

Д. Г. ПЕТРОСЯН и В. О. МИРАКЯН

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДНК В ЯДРАХ МИОКАРДИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ НЕКОТОРЫХ ПОРОКАХ

(цитофотометрический анализ)

Наряду с общепринятой концепцией о строгой репрессии синтеза ДНК в ядрах желудочковых миоцитов сердца крыс при ее различных реактивных состояниях [6, 7, 8, 12, 14, 21, 23, 24], в литературе имеются сообщения, указывающие на выраженную полиплоидизацию ядерной популяции гипертрофированной желудочковой мышцы сердца человека [17].

Возникает вопрос, не имеются ли какие-либо видовые различия в поведении генетического аппарата миокардиальных клеток человека и крыс в процессе компенсаторной гиперфункции? Существенное влияние на механизм развития гипертрофии сердца может оказывать также и различие этиопатогенетических условий.

Учитывая вышесказанное, мы изучили содержание ДНК в ядрах миокардиальных клеток человека в норме и при некоторых пороках сердца.

Особый интерес представлял сравнительный анализ поведения генетического аппарата миокардиальных клеток при приобретенных пороках, при которых компенсаторная гиперфункция обеспечивается высоколифференцированными клетками, и при врожденных пороках сердца, когда гемодинамические нарушения, обуславливающие гиперфункцию, возникают и прогрессируют в малодифференцированном эмбриональном миокарде, ядра которого активно синтезируют ДНК и делятся митозом [4, 10, 12, 20].

Содержание ДНК при норме анализировалось в ядрах мышечных клеток левого и правого желудочков, межжелудочковой перегородки и ушка левого предсердия людей в возрасте 20—45 лет, погибших в результате автомобильной катастрофы. Для анализа содержания ДНК в ядрах мышечных клеток гипертрофированного миокарда предсердия использовались биопсии, полученные при митральной комиссуротомии в кардиохирургическом отделе Института кардиологии МЗ АрмССР. Материалом для анализа плоидности мышечных ядер гипертрофированной желудочковой мускулатуры служили аутопсии миокарда, взятые у умерших с диагнозом митрально-аортального стеноза, дефекта межжелудочковой перегородки и тетрады Фалло.

Исследования проводились на зондовом цитоспектрофотометре [9] на базе прибора МУФ-6. двухволновым методом при длине волн 505 и 546 мкм. Фотометрии подвергались окрашенные по Фельгену ядра мышечных волокон, которые попадали целиком в продольные срезы толщиной 8—14 мк.

При объединении данных нескольких случаев в единую гистограмму, а также для констатации достоверности наблюдаемых сдвигов плоидности ядер использовался критерий χ^2 для 95% доверительного уровня. Нулевая гипотеза принималась при $\chi^2 < \chi^2_{0.5}$ и отвергалась при $\chi^2 > \chi^2_{0.1}$.

О достоверности сдвигов между различными анализируемыми популяциями клеток судили также путем сравнения относительного количества ДНК на ядро, выраженного в условных единицах, с помощью стандартных значений критериев Стьюдента для 95% доверительного уровня.

Выявлено, что нормальный миокард левого желудочка сердца людей представлен ядрами, содержащими диплоидное, тетраплоидное и октоплоидное количество ДНК (рис. 1). Количество диплоидных ядер составляло 21% популяции, а гипердиплоидных и тетраплоидных—53%, 26% ядер характеризовались гипертетраплоидным и октоплоидным количеством ДНК. Относительное количество ДНК на ядро равнялось $4,26 \pm 0,08$, а в мышце правого желудочка было снижено за счет уменьшения доли гипертетраплоидного и октоплоидного класса ядер (табл. 1, рис. 1б).

