмотря на фундаментальную научную составляющую этих фактов, они могут иметь и конкретное прикладное значение в корректировке протокола медикаментозной терапии пациентов в отдаленном периоде после ОТС.

Материал и методы

К настоящему времени (август 2015г) наш коллектив имеет опыт 30 ОТС: у 16 пациентов в связи с дилатационной, и у 14 — по поводу ишемической кардиомиопатии. Ежегодно, начиная с 10-го года после операции, у 6 пациентов (пять мужчин и одна женщина) выполняли электронно-микроскопическое изучение состояния КМЦ трансплантированного сердца. Такой анализ осуществляли в сроки 11-25 лет после трансплантации.

Материал эндомикардиальных биопсий из правого желудочка фиксировали в забуференном растворе параформальдегида сразу после взятия, обрабатывали общепринятым способом, образцы ткани для электронно-микроскопического исследования заливали в эпоксидную смолу Аралдит. С полученных блоков готовили ультратонкие срезы толщиной 50-70 нм, монтировали на сетки или бленды, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали и фотографировали в электронных микроскопах JEM -100 CX и Philips SM-100.

Результаты

К десятому году после ОТС частота эпизодов иммунного отторжения и, соответственно, необходимость в усилении иммуносупрессии практически сходят на нет. В то же время возрастает риск развития онкологических заболеваний и прогрессирует специфическая васкулопатия трансплантата.

У 6 из 9 пациентов, которых мы наблюдали в сроки от 11 до 25 лет после ОТС, 1-2 раза в год с абсолютной регулярностью выполняли электронно-микроскопическое изучение биоптатов миокарда правого желудочка. В ранее опубликованных нами работах было отмечено [3, 4]:

- отсутствие выраженной клеточной реакции отторжения;
- явления прогрессирующего склероза эндокарда и субэндокарда с картиной периваскулярного фиброза;
- изменения интрамуральных микрососудов с утолщением их стенки и пролиферацией эндотелиальных клеток;
- неравномерная гипертрофия КМЦ с признаками начальной апоптической дегенерации и развернутой формой апоптоза;
- отмечено также наличие гибернирующих КМЦ с атрофией миофибриллярного аппарата.

Обсуждение

Эти данные электронно-микроскопического исследования дополнительно убедили нас в целесообразности выделения особой формы кардиомиопатии — посттрансплантационной.

В настоящей публикации эти данные мы существенно дополняем электронно-микроскопическим анализом состояния митохондриального аппарата КМЦ трансплантированного сердца в отдаленном периоде (до 25 лет) после пересадки. В литературе исследования такого плана пока еще крайне немногочисленны.

Уже в первые годы после трансплантации митохондрии КМЦ сильно отличались по форме и размерам, несмотря на типичное для этих органелл околоядерное, субсарколеммальное и межфибриллярное распределение. Типичным было наличие электронноклеточного матрикса, на фоне которого кристы митохондрий были плохо различимы. Сами митохондрии были разобщены, что свидетельствовало о потере межмитохондриальных контактов (рис. 1).

С течением времени после пересадки сердца деструктивные изменения митохондриального аппарата прогрессировали. В КМЦ появлялись крупные вакуоли в крошковидным содержимым и отдельными мембранными остатками. Вокруг таких вакуолей обнаруживались скопления довольно мелких митохондрий с просветленным матриксом (рис. 2). Эти вакуоли, по-видимому, аутофагические и встречались они преимущественно в непосредственной близости от сарколеммы; имелись локусы соприкосновения мембраны, окружающей вакуоль, с сарколеммой КМЦ.

Наряду с этим выявлено близкое расположение к сарколемме электронно-прозрачных митохондрий с единичными кристами. Выявлен даже выход таких

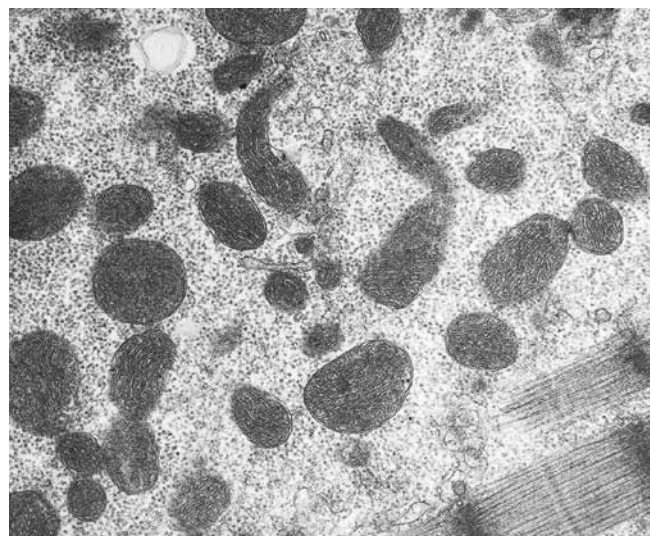


Рис. 1. Ультраструктура митохондрий КМЦ пациента через 5 лет после трансплантации. Объяснения в тексте. Ув.х20000.

