

А.Я.Гудкова<sup>1</sup>, Е.Н.Семернин<sup>1</sup>, Е.И.Баранова<sup>1</sup>, Н.П.Маслова<sup>1</sup>, О.В.Воронова<sup>1</sup>,  
С.Е.Созин<sup>1</sup>, А.А.Костарева<sup>1</sup>, А.Н.Крутиков<sup>1</sup>, С.А.Прошин<sup>2</sup>, П.А.Чеканов<sup>1</sup>,  
Ю.А.Тихонова<sup>1</sup>, Х.К.Аминева<sup>1</sup>, М.Г.Рыбакова<sup>1</sup>, Т.Sejersen<sup>3</sup>, Е.В.Шляхто<sup>1</sup>

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИОКАРДА БОЛЬНЫХ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ РЕСТРИКТИВНОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

<sup>1</sup>Государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, <sup>2</sup>Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины МЧС России, Санкт-Петербург, Россия, <sup>3</sup>Каролинский Университет, Стокгольм, Швеция

*Рассматриваются вопросы этиопатогенеза идиопатической рестриктивной кардиомиопатии, крайне редкой первичной патологии миокарда, представлены результаты анализа морфо-функционального состояния миокарда трех пациентов, в одном случае в течение 12 лет проводилось динамическое клинико-инструментальное наблюдение и выполнены молекулярно-генетические исследования.*

**Ключевые слова:** рестриктивная кардиомиопатия, кардиомиоциты, клетки стромального компонента, ядрышки, аргентофильные ядрышковые протенины.

*The problems are considered of etiology and pathogeny of restrictive cardiomyopathy, an exclusively rare primary heart disease. The data of analysis of morphofunctional state of myocardium in three patients are presented; in one case, the clinical and instrumental follow-up within 12-year period was made and molecular-genetic studies were performed.*

**Key words:** restrictive cardiomyopathy, cardiomyocytes, stromal cells, nucleoli, argentophilic nucleolar proteins

Идиопатическая рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) по сравнению с другими первичными заболеваниями миокарда встречается крайне редко. Молекулярно-генетическая природа заболевания, несмотря на наличие семейных форм, ещё не установлена [1]. Заслуживают внимания данные L.Goldfarb et al. (2000), согласно которым в одной из 11 семей-носителей мутации в гене, кодирующем выработку десмина, диагностирована идиопатическая РКМП [2]. Эта мутация ответственна за структурные изменения мышечных волокон и проявляется аномальной агрегацией и накоплением десмина в миокарде в виде депозитов [3]. Описан случай семейной РКМП вследствие мутаций в гене, кодирующем выработку тропонина I [4].

Основным критерием постановки диагноза идиопатической РКМП является исключение известных первичных и вторичных кардиомиопатий (КМП), ассоциированных с рестриктивным типом нарушения диастолической функции миокарда [5]. При проведении дифференциального диагноза среди этих заболеваний наибольшие трудности вызывают генетически обусловленные заболевания вследствие нарушения в миокарде метаболических процессов. Например, первичный амилоидоз миокарда [6], саркоидоз [7], а также болезни накопления: гемохроматоз [8], болезни Фабри, Гоше, аномальное накопление гликогена [5].

В эту группу также входят заболевания эндокарда с неокончательно установленным этиопатогенезом: гиперэозинофильный синдром [9], эндокардиальный фиброз [10] и поражение сердца при карциноидном синдроме [11]. Важно также помнить, что выраженные нарушения диастолической функции по рестриктивному типу развиваются у больных с аутоиммунными заболеваниями, например, склеродермией, при воздействии радиации, стойко повышенном уровне серотонина и при хро-

нической интоксикации ртутью [5]. Взаимодействие ртути с сульфгидрильными группами ядрышкового белка фибрилларина изменяет антигенные свойства и структуру этого белка, что вызывает генетически ограниченный антиядрышковый ответ - выработку аутоантител на фибрилларин.

Аналогичные антиядрышковые антитела к фибрилларину обнаруживаются при системной склеродермии и существует гипотеза, что изменение антигенных свойств этого и, возможно, других ядрышковых белков имеет отношение к регуляции продукции коллагена, а отсюда к фиброзообразованию при этом заболевании [12]. Известно, что фиброз (реактивный, репаративный) является причиной патологической ригидности миокарда, лежащей в основе нарушения диастолической функции. K.Weber, C.Brilla (1991) показали, что взаимодействие фибробластов и кардиомиоцитов (КМЦ) обуславливает и регулирует весь ход структурной перестройки миокарда в условиях патологии [13].

Эндотелиоциты способны модулировать как синтез, так и деградацию коллагена в сердечных фибробластах [14]. Морфо-функциональные особенности ядер и ядрышек КМЦ и клеток стромального компонента (КСК), а также клеточные и молекулярные механизмы белок-синтезирующей и, в частности, коллагенообразующей функции в миокарде больных первичными КМП изучены недостаточно [15]. В то же время, именно ядрышкам, которые являются по образному выражению Дж.Крокера «фабрикой рибосом», принадлежит особая роль в обеспечении белок-синтезирующей функции клеток, а также пролиферации и дифференцировки.

Ядрышко - хорошо изученная структурно-функциональная единица ядра интерфазной клетки. В нём расположены рибосомные гены и происходит синтез рибосомной РНК (р-РНК). Морфология ядрышек варьирует в

зависимости от активности метаболических процессов в клетке. За последние годы определённый вклад в понимание проблемы ядрышковых изменений был внесён благодаря изучению специальных ядрышковых белков, которые связываются с серебром как с моноклональным антителом [16]. Изучение зон ядрышковых организаторов, выявляемых методом импрегнации ядрышек солями серебра дает возможность оценить готовность клеток к синтезу 18S- и 28S-классов р-РНК, имеющей непосредственное отношение к синтезу белка [16, 17]. Оценка белково-синтетической функции в КМЦ и КСК миокарда больных идиопатической РКМП ранее не проводилась и в литературе отсутствуют сведения по этому вопросу.

За интенсивность окрашивания ядрышек интерфазных клеток солями серебра отвечают многофункциональные ядрышковые белки: нуклеолин и нуклеофосмин [16]. Нуклеолин, нуклеофосмин, фибрилларин и другие ядрышковые белки принимают участие в процессе синтеза и созревания пре-р-РНК (processing) [17]. Доказано участие этих белков в процессе транспорта рибосомальных компонентов из ядра в цитоплазму. Это дало основание предполагать, что функции основных ядрышковых белков не ограничиваются только внутриядерными (ядрышковыми) процессами, а могут быть связаны с механизмами интеграции ядерно-ядрышковой и цитоплазматической деятельности, что, в свою очередь, является дополнительным критерием функционального состояния клеток [18].

Целью нашей работы явилось изучение структурно-функционального состояния миокарда, ядер и ядрышек кардиомиоцитов и клеток стромального компонента больных идиопатической рестриктивной кардиомиопатией.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 3 пациента с идиопатической рестриктивной кардиомиопатией. Материалом для микроскопического исследования послужили образцы экспресс-аутопсий предсердного и желудочкового миокарда.

Развернутое клинично-инструментальное обследование выполнено у больной С., 29 лет, с семейной формой РКМП. Период наблюдения составил около 12 лет. Проводились эхокардиографическое (ЭхоКГ) исследование, рентгенография грудной клетки, ЭКГ, холтеровское мониторирование. ЭхоКГ выполнялась по стандартному протоколу, включая М-модальный, двумерный и доплеровский режимы. Давление в лёгочной артерии рассчитывали исходя из величины градиента давления трикуспидальной регургитации.

Идентификацию вирусной ДНК/РНК в миокарде больной С., осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции. Определяли основные кардиотропные вирусы (энтеровирусы и аденовирусы), а также вирусы гепатита С, В и D, простого герпеса человека, Эпштейна-Барр и цитомегаловирусы. Секвенирование геномной ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови, выполнено с целью исключения мутации гена десмина.