Таблица 1

Относительное количество ДНК на ядро ($M \pm m$) в ядрах мышечных волокон сердца людей в норме и при пороках сердца

Вид порока		Ушко левого предсердия	Левый желудочек	Правый желудочек	Межжелу- дочковая перегородка	Достовер- ность разли- чий Р/норма -порок
Н о р м а		$2,85 \pm 0,19$	$4,26 \pm 0,08$	$3,5 \pm 0,06$	$3,07 \pm 0,06$	
Митральный стеноз	Давность заболевания	до 1 года	$5,91 \pm 0,17$	—	—	$P < 0,001$
		1—2 года	$5,61 \pm 0,11$	—	—	$P < 0,001$
		3—6 лет	$5,27 \pm 0,12$	—	—	$P < 0,001$
		7—9 лет	$8,50 \pm 0,20$	—	—	$P < 0,001$
		более 10 лет	$7,62 \pm 0,16$	—	—	$P < 0,001$
Комбинированный митрально-аорталь- ный стеноз		—	$3,63 \pm 0,11$	—	—	$P < 0,01$
Дефект межжелудоч- ковой перегородки		—	$2,46 \pm 0,04$	—	—	$P < 0,001$
Тетрада Фалло		—	$2,68 \pm 0,07$	—	—	$P < 0,001$

В мускулатуре межжелудочковой перегородки октоплоидный класс ядер, как таковой, не выявлялся. Лишь 5% ядер содержали ДНК, соответствующую гипертетраплоидному уровню. Относительное количество ДНК на ядро составляло $3,07 \pm 0,06$, достоверно отличаясь от такового желудочковой мышцы ($P < 0,001$). Аналогичным распределением ядер по классам плоидности характеризовалась ядерная популяция аурикулярной мышцы (табл. 1 и рис. 1).

Невозможность прижизненного проведения автордиографических исследований у человека несколько затрудняет интерпретацию полученных данных в том плане, в каком это было сделано при анализе цитометрических данных, полученных на миокарде крыс и мышей [4, 7, 8]. Однако отсутствие митотических фигур в миокарде взрослых людей позволяет допустить, что ядра с тетра- и октоплоидным количеством ДНК в указанных отделах сердца являются полиплоидными, вре-

менно или окончательно покинувшими цикл авторепродукции в периоде G_2 или же в стадии S.

При митральном стенозе компенсаторная гиперфункция мускулатуры ушка левого предсердия сопровождалась достоверным сдвигом гистограмм в сторону возрастания числа ядер с большими значениями пloidности (рис. 2). При этом отмечалась зависимость между давностью заболевания и степенью полиплоидизации ядер.

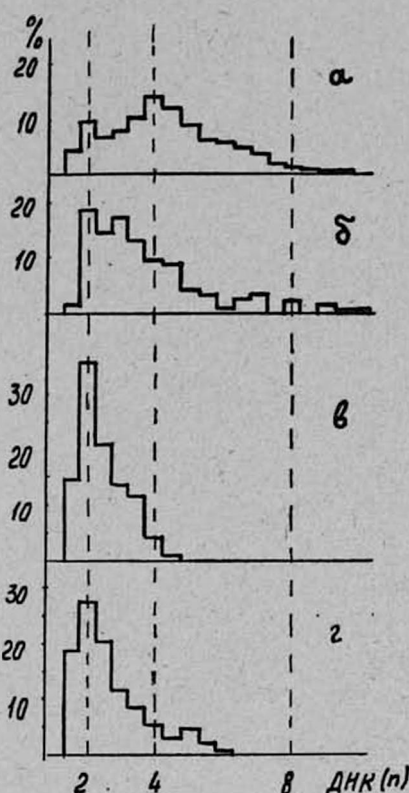


Рис. 1. Распределение мышечных ядер различных отделов сердца человека по классам пloidности в норме:

- а) левый желудочек 377 ядер—4 случая;
- б) правый желудочек 527 ядер—5;
- в) межжелудочковая перегородка 401 ядро—4;
- г) левое ушко 355 ядер—4.

Примечание: Здесь и на рис. 2, 3 по оси абсцисс—единицы пloidности (n), по оси ординат—число ядер (в % к общему числу профотометрированных ядер).

