

Ультраструктура скелетных мышц нижних конечностей при хронической венозной недостаточности



**В.В. Бойко, В.П. Невзоров, В.А. Прасол,
О.Ф. Невзорова, Е.А. Руденко**

ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины»,
Харьков

Цель работы — изучить особенности субмикроскопической организации миосимпластов скелетных мышц у больных с хронической венозной недостаточностью.

Материалы и методы. Изменения субмикроскопической архитектоники скелетных мышц нижних конечностей исследовали у 65 пациентов с хронической венозной недостаточностью.

Результаты и обсуждение. Результаты электронно-микроскопического исследования показали, что ультраструктурная организация миосимпластов дистрофически изменена. Наиболее выраженным нарушениям подвержены митохондрии, что свидетельствует о митохондриальной дисфункции. Выявленные изменения ультраструктуры миосимпластов скелетных мышц нижних конечностей больных с хронической венозной недостаточностью указывают на корреляцию между состоянием ультраструктур миосимпластов и степенью выраженности венозной недостаточности.

Выводы. Ультраструктурная организация миосимпластов скелетных мышц нижних конечностей больных с хронической венозной недостаточностью нарушена в 65–80 % случаев, и более выражены эти нарушения у пациентов с хронической венозной недостаточностью С4–С5. Изменения субмикроскопической архитектоники органелл свидетельствуют о снижении сократительных возможностей миосимпласта — вероятной причины уменьшения скорости кровотока в венах нижних конечностей, что является дополнительным фактором развития хронической венозной недостаточности.

Ключевые слова: ультраструктура миосимпластов, гипоксия, хроническая венозная недостаточность, митохондриальная дисфункция.

По мнению ученых, недостаточность венозных клапанов служит ключевым механизмом формирования венозной гипертензии [1, 2]. В гладкомышечных клетках нарушается синтез коллагена, при этом увеличивается содержание коллагена 1-го типа и уменьшается 3-го типа. Это снижает эластичность стенки вены и создает условия для ее пространственной деформации [3].

В варикозных венах чередуются участки сосуда с гипертрофированной стенкой и атрофированные. Венозные клапаны в течение короткого про-

межутка времени могут противостоять даже значительному повышению венозного давления. Однако длительная гипертензия и воспалительные реакции приводят к тому, что клапаны теряют способность препятствовать обратному току крови в венах нижних конечностей [4, 10]. Движения в голеностопном суставе (при ходьбе) увеличивают скорость потока крови и снижают давление в просвете вены.

В последние 10 лет изучают роль эндотелия в регуляции тонуса сосудов, обеспечении гемостаза, влиянии на сосудистую проницаемость и контроле роста кровеносных сосудов [7, 8]. Эндотелий регулирует сосудистый тонус посредством освобождения сильных вазоактивных веществ, включая происходящие из эндотелия релаксирующие факторы (один из которых — азота окись либо вещество, его высвобождающее), вазоактивные простагландины, выделяемый эндотелием гиперполяризующий

Статья надійшла до редакції 3 червня 2013 р.

Бойко Валерій Володимирович, д. мед. н., проф.,
директор Інституту загальної та невідкладної хірургії
61018, м. Харків, в'їзд Балакірева, 1. Тел. (57) 349-41-25

© В.В. Бойко, В.П. Невзоров, В.А. Прасол, О.Ф. Невзорова,
К.О. Руденко, 2013

фактор и факторы констрикции, такие как тромбосан A_2 , эндотелин, супероксид анион, L-аргинин-зависимые продукты и др. [7, 9].

При электронно-микроскопических исследованиях [5] субмикроскопической организации эндотелиальных клеток вен нижних конечностей больных с острым тромбозом, взятых из области локализации тромба, мы выявили нарушения метаболической активности органелл. Показано, что деструктивным изменениям подвергаются митохондрии. Это свидетельствует о нарушении внутриклеточной биоэнергетики, вследствие чего снижается активность метаболических процессов [10, 11].

