

ЭНДОМИОКАРДИАЛЬНАЯ БИОПСИЯ У ВЗРОСЛЫХ И ДЕТЕЙ

ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А.Алмазова» МЗ РФ, Санкт-Петербург

Изложены сведения об истории, диагностических возможностях, технических аспектах и осложнениях эндомиокардиальной биопсии, основанные на опыте разных клиник и мнении экспертов

Ключевые слова: эндомиокардиальная биопсия, миокардит, кардиомиопатия, пересадка сердца, морфологические критерии, иммуногистохимическое исследование.

The data on history, diagnostic potentialities, technical aspects, and complications of endomyocardial biopsy based on the experience of different hospitals and the expert opinions are presented.

Key words: endomyocardial biopsy, myocarditis, cardiomyopathy, heart transplantation, morphological criteria, immunohistochemistry assessment.

Метод эндомиокардиальной биопсии (ЭМБ) широко используется во всем мире в области трансплантации сердца для оценки криза отторжения трансплантата, являясь золотым стандартом диагностики [1]. Однако использование этого метода в диагностике и лечении других заболеваний сердца у взрослых и детей остается спорным вопросом [2]. С одной стороны, терапевтическая и прогностическая польза этой процедуры подтверждена во многих многоцентровых исследованиях [3-7]. С другой стороны, в связи с тем, что метод является инвазивным и сопряжен с риском серьезных осложнений, вопрос о целесообразности применения данного метода диагностики остается неоднозначным, и до сих пор не существует единого мнения о необходимости и эффективности проведения данной процедуры [8].

Впервые пункционная биопсия сердца была описана в 1958 году [9]. Авторами был осуществлен забор сердечного биоптата во время торакотомии у пяти пациентов с заболеваниями сердца неясной этиологии. В целом развитие этого метода претерпело ряд кардинальных изменений. С 1960 года для проведения ЭМБ стал использоваться сосудистый доступ путем пункции наружной или внутренней яремных вен, в связи с чем, данная процедура стала более безопасной. Забор тканей стал осуществляться из миокарда правого желудочка в области межжелудочковой перегородки. В 1962 году S.Sakakibara и S.Konno создали специальное устройство для проведения биопсии (биотом), ими же была проведена первая эндокардиальная биопсия сердца [10].

Второе направление развития данного метода - патоморфологическое. С 1986 года для морфологического подтверждения миокардита в клиническую практику были введены Даласские критерии. Однако, неудовлетворенность специалистов результатами ЭМБ, оцененной с помощью Даласских критериев, была связана с низкой чувствительностью данного метода, который был основан на гистопатологических изменениях (подтверждение только факта воспалительного процесса), без учета иммуногистохимических методов и оценки наличия вирусного генома в кардиомиоците. Для изучения результатов ЭМБ, оцененной с помощью Даласских критериев, было проведено исследование The Myocarditis Treatment Trial [11], по результатам

которого в большинстве случаев не было получено гистологического подтверждения клинически ожидаемого миокардита. В этом исследовании ЭМБ была выполнена всем пациентам с предполагаемым миокардитом (предположение было основано на необъяснимой, длительно существующей - более 2 лет, сердечной недостаточности), по данным ЭМБ диагноз был подтвержден менее чем у 10% больных. Другие менее многочисленные исследования также не показали параллелизма между результатами ЭМБ и клинической картиной заболевания.

В 1997 году патоморфологами было принято Марбургское соглашение [12], в котором Даласские критерии были уточнены и дополнены иммуногистохимическими и молекулярно-биологическими методами исследования биоптатов, что позволило не только констатировать факт клеточного воспаления, но и определить стадию заболевания, дифференцировать аутоиммунный компонент патологического процесса, обнаруживать персистенцию вируса в кардиомиоците. Другим многоцентровым исследованием результатов ЭМБ было - European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Diseases (ESETCID) [13]. В это исследование были включены 3055 пациентов, у 525 (17,2%) из них по данным ЭМБ был подтвержден воспалительный процесс в миокарде. Вирусный геном был найден в 11,8% случаев.

На сегодняшний день нет рандомизированных, контролируемых исследований о пользе ЭМБ. Показания для применения данного метода диагностики основаны на сериях исследований и мнении экспертов, особенно это касается педиатрической области. В 2007 году экспертами АНА/ACC/ESC рекомендации/показания к проведению эндомиокардиальной биопсии были рассмотрены и опубликованы в виде 14 клинических сценариев [14].

