

УДК 616-089.5-031.81/.83-02:616.1

КАРПОВИЧ Д.И., НЕВЗОРОВ В.П., НЕВЗОРОВА О.Ф.
ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины», г. Харьков

ДИНАМИКА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИОСИМПЛАСТОВ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ БОЛЬНЫХ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПОСЛЕ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ

Резюме. Исследование ультраструктурной организации миосимпластов скелетных мышц у больных с поражением артерий подколенно-голеностопного сегмента нижних конечностей, осложненным критической ишемией, выявило наличие дистрофических изменений миосимпластов, перерастающих в деструктивную фазу.

В основе нарушений лежит развивающаяся митохондриальная дисфункция, которая существенно снижает сократительные способности миосимпластов.

После реваскуляризации конечности в сочетании с комплексной терапией ультраструктурная организация миосимпласта приобретает в основном типичное строение. В саркоплазме присутствуют хорошо развитые митохондрии с большим количеством крист, мембраны саркоплазматического ретикулума и Т-системы, а также большое количество гранул гликогена, полисом и рибосом.

Ключевые слова: ультраструктура миосимпластов, ишемия нижних конечностей, митохондриальная дисфункция.

Введение

Хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей (НК), по данным Всемирной организации здравоохранения, страдает от 5 до 15 % населения [1, 2]. По частоте поражения артерий НК первое место занимает облитерирующий атеросклероз [3]. У 20–30 % больных через 5–7 лет после начала заболевания развивается критическая ишемия нижних конечностей (КИНК) [4]. По другим данным, критическая ишемия развивается в 35–64,7 % случаев [5, 6].

Переход заболевания в стадию критической ишемии приводит к ухудшению состояния конечности, а вероятность ее сохранения в течение ближайшего года значительно уменьшается.

КИНК соответствует III и IV стадии хронических облитерирующих заболеваний по классификации R. Fontaive и A.V. Покровского [7], а критериями ишемии являются: выраженные боли в икроножных мышцах в покое давностью более двух недель без физической нагрузки, усиливающиеся ночью и связанные с изменением положения тела и недостаточным притоком крови в ишемизированных участках конечности; регионарное систолическое давление на лодыжке 50 мм рт.ст. или ниже; наличие трофических изменений тканей (трофические язвы и некрозы пальцев стопы); значение чрескожного парциального напряжения кислорода (T_cPO_2) в положении лежа в 1-м межпальцевом промежутке 30 мм рт.ст. и ниже [8].

Таким образом, в патогенезе тяжелых ишемических расстройств существенную роль играют три основных, тесно связанных между собой фактора: гемодинамические расстройства в крупных магистральных артериях, депрессия микроциркуляции, нарушение тканевого метаболизма, где основное значение отводится нарушению процесса утилизации кислорода тканями [9]. Преобладание в развитии тяжелой ишемии одного из трех патогенетических факторов приводит, по-видимому, к развитию различных вариантов течения КИНК. Кроме того, при КИНК происходят трофические нарушения мягких тканей, костной структуры и костно-мозгового кровообращения, также нарушается внутрикостное давление, увеличивается продукция костного мозга и эритропоэтина, снижается костная масса поврежденной конечности до 47 %, происходят дисфункция эндотелия, активизация окисления липидов, депрессия антиоксидантной защиты, изменяются возможности развития коллатерального русла глубокой артерии бедра и подколенной артерии [10].

Целью данной работы является выявление особенностей субмикроскопической архитектоники миосимпластов скелетных мышц нижних конечностей больных с поражением артерий подколенно-голено-

© Карпович Д.И., Невзоров В.П., Невзорова О.Ф., 2014

© «Медицина неотложных состояний», 2014

© Заславский А.Ю., 2014

стопного сегмента на фоне критической ишемии до и после хирургического лечения.

Материал и методы

Материал, представленный для электронно-микроскопического исследования, был разделен на следующие группы.

В первую группу входили биоптаты, взятые субоперационно у больных с поражением артерий подколленно-голеностопного сегмента нижних конечностей, осложненным критической ишемией. Вторую группу составили биоптаты скелетных мышц, взятые у больных на 10-е сутки после проведения оперативного лечения. В третьей группе изучались материалы, взятые у больных на 15-е сутки после хирургического лечения.