Одновременно с этим наблюдали нарастание катболических внутриклеточных процессов, на что косвенно указывало увеличение количества вторичных лизосом в цитоплазме, локализованных вблизи пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

Так как эндотелиальные клетки принимают участие в регулировке местных процессов гемостаза, пролиферации и в поддержании тонуса сосудов, выявленные изменения органелл свидетельствуют о развитии эндотелиальной дисфункции [5, 7].

Деструктивные изменения гладких миоцитов указывают на нарушение эластических свойств венозной стенки и снижение ее тонуса.

Описанные нами нарушения ультраструктуры эндотелиоцитов и гладких миоцитов вен нижних конечностей — по-видимому, не единственный фактор, влияющий на развитие венозной недостаточности. Достаточно существенную роль в патогенезе этого заболевания, на наш взгляд, играет также состояние скелетных мышц нижних конечностей.

Цель работы — изучить особенности субмикроскопической организации миосимпластов скелетных мышц у больных с хронической венозной недостаточностью.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили биопсийные препараты ткани скелетных мышц больных с хронической венозной недостаточностью, взятых во время оперативных вмешательств в зоне доступа к перфорантным венам. Всего исследовано 65 препаратов, взятых у пациентов с хронической венозной недостаточностью (ХВН) С2–С5 (по классификации CEAP) обоих полов (29 мужчин, 36 женщин). Средний возраст составил 40–45 лет. Все они были с компенсированным артериальным кровотоком нижних конечностей (лодыжечно-плечевой индекс $\geq 0,9$). Материал для исследования предоставлен ГУ «ИОНХ НАМНУ».

Кусочки ткани помещали для предварительной фиксации в 2,5 % забуференный раствор глутарового альдегида на 2–3 ч при температуре 4 °С. За-

тем ткань промывали в буферном растворе и переносили для окончательной фиксации в 1 % забуференный раствор четырехоксида осмия на 3–4 ч. Обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Ткань пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С в течение 2 сут.

Из полученных блоков на ультрамикротоме «УПТП-3М» изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и после контрастирования цитратом свинца и уранилацетатом исследовали под электронным микроскопом «ЭМВ-100БР» при ускоряющем напряжении 75 кв.

Результаты исследования обрабатывали методами математической статистики с использованием вариационного, альтернативного и корреляционного анализов. При использовании методов альтернативной и вариационной статистики вычисляли среднее арифметическое, среднеквадратическое отклонение, среднюю ошибку разницы, вероятность различия. Вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента с соблюдением условия $(n_1 + n_2 - 2)$ [6]. При определении степени вероятности допускали точность $p < 0,05$, что соответствует $p > 95,0\%$.

Результаты и обсуждение

При электронно-микроскопическом исследовании ткани скелетных мышц нижних конечностей больных с ХВН выявлены изменения субмикроскопической организации миосимпластов как дистрофического, так и деструктивного характера.

От 65 до 82 % миосимпластов были подвержены умеренно выраженным дистрофическим изменениям. Ядра миосимпластов содержали диффузно распределенные гранулы деконденсированного хроматина. Матрикс ядра имел низкую электронную плотность. Ядерная мембрана четко контурировалась. Перинуклеарные пространства содержали множественные очаги локального расширения. В среднем в 15 % случаев встречались очаги разрыхления ядерной мембраны и глыбки конденсированного хроматина в матриксе ядра.

Саркоплазма теряла электронную плотность и становилась электронно-прозрачной.

Митохондрии содержали электронно-прозрачный матрикс. Наружная мембрана их имела четко контурированную структуру, характерную для элементарной мембраны. В 5 % случаев обнаруживали очаги деструкции. Кристы многочисленных митохондрий были параллельно ориентированы (рис. 1).