- Клинический сценарий 1 (класс I). Необъяснимая, впервые выявленная сердечная недостаточность (СН) длительностью менее 2 недель с нормальным или дилатированным левым желудочком (ЛЖ) и нарушениями гемодинамики.
- Клинический сценарий 2 (класс I). Необъяснимая, впервые выявленная СН продолжительностью от 2 недель до 3 месяцев, сопровождающаяся дилатацией ЛЖ и впервые возникшими желудочковыми аритмия-

ми, атриовентрикулярной (АВ) блокадой II степени II типа или АВ блокадой III степени или отсутствием эффекта от проводимой стандартной терапии в течение 1-2 недель.

- Клинический сценарий 3 (класс IIa). Необъяснимая, впервые выявленная СН продолжительностью более 3 месяцев, сопровождающаяся дилатацией ЛЖ и впервые возникшими желудочковыми аритмиями, АВ блокадой II степени II типа или АВ блокадой III степени или отсутствием эффекта от проводимой стандартной терапии в течение 1-2 недель.
- Клинический сценарий 4 (класс IIa). Необъяснимая СН, связанная с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП) любой продолжительности, при которой имеет место подозрение на аллергическую реакцию, сопровождающуюся эозинофилией.
- Клинический сценарий 5 (класс IIa). Необъяснимая СН, причиной которой может быть антракцинозная кардиомиопатия.
- Клинический сценарий 6 (класс IIa). СН, ассоциированная с необъяснимой рестриктивной кардиомиопатией.
- Клинический сценарий 7 (класс IIa). Подозрение на опухоли сердца, за исключением типичной миксомы.
- Клинический сценарий 8 (класс IIa). Необъяснимая кардиомиопатия у детей
- Клинический сценарий 9 (класс IIb). Необъяснимая, впервые выявленная СН продолжительностью от 2 недель до 3 месяцев, сопровождающаяся дилатацией ЛЖ без впервые возникших желудочковых аритмий, АВ блокады II степени II типа или АВ блокады III степени, с хорошим эффектом на стандартную терапию в течение 1-2 недель.
- Клинический сценарий 10 (класс IIb). Необъяснимая, впервые выявленная СН продолжительностью более 3 месяцев, сопровождающаяся дилатацией ЛЖ без впервые возникших желудочковых аритмий, АВ блокады II степени II типа или АВ блокады III степени, с хорошим эффектом на стандартную терапию в течение 1-2 недель.
- Клинический сценарий 11 (класс IIb). СН, связанная с необъяснимой гипертрофической кардиомиопатией.
- Клинический сценарий 12 (класс IIb). Подозрение на аритмогенную дисплазию правого желудочка.
- Клинический сценарий 13 (класс IIb). При наличии необъяснимых желудочковых аритмий.
- Клинический сценарий 14 (класс III). ЭМБ не показана при наличии необъяснимой фибрилляции предсердий.

Проведение ЭМБ осуществляется в условиях рентгенооперационной. Под местной анестезией выполняется пункция правых или левых яремной, подключичной, бедренной вен, в случае если планируется забор биопсийного материала из левого желудочка, осуществляется пункция правой или левой бедренной артерии, либо проводится транссептальная пункция. Для проведения данной процедуры могут быть использованы различные биотомы. Применяются жесткий биотом типа Stanford-Caves Schultz, King's биотом. В России наиболее часто используется гибкий биотом фирмы Cordis (США). ЭМБ проводится под контролем

рентгеноскопии и эхокардиографии, когда оператор получает информацию о ходе, направлении биотома, локализации электрода в желудочках.

С учетом анатомических особенностей правый желудочек (ПЖ) является наиболее привлекательным местом для забора биоптата, и именно межжелудочковая перегородка (МЖП) является предпочтительным местом в связи со своей толщиной, в отличие от тонкой свободной стенки ПЖ, где проведение биопсии является опасным, вследствие высокой вероятности перфорации стенки. Для диагностики криза отторжения трансплантата, забор при первой биопсии проводится из верхних отделов МЖП, сразу под клапаном, а при каждой последующей - ниже предыдущей, по направлению к верхушке сердца [15]. Рекомендуется осуществлять забор 5-10 биоптатов, размером от 1 до 2 мм³ [16, 17].

После завершения процедуры по забору биопсийного материала, несколько кусочков фиксируются в физиологическом растворе для выполнения полимеразной цепной реакции с целью определения инфекционного агента, остальные в 10% формалине. Используется световая и поляризационная микроскопия. Обязательные окраски: гематоксилин и эозин, по ван Гизону, азури-эозин, конго красный, ШИК-реакция (для исключения болезней накопления типа Помпе).