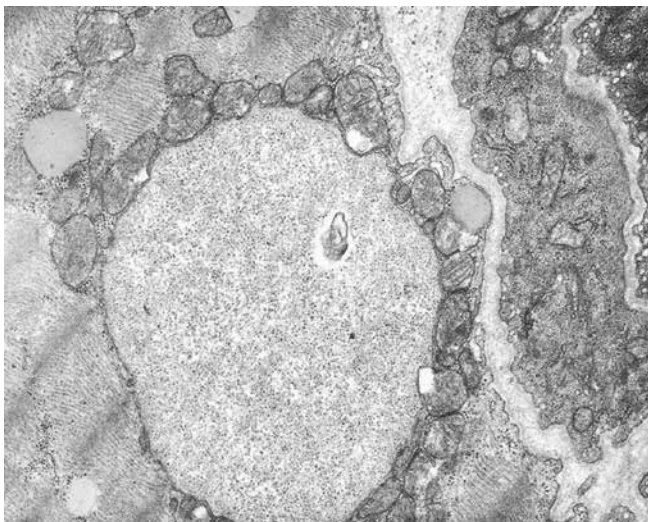


Рис. 2. КМЦ правого желудочка пациента через 8 лет после трансплантации. Крупная аутофагическая вакуоль контактирует с сарколеммой. Ув.х14000.

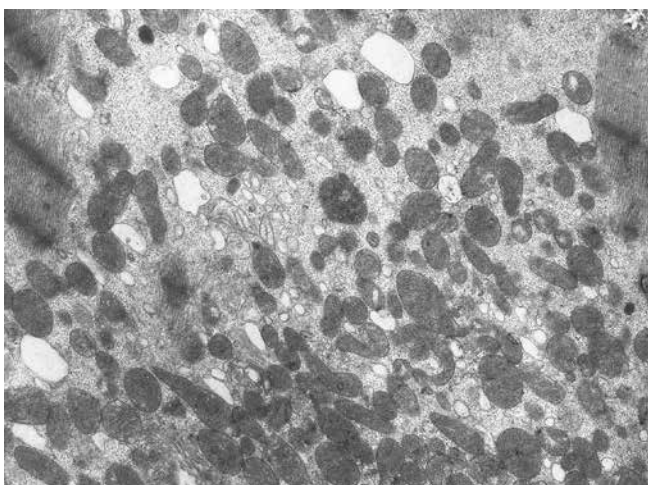


Рис. 4. Скопление мелких митохондрий в КМЦ пациента через 12 лет после трансплантации. Объяснения в тексте. Ув.х18000.

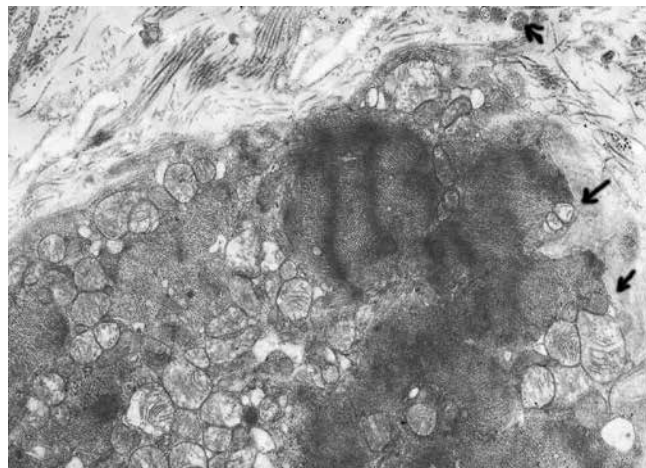


Рис. 3. Миокард пациентки через 14 лет после пересадки сердца. Экзоцитоз деструктивных митохондрий (отмечено стрелками). Ув.х16000.