Миофибриллы располагались параллельными рядами и заполняли 70 % саркоплазмы. Саркоп-

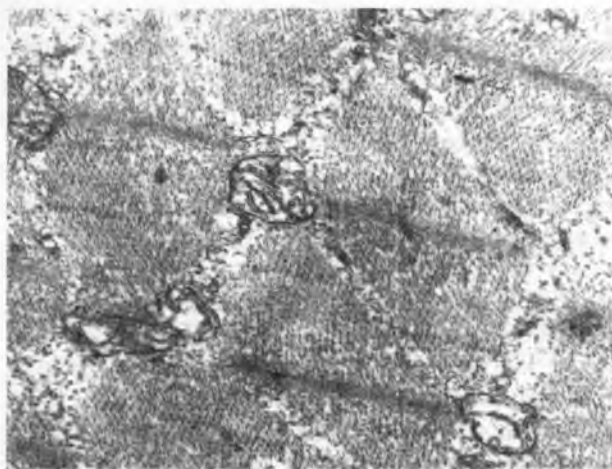


Рис. 1. Ультраструктура скелетних м'язів хворих з захворюванням вен нижніх кінцівок. Чітко контуровані зовнішні мембрани і кристи митохондрий. $\times 29\ 000$

лазма, оточуюча міофібрили, була заповнена рибосомами, полісомами і гранулами глікогена (рис. 2).

Цистерни саркоплазматическої сітки і вакуолі Т-системи були розширені в 1,5 рази, складали 8–9 нм і 1,8–2,3 мкм і містили субстанцію низької електронної густоти. В саркоплазмі 10 % міосімпласів виявляли крупні включення ліпідів.

Наряду з цим в препаратах зустрічалося 12 % міосімпласів, в ультраструктурі яких переважували деструктивно змінені органели. Ядра міосімпласів хоча і зберігали витянуту форму, однак матрикс їх був сильно просвітлений. Глибки конденсованого хроматина нерівномірно розподілялися по площі среза, концентруючись переважно вздовж ядерної мем-

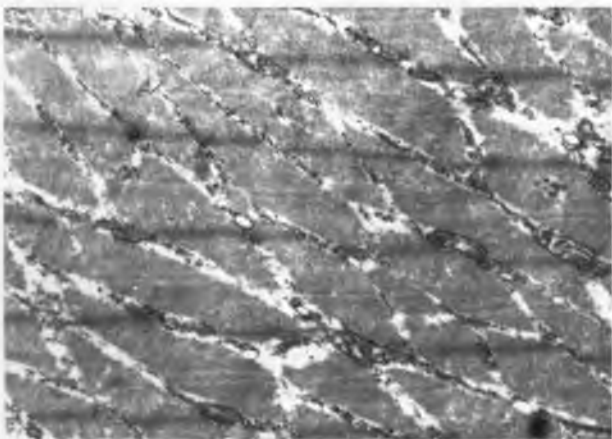


Рис. 2. Ультраструктура скелетних м'язів хворих з захворюванням вен нижніх кінцівок. Гранули глікогена в саркоплазмі. $\times 29\ 000$

брани. В матриксі ядра визначалися електронно-прозорі області каріоплазми. Ядерна мембрана мала багатовисні крупні і дрібні вогнища лізису.

В перинуклеарному відділі міосімпласу не було змінених органел загального призначення, гранул глікогена, цистерн саркоплазматическої сітки і вакуолей Т-системи. Саркоплазма мала електронно-прозорий вигляд. В 67 % випадків в цьому відділі міосімпласу виявляли м'ялиноподібні структури, вторинні лізосоми і фрагментовані мембранні компоненти саркоплазматического ретикулула.

В проміжках між пучками міофібрил в 43 % випадків виявляли сильно набуті митохондрії з електронно-прозорим матриксом. Кристи в них розрушені. Вони мали вигляд вакуолей, заповнених тонковолокнистою субстанцією. Наружна мембрана очагово лізирвана (рис. 3).

Міофібрили були сильно истончені і розірвані, хоча і зберігали регулярну орієнтацію.

Слід відзначити, що чим більше була виражена ступінь ХВН, тим чітче були виражені структурні зміни. Явлення деструкції проявлялися в 89 % досліджуваних клітин пацієнтів з С4–С5.