У двух других пациентов с клиникой тяжелой застойной сердечной недостаточности в течение 3 последних лет жизни диагноз идиопатической РКМП был поставлен только при секционном исследовании. Во всех

случаях выполнено исследование гистологических препаратов миокарда с помощью гематоксилин-эозина, по Ван-Гизон и импрегнация ядрышек солями серебра. Оценка экспрессии аргентофильных белков ядрышкообразующих районов (Ag-ЯОР-белков) проводилась методом импрегнации ядрышек солями серебра по описанному методу [19] в нашей модификации [20].

Последующий анализ материала проводили с помощью светового микроскопа, используя объектив 100х, окуляр 10х. В каждом случае анализировали 200 ядер КМЦ и такое же количество ядер КСК. Рассчитывали среднее число Ag-гранул и среднее количество ядрышек в расчете на ядро КМЦ и КСК с помощью метода микроморфометрии на системе AxioLat Videotest (см. рис. 8). Морфометрическое исследование также включало определение площади ядер КМЦ и КСК, а также площади и количества ядрышек в расчете на ядро КМЦ и КСК. Осуществляли подсчет числа Ag-гранул серебра в ядрышках и количество «точек» атипично расположенного аргентофильного материала или «микроядрышек» в ядре КМЦ.

Анализ результатов исследования проводили с помощью критерия Стьюдента. Достоверность различий полученных данных оценивали при  $p < 0,01$ .

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Генеалогическое древо семьи пациентки С. представлено на рис. 1. Отец пациентки страдал мерцательной аритмией, тяжелой, преимущественно правожелудочковой застойной сердечной недостаточностью. После неоднократных обследований в условиях стационара был поставлен диагноз: аномалия развития сердца. Смерть отца наступила внезапно в возрасте 29 лет. Семейный анамнез включает смерть плодов во внутриутробном периоде на поздних сроках беременности у двух членов семьи, в том числе у обследованной пациентки, а также смерть младенцев в течение первого года жизни.

Ведущим синдромом в клинической картине заболевания у обследованной пациентки с идиопатической РКМП являлась кахексическая стадия застойной, преимущественно правожелудочковой сердечной недостаточности, рефрактерной к проводимой терапии. Это проявлялось акроцианозом, прогрессирующей слабостью, одышкой (частота дыханий в покое 28-32 в 1 мин.), набу-

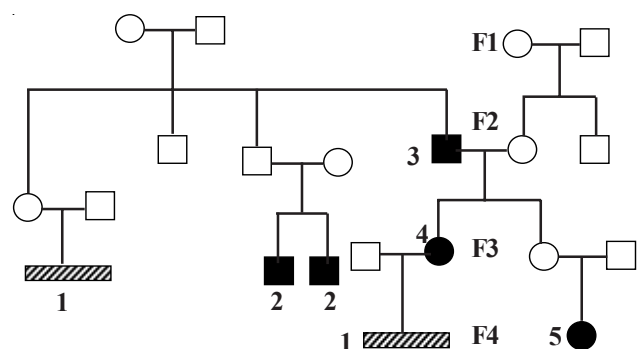
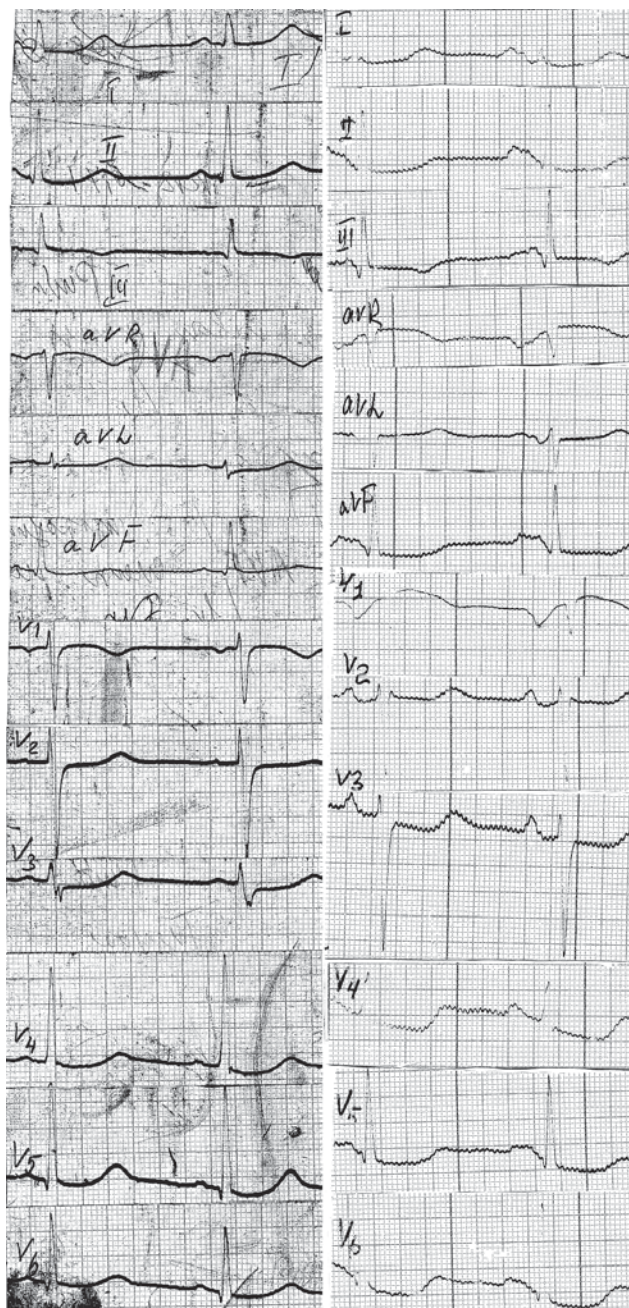


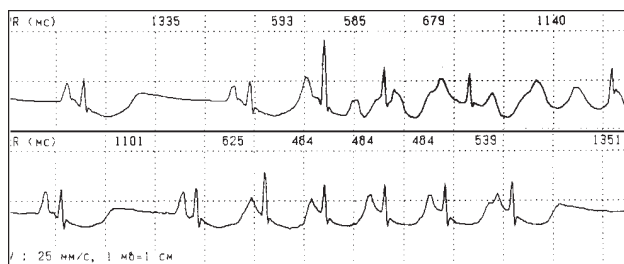
Рис. 1. Генеалогическое древо семьи больной С., 29 лет, с семейной формой идиопатической рестриктивной кардиомиопатии, где 1 - смерть во внутриутробном периоде, 2 - смерть до 1 года, 3 - смерть в 29 лет, 4 - пробанд 29 лет, 5 - 6 лет, наличие клинических проявлений.

ханием шейных вен, отёками лица, асцитом, анасаркой. Динамика ЭКГ-показателей представлена на рис. 2а,б.

Динамика изменений ЭКГ за период с марта 1983 г. по февраль 2002 г. заключалась в прогрессирующем увеличении левого и правого предсердий, увеличении отклонения электрической оси сердца вправо. В течение последнего месяца жизни у больной имели место пароксизмы полифокусной предсердной тахикардии с нерегулярным атриовентрикулярным проведением (рис. 3) и трепетание предсердий с проведением 2:1 - 4:1 (рис. 4). В этот же период на рентгенограммах регистрировалась прогрессирующая кардиомегалия, за счет увеличения



**Рис. 2.** ЭКГ больной С.: а - в возрасте 9 лет (11.03.83), б - в возрасте 24 лет (15.06.97). Увеличение продолжительности и амплитуды зубца Р. При сравнении выявлено увеличение отклонения электрической оси сердца вправо (угол  $\alpha$   $45^\circ \Rightarrow 90^\circ$ ), прогрессирующее увеличение нагрузки на правое и левое предсердие, смещение переходной зоны влево ( $V_2 \Rightarrow V_{3-4}$ ) - косвенный признак увеличения правого желудочка.