Кусочки ткани скелетных мышц, иссеченные для электронно-микроскопического исследования, помещали для предварительной фиксации в 2,5% забуференный раствор глутарового альдегида на 3–5 часов при температуре 4–5 °С. После окончания предварительной фиксации кусочки ткани промывали в буферном растворе. Окончательную фиксацию проводили в 1% забуференном растворе четырехоксида осмия в течение 2–3 часов при температуре 4 °С. Ткань обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали смесью эпоксидных смол (эпон-аралдит) и заключали в блоки по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С в течение 2 суток.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УМП-3 изготавливали ультратонкие срезы, которые после контрастирования цитратом свинца изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

Результаты и обсуждение

При электронно-микроскопическом исследовании материалов первой группы выявлены изменения миосимпластов как дистрофического, так и деструктивного характера.

Миофибриллы располагались параллельными рядами и заполняли значительную часть саркоплазмы. Сохранялась четко выраженная поперечная исчерченность. В промежутках между миофибриллами располагалось небольшое количество рибосом, полисом и гранул гликогена.

Подавляющее количество миосимпластов содержали деструктивно измененные органеллы. Ядра миосимпластов сохраняли вытянутую форму, однако матрикс их был сильно просветлен. Наблюдается конденсация хроматина, гранулы которого, собранные в глыбки, концентрировались преимущественно вдоль ядерной мембраны. В других отделах ядра гранулы деконденсированного хроматина диффузно распределялись по площади среза. В матриксе ядра обнаруживались электронно-прозрачные участки кариоплазмы. Ядерная мембрана была разрыхлена и содержала многочисленные очаги лизиса. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены и заполнены электронно-прозрачной субстанцией.

В перинуклеарном отделе миосимпласта практически отсутствовали гранулы гликогена, цистерны саркоплазматической сети, митохондрии и вакуоли Т-системы. Саркоплазма в этой области миосимпласта содержала бесструктурную аморфную субстанцию низкой электронной плотности (рис. 1 а).

Довольно часто в этом отделе миосимпласта обнаруживались миелиноподобные структуры, вторичные лизосомы, включения липидов и фрагментированные мембраны саркоплазматического ретикула.

В промежутках между пучками миофибрилл локализовались сильно набухшие митохондрии округлой формы митохондрии с электронно-прозрачным матриксом, кристы которых подвержены лизису. Матрикс митохондрий представлял собой грубоволокнистую субстанцию средней электронной плотности. Наружная мембрана имела множество очагов разрыхления и лизиса (рис. 1 б).

Миофибриллы хотя и сохраняли регулярную ориентацию и поперечную исчерченность, однако были сильно истончены.

Промежутки между ними заполнены единичными митохондриями, небольшим количеством гранул гликогена, электронно-прозрачными цистернами саркоплазматической сети и вакуолями Т-системы. В отдельных миосимпластах наблюдалась фрагментация мембран саркоплазматической сети. Саркоплазматическая мембрана была разрыхленной, осмиофильной и содержала очаги лизиса (рис. 1 в).

Через 10 суток изменения носили двоякий характер. Значительное количество миосимпластов имели субмикроскопическую организацию, характерную для течения компенсационно-адаптационных процессов.

Ядра миосимпластов сохраняли свою обычную локализацию в миосимпласте и форму, однако имели умеренно просветленный матрикс. Перинуклеарные пространства были умеренно и равномерно расширены, ядерная мембрана четко контурирована, очаги деструкции ее отсутствовали. Иногда наблюдались мелкие очаги разрыхления и утолщения ядерной мембраны. Ядерный хроматин в основном находился в деконденсированном состоянии, и лишь небольшое количество глыбок конденсированного хроматина локализовалось на внутренней мембране ядерной оболочки. Сохраняются пузырьковидные расширения перинуклеарного пространства.

Степень набухания митохондрий существенно снижается относительно предыдущей группы. Увеличивается количество митохондрий и крист в них, однако матрикс их сохраняет низкую электронную плотность. Некоторые митохондрии обладали электронно-прозрачным матриксом и содержали единичные дезорганизованные кристы. Сохраняется умеренное разрыхление наружных мембран и крист митохондрий.

Саркоплазматический ретикулум развит хорошо и представлен в виде множества электронно-прозрачных мелких вакуолей. Пространства между пучками миофибрилл заполнены большим количеством гранул гликогена, рибосом и полисом.

Включения липидов и миелиноподобные структуры в саркоплазме миосимпластов отсутствовали.