В протокол исследования входит: иммуногистохимическое исследование с антителами, HLA-DR - антигену гистосовместимости II класса (для выявления маркеров воспаления и активации иммунитета); фенотипирование лимфоцитов и макрофагов с антителами к CD-3, CD-45, CD-8, CD-68; определение вирусной инфекции с антителами к VP1 энтеровируса, LMP вируса Эпштейна-Барр, парвовирусу В19, аденовирусу, цитомегаловирусу, вирусу гепатита С, вирусам простого герпеса 1 и 2 типа, вирусу герпеса 6 типа [15, 18].

Активный (острый) миокардит предполагает наличие инфильтрата с определением не менее 14 инфильтрирующих лейкоцитов или лимфоцитов на 1 мм² (в основном CD-45 активированных лейкоцитов или, более 7 CD-3 активированных Т-лимфоцитов, а также CD-4 CD-8- лимфоцитов) и до 4 макрофагов на 1 мм². Определяют некроз и дегенерацию (дистрофию и миоцитоллиз) мышечных волокон, учитывают фиброз. При этом наличие некроза и/или дегенерации кардиомиоцитов обязательно, а фиброза - необязательно. Если вне просвета сосуда обнаруживается небольшое скопление лейкоцитов (более 3 лимфоцитов), данная картина трактуется как очаговый миокардит. Если клетки инфильтрата находятся в зоне фиброза, эту ситуацию расценивают как репаративный процесс. Миокардит расценивают как хронический если инфильтрат насчитывает не менее 14 лейкоцитов/лимфоцитов на 1 мм² и до 4 макрофагов на 1 мм², некроз и дегенерация обычно не выражены, учитывают фиброз. Отсутствие миокардита констатируют если не обнаруживаются инфильтрирующие клетки или их количество менее 14 на 1 мм².

Дополнительным критерием воспалительного процесса является повышенная экспрессия HLA-DR молекул к антигену гистосовместимости II класса.

Оценка фиброза предполагает выделение четырех градаций: 0 степень - отсутствие фиброза; 1 степень - начальный; 2 степень - умеренный; 3 степень - выраженный фиброз.

Для уточнения этиологического фактора миокардита проводится оценка наличия вирусного генома в кардиомиоците высокочувствительным методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (количественно и качественно), которые могут обнаружить менее 10 копий гена вирусных патогенов в миокарде [14, 15, 19, 20]. За последние 2 десятилетия использование ПЦР значительно увеличило выявление кардиотропных вирусов в кардиомиоцитах.

По результатам N.E.Bowles и соавт. [19], которые провели ЭМБ 773 пациентам, в основном это были пациенты младше 18 лет, с миокардитом (n=624) и ДКМП (n=149); вирус в кардиомиоцитах был выявлен в 40% случаев, наиболее часто это были аденовирусы и энтеровирусы. У взрослых с ДКМП или необъяснимой глобальной или региональной дисфункцией левого желудочка, по данным U.Kuhl и соавт. наиболее часто обнаруживались энтеровирусы, парвовирус В19, вирус герпеса человека 6 или сочетание нескольких вирусов [20]. На сегодняшний день специализированные вирусологические лаборатории используют более чувствительный метод - это оценка ПЦР в реальном времени, который является более точным количественным подходом, позволяющим оценить вирусную нагрузку большинства кардиотропных вирусов. К сожалению, клиническое применение ПЦР в реальном времени также не лишено ошибок [14, 20].

ЭМБ является инвазивной процедурой, сопряженной с риском развития осложнений, в том числе серьезных. По обобщенным литературным данным L.T.Соорег частота осложнений составляет от 1% до 2% [14]. Частота перфорации желудочков составляет около 0,3%. Летальность от 0,03% до 0,4%. Большое количество центров опубликовали свои данные о рисках и осложнениях при ЭМБ. Так, M.Sekiguchi и соавт. обобщив ретроспективно данные о 6739 пациентах, которым была проведена ЭМБ, продемонстрировали, что количество осложнений в их наблюдении составило 1,17%, в том числе 28 (0,42%) из них - перфорация желудочка, 2 летальных исхода (0,03%) [21].

R.Fowles и соавт. сообщили об общем уровне осложнений менее 1% на 4000 биопсий, проведенных у пациентов после трансплантации сердца и при кардиомиопатиях, в том числе среди них было 4 случая тампонады (0,1%), у 3 пациентов развилась фибрилляция предсердий, у 1 - желудочковая аритмия и в 3-х случаях проведение ЭМБ осложнилось неврологической симптоматикой [22]. В свою очередь J.W.Deckers и др. провели оценку осложнений у 546 больных, среди которых осложнения составили 2,7% [23].