**Рис. 3.** Фрагменты холтеровского мониторирования ЭКГ больной С. от 6 февраля 2002 г. Зарегистрированы частые пароксизмы полифокусной предсердной тахикардии, в том числе с нерегулярным атриовентрикулярным проведением.



**Рис. 4.** ЭКГ больной С. Пароксизм трепетания предсердий с нерегулярным атриовентрикулярным проведением (2:1-4:1).



**Рис. 5.** Рентгенограмма грудной клетки больной С. Выраженная кардиомегалия за счёт увеличения обоих предсердий и расширения ветвей лёгочной артерии. Возможно увеличение правого желудочка.

предсердий (особенно левого), правого желудочка (ПЖ), расширения ветвей легочной артерии (рис. 5). Прогрессировали явления интерстициального отека и двухстороннего гидроторакса.

Результаты ЭхоКГ-исследований представлены в табл. 1. Как видно из представленных данных, у больной имело место прогрессирующее концентрическое ремоделирование при изначально нормальных, а в терминальном периоде пониженных, расчётных показателях массы миокарда и индекса массы миокарда левого желудочка. За время наблюдения с 1996 г. регистрировалась тяжёлая степень нарушения диастолической функции по рестриктивному типу при сохранной и/или повышенной фракции выброса левого желудочка (ЛЖ). Обращало внимание постепенное и значимое уменьшение конечного диастолического размера ЛЖ (с 40,0 до 31,9 мм). При этом резко прогрессировали дилатация левого (ЛП) (с 54,0 до 100,2 мм) и правого (ПП) предсердий (с 23,0/54,0 до 60,0/78,0 мм), а также тромбоз в полостях предсердий и лёгочная гипертензия.

Таблица 1.

Динамика основных ЭхоКГ-показателей больной С. за период с 1996 по 2002 гг.

Показатели	06.03.1996	11.11.1997	04.10.1999	15.01.2002	21.02.2002
КСРлж (мм)	24,0	28,0	27,0	21,2	19,7
КДРлж (мм)	38	38	35	33,6	31,9
МЖПд (мм)	11	10	10	9,4	8,1
ЗСлжд (мм)	11	10	10	10,6	9,9
ЛП (мм)	54,0	55,0	66,5	84,3	100,2
EF/ES (%)	66/35	66/35	78/36	78/37	78/38
ПП (мм)	21/42	23/54	38/74	56,2/77	60/78
ЛГ (мм рт.ст.)	28	28	38	58	51
МЖП/ЗС	1	1	1	1,12	0,81
ММЛЖ (г)	144,5	132,2	114,0	107,1	81,28
ИММЛЖ (г/м <sup>2</sup> )	98,8	90,5	80	74,6	54,1
ОТС	0,5	0,5	0,57	0,6	0,56

где, КСРлж и КДРлж - конечные систолический и диастолический размеры левого желудочка, МЖПд - межжелудочковая перегородка в диастолу, ЗСлжд - задняя стенка левого желудочка в диастолу, ЛП - левое предсердие, EF/ES - фракции изгнания / укорочения, ПП - правое предсердие, ЛГ - градиент давления на клапане легочной артерии, ММЛЖ - масса миокарда левого желудочка, ИММЛЖ - индекс массы миокарда левого желудочка, ОТС - относительная толщина стенок

При ретроспективном анализе обращало внимание сходство клинического течения синдрома застойной сердечной недостаточности, а также однотипность изменений рентгенограм и электрокардиограм отца и дочери в возрасте с 26 по 29 лет, что проявлялось прогрессирующим увеличением ЛП и ПП. Смерть больной наступила в возрасте 29 лет от прогрессирующей хронической сердечной недостаточности, рефрактерной к терапии.

При тестировании образцов миокарда с целью определения вирусных нуклеиновых кислот в ПП обнаружена ДНК аденовируса. При секвенировании геномной ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови, мутации в гене десмина не выявлены.

#### Морфологическое исследование препаратов миокарда

Стромальный компонент миокарда обследованных больных семейной РКМП представлен различными видами фиброза: субэндокардиальным, межмышечным, периваскулярным (рис. 6). Интерстициальный фиброз в предсердиях и желудочках представлен в двух вариантах: перимизиальный (группы мышечных волокон окружены коллагеновым матриксом) и эндомизиальный (каждое мышечное волокно окружено коллагеновым матриксом). Выраженность интерстициального и субэндокардиального фиброза больше выражена в предсердиях, чем в желудочках, сосочковых мышцах и межжелудочковой перегородке. Достоверных различий в выраженности периваскулярного фиброза во всех проанализированных образцах миокарда не выявлено. Обращало внимание большое количество сосудов и признаки пролиферации клеточных элементов стенок мелких сосудов (эндотелиоцитов, перицитов).

Отличительной особенностью стромального компонента миокарда является резкое увеличение числа КСК, которые распределены в миокарде по ходу мышеч-

ных волокон и сосудов в виде скопленных до 10-ти и более. В миокарде ЛЖ и ПЖ часть мышечных волокон истончена, другие имеют нормальный диаметр. Дискомплексация мышечных волокон по типу ветвления. При этом степень дисконкомплексации мышечных волокон более выражена в ПЖ, чем в ЛЖ. Обнаружены явления миоцитолита, субсегментарные и сегментарные контрактуры мышечных волокон. В миокарде межжелудочковой перегородки имела место минимальная степень дисконкомплексации мышечных волокон, а выраженность её в сосочковой мышце соответствовала таковой в миокарде ЛЖ. В этом отделе миокарда чередовались участки с плотным и правильным расположением мышечных волокон и участки, где мышечные волокна были раздвинуты, истончены, их расположение нарушено. Определялось перерастяжение мышечных волокон, их поперечная исчерчен-

ность. Сократительный миокард предсердий перестроен. Выявлено усиление фибриллярного рисунка предсердных мышечных волокон. Выраженная неравномерность толщины мышечных волокон. Ядра желудочковых КМЦ мноморфны. В отдельных областях анализируемого среза выявлялось относительно редкое расположение ядер КМЦ и резкое истончение мышечных волокон.

В миокарде предсердий выявлена дисконкомплексация мышечных волокон двух видов: отдельные мышечные волокна расположены под углом друг к другу и пучки мышечных волокон, которые смещены в различных на-

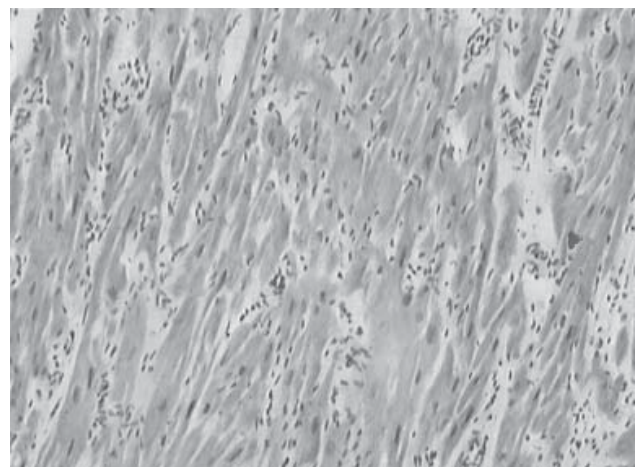


Рис. 6. Микрофотография. Гистологический препарат миокарда. Окраска по Ван-Гизон. Дисконкомплексация мышечных волокон по типу ветвления.