Наряду с этим отдельные миосимпласты содержали пучки миофибрилл, отстоящие друг от друга на значительные расстояния. Пространства между миофибриллами имели очень низкую электронную плотность и были заполнены небольшим количеством рибосом и полисом. В этих миосимпластах обнаруживались в небольшом количестве митохондрии

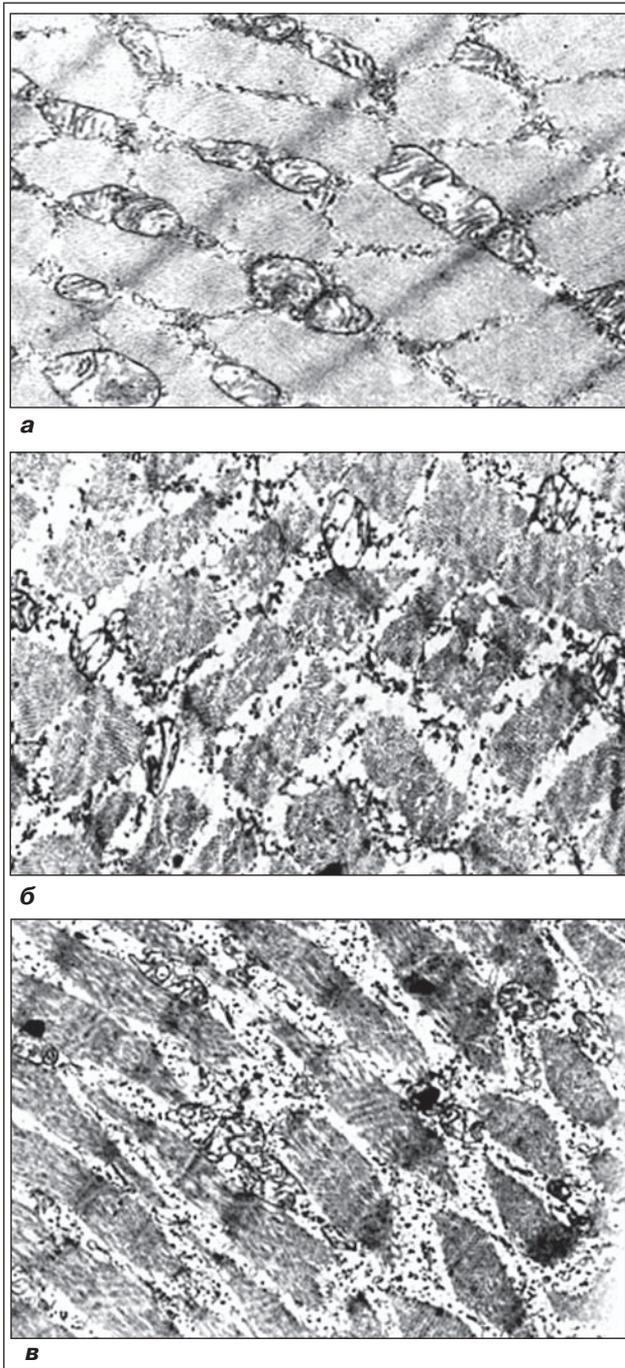


Рисунок 1. Ультраструктура миосимпластов скелетных мышц больных с критической ишемией нижних конечностей до проведения ревазуляризации: а — параллельное расположение крист митохондрий, $\times 32\ 000$; б — просветление саркоплазмы, $\times 30\ 000$; в — истончение и разрыхление миофибрилл, $\times 32\ 000$

с очагово лизированными наружными мембранами и кристами. Матрикс митохондрий электронно-прозрачный (рис. 2 а).

Цистерны саркоплазматического ретикулума были сильно расширены и заполнены электронно-прозрачной субстанцией. Мембраны саркоплазматической сети имели множество очагов лизиса (рис. 2 б).

Встречаются миосимпласты, значительная часть органелл и внутриклеточных мембран которых подвержена мелкоочаговому лизису.

Значительная часть миосимпластов имела типичную субмикроскопическую организацию. Ядра миосимпласта приобретали типичную форму без инвагинации ядерной мембраны. Практически отсутствовали очаги лизиса ядерной мембраны. Сохранялась умеренно выраженная конденсация хроматина. Митохондрии миосимпласта располагались в промежутках между пучками миофибрилл, имели мелкогранулярный матрикс и достаточно большое количество крист. Очаги лизиса наружных мембран и крист митохондрий не выявлялись. Цистерны саркоплазматического ретикулума и Т-системы оставались расширенными, и содержимое их сохраняло низкую электронную плотность. В саркоплазме присутствовали многочисленные гранулы гликогена, рибосомы и полисомы. Саркоплазматическая мембрана имела типичное строение и не содержала очагов разрыхления и лизиса.