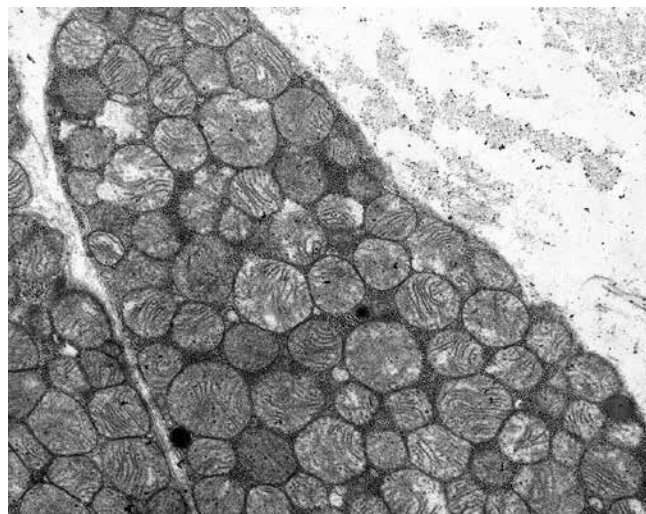


Рис. 5. Субсарколеммальное накопление мелких округлых митохондрий в КМЦ, 14 лет после пересадки сердца. Ув.х22000.

деструктивно измененных митохондрий за пределы КМЦ (рис. 3). Картина такого экзоцитоза часто и повторно была отмечена в биоптатах пациентки, пережившей к сентябрю 2015г 25 лет после ОТС.

К десятому году после пересадки типичным было появление в КМЦ правого желудочка трансплантата (наряду с деструктивно измененными митохондриями и беспорядочно разнонаправленными миофибриллами) так называемых предсердных гранул.

Ближе к 15-20 годам после трансплантации сердца отмечена отчетливая тенденция к накоплению довольно мелких митохондрий в околоядерной зоне КМЦ: здесь можно было видеть как практически неизменные органеллы, так и митохондрии со светлым матриксом, лишенные или имеющие значительную редукцию крист; встречались и “юные” митохондрии. Важно отметить, что в этих скоплениях

митохондрий присутствовали вакуоли, окруженные двойной мембраной, и размеры этих вакуолей соответствовали размерам окружающих митохондрий. По нашему мнению, эти вакуоли являлись ничем иным, как митохондриями, полностью лишенными крист (рис. 4).

Наряду с накоплением мелких митохондрий в околоядерной зоне КМЦ, огромные скопления митохондрий со временем (в течение второго десятилетия после трансплантации) стали появляться на периферии клеток под сарколеммой. Эти субсарколеммные митохондрии также были мелкими, имели округлую форму и просветленный матрикс и плотно прилегали друг к другу, не имея при этом межмитохондриальных контактов (рис. 5).

В ряде КМЦ можно было видеть набухшие митохондрии с редуцированными кристами и инфильтрированные липидами. Первичные и вторичные лизо-

сомы практически отсутствовали, а гранулы липофуцина иногда определялись в околядерной зоне клетки.

Ранее, при выполнении подобного исследования миокарда пациентов с диагнозом кардиомиопатия, находящихся в стадии выраженной сердечной недостаточности, было показано увеличение в КМЦ количества мелких деструктивно измененных митохондрий. При этом было отмечено, что собственно сократительные элементы КМЦ — миофибриллы — истончаются и оттесняются на периферию клетки. Этому феномену мы дали условное название “несостоятельная гипертрофия” [7]. В настоящем исследовании, когда материалом для изучения служит миокард донора через 10–20 лет после пересадки в организм реципиента, выявлена аналогичная закономерность в состоянии митохондрий: по мере увеличения времени после трансплантации митохондрии прогрессивно уменьшаются в размерах и накапливаются в таком деструктивном виде внутри КМЦ. Принято считать, что мелкие митохондрии также энергетически менее состоятельны, чем удлиненные [8].

Сегодня известно, что повреждающие воздействия на миокард способны вызывать изменения генома митохондрий, приводить к их избыточной пролиферации и снижению энергетического потенциала сократительного КМЦ, способствуя развитию внутриклеточного оксидативного стресса и апоптоза [9–12]. Кроме того, обнаруженное скопление избыточного количества деструктивных митохондрий

на периферии КМЦ и появление там крупных аутофагических вакуолей без достаточного по интенсивности выхода за клетку, свидетельствует о недостаточном экзоцитозе [13]. Это означает, что с течением времени в КМЦ трансплантированного сердца начинают преобладать катаболические процессы. При этом ни первичных, ни вторичных лизосом в таких клетках мы не обнаруживали.

Заключение

Изменения митохондриального аппарата в КМЦ трансплантированных сердец в отдаленные (11–25 лет) сроки после операции протекают по типу накопления мелких деструктивно измененных органелл. Это приводит к энергетическому дефициту КМЦ, снижению аутофагических процессов и накоплению внутри клеток биологического “мусора”. Появление экзоцитоза выявлено, но его интенсивность снижена. Выявление подобных изменений энергетического аппарата КМЦ у пациентов с дилатационной кардиомиопатией и тяжелой сердечной недостаточностью не противоречит нашей концепции о развитии посттрансплантационной кардиомиопатии в пересаженном сердце, начиная со второй декады после операции.