Признаки миоцитолита и очагового истончения мышечных волокон. Стромальный компонент миокарда представлен различными видами фиброза: субэндокардиальным, межмышечным, интерстициальным. Резкое увеличение числа стромальных клеток.

правлениях. Степень дисконфлексации мышечных волокон значительно выше в миокарде предсердий по сравнению с другими отделами миокарда. Обнаружены явления миоцитоза и депаренхимизации, перерастяжение мышечных волокон, субсегментарные и сегментарные контрактуры, разрывы мышечных волокон и переход в коагуляционный некроз. Степень выраженности этих изменений также максимальна в предсердиях. При этом в миокарде ЛП чаще встречались резко выраженная гипертрофия мышечных волокон и гигантские гипертрофированные ядра КМЦ, а для ПП более характерны фиброз и миоцитоз.

Во всех образцах миокарда между мышечными волокнами обнаружены отложения аморфных белковых масс, такие же массы откладываются в периартериолярных пространствах. Однако площадь отложений варьирует от случая к случаю. У всех обследованных пациентов площадь отложений белковой оксифильной субстанции значительно больше в миокарде предсердий по сравнению с другими отделами сердца.

#### *Импregnация ядрышек солями серебра*

Результаты структурно-функционального состояния ядер и ядрышек КСК и КМЦ представлены в табл. 2 и 3. Средние значения площади ядер КСК в различных отделах миокарда достоверных различий не имели и варьировали от 37,4 кв.мкм. в миокарде ЛЖ до 44,1 кв.мкм. в миокарде ПП. Что касается ядрышкового аппарата, то большинство ядер КСК содержали 2-3 неактивных, как правило, мелкоочечных ядрышка. Реже встречалось 4-5 и большее число неактивных ядрышек. Площадь ядрышек варьировала от клетки к клетке и в пределах одного ядра. Как видно из представленных данных (табл. 2) среднее число ядрышек в расчете на ядро КСК варьировало от 1,74±0,16 в миокарде ЛЖ до 3,6±0,32 в миокарде ПП. В анализируемых срезах миокарда здорового человека по нашим данным встречаются единичные ядра КСК, которые содер-

жат одно неактивное точечное ядрышко [2]. Во всех отделах миокарда обнаружено некоторое количество ядер КСК, которые отличались очень большим размером, как правило, имели овальную форму. Максимальная площадь ядер КСК колебалась в различных отделах миокарда от 57,7 кв. мкм в ЛЖ до 88,4 кв.мкм. в ПП. Доля ядер КСК с изменённым фенотипом колебалась от 6% в сосочковой мышце слева и межжелудочковой перегородке до 17% в ЛП и 15% в ПП. Как правило, ядра КСК такой морфологии, имели высокоактивные ядрышки, содержащие Ag-гранулы, без или в сочетании с мелкоочечными неактивными ядрышками. Количество ядрышек в фенотипически изменённых ядрах КСК варьировало от 3 до 8. Число Ag-гранул в таких ядрышках составило от 2 до 5. Среднее число ядрышек в ядрах фенотипически изменённых КСК составляло от 3,0±0,4 в сосочковой мышце ЛЖ до 4,8±1,2 в миокарде ПП. Площадь ядрышек КСК

**Таблица 2.**

**Структурно-функциональное состояние ядер и ядрышек клеток стромального компонента болевой С., 29 лет с семейной формой идиопатической рестриктивной кардиомиопатии.**

Образцы миокарда	Показатели				
	1	2	3	4	5
ЛП	16,0-83,3 (42,5±2,6)	17	4,1±0,8	2,45±0,21	3,48±0,35
ПП	15,2-88,4 (44,1±0,36)	15	4,8±1,2	3,62±0,32	4,02±0,46
ЛЖ	22,6-57,7 (37,4±1,3)	7	2,8±0,21	1,7±0,16	2,05±0,17
ПЖ	15,2-77,9 (43,0±2,3)	9	3,8±0,94	2,34±0,21	2,58±0,36
МЖП	16,8-77,1 (37,6±1,7)	6	4,4±0,8	3,38±0,25	3,68±0,47
СМЛ	18,4-63,1 (40,0±11,7)	6	3,0±0,4	2,86±0,22	2,75±0,28
СМП	20,0-73,1 (42,4±1,2)	7	3,2±0,66	2,91±0,3	2,8±0,17

где, ЛП и ПП - левое и правое предсердие, ЛЖ и ПЖ - левый и правый желудочек, МЖП - межжелудочковая перегородка, СМЛ и СМП - сосочковая мышца слева и справа, 1 - площадь ядер, мкм<sup>2</sup>, 2 - доля клеток стромального компонента с изменённым фенотипом, %, 3 - среднее число ядрышек в клетке стромального компонента с изменённым фенотипом, 4 - общее число ядрышек в расчете на ядро, 5 - средняя площадь ядрышек в расчете на ядро, мкм<sup>2</sup>.

**Таблица 3.**

**Структурно-функциональное состояние ядер и ядрышек кардиомиоцитов болевой С., 29 лет с семейной формой идиопатической рестриктивной кардиомиопатии.**

Образцы миокарда	Показатели							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ЛП	40	6,0±0,35	13	2,3±0,81	8,3±0,49	32,1±2,5	63,94-466,0 (216,9±11,8)	10,84±0,4
ПП	41	5,9±0,8	11	1,7±0,64	7,6±0,77	30,0±3,5	59,4-280,1 (188,4±10,5)	8,71±0,9
ЛЖ	27	2,1±0,23	6	1,16±0,82	3,26±0,27	12,1±1,4	41,12-260,2 (111,5±6,03)	5,88±0,36
ПЖ	23	3,0±0,31	10	2,26±0,7	7,26±0,65	16,0±1,7	56,83-396,5 (147,0±12,1)	8,0±0,72
МЖП	20	3,1±0,7	11	1,6±0,64	3,3±0,25	16,4±1,07	49,23-246,5 (128,4±7,29)	7,2±0,48
СМЛ	27	3,1±0,86	2,0	1,56±0,4	4,6±0,42	9,8±0,85	48,4-276,7 (114,1±5,87)	7,8±0,6
СМП	23	3,85±0,56	12,0	2,0±0,3	4,85±0,41	10,1±0,71	41,5-280,1 (122,1±6,9)	6,8±0,7

где, ЛП и ПП - левое и правое предсердие, ЛЖ и ПЖ - левый и правый желудочек, МЖП - межжелудочковая перегородка, СМЛ и СМП - сосочковая мышца слева и справа, 1 - доля ядер, содержащих микроядрышки, 2 - среднее число ядрышек в расчете на ядро, 3 - доля ядер, содержащих кольцевидные ядрышки, %, 4 - среднее число ядрышек в расчете на ядро без учета микроядрышек, 5 - общее число ядрышек в расчете на ядро, 6 - средняя площадь ядрышек, мкм<sup>2</sup>, 7 - площадь ядер, мкм<sup>2</sup>, 8 - среднее число Ag гранул в расчете на ядро.

варьировала от  $2,05 \pm 0,17$  кв. мкм в миокарде ЛЖ до  $4,02 \pm 0,46$  кв. мкм в миокарде ПП.