Наибольший опыт проведения ЭМБ у детей был представлен S.G.Porphal и соавт., которые ретроспективно оценили результаты 1000 процедур [24]. Среди этой группы детей у большинства забор биопсийного материала был осуществлен из правого желудочка, у 14 - из левого желудочка. Показаниями для проведения биопсии в большинстве случаев была оценка реакции

отторжения трансплантата (n=846), в остальных процедура проводилась детям с кардиомиопатиями или аритмиями, предположительно связанными с возможным миокардитом (n=154). В ходе проводимой биопсии зафиксирован 1 летальный исход, связанный с перфорацией правого желудочка и развившейся тампонадой сердца у 2-х недельного ребенка с ДКМП. Кроме того, перфорация правого желудочка наблюдалась у 9 детей (8 из них с ДКМП и 1 после трансплантации сердца). Среди других осложнений были аритмии (у 5 детей) и по одному случаю: коронарно-сердечной фистулы, повреждения трикуспидального клапана, пневмоторакса и гемоторакса.

Принципиально все осложнения, связанные с ЭМБ можно разделить на несколько категорий.

1. Осложнения связанные с катетеризацией сосудов: кровотечение, пневмоторакс, гематомы, вазовагальные реакции, тромбозы и др. [1, 13].
2. Возникновение нарушений сердечного ритма или проводимости, в ходе биопсии. Жизнеопасные аритмии встречаются крайне редко [1, 13]. Наиболее часто развивающимися аритмиями во время данной процедуры являются суправентрикулярные тахикардии. Желудочковые аритмии наблюдаются реже, и, как правило, связаны с механическим воздействием биотома на структуры проводящей системы сердца. Среди нарушений проводимости может возникнуть полная блокада правой ножки Гиса, или полная атриовентрикулярная блокада, которые, как правило, носят транзиторный характер. Стойкая полная атриовентрикулярная блокада чаще развивается у пациентов с исходным наличием блокады левой ножки пучка Гиса, когда катетер, находящийся в правом желудочке прижимается к межжелудочковой перегородке [13].
3. Механическое повреждение сердечных структур, травмы трехстворчатого клапана и подклапанных структур, развитие атриовентрикулярных свищей и др. Наиболее грозное осложнение - перфорация сердечной стенки, которая может привести к быстрому развитию тампонады сердца или остановке сердца [1, 14].

По данным АНА/ACC/ESC риск осложнений при проведении ЭМБ зависит от опыта хирурга, клинического состояния пациента, наличия блокады левой ножки пучка Гиса, используемого доступа и технического оснащения клиники [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

История ЭМБ насчитывает уже более 40 лет, но споры о необходимости и пользе данной процедуры для диагностики тех или иных заболеваний сердца не прекращаются. Бесспорным является использование этого метода в области трансплантации сердца, как средства мониторинга реакции отторжения трансплантата. Кроме того, этот метод может иметь диагностическое значение для исследования инфильтративных изменений миокарда, фиброза миокарда, различных кардиомиопатий, токсических поражений, при опухолях сердца и др. [25, 26].

H.Ardehali и соавт. обследовали группу из 845 пациентов с диагнозом идиопатическая ДКМП. Всем этим пациентам была проведена ЭМБ, по результатам

который выяснилось, что в 31% случаев (264 пациента) диагноз был поставлен ошибочно [27]. Похожие результаты были получены группой канадских ученых, мнение которых заключается в том, что без проведения ЭМБ в большом проценте случаев ставится ошибочный диагноз. В опубликованной ими работе у 30% пациентов с неишемической кардиомиопатией исходный диагноз был поставлен неправильно, что было подтверждено данными ЭМБ [28].

Не следует забывать о том, что ЭМБ может быть полезной не только в плане постановки правильного