На 15-е сутки после ревазуляризации у больных в ультраструктурной организации миосимпластов наблюдались определенные положительные субмикроскопические перестройки. Ядра миосимпласта приобретали более или менее типичное строение. Гранулы деконденсированного хроматина ядра диффузно распределяются по площади среза ядра. Ядерная мембрана четко контурировалась. Сохранялось умеренное расширение перинуклеарного пространства. В перинуклеарной зоне саркоплазмы наблюдается увеличение количества органелл общего назначения, а также свободно лежащих рибосом, полисом и гранул гликогена.

Возрастает количество митохондрий, матрикс которых приобретает среднюю электронную плотность и мелкозернистую структуру. Существенно увеличивается количество крист, они приобретают типичную ориентацию. Деструкции крист и наружных мембран митохондрий отсутствовали.

Пучки миофибрилл располагаются параллельными рядами и имеют четкую поперечную исчерченность. Между пучками миофибрилл располагаются многочисленные рибосомы, полисомы и гранулы гликогена. В отдельных миосимпластах миофибриллы довольно тесно соприкасаются друг с другом (рис. 3).

Цистерны саркоплазматического ретикулума представлены в виде уплощенных вакуолей, заполненных мелкогранулярной субстанцией средней электронной плотности.

Заключение

Проведенное электронно-микроскопическое исследование ультраструктурной организации миосим-

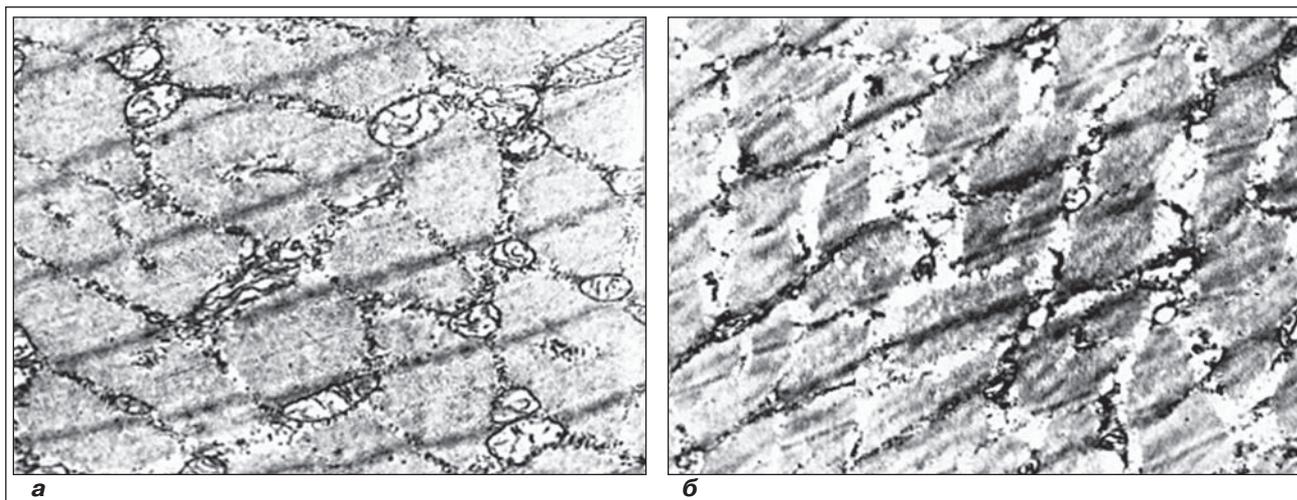


Рисунок 2. Ультраструктура миосимпласов скелетных мышц больных с критической ишемией нижних конечностей через 10 суток после проведения реваскуляризации: а — очаговый лизис мембран митохондрий и крист, $\times 34\ 000$; б — очаги разрывления и лизиса мембран саркоплазматической сети, $\times 33\ 000$

пластов скелетных мышц у больных с поражением артерий подколенно-голеностопного сегмента на фоне критической ишемии нижних конечностей показало наличие крайней степени развития дистрофических нарушений внутриклеточных структур, зачастую перерастающих в деструктивную фазу.