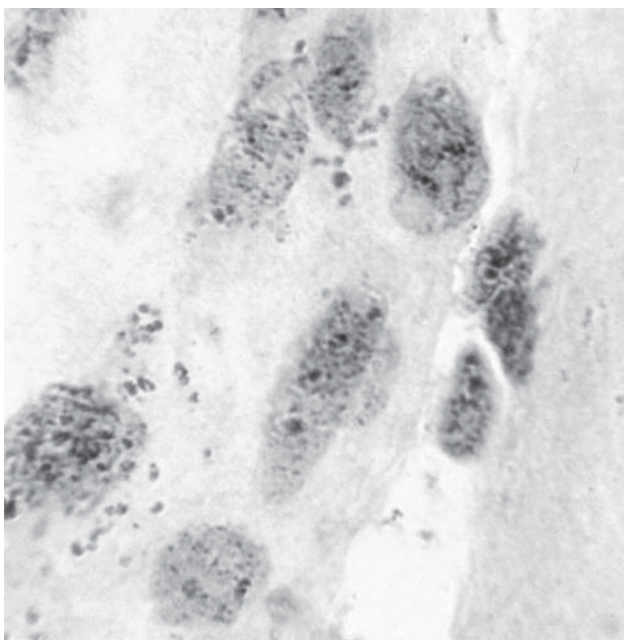
Отличительной особенностью миокарда ЛЖ являлось наличие мономорфных ядер КМЦ относительно небольшого размера (минимальная площадь ядер КМЦ по данным микроморфометрии варьировала в различных отделах миокарда от  $41,1$  кв. мкм в ЛЖ до  $63,9$  кв. мкм в ЛП) и как видно из табл. 2 и 3 была сопоставима с показателем площади фенотипически измененных ядер КСК.

Показатель средней площади ядер КМЦ из ЛП приблизительно в 2 раза выше чем аналогичный показатель в миокарде ЛЖ ( $216,9 \pm 11,9$  кв. мкм. против  $111,6 \pm 6,0$  кв. мкм.), соответственно. В миокарде предсердий обнаружены гигантские ядра КМЦ овальной формы с перинуклеарными вакуолями и множественными микроядрышками. Площадь таких ядер достигала  $466$  кв. мкм (!!!)

Важной особенностью ядер КМЦ во всех образцах анализируемого миокарда больных семейной РКМП является атипичное распределение аргентофильного материала в ядре (в виде точек различной формы и величины) или большое количество «микроядрышек» (рис. 7).

В части ядер «микроядрышки» имеют диффузное распределение, в других - образуют стержневидные структуры. Доля ядер КМЦ содержащих «микроядрышки» варьировала в различных отделах желудочкового миокарда от 20% до 27%, максимальное количество таких ядер выявлена в ЛП (40%) и ПП (41%). Число «микроядрышек» варьировало от клетки к клетке от 1 до 17 в расчёте на ядро.

Среднее число «микроядрышек» в расчете на ядро желудочкового КМЦ колебалось от  $2,1 \pm 0,23$  в миокарде ЛЖ до  $3,85 \pm 0,56$  в сосочковой мышце справа, наибольшее количество обнаружено в предсердных КМЦ  $6,0 \pm 0,35$  в ЛП и  $5,9 \pm 0,8$  в ПП, соответственно. Подавляющее большинство ядер КМЦ наряду с «микроядрышками» содержали ядрышки обычной морфологии, включая ядрышки кольцевидной формы. Доля ядер КМЦ, содержащих

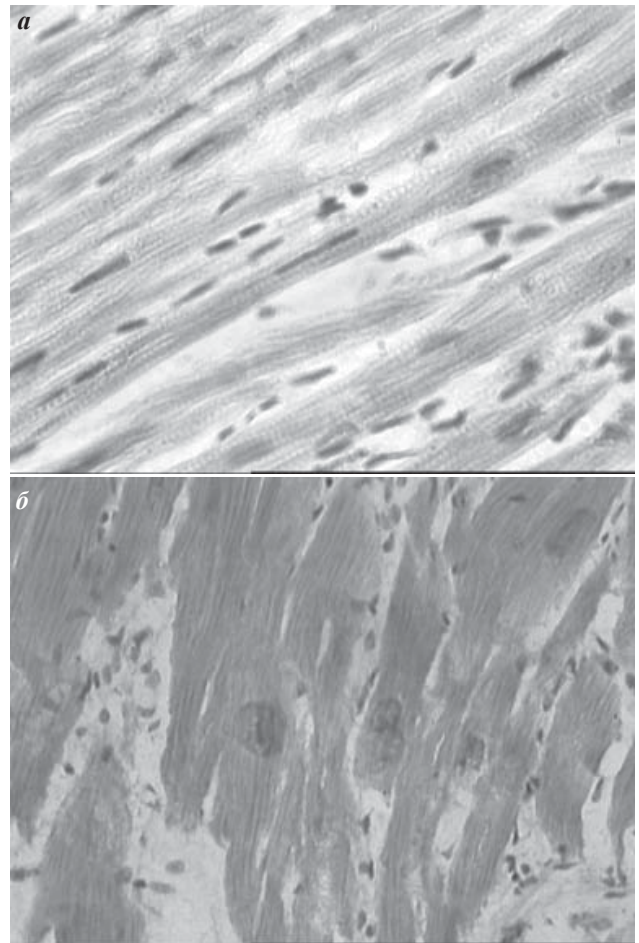


**Рис. 7. Микрофотография. Гистологический препарат миокарда. Импрегнация ядрышек солями серебра. Ядра кардиомиоцитов с «микроядрышками».**

ядрышки кольцевидной формы колебалась в различных отделах миокарда от 2% до 13%.

Количество ядрышек обычной морфологии в КМЦ колеблется от 0 до 7. Среднее число таких ядрышек варьирует от  $1,16 \pm 0,82$  в ДЖ до  $2,3 \pm 0,81$  в ЛП. Число Ag-гранул в одном ядрышке варьирует в пределах от 2 до 13. Среднее количество Ag-гранул в ядрышках обычной морфологии в расчете на ядро КМЦ составляло от  $5,88 \pm 0,36$  в миокарде ЛЖ до  $10,84 \pm 0,4$  в миокарде ЛП. Важно отметить, что среднее количество Ag-гранул в ядрах желудочковых КМЦ обследованной больной с семейной формой РКМП меньше, чем у обследованной группы практически здоровых лиц ( $8,0 \pm 0,4$ ) [8].

Таким образом, у обследованной больной максимальная выраженность изучаемых показателей (площадь ядер и ядрышек КМЦ и КСК, количество ядрышек и «микроядрышек» в ядрах КМЦ, а также количество Ag-гранул в расчете на ядро), обнаружены в миокарде предсердий (по сравнению с миокардом желудочков). Принципиальных отличий между основными характеристиками морфофункционального состояния миокарда и изучаемыми показателями структурно-функционального состояния ядер и ядрышек КМЦ и КСК предсердного и желудочкового миокарда у всех трех обследованных пациентов с идиопатической РКМП не обнаружено.



**Рис. 8. Видеотест Axiolab. Гистологические препараты миокарда. Окраска гематоксилин-эозин. а) Миокард левого желудочка. б) миокард левого предсердия. Толщина мышечных волокон и размер ядер предсердных миоцитов значительно превосходит аналогичные показатели желудочковых миоцитов.**

Во всех случаях по результатам специальных исследований гистологических препаратов миокарда были исключены гемохроматоз (показатели обмена железа в пределах нормы), амилоидоз (отрицательная реакция Конго-рот, просмотр препарата в поляризованном свете), саркоидоз и другие редкие причины нарушения диастолической функции по рестриктивному типу.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Патогенез идиопатической РКМП остаётся невыясненным. Среди исследований, посвящённых изучению механизмов, ответственных за ригидность миокарда, большое внимание уделяется анализу структурных компонентов экстрацеллюлярного матрикса, в частности, различных типов коллагена и матриксных металлопротеиназ [22]. Несомненно, жёсткость миокарда повышается в ситуации, когда накопление коллагена превышает его деградацию. T.Hayashi et al. (1998) предполагают, что механизмы патологической ригидности сердечной мышцы при идиопатической РКМП обусловлены увеличенной продукцией коллагенов I и III типов и диспропорциональным увеличением коллагена третьего типа по сравнению с первым [22].