Таким чином, при електронно-мікроскопічному дослідженні ультраструктурної організації міосімпласів скелетних м'язів нижніх кінцівок хворих з захворюваннями вен виявили порушення митохондрий — органел, відповідальних за біоенергетическі внутріклітинні процеси і окислювально-відновительні реакції. Це структурно виражалось різким зменшенням кількості крист митохондрий, зниженням електронної густоти їх матрикса і появою в міосімпластах деструктивно змінених органел. Состояние субмікроскопіческої архітектоники митохондрий вказує на наявність мі-



Рис. 3. Ультраструктура скелетних м'язів хворих з захворюванням вен нижніх кінцівок. Деструкція зовнішніх мембран і крист митохондрий міосімпласу. $\times 40\ 000$

тохондриальної дисфункції, що приводить до порушенню синтезу енергії в клітці при різних патологічних станах, які, в свою чергу, відображають подавлення активності ферментів різних частин мітохондриальної дихальної ланки і супроводжуються широким спектром функціонально-метаболических порушень, в тому числі при венозній недостаточності.

Порушення внутріклеточної біоенергетики суттєвим чином знижує і активність репаративних і синтетических процесів в міосимпластах.

Виявлені зміни в субмікроскопічній архітектоніці органелл свідчать про зниження скоротливих можливостей міосимпластів.

Оскільки ток венозної крові здійснюється в певній ступені за рахунок ритмічних скорочень скелетних м'язів, зміни ультраструктури міосимпластів є додатковим фактором, що сприяє розвитку венозної недостаточності нижніх кінцівок.

Зміни ультраструктури міосимпластів скелетних м'язів нижніх кінцівок хворих на захворювання вен вказують на існування прямо пропорційної залежності між станом субмікроскопічної організації міосимпластів і ступенем вираженості венозної недостаточності.

Ультраструктурно визначали субсарколемальні скоплення мітохондрій, ознаки їх деструкції.

Комплекс морфологічних змін вказує на глибокі порушення структури мітохондрій і їх функціональну недостаточність.

Висновки

Ультраструктурна організація міосимпластів скелетних м'язів нижніх кінцівок хворих на хронічну венозну недостаточність порушена в 65–80 % випадків. В 43 % з них спостерігають ознаки розвитку мітохондриальної дисфункції. Зміни субмікроскопічної архітектоніки органелл проявлялись в 12 % випадків, призвели до зниження скоротливих можливостей міосимпласта, що сприяло зниженню швидкості кровотоку в венах нижніх кінцівок і виступало додатковим фактором, що сприяє розвитку хронічних захворювань вен нижніх кінцівок. Зміни ультраструктури міосимпластів скелетних м'язів нижніх кінцівок хворих на хронічну венозну недостаточність в 89 % випадків вказують на існування кореляції між станом субмікроскопічної організації міосимпластів і ступенем вираженості венозної недостаточності.

Література

1. Баешко А.А. Послеоперационный тромбоз глубоких вен нижних конечностей и тромбоэмболия легочной артерии.— М., 2000.— 136 с.
2. Баешко А.А. и др. Динамика структурных изменений при экспериментальном флеботромбозе // *Здравоохр. Беларуси.*— 1999.— № 1.— С. 17–21.
3. Баешко А.А. и др. Морфологические изменения в тромбе и стенке вены при экспериментальном флеботромбозе и тромбофлебите // *Морфология.*— 1998.— № 5.— С. 59–64.
4. Небылицин Ю.С., Сушков С.А., Солодков А.П. Дисфункция эндотелия при экспериментальном моделировании острой венозной недостаточности // *Вестн. ВГМУ.*— 2007.— № 2.— С. 48–56.
5. Прасол В.А., Невзорова О.Ф., Невзоров В.П., Троян В.И. Ультраструктура клеток венозной стенки больных острым тромбозом // *Международ. мед. журн.*— 2011.— № 1.— С. 90–94.
6. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях.— М.: Гэотар Медицина, 2000.— 256 с.
7. Стойко Ю.М., Гудымович В.Г., Никитина А.М. Эндотелиальная дисфункция с позиции современной оценки патогенеза варикозной трансформации вен нижних конечностей и возможности ее коррекции. Приложение *Consilium Medicum* // *Хирургия.*— 2012.— № 1.— *Ангиология.*
8. Швальб П.Г. Системный подход к патогенезу хронической венозной недостаточности нижних конечностей // *Ангиология и сосудистая хирургия.*— 2000.— № 3.
9. Фионик О.В., Грязев С.М., Семенов А.Ю., Бубнова Н.А. Патогенетические механизмы трофических расстройств, возникающих на фоне хронической венозной недостаточности нижних конечностей // *Вестн. Санкт-Петербургского университета.*— 2006.— Сер. 11.— Вып. 3.— *Хирургия.*
10. Krasinski Z., Kotwicka M., Oszkini G. et al. Investigations on the pathogenesis of primary varicose veins // *Wiad. Lek.*— 1997.— Vol. 50, N 10–12.— P. 275–280.
11. Schmid-Schonbein G.W. Inflammation and pathophysiology of chronic venous insufficiency // *Phlebology.*— 2003.— Vol. 39.— P. 95–99.

