

## ЭНДОМИОКАРДИАЛЬНАЯ БИОПСИЯ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ МИОКАРДИТА И КАРДИОМИОПАТИИ

Адаменко Е.И.<sup>1</sup>, Бейманов А.Э.<sup>2</sup>, Пашковский Д.С.<sup>2</sup>, Сергеев Г.А.<sup>2</sup>, Пискун Б.Б.<sup>2</sup>, Зацепин А.О.<sup>3</sup>, Пучков А.Ф.<sup>4</sup>, Бохан И.В.<sup>4</sup>, Юдина О.А.<sup>4</sup>, Амвросьева Т.В.<sup>5</sup>,  
Поклонская Н.В.<sup>5</sup>, Митьковская Н.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный медицинский университет»,  
кафедра кардиологии и внутренних болезней,

<sup>2</sup>УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи»,

<sup>3</sup>Республиканский научно-практический центр «Кардиология»,

<sup>4</sup>Городское клиническое патологоанатомическое бюро,

<sup>5</sup>Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
г. Минск, Республика Беларусь

### Адаменко Елена Ивановна

Доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры кардиологии и внутренних болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Заместитель заведующего кафедрой по лечебной работе на базе УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи».

Научные интересы: кардиология, внутренние болезни, гепатология, гастроэнтерология.

Лауреат премии НАН РБ за цикл работ по теме: «Научное обоснование, разработка и внедрение в клиническую практику методов диагностики, лечения и профилактики осложнений цирроза печени», декабрь 2011 г.

Соискатель ученой степени доктора медицинских наук, тема «Вирусные миокардиты в Республике Беларусь». Научный консультант: заведующий кафедрой кардиологии и внутренних болезней БГМУ, доктор медицинских наук, профессор Митьковская Наталья Павловна.

Согласно современным подходам к диагностике и лечению миокардитов, окончательный диагноз воспалительного повреждения миокарда выставляется на основании результатов эндомикардиальной биопсии (ЭМБ). В последнем руководстве Рабочей группы по болезням миокарда и перикарда Европейского общества кардиологов, опубликованном в 2013 г. в журнале *European Heart Journal*, миокардит трактуется как воспалительное заболевание миокарда, определяемое по установленным гистологическим, иммунологическим и иммуногистохимическим критериям. При этом рекомендуется использовать Далласские гистологические критерии, которые включают гистологические доказательства наличия воспалительного инфильтрата в пределах миокарда, ассоциированного с дегенерацией миоцитов и некрозом неишемического генеза (табл.1).

Специфические иммуногистохимические критерии на сегодняшний день не определены, эксперты предлагают диагностировать воспалительный инфильтрат при наличии  $\geq 14$  лейкоцитов /  $\text{мм}^2$ , в том числе до 4 моноцитов /  $\text{мм}^2$  с наличием CD 3 положительных Т-лимфоцитов  $\geq 7$  клеток /  $\text{мм}^2$ .

**Таблица 1** – Даллаские критерии гистологической диагностики миокардита

Диагноз миокардита	Гистологические признаки
Определенный миокардит	Воспалительная инфильтрация миокарда с некрозом и/или дегенерацией прилегающих миоцитов, не характерных для ишемических изменений при ИБС
Вероятный миокардит	Воспалительные инфильтраты достаточно редки, либо кардиомиоциты инфильтрированы лейкоцитами. Нет участков миоцитонекроза. Миокардит не может быть диагностирован в отсутствие воспаления
Миокардит отсутствует	Нормальный миокард или имеются патологические изменения ткани невоспалительной природы

Эксперты признают, что в большинстве стран диагностическое, прогностическое и терапевтическое значение ЭМБ основано на Далласких гистопатологических критериях и не предполагает использование иммуногистохимических исследований и анализ вирусных геномов. А именно эти методы для выявления этиологии миокардита на сегодняшний день являются общепризнанными [1,14], что требует пересмотра критериев.