Так, у больных, страдающих сужением атриовентрикулярного отверстия до года (рис. 2б), в ядерной популяции аурикулярной мышцы до 53% ядер содержали ДНК, соответствующую гипертетрапloidному, октопloidному и гипероктопloidному уровню. Доля дипloidных ядер популяции снижалась с 59% (норма) до 5% ($X^2=30,0$). Аналогичные

различия сравнительно с нормой выявлены у больных, страдающих митральным стенозом на протяжении 1—2 лет (рис. 2в).

На стадии заболевания 3—6 лет (рис. 2г) сравнительно с предыдущими сроками исследования отмечался некоторый сдвиг гистограмм влево.

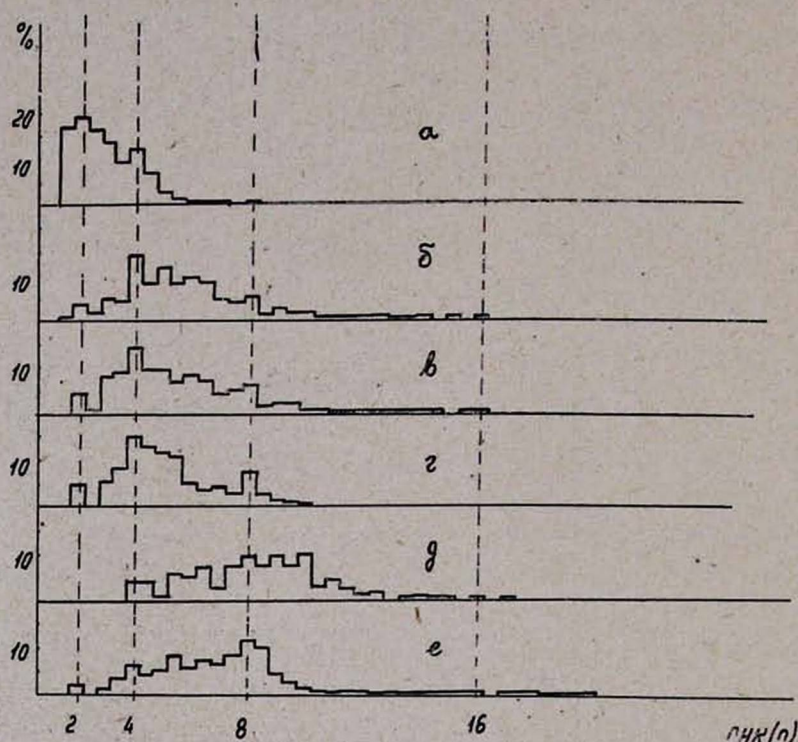


Рис. 2. Распределение ядер мышечных волокон аурикулярной мышцы сердца человека по классам плоидности при митральном стенозе:

а) норма	355 ядер—4 случая;
б) срок заболевания	
до 1 года	214 ядер—4;
в) 1—2 года	414 ядер—8;
г) 3—6 лет	212 ядер—4;
д) 7—9 лет	256 ядер—4;
е) 10 лет	364 ядра—7.

В миокарде ушек предсердий при давности заболевания 7—9 лет отмечалось почти полное выпадение диплоидного класса и резкое снижение числа тетраплоидных ядер (рис. 2, табл. 1).

Одновременно число ядер с октоплоидным количеством ДНК возрастало до 70—75%, а гипердиплоидных и 16п ядер увеличивалось до 15% популяции.

При давности заболевания 10 и более лет сравнительно с предыдущей стадией в ядерной популяции аурикулярных мышц происходило некоторое перераспределение классов плоидности. Доля 16п ядер в по-

пуляции уменьшалась за счет появления диплоидного и возрастания тетраплоидного класса (рис. 2е).