Выявленные данные могут быть использованы при разработке протоколов пролонгации функции пересаженных органов путем нормализации энергетического обмена и стимуляции системы, ответственной за эффективность катаболической активности клетки.

Литература

1. Stehlic J, Edwards LB, Kucheryavaya AV, et al. The registry of the International Society For Heart and Lung Transplantation: Twenty eight Adult Heart Transplantation Report 2011. *J. Heart Lung Transplant.* 2011; 30: 1078–94.
2. Melnichuk S, Shekar P, Couper G, et al. Heart transplants and modern immunosuppression. In: Dzemeshevich SL, Stephenson LW. *Myocardial dysfunction and heart surgery.* Moscow: Geotar-Media; 2009. pp. 214–36. Russian (Мельничук С.М., Шекар П.С., Купер Г.С. и др.). III. Пересадка сердца и современная иммунотерапия. В кн.: *Дисфункция миокарда и сердечная хирургия.* Дземежкевич С.Л., Стивенсон Л.У. М.: Геотар-Медиа; 2009. сс. 214–36).
3. Dzemeshevich SL, Tsyplenkova VG. Heart transplant and post-transplant cardiomyopathy. In: Dzemeshevich SL, Stephenson LW. *Myocardial dysfunction and heart surgery.* Moscow: Geotar-Media; 2009. pp. 236–69. Russian (Дземежкевич С.Л., Цыпенкова В.Г. Пересадка сердца и посттрансплантационная кардиомиопатия В кн. *Дисфункция миокарда и сердечная хирургия.* Дземежкевич С.Л., Стивенсон Л.У. М.: Геотар-Медиа; 2009. сс. 236–69).
4. Dzemeshevich SL, Tsyplenkova VG, Frolova YV, et al. Problems of the second decade after orthotopic heart transplantation: ultrastructural organization of the microvasculature. *J. Cardiology and Cardiovascular Surgery.* 2012; 1: 64–6. Russian (Дземежкевич С.Л., Цыпенкова В.Г., Фролова Ю.В. и др. Проблемы второго десятилетия после ортотопической трансплантации сердца: ультраструктурная организация микроциркуляторного русла донорского миокарда. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия.* 2012; 1: 64–6).
5. Gao SZ, Hunt SA, Schroeder JS, et al. Accelerated graft coronary artery disease. *J. Thoracic Transplantation.* 1995; 4: 273.
6. Dzemeshevich S, Ragimov A, Mikchaylov Y, et al. Plasmapheresis in the treatment of posttransplant cardiomyopathy. *Artif.Organs.* 1998; 22, (3): 197–202.
7. Tsyplenkova VG. Histological and ultrastructural characteristics of the myocardium in heart failure. *J. Cardiology.* 2013; 9: 58–62. Russian (Цыпенкова В.Г. Гистологические и ультраструктурные характеристики миокарда при сердечной недостаточности. *Кардиология.* 2013; 9: 58–62).
8. Ong SB, Hausenloy DJ. Mitochondrial morphology and cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.* 2010; 88: 16–29.
9. Zhelankin AV, Sazonova MA. Association of mutations of the mitochondrial genome of a person with a chronic disease noninflammatory genesis: type 2 diabetes, hypertension and various cardiomyopathies. *Pat. physiology.* 2012; 3: 123–8. Russian (Желанкин А.В., Сазонова М.А. Ассоциация мутаций митохондриального генома человека с хроническими заболеваниями невоспалительного генеза: сахарным диабетом 2-го типа, артериальной гипертензией и различными видами кардиомиопатии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2012; 3: 123–8).
10. Ivanova MM, Borodachev EN, Sazonova MA. Human diseases associated with mutations in the mitochondrial genome. *Pat. physiology.* 2012; 3: 115–22. Russian (Иванова М.М., Бородачев Е.Н., Сазонова М.А. Заболевания человека, ассоциированные с мутациями митохондриального генома *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2012; 3: 115–22).
11. Skulachev VP. The phenomena of programmed death. The mitochondria, cells and organs: the role of reactive oxygen species. *Soros Educational Journal.* 2001; 7 (6): 1–10. Russian (Скулачев В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода. *Соросовский образовательный журнал.* 2001; 7 (6): 1–10).
12. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Mitochondrial oxidative stress and dysfunction in myocardial remodeling. *Cardiovasc.Res.* 2009; 81 (3): 449–56.
13. Terman A. Catabolic insufficiency and aging. *Ann NY Acad. Sci.*, 2006; 1067: 227–36.