В вышеуказанном документе также введено новое понятие «Воспалительная кардиомиопатия» (ВКМП) – это миокардит, ассоциированный с дисфункцией миокарда, т.е. ВКМП является и гистологической и функциональной характеристикой воспаленного миокарда в связи с развившейся систолической и / или диастолической дисфункцией. Таким образом, термины ВКМП и дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) не исключают друг друга. При этом европейские эксперты признают, что существует некоторая путаница в определениях [1].

Гистологический диагноз миокардита включает в себя различные формы, классифицируемые в соответствии с типом воспалительных клеток инфильтрата: лимфоцитарные, эозинофильные, полиморфные, гиганто-клеточный миокардит и саркоидоз миокарда [4,6].

Миокардит может быть случайной находкой при аутопсии лиц, умерших не от болезней системы кровообращения, или при исследовании биоптата миокарда, полученного по показаниям, не связанным с подозрением на миокардит или ВКМП, например, после протезирования клапана или в экплантированных сердцах, взятых у пациентов, получавших инотропные препараты [12].

Забор биоптата миокарда осуществляется, как правило, из правого желудочка, реже – из левого. В случае если ЭМБ выполняется квалифицированными и опытными людьми, вероятность осложнений невысока (0-0,8)[13]. Следует брать как минимум три пробы размером 1-2 мм (из левого или правого желудочка), после чего немедленно фиксировать их в 10% буферизованном формалине при комнатной температуре для световой микроскопии; для вирусной ПЦР дополнительные образцы следует заморозить в жидком азоте и хранить при температуре -80°C либо в пробирке с реагентом

ЭМБ может быть выполнена повторно в случаях необходимости контроля ответной реакции на терапию заболевания с учётом этиологии, или в случае предполагаемой

ошибки при анализе ранее взятых биоптатов у пациента с необъяснимо прогрессирующей сердечной недостаточностью. Повторные ЭМБ могут определить гистологическое и вирусологическое разрешение или персистирующий миокардит, с наличием или без сывороточных кардиальных аутоантител (ААБС), например, постинфекционное аутоиммунное поражение.

По мнению экспертов Рабочей группы по болезням миокарда и перикарда Европейского общества кардиологов ЭМБ имеет решающее значение в диагностике миокардита и способна определить его этиологию и тип воспаления (например, гигантоклеточный миокардит, эозинофильный миокардит, саркоидоз), что, в свою очередь, определяет прогноз и методы лечения [1]. Немаловажным является тот факт, что ЭМБ является основой для безопасной (подтверждает отсутствие инфекции) иммуносупрессии или противовирусного лечения (при наличии вирусного поражения).

Для оптимизации диагностической точности и снижения вероятности ошибки при взятии биопсии из очагов воспаленного миокарда, ЭМБ выполняется на ранней стадии заболевания [10]. Для повышения диагностической чувствительности иммуногистохимического метода обязательно использование широкого спектра моноклональных и поликлональных антител (включая анти-CD3, анти-CD68 и анти-HLA-DR) для идентификации и характеристики воспалительного инфильтрата, а также для детекции повышения количества HLA-DR в ЭМБ-срезах, что является признаком неинфекционного аутоиммунного миокардита, при котором можно рассматривать возможность иммуносупрессии [1]. Другие иммунофлуоресцентные красители, которые используются для определения гуморального отторжения в биоптате пересаженного сердца, например, C3d и C4d, были признаны перспективными маркерами иммунной активации у пациентов с ВКМП. Из недостатков этих маркеров можно отметить то, что для их применения требуется замороженный материал [1].

Значение ЭМБ для диагностики миокардита увеличивается благодаря использованию методов молекулярного анализа, среди которых основными являются ДНК-РНК-экстракция и амплификация вирусного генома с помощью ОТ-ПЦР [1,3]. Для исключения системной инфекции параллельно с ЭМБ исследуется периферическая кровь, так как измерение вирусной нагрузки и подтверждение репликации вируса могут повысить диагностическую ценность метода [1].