Ультраструктура скелетних м'язів нижніх кінцівок при хронічній венозній недостатності

В.В. Бойко, В.П. Невзоров, В.А. Прасол, О.Ф. Невзорова, К.О. Руденко

ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії НАМН України», Харків

Мета роботи — вивчити особливості субмікроскопічної організації міосимпластів скелетних м'язів у хворих із хронічною венозною недостатністю.

Матеріали і методи. Зміни субмікроскопічної архітекtonіки скелетних м'язів нижніх кінцівок досліджували у 65 пацієнтів з хронічною венозною недостатністю.

Результати та обговорення. Результати електронно-мікроскопічного дослідження засвідчили, що ультраструктурна організація міосимпластів дистрофічно змінена. До найвиразніших порушень схильні мітохондрії, що свідчить на користь мітохондріальної дисфункції. Виявлені зміни ультраструктури міосимпластів скелетних м'язів нижніх кінцівок хворих з хронічною венозною недостатністю вказують на кореляцію між станом ультраструктури міосимпластів і ступенем виразності венозної недостатності.

Висновки. Ультраструктурна організація міосимпластів скелетних м'язів нижніх кінцівок хворих із хронічною венозною недостатністю порушена в 65–80 % випадків, і виразніші ці порушення у пацієнтів з хронічною венозною недостатністю С4–С5. Зміни субмікроскопічної архітекtonіки органел свідчать про зниження скорочувальних можливостей міосимпластів — ймовірної причини зниження швидкості кровоплину у венах нижніх кінцівок, що є додатковим чинником розвитку хронічної венозної недостатності.

Ключові слова: ультраструктура міосимпластів, гіпоксія, хронічна венозна недостатність, мітохондріальна дисфункція.

Ultrastructure of skeletal muscles of lower limbs in patients with chronic venous insufficiency

V.V. Boyko, V.P. Nevzorov, V.A. Prasol, O.F. Nevzorova, K.O. Rudenko

SI «Institute of General and Emergency Surgery of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

The purpose – to study the features of the submicroscopic organization of skeletal muscle myosimplasts in patients with chronic venous insufficiency.

Materials and methods. Changes in submicroscopic architectonics of skeletal muscles of lower limbs in 65 patients with chronic venous insufficiency.

Results and discussion. The results of electron-microscopic study have shown that the ultrastructural organization of myosimplasts has degenerative changes. The mitochondria were exposed to the most severe violations, which indicates mitochondrial dysfunction. These identified changes in the ultrastructure of myosimplasts of skeletal muscles of lower limbs at patients with chronic venous insufficiency indicate the existence of a correlation between the state of ultrastructure of myosimplasts and the degree of venous insufficiency.

Conclusions. The ultrastructural organization of skeletal muscles myosimplasts of the lower limbs in patients with chronic venous insufficiency has disturbances in 65–80 % of cases and these disturbances are more pronounced in patients with chronic venous insufficiency C4–C5. Changes in the submicroscopic architectonics of organelles show a decrease in contractile capacity of myosimplasts. That is the likely reason for the decrease of blood flow in the veins of lower limbs, which is an additional factor contributing to the development of chronic venous insufficiency.

Key words: ultrastructure of myosimplasts, hypoxia, chronic venous insufficiency, mitochondrial dysfunction.