В миокарде обследованных больных выявляются различные виды фиброза (межмышечный, периваскулярный, субэндокардиальный) и феномен дисконфлексии мышечных волокон, что совпадает с результатами аналогичных исследований других авторов [23, 24] и достаточно часто выявляется при различных первичных КМП и, в первую очередь, при гипертрофической КМП [1, 15, 25, 26].

Обнаруженные у обследованных больных увеличение количества КСК в анализируемых полях зрения в виде отдельных скоплений, изменения их клеточного фенотипа и характер распределения в миокарде являются высокоспецифичными, так как у обследованных ранее больных с вторичными и первичными КМП подобные изменения отсутствовали [15, 21, 27, 28]. Кардиальные фибробласты являются основными клетками-продуцентами белков экстрацеллюлярного матрикса, прежде всего коллагена, а также различных ростовых и трофических факторов.

В миокарде больных идиопатической РКМП с одной стороны, обнаружено большое количество ядер КСК, содержащих от 2 до 5, реже большее количество неактивных ядрышек. С другой выявлена популяция КСК, размер ядер которых сопоставим с размером некоторых миоцитарных клеток, содержащих и неактивные мелко-точечные ядрышки и высокоактивные ядрышки большого размера с Ag-гранулами, или только высокоактивные ядрышки. Механизмы, ответственные за гетерогенность метаболической активности и/или активацию ядрышкового аппарата КСК миокарда больных РКМП не известны. Доказано, что количество интерфазных Ag-ЯОР-белков строго связано с активностью транскрипции р-РНК и рибосомального биогенеза [9]. В других исследованиях показана связь между повышенной экспрессией Ag-ЯОР-белков и увеличением экспрессии ядерного антигена пролиферирующей клетки PCNA [3], а также маркера пролиферации pKi-67 [10]. С другой стороны на клетках эпителия было показано, что белки экстрацеллюляр-

ного матрикса (компоненты базальной мембраны, в частности, ламинины) влияют на распределение нуклеолина, и это также может являться ранним сигналом к клеточной пролиферации [11].

Принципиальное значение данных, полученных в настоящем исследовании заключается, с одной стороны, в обнаружении в миокарде больных идиопатической РКМП фенотипически изменённых ядер КСК большого размера с признаками активации ядрышек и ядер КСК обычного размера, содержащих 3 и более неактивных ядрышек. С другой стороны, отмечается наличие морморфных ядер КМЦ, площадь которых сопоставима с аналогичным показателем фенотипически изменённых ядер КСК и признаков нарушения белоксинтезирующего аппарата (ядрышки кольцевидной формы и атипичное распределение аргентофильного материала в ядре в виде «точек» неправильной формы или наличие «микроядрышек»).

Значительная гетерогенность метаболической активности ядрышек КСК, по-видимому, отражает модуляцию их пролиферативной функции и матриксного эффекта, которые в конечном итоге отвечают за выраженность фиброза, а также отражают непрерывность этого процесса в миокарде обследованных больных идиопатической РКМП [12]. Ранее, с помощью импрегнации ядрышек солями серебра, нами было выявлено увеличение активности ядрышек КСК в плане синтеза и созревания р-РНК и многообразии фиброза в миокарде некоторых больных обструктивной гипертрофической КМП. У этих больных преобладали ядра фибробластоподобных клеток, содержавшие активные ядрышки, различающиеся по количеству Ag-гранул серебра. При этом в миокарде участки грубоволокнистой соединительной ткани чередовались с участками нежноволоконистой соединительной ткани с тонкими коллагеновыми волоконцами, соотношение между этими разновидностями фиброза варьировало от случая к случаю в пределах одного миокарда.

В миокарде больных РКМП обнаружен выраженный фиброз, представленный в основном грубоволокнистой соединительной тканью. Однако некоторое сходство изменений метаболической активности ядерно-ядрышкового аппарата КСК при различных первичных КМП может являться косвенным свидетельством вторичности изменений стромального компонента по отношению к первично изменённым КМЦ.

Наличие в миокарде обследованных больных гомогенно-глыбчатой оксифильной субстанции является важной принципиальной особенностью. С одной стороны, наличие этих масс, возможно, является следствием первичного дефекта белково-синтетической функции миокарда, а с другой - нельзя исключить влияние оксифильной субстанции на изменение физико-химических свойств экстрацеллюлярного матрикса, в первую очередь, коллагена, а также на структурно-функциональное состояние ядер и ядрышек, на уровень экспрессии аргентофильных белков областей ядрышковых организаторов как в КМЦ, так и в КСК. В подтверждении этому можно отметить, что нуклеолин может действовать как рецептор наружной клеточной мембраны, который обеспечивает механизм внеклеточной регуляции событий,

происходящих в ядре [32], а экстрацеллюлярный матрикс, в свою очередь, влияет на ядрышковый метаболизм [33, 34]. Многофункциональный белок ядрышка нуклеолин является лигандом адгезивной молекулы L-селектина и ему отводится особая роль в механизме межклеточных взаимодействий [35].

Небольшое количество кольцевидных ядрышек по нашим данным встречалось у больных с обструктивной гипертрофической КМП [15, 36]. По мнению Л.М.Непомнящих и др. (2000), кольцевидные ядрышки представляют неспецифический вид патологии ядрышек, который возникает при подавлении синтеза белков на уровне транскрипции, в том числе в результате воздействия антрациклиновых антибиотиков, а также нарушении процессов трансляции, остром дефиците АТФ и т.д. [37]. Феномен «микроядрышек» с диффузным распределением в ядре, а также в виде стержнеподобных извилистых структур выявлялся в различных отделах анализируемого миокарда и генез его при РКМП требует уточнения. Ядрышки такой морфологии отсутствовали у обследованных нами ранее здоровых лиц пациентов с артериальными гипертензиями различного генеза [21] и ишемической болезнью сердца [27], обструктивной гипертрофической КМП [15] и идиопатической дилатационной КМП [28].

Сходные изменения ядрышек КМЦ описаны В. Leblanc et al. (1991) в миокарде экспериментальных животных при воздействии токсических доз доксарубина [38]. Авторы предполагают, что в основе этого феномена лежит дефект ядрышкового объединения, который приводит к нарушению синтеза белка. Аналогичное распределение аргентофильного материала в виде «точек» описаны в условиях клеточных культур после воздействия на них генотоксических факторов и ингибиторов белкового синтеза.

Различия структурной перестройки миокарда, а также структурно-функциональное состояние ядер и ядрышек желудочковых и предсердных миоцитов могут отражать особенности влияния гемодинамических факторов. Миокард предсердий, которому свойственна по-

вышенная растяжимость, испытывает постепенно прогрессирующую нагрузку давлением и в систолу, и в диастолу. В то же время миокард желудочков испытывает перегрузку давлением только в диастолу и в основном в фазу декомпенсации. Поэтому можно предположить, что увеличение площади ядер, активация рибосомального биогенеза (увеличение числа ядрышек и количества Агранул) в предсердных КМЦ по сравнению с желудочковыми являются вторичными в ответ на прогрессирующую перегрузку давлением. Влиянием гемодинамических факторов можно объяснить несколько больший размер ядер КМП из ПЖ по сравнению с ЛЖ. Необходимо подчеркнуть, что структурные изменения ядрышек в ответ на гемодинамическую перегрузку происходят в условиях нарушения белково-синтетической функции в КМЦ и модуляции этой функции в КСК.

Какая роль, помимо возможного цитопатического эффекта, отводится присутствию ДНК вирусов в миокарде ПП без дополнительных исследований сказать сложно. Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее данными, свидетельствующими о локальном присутствии вирусных нуклеиновых кислот в миокарде [40]. Известно об относительно большой частоте выявления (28%) аденовирусной ДНК у больных с эндокардиальным фиброэластозом, однако у обследованной больной макро- и микроскопические признаки в пользу первичного и вторичного эндокардиального фиброэластоза отсутствовали [10].