Основные технические требования к выполнению ЭМБ:

- обнаружение вирусного генома в тканях сердца с помощью ОТ-ПЦР должно контролироваться амплификацией достаточного количества позитивных проб, содержащих разное количество вирусных копий, а также негативный контроль [10]. Секвенирование продукта амплификации вирусных генов обязательно для определения подтипа вируса и распознавания контаминаций;

- образцы крови должны тестироваться с помощью ОТ-ПЦР для распознавания острой системной вирусной инфекции, а также для исключения устойчиво заражённых клеток крови (они могут контаминировать образцы тканей сердца, но не означают вирусную инфекцию миокарда) [10];

- обнаружение в тканях сердца репликативных форм вирусных нуклеиновых кислот подтверждает вирусный патогенез миокардита; впрочем, обнаружение вирусной мРНК в биоптате сердца с помощью ОТ-ПЦР может вызывать затруднения в связи с малым количеством вирусной мРНК, особенно при длительно текущем хроническом миокардите.

В республике Беларусь ЭМБ не является рутинной процедурой, выполняется в единичных случаях и, учитывая высокую стоимость расходного материала, в единичных

стационарах страны. Кроме того, в Беларуси не разработаны показания для проведения ЭМБ. В реальных клинических условиях показанием для прижизненной ЭМБ может служить крайне тяжелое течение заболевания, рефрактерное к медикаментозной терапии, когда возникает проблема дифференциальной диагностики между тяжелым диффузным миокардитом и дилатационной кардиомиопатией и решается вопрос о трансплантации сердца.

Все эти факторы существенно ограничивают возможность выполнения биопсии миокарда для верификации диагноза миокардита и других некоронарогенных заболеваний миокарда.

**Цель исследования:** изучить возможности морфологического исследования биоптатов миокарда в дифференциальной диагностике миокардита - воспалительной кардиомиопатии (ВКМП).

#### **Материалы и методы**

В течение 2015 года в УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска у 6 пациентов с клинически подозреваемой ВКМП выполнена ЭМБ. Показанием для выполнения ЭМБ служило наличие кардиомиопатии с выраженной хронической сердечной недостаточностью (фракция выброса  $29,4 \pm 12,3\%$ ) и необходимость проведения дифференциальной диагностики между ВКМП (тяжелым диффузным миокардитом) и ДКМП. Забор биоптата осуществлялся из разных отделов правого желудочка в количестве 4 проб. Гистологическое исследование биоптата проводилось на базе Городского клинического патологоанатомического бюро г. Минска на основании Далласских гистологических критериев.

#### **Результаты и обсуждение**

Манипуляция пациентами переносилась хорошо. Ни в одном случае не было выявлено осложнений как в ходе выполнения процедуры ЭМБ, так и после. У пациентов в биоптате миокарда определялись следующие изменения: гипертрофия кардиомиоцитов – у 6 пациентов, вакуолизация кардиомиоцитов - у 3-х, гипертрофия, полиморфизм ядер кардиомиоцитов – у 5-ти, слабый очаговый интерстициальный фиброз- у 4-х, единичные лейкоциты в пределах сосудистого русла – у 2-х. Данные изменения неспецифичны, могут наблюдаться при различных невоспалительных изменениях миокарда, в том числе и при ДКМП. Воспалительная инфильтрация миокарда не выявлена в биоптате ни у одного пациента. У одной пациентки обнаружены в дополнение к гипертрофии кардиомиоцитов и очаговому интерстициальному фиброзу, умеренный отек интерстиция и очаговое разрастание жировой ткани в интерстиции, что может наблюдаться также и при постмиокардитическом кардиосклерозе. В виду отсутствия гистологических признаков воспаления иммуногистохимическое исследование биоптата не проводилось.

На сегодняшний день, отсутствие воспалительных инфильтратов в гистологическом препарате является основанием для отрицательного диагностического заключения для миокардита и ВКМП. Вместе с тем, отсутствие воспалительных изменений в миокарде у обследованных нами пациентов может быть связано с давностью перенесенного миокардита, когда воспаление давно разрешилось и происходит неспецифическое ремоделирование миокарда. Для верификации диагноза и окончательного исключения миокардита как причины кардиомиопатии, целесообразно проводить комплексное исследование биоптата на наличие основных инфекционных возбудителей, в том числе вирусных геномов, иммуногистохимическое исследование, а также исследование сыворотки крови на наличие специфических аутоантител.

## Заключение

Проведенное гистологическое исследование биоптатов миокарда у наших пациентов не выявило воспалительных изменений в миокарде, что требовало проведения дополнительных диагностических технологий для верификации диагноза.

### Литература:

1. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases / AL. Caforio [et al.] // *Eur. Heart Journal*. – 2013. – Vol. 34, Iss. 33. – P.2636-2648.
2. Clinical outcomes in fulminant myocarditis requiring extracorporeal membrane oxygenation: a weighted meta-analysis of 170 patients / R. Cheng [et al.] // *J Card Fail.* – 2014. – Vol. 20, №6. – P.400-406.
3. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology. Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology / L.T. Cooper [et al.] // *J Am Coll Cardiol*. – 2007. – Vol. 50. – P.1914-1931.
4. The global burden of myocarditis: part 1: a systematic literature review for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors 2010 study / Gambetti S. [et al.] // *G Ital Cardiol (Rome)*. – 2014. – Vol. 15, №11. – P.634-637.
5. Goenka, AH. Cardiac magnetic resonance imaging for the investigation of cardiovascular disorders. Part 2: emerging applications / AH. Goenka, H. Wang, SD. Flamm // *Tex Heart Inst J*. – 2014. – Vol. 41, №2. – P.135-143.
6. Grasmeyer, S. Immunohistochemical diagnosis of myocarditis on (infantile) autopsy material: Does it improve the diagnosis? / S. Grasmeyer, B. Madea // *Forensic Sci Med Pathol*. – 2015. – Vol. 11, №2. – P.168-176.
7. The management of myocarditis / Heinz-Peter Schultheiss [et al.] // *Eur. Heart Journal* – 2011. – Vol. 32. – P. 2616–2625.
8. Myocardial catastrophe: a case of sudden, severe myocardial dysfunction // WJ. Hucker [et al.] // *Circulation*. – 2014. – Vol. 130, №10. – P.854-862.
9. Update on myocarditis / I. Kindermann [et al.] // *J. Am Coll Cardiol*. – 2012 – Vol. 59. – P.779-792.
10. Consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology / O. Leone [et al.] // *Cardiovasc. Pathol*. – 2012. – Vol. 21. – P.245-274.
11. ESC committee for practice guidelines. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) / JJ. McMurray [et al.] // *Eur Heart J*. – 2012. – Vol. 33. – P.1787-1847.
12. The presence of enterovirus, adenovirus, and parvovirus B19 in myocardial tissue samples from autopsies: an evaluation of their frequencies in deceased individuals with myocarditis and in non-inflamed control hearts // TS. Nielsen [et al.] // *Forensic Sci Med Pathol*. – 2014. – Vol. 10, №3. – P.344-350.
13. Cardiac magnetic resonance features of biopsy-proven endomyocardial diseases / Marra M. Perazzolo [et al.] // *JACC Cardiovasc Imaging*. – 2014. – Vol. 7, №3. – P.309-312.
14. The frequency of invariant natural killer T cells correlates with the severity of myocarditis / X. Wang [et al.] // *Viral Immunol*. – 2014. – Vol. 27, №3. – P.88-95.
15. Wu, LL. Diagnosis and treatment of myocarditis / LL. Wu, B. Han // *Glob Heart*. – 2014. – Vol. 9, №1. – P.121-129.