Полученные данные показывают, что в аурикулярной мышце сердца

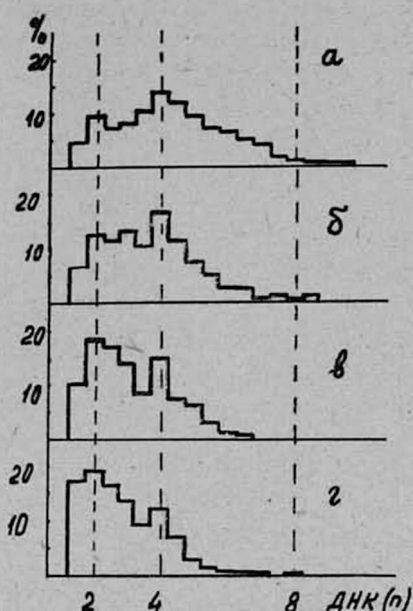


Рис. 3. Распределение ядер мышечных волокон левого желудочка сердца человека по классам плоидности при пороках:

- | | |
|---------------------------------------|-------------|
| а) норма | 377 ядер—4; |
| б) митрально-аортальный стеноз | 314 ядер—4; |
| в) дефект межжелудочковой перегородки | 320 ядер—3; |
| г) тетрада Фалло | 295 ядер—4. |

человека, как и у крыс [8, 25, 26], при компенсаторной гиперфункции происходит выраженная полиплоидизация ядер мышечных клеток.

В противоположность аурикулярной мышце, в гипертрофированной желудочковой мускулатуре сердца человека нам не удалось выявить прогрессирующей полиплоидизации мышечных ядер. Так, у больных с комбинированным митрально-аортальным стенозом, по сравнению с нормой, возрастание числа ядер с полиплоидным количеством ДНК не обнаружено. Наоборот, χ^2 выявил достоверное снижение доли гиперплоидных, тетраплоидных ядер и почти полное отсутствие октоплоидных (рис. 3б, табл. 1). Достоверное уменьшение числа ядер с гипердиплоидным количеством ДНК в ядерной популяции желудочковой мускулатуры отмечалось также в миокарде детей 10—11-летнего возраста, у которых был установлен посмертный диагноз—дефект межжелудочковой перегородки (рис. 3е). Аналогичное наблюдалось в желудочковом миокарде детей при тетраде Фалло (рис. 3г).

Такое снижение может быть обусловлено либо избирательной гибелью полиплоидных ядер, либо их делением. Первое предположение менее вероятно, так как в литературе имеются сообщения о большей жизнеспособности полиплоидных ядер сравнительно с диплоидными [1, 2, 5]. Предположение о возможном делении ядер связано с некоторой трудностью, так как на исследуемых препаратах нам не удалось выявить митотических фигур. Однако можно допустить, что как при врожденных, так и при приобретенных пороках сердца митотическое деление ядер осуществлялось на более ранних стадиях заболевания. В частности, объясняя причину снижения числа полиплоидных ядер при врожденных пороках сердца, можно предположить, что компенсаторная гиперфункция, сопровождающая кардиогенез, в отличие от нормального кардиогенеза, могла привести к систематическому выходу ядер из цикла репродукции в периоде G_1 .

Гораздо труднее интерпретировать данные, полученные при приобретенных пороках сердца. Однако наряду с предположением о предстоящем митотическом делении нельзя исключить также и амитотическое деление или же продольное и поперечное расщепление ядер, отмеченное Линдбахом [18, 19]. На возможное деление мышечных клеток в процессе развития гипертрофии левого желудочка сердца указывают также ряд других авторов [13, 15--17, 22].

Если деление полиплоидных ядер в процессе компенсаторной гиперфункции сердца действительно имеет место, то оно должно существенно облегчить возросший синтез специфических белков, так как показано, что 2 диплоидных ядра в функциональном отношении более полноценны, чем одно тетраплоидное ядро [3, 5].

В целом проведенный цитофотометрический анализ не выявил каких-либо видовых различий в поведении генетического аппарата миокардиальных клеток сердца человека сравнительно с миокардом крыс. На аутосинтетическую активность миокардиальных клеток не оказывают влияния также различные этиопатогенетические условия.

Ин-т кардиологии МЗ Арм. ССР

Поступило 2/XI 1972 г.