Таким образом, результаты настоящего исследования и сведения литературы свидетельствуют о важной патогенетической роли структурной перестройки ядрышек и экспрессии многофункциональных аргентофильных ядрышковых фосфопротеинов мышечных и клеток стромального компонента в обеспечении специфического клеточного фенотипа миокарда при идиопатической рестриктивной кардиомиопатии и, по-видимому, отражают нарушение белково-синтетической функции в кардиомиоцитах и модуляцию этой функции в клетках стромального компонента миокарда.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Fatkin D., Graham R.M. Molecular mechanisms of inherited cardiomyopathies // *Physiol. Rev.* 2002; 82: 945-80.
2. Goldfarb L., Park K., Cervenakova L et al. Missense mutation in desmin associated with familial cardiac and skeletal myopathy // *Nauret Genetics.* - 1998.- Vol.19.-P. 402-403.
3. Tesson F., Sylvius N., Pilotto A. et al. Epidemiology of desmin and cardiac gene mutations in a European population of dilated cardiomyopathy // *Europ. Heart J.* 2000; 21: 1872-1876.
4. Mogensen J., Kubo T., Duque M., Uribe W. et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutation // *Clin. Invest.* 2003; 111: 209-216.
5. Report of the 1995 WHO/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies // *Circulation* 1996; 93: 841-842.
6. Arbustini T. Restriktive amyloid heart: the amyloidogenic proteins drive specific therapeutic choices. [http://www.escardo.org/society/ejournal/vol1\\_№2\\_Arbustini.htm](http://www.escardo.org/society/ejournal/vol1_№2_Arbustini.htm)
7. Matsumori A., Hara M., Nagai S. et al. Hypertrophic cardiomyopathy as a manifestation of cardiac sarcoidosis // *Jpn. Circ. J.* 2000; 64:679-683.
8. Pereira A., Cuoco M., Mota G. et al. Hemochromatosis gene variants in patients with cardiomyopathy // *Am. J. Cardiol.* 2001; 88:388-391.
9. Bishop G., Bergin J., Kramer C. Hypereosinophilic syndrome and restrictive cardiomyopathy due to apical thrombi // *Circulation* 2001; 104:e3-e4.
10. Ni J., Bowles N., Kim Y. et al. Viral infection of the myocardium in endocardial fibroelastosis // *Circulation* 1997; 95: 133-139.
11. Simula D., Edwards W., Tazelaar H. et al. Surgical pathology of carcinoid heart disease: a study of 139 valves from 75 patients spanning 20 years // *Mayo Clin. Proc.* 2002; 77: 139-147.
12. Pollard M.K., Lee D.K., Casiano C.A. et al. The autoimmunity-inducing xenobiotic mercury interacts with the autoantigen fibrillar and modifies its molecular and antigenic properties // *J. Immunol.* 1997; 158: 3521-3528.



13. Weber K., Brilla C. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and rennin-angiotensin-aldosterone system // *Circulation* 1991; 83:1849-1865.
14. Guarda E., Myers P., Brilla C. et al. Endothelial cell induced modulation of cardiac fibroblast collagen // *Cardiovasc. Res.* 1993; 6:1004-8.
15. Gudkova A. Ya., Shlyakhto E. V., Mamaev N.N. et al. Argrophilic proteins expression in nucleolar organizer region of cardiomyocytes and fibroblast-like cells in patients with obstructive hypertrophic cardiomyopathy // *Basic research in cardiology* 2003; 3: 200.
16. Crocker J. Nucleolar organizer regions // *Curr. Top. Pathol.* 1990; 82: 91-149.
17. Trendelenburg M. F., Zatssepina O. V., Waschek T. et al. Multiparameter microscopic analysis of nucleolar structure and ribosomal gene transcription // *Histochem. Cell Biol.* 1996; 106: 167-192.
18. Borer K., Lehner C., Eppenberger H. Major nucleolar proteins shuttle between nucleus and cytoplasm // *Cell.* 1989; 56: 379-390.
19. Howell W.M., Black D.A. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a one-step method // *Experientia* 1980; 36: 1014-15.
20. Мамаев Н.Н., Гудкова А.Я., Аминова Х.К., Алмазов В.А. Метод оценки белок-синтезирующей функции кардиомиоцитов человека // *Арх. анат. гистол. и эмбриол.* 1989; 5 : 69-72.
21. Гудкова А.Я. Аминова Х.К., Мамаев Н.Н. Активность ядрышковых организаторов в кардиомиоцитах больных с артериальной гипертензией различного генеза // *Арх. патол.* 1989; 51 (7): 55-58.
22. Hayashi T., Shimomura H., Terasaki F. et al. Collagen subtypes and matrix metalloproteinase in idiopathic restrictive cardiomyopathy // *Int. J. Card.* 1998; 64:109-116.
23. Suzuki T., Ohtaki E., Murai T. et al. Idiopathic restrictive cardiomyopathy with diffuse perimyocytic fibrosis // *Jpn. Circ. J.* 1997; 61: 272-274.
24. Angelini A., Calzolari V., Thiene G. et al. Morphologic spectrum of primary restrictive cardiomyopathy // *Am. J. Cardiol.* 1997; 80: 1046-1050.
25. Iida K., Yutani C., Imakita M., Ishibashi-Ueda H. Comparison of percentage area of myocardial fibrosis and disarray in patients with classical form and dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy // *Cardiol.* 1998; 32(3): 173-180.
26. Капелько В.И. Внеклеточный матрикс миокарда и его изменения при заболеваниях сердца // *Кардиология* 2000; 9: 78-90.
27. Mamaev N.N., Gudkova A. Ya., Amineva Kh.K. AgNORs in the myocardium in ischaemic heart disease complicated by heart failure: a postmortem study // *J. Clin. Pathol: Mol. Pathol.* 1998; 51: 102-104.
28. Гудкова А.Я., Семёнов А.В., Беляева Т.В. и др. Результаты определения вирусных нуклеиновых кислот и ядерно-ядрышковый аппарат кардиомиоцитов в миокарде больных идиопатической дилатационной кардиомиопатией // *Материалы конгресса кардиологов стран СНГ. С-Пб.* 2003 г.
29. Roussel P., Hernandez-Verdun D. Identification of AgNOR proteins, markers of proliferation related to ribosomal gene activity // *Exp. Cell Res.* 1994; 214: 465-72.
30. Tham K., Page D. AgNOR and Ki-67 in breast lesions // *Am. J. Clin. Pathol.* 1989; 92(4): 518-520.
31. Schwartz Y., Petryshyn R. Effect of laminin on the nuclear localization of nucleolin in rat intestinal epithelial IEC-6 cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 247(1): 186-92.
32. Tuteja R., Tuteja N. Nucleolin: a multifunctional major nucleolar phosphoprotein // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1998; 33(6): 407-36.
33. Lefevre F., Garnotel R., Georges N., Gillery P. Overexpression of the nucleolar protein nucleophosmin/B23 in collagen lattice-cultured fibroblasts: potential role in control of protein synthesis // *Molecular and Cellular Biochemistry* 2002; 229: 45-50.
34. Gillery P., Georges N., Randoux A. et al. Modulation of protein synthesis by extracellular matrix: potential involvement of two nucleolar proteins, nucleolin and fibrillarin // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1996; 228:94-99.
35. Harms G., Kraft R., Volz B. et al. Identification of nucleolin as a new L-selectin ligand // *Biochem. J.* 2001; 360: 531-538.
36. Алмазов В.А., Гудкова А.Я., Шляхто Е.В. и др. Анализ структурно-функционального состояния ядрышек кардиомиоцитов, фибробластоподобных клеток и эндотелиоцитов большой семейной обструктивной гипертрофической кардиомиопатией // *Тер. Архив.* 2002; 74 (11): 56-59.
37. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. Ультраструктура ядерного компартмента кардиомиоцитов при регенераторно-пластической недостаточности миокарда // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2000; 12: 681-687.
38. Leblanc B., Mompon P., Esperandieu O. et al. Nucleolar organizer regions in cardiac lesions induced by doxorubicin // *Toxicol. Pathol.* 1991; 19(2): 176-83.
39. E.V.Shlyakhto, L.A.Bokerya, A.Gudkova et al. Identification of viral nuclear acids in myocardium and blood serum from patients with cardiomyopathies of different origin // *Heart Failure / ISHR Meeting* 2003

#### СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИОКАРДА БОЛЬНЫХ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ РЕСТРИКТИВНОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

*А.Я.Гудкова, Е.Н.Семернин, Е.И.Баранова, Н.П.Маслова, О.В.Воронова, С.Е.Созин, А.А.Костарева, А.Н.Крутиков, С.А.Прошин, П.А.Чеканов, Ю.А.Тихонова, Х.К.Аминова, М.Г.Рыбакова, Т.Sejersen, Е.В.Шляхто*

С целью изучения структурно-функционального состояния миокарда, ядер и ядрышек кардиомиоцитов (КМЦ) и клеток стромального компонента (КСК) больных идиопатической рестриктивной кардиомиопатией (РКМП) обследовано 3 пациента. Материалом для микроскопического исследования послужили образцы экспресс-аутопсий предсердного и желудочкового миокарда. Развернутое клинико-инструментальное обследование выполнено у больной С., 29 лет, с семейной формой РКМП. Период наблюдения составил около 12 лет. Проводились эхокардиографическое исследование (выполнялось по стандартному протоколу, включая М-модальный, двумерный и доплеровский режимы), рентгенография грудной клетки, ЭКГ, холтеровское мониторирование. У двух других пациентов с клиникой

тяжелой застойной сердечной недостаточностью в течении 3 последних лет жизни диагноз идиопатическая РКМП был поставлен только при секционном исследовании.

Идентификацию вирусной ДНК/РНК в миокарде больной С., осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции. Определяли основные кардиотропные вирусы (энтеровирусы и аденовирусы), а также вирусы гепатита С, В и D, простого герпеса человека, Эпштейна-Барр и цитомегаловирусы. Секвенирование геномной ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови выполнено с целью исключения мутации гена десмина. Во всех случаях выполнено исследование гистологических препаратов миокарда с помощью гематоксилин-эозина, по Ван-Гизон и импрегнация ядрышек солями серебра. Оценка экспрессии аргентофильных белков ядрышкообразующих районов проводилась методом импрегнации ядрышек солями серебра. Последующий анализ материала проводили с помощью светового микроскопа, используя объектив 100х, окуляр 10х. В каждом случае анализировали 200 ядер КМЦ и такое же количество ядер КСК. Рассчитывали среднее число Ag-гранул и среднее количество ядрышек в расчете на ядро КМЦ и КСК с помощью метода микроморфометрии на системе Axiolat Videotest. Морфометрическое исследование также включало определение площади ядер КМЦ и КСК, а также площади и количества ядрышек в расчете на ядро КМЦ и КСК. Осуществляли подсчет числа Ag-гранул серебра в ядрышках и количество «точек» атипично расположенного аргентофильного материала или «микроядрышек» в ядре КМЦ.

У больной С. максимальная выраженность изучаемых показателей (площадь ядер и ядрышек КМЦ и КСК, количество ядрышек и «микроядрышек» в ядрах КМЦ, а также количество Ag-гранул в расчете на ядро), обнаружены в миокарде предсердий. Принципиальных отличий между основными характеристиками морфофункционального состояния миокарда и изучаемыми показателями структурно-функционального состояния ядер и ядрышек КМЦ и КСК предсердного и желудочкового миокарда у всех трех обследованных пациентов с идиопатической РКМП не обнаружено. Результаты настоящего исследования и сведения литературы свидетельствуют о важной патогенетической роли структурной перестройки ядрышек и экспрессии многофункциональных аргентофильных ядрышковых фосфопротеинов КМЦ и КСК в обеспечении специфического клеточного фенотипа миокарда при идиопатической РКМП и, по-видимому, отражают нарушение белково-синтетической функции в КМЦ и модуляцию этой функции в КСК миокарда.

#### STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE MYOCARDIUM IN PATIENTS WITH IDIOPATHIC RESTRICTIVE CARDIOMYOPATHY

*A. Ya. Gudkova, E.N. Semernin, E.I. Baranova, N.P. Maslova, O.V. Voronova, S.E. Sozin, A.A. Kostareva, A.N. Krutikov, S.A. Proshin, P.A. Chekanov, Yu.A. Tikhonova, Kh.K. Amineva, M.G. Rybakova, T. Sejersen, E.V. Shlyakhto*

To study the structural and functional state of myocardium, nuclei and nucleoli of cardiomyocytes, and stromal cells in the patients with idiopathic restrictive cardiomyopathy, three patients were examined. The samples of express-autopsy of atrial and ventricular myocardium were used as a material for microscopy. The comprehensive clinical and instrumental examination was performed in the patient S. (female 29-years-old patient). The follow-up period was about 12 years. The echocardiography (according to a commonly used technique including M-mode, bi-dimensional, and Doppler regimes), chest X-ray, electrocardiography, and Holter monitoring were performed. In two other patients with a severe congestive heart failure within last three years, the restrictive cardiomyopathy was revealed only during postmortem examination.

The identification of viral RNA/DNA in the myocardium of the patient S. was carried out by the method of polymerase chain reaction. The principal cardiotropic viruses (enteroviruses and adenoviruses), as well as the viruses of hepatitis C, B, and D, the herpes simplex human virus, Epstein-Barr virus, and cytomegalovirus were estimated. The sequencing of the genome DNA isolated for peripheral lymphocytes was performed to exclude the mutation of the desmine gene. In all cases, the histological study of myocardial samples was made with the aid of staining with hematoxylin-eosin, according to van Gieson, and of the nucleoli impregnation with silver salts. The assessment of the expression of argentophilic proteins in nucleoli-forming areas was performed with the technique of impregnation of nucleoli with silver salts. The subsequent analysis of the material was made with the aid of light microscope (objective Ч100, ocular Ч10). For each case, 200 nuclei of cardiomyocytes and the same number of stromal cell nuclei were analyzed. The mean numbers of silver-stained granules and nucleoli per one nucleus of cardiomyocytes and stromal cells was calculated by microphotometric technique using the system Axiolat Videotest. The morphometric study included also determination of the area of cardiomyocyte and stromal cell nuclei, as well as the number and area of nucleoli per one nucleus of cardiomyocytes and stromal cells. The number of silver-stained granules in nucleoli and the number of "points" of atypically located argentophilic material ("micronucleoli") in the cardiomyocyte nucleus was also calculated.

In patient S. the maximal values of studied indices (area of nuclei and nucleoli in cardiomyocytes and stroma cells, the number of nucleoli and "micronucleoli" in the cardiomyocyte nuclei, as well as the number of Ag-granules per one nucleus) were found in atrial myocardium as compared with ventricular one. No principal difference between chief morphofunctional characteristics of myocardial state and the studied indices of structural and functional states of nuclei and nucleoli in cardiomyocytes and stromal cells in atrial and ventricular myocardium was found in all three patients with idiopathic restrictive cardiomyopathy. The data of the present study and the literature data give evidence that the nucleoli structural reorganization and the expression of polyfunctional argentophilic nucleolar phosphoproteins in cardiomyocytes and stromal cells plays an important role in providing with the specific cell phenotype of myocardium in idiopathic cardiomyopathy and are likely to reflect an altered protein-synthetic function in cardiomyocytes and a modulation of this function in myocardial stromal cells.