Изменения структуры митохондрий свидетельствуют о нарушении прежде всего биоэнергетических внутриклеточных процессов и окислительно-восстановительных реакций, что структурно подтверждается уменьшением количества крист митохондрий, и снижении электронной плотности матрикса. Эти изменения можно оценивать как развивающуюся митохондриальную дисфункцию, следствием которой является снижение сократительных возможностей миосимпласта.

Значительное количество миосимпласов имели ультраструктурную организацию, характерную для ярко выраженных деструктивных нарушений, таких

как очаговый лизис ядерной мембраны, наружной мембраны и крист митохондрий, истончение и разрыхление миофибрилл.

Появление в саркоплазме миелоноподобных структур свидетельствует о нарастании дегенеративных нарушений органелл. Нарушения субмикроскопической архитектоники изученных миосимпласов в виде конденсации хроматина, очагового лизиса ядерной мембраны, наружных мембран и крист митохондрий, истончения пучков миофибрилл и потери поперечной исчерченности свидетельствовали о преобладании катаболических внутриклеточных процессов.

На 10-е сутки после проведения хирургического лечения и купирования явлений критической ишемии конечности ядра миосимпласта приобретали типичную структуру и локализацию. Гранулы хроматина диффузно распределялись по площади среди ядра. Перинуклеарные пространства сохраняли постоянную ширину.

Обращает на себя внимание существенное увеличение количества крист в митохондриях. Матрикс митохондрий приобретает мелкозернистое строение и среднюю электронную плотность.

В перинуклеарной области отдельных миосимпласов обнаруживались скопления митохондрий, тесно соприкасающихся друг с другом. Многочисленные кристы приобретали параллельную ориентацию. В области скоплений митохондрий локализуется большое количество рибосом, полисом и гранул гликогена.

Эти ультраструктурные перестройки миосимпласов свидетельствуют об активации метаболических процессов. Структурным подтверждением повышения метаболической и репаративной активности органелл миосимпласта является и возрастание количества гранул гликогена, рибосом и полисом в саркоплазме.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование субмикроскопического строения миосимпласов скелетных мышц конечностей больных с критической ишемией на 15-е сутки после хирургиче-

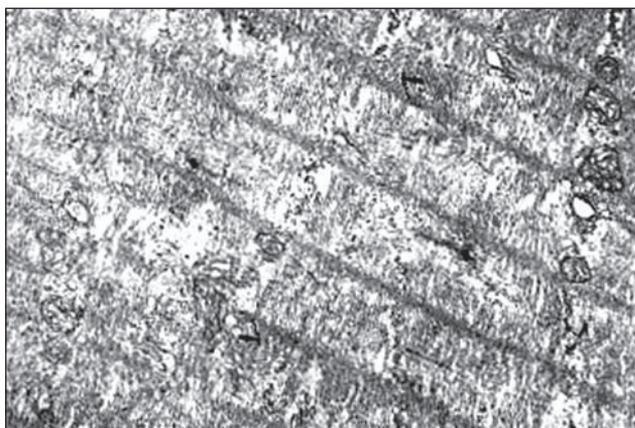


Рисунок 3. Ультраструктура миосимпласов скелетных мышц больных с критической ишемией нижних конечностей через 15 суток после проведения реваскуляризации. Увеличение числа рибосом, полисом и гранул гликогена в саркоплазме, типичная ультраструктурная организация митохондрий, $\times 30\ 000$

ческого лечения выявило положительную динамику ультраструктурных перестроек.

Эти перестройки касаются прежде всего митохондрий, органелл, ответственных за обеспечение нормальной и адекватной внутриклеточной биоэнергетики. В них увеличивается количество крист, что свидетельствует о повышении активности окислительно-восстановительных реакций.

В саркоплазме миосимпластов увеличивается количество гранул гликогена, что способствует адекватному метаболизму и обеспечению высокого уровня сократительной способности миосимпластов.

Выводы

1. Проведенное электронно-микроскопическое исследование ультраструктурной организации миосимпластов скелетных мышц у больных с поражением артерий подколенно-голеностопного сегмента нижних конечностей, осложненным критической ишемией, показало наличие крайне высокой степени развития дистрофических изменений внутриклеточных структур, зачастую перерастающих в деструктивную фазу.

2. Изменения структуры митохондрий свидетельствуют о нарушении прежде всего