Г. 7. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Վ. Օ. ՄԻՐԱԿՅԱՆ

ՄԱՐԴՈՒ ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԿՈՐԻՋՆԵՐՈՒՄ ԴՆԹ-ի ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՆՈՐՄԱՅՈՒՄ ԵՎ ՈՐՈՇ ԱՐԱՆՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ (ՑԻՏՈՖՈՏՈՄԵՏՐԻԿ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆ)

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մարդու սրտի մկանային կորիզների պոպուլյացիան ներկայացված է կորիզներով, որոնք պարունակում են դիպլոիդ, տետրապլոիդ և օկտոպլոիդ ԴՆԹ-ի քանակություն: Չախ փորոքի մկանում հայտնաբերված են առավելագույն քանակությամբ պոլիպլոիդ կորիզներ: Նախափորոքային մկանում միտրալ բացվածքի նեղացման դեպքում տեղի է ունենում կորիզների արտահայտված պոլիպլոիդիզացիա: Կոմբինացված միտրալ-աորտալ բացվածքի նեղացումի, միջփորոքային միջնապատի դեֆեկտի և տետրադա Ֆալլոի դեպքերում փորոքային մկանների կորիզների պոպուլյացիայում պոլիպլոիդ կորիզների թիվը նվազում է:

D. G. PETROSIAN, V. O. MIRAKIAN

STUDY OF DNA CONTENTS IN NUCLEI OF MYOCARDIUM IN WEALTHY PEOPLE IN PATIENTS WITH SOME HEART LESIONS (CYTOPHOTOMETRIC ANALYSIS)

Summary

The observation denotes that in combined aorto-mitral stenosis, in ventricular septal defect and Fallot's tetrad the contents of polyploid nuclei is lowered in the population of ventricular muscle.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бродский В. Я. Журн. общ. биол., 1964, 25, 1. 2. Бродский В. Я. Успехи соврем. биол., 1964, 58, 3 (6).
3. Бродский В. Я. Трофика клетки. М., 1966.
4. Ерохина И. Л. Автореф. канд. дисс., 1971.
5. Куц А. А. Автореф. канд. дисс., 1966.
6. Миракян В. О. Биол. журн. Армении, 1967, 12.
7. Миракян В. О. и Румянцев П. П. Цитология, 1968, 10.
8. Миракян В. О. Автореф. канд. дисс., 1969.
9. Розанов Ю. М. и Селиванова Г. В. Цитология, 1968, 10.
10. Румянцев П. П. Folia Histochem, Cytochem, 1963, 1.
11. Румянцев П. П. и Соколовская И. П. В сб.: «Исследов. клеточных циклов и метаболизма нуклеиновых кислот при дифференциации клеток», М.—Л., 1964.
12. Румянцев П. П., Алехина Г. А., Меерсон Ф. З. Цитология, 1967, 9.
13. Саркисов Д. С. Гипертрофия миокарда и ее обратимость. Л., 1966.
14. Чернух А. М., Александров П. Н., Алехина Г. М., Пиенникова М. Г., Меерсон Ф. З. Докл. АН СССР, 1968, 178.
15. Foster, 1856. Цитировано по Саркисову Д. С. и соавтор. 1966.
16. Henschel. Virch. Arch. 1952, 321.
17. Kompman et al. Arch. pathol. 1966, 82.
18. Linzbach. Z. Kreislaufforsch, 1952, 41.
19. Linzbach. In Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Berlin, 1955.
20. Mac Manon. Amer. J. diseases childr, 1938, 55.
21. Morkin a Ashford. J. cell biol., 1967, 35.
22. Orth. 1887. Цитировано по Саркисову Д. С. и соавт. 1966.
23. Rummyantsev P. P. Trans II Intern. Congr. histo-and-cytochemistry (Frankfurt Main) 16—21 Aug. 1964.
24. Rummyantsev P. P. Folia histochem. et cytochem, 1966, 4.
25. Rummyantsev P. P. and Miraklan V. O. Experientia, 1968, 24.
26. Rummyantsev P. P. Experientia. 1970, 26.