диагноза, но и в обосновании терапевтического подхода, который абсолютно специфичен для каждого заболевания, таких как вирусный миокардит, эозинофильный миокардит, саркоидоз, амилоидоз и т.д. [26]. По мере развития технологии, фармакологической индустрии, в частности появления противовирусных препаратов, которые становятся доступными, роль эндомикардиальной биопсии в диагностике миокардитов будет продолжать расти. Тем не менее, на сегодняшний день для клинической практики показания к биопсии миокарда остаются узко ограниченными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aaron M., Maleszewski J., Rihal C. Current Status of Endomyocardial Biopsy // *Mayo Clin Proc.* 2011; 86(11): 1095-1102.
2. Caforio A, Pankuweit S., Arbustini E. et al. 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 // *Eur Heart J.* 2013; 1-17.
3. Kindermann I, Barth C. et al. Update on myocarditis // *J Am Coll Cardiol.* 2012; 59: 779-792.
4. Ardehali H, Howard DL, Hariri A et al. A positive endomyocardial biopsy result for sarcoid is associated with poor prognosis in patients with initially unexplained cardiomyopathy // *Am Heart J.* 2005; 150: 459-463.
5. Thurberg B.L., Fallon J.T., Mitchell R. et al. Cardiac microvascular pathology in Fabry disease: evaluation of endomyocardial biopsies before and after enzyme replacement therapy // *Circulation.* 2009; 119: 2561-2567.
6. Frustaci A, Russo M.A., Chimenti C. Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study // *Eur Heart J.* 2009; 30: 1995-2002.
7. Kindermann I., Kindermann M., Kandolf R. et al. Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis // *Circulation.* 2008; 118: 639-648.
8. Dec G.W. Introduction to clinical myocarditis. Myocarditis: from Bench to Bedside. Cooper L. Humana Press Inc, 2003; 257-281.
9. Weinberg M., Fell E.H., Lynfield J. Diagnostic biopsy of the pericardium and myocardium // *AMA Arch Surg.* 1958; 76: 825-829.
10. Sakakibara S, Konno S. Endomyocardial biopsy // *Jpn Heart J.* 1962; 3: 537-543.
11. Hahn E.A., Hartz V.L., Moon T.E. et al. The Myocarditis Treatment Trial: design, methods and patient enrolment // *Eur Heart J.* 1995; 16: 162-167.
12. Caforio A., Calabrese F., Angelini A. et al. A prospective study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis // *Eur Heart J* 2007; 28:1326-1333.
13. Hufnagel G., Pankuweit S., Richter A. et al. The European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Diseases (ESETCID). First epidemiological results // *Herz.* 2000; 25(3):279-85.
14. Cooper L., Baughman L., Feldman A. et al. 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 // *Circulation.* 2007; 116: 2216-2233.
15. Митрофанова Л.Б., Карев В.Е. Миокардиты. Стандарты морфологической диагностики при аутопсии и эндомикардиальной биопсии. СПб. 2010; 50.
16. Veinot J.P. Diagnostic endomyocardial biopsy - still useful after all these years // *Can J Cardiol.* 2009; 25(2): 55-56.
17. Virmani R., Burke A., Farb A, Atkinson J. Cardiovascular Pathology. 2nd ed. Philadelphia, Pa: Saunders; 2001.
18. Veinot J.P. Diagnostic endomyocardial biopsy pathology: general biopsy considerations, and its use for myocarditis and cardiomyopathy: a review // *Can J Cardiol.* 2002; 18: 55-65.
19. Bowles N.E, Ni J., Kearney D.L. et al. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction: evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults // *J Am Coll Cardiol.* 2003; 42: 466-472.
20. Kuhl U., Pauschinger M., Noutsias M. et al. High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with "idiopathic" left ventricular dysfunction // *Circulation.* 2005; 111: 887-893.
21. Sekiguchi M., Take M. World survey of catheter biopsy of the heart. In: Sekiguchi M, Olsen EGJ, eds. *Cardiomyopathy: Clinical, Pathological and Theoretical Aspects.* Baltimore, Md: University Park Press; 1980: 217-225.
22. Fowles R.E., Mason J.W. Endomyocardial biopsy // *Ann Intern Med.* 1982; 97: 885-894.
23. Deckers J.W., Hare J.M., Baughman K.L. Complications of transvenous right ventricular endomyocardial biopsy in adult patients with cardiomyopathy: a seven-year survey of 546 consecutive diagnostic procedures in a tertiary referral center // *J Am Coll Cardiol.* 1992; 19: 43-47.
24. Pophal S.G., Sigfusson G., Booth K.L. et al. Complications of endomyocardial biopsy in children // *J Am Coll Cardiol.* 1999; 34(7):2105-10.
25. Aretz H.T., Billingham M.E., Edwards W.D. et al. Myocarditis. A histopathologic definition and classification // *Am J Cardiovasc Pathol.* 1987; 1:3-14.
26. Cunningham K., Veinot J., Butany J. An approach to endomyocardial biopsy interpretation // *J Clin Pathol.* 2006; 59(2): 121-129.
27. Ardehali H., Qasim A., Cappola T. et al. Endomyocardial biopsy plays a role in diagnosing patients with unexplained cardiomyopathy // *Am Heart J.* 2004; 147:919-23.
28. Luk A., Metawee M. et al. Do clinical diagnoses correlate with pathological diagnoses in cardiac transplant patients? The importance of endomyocardial biopsy // *Can J Cardiol.* 2009; 25(2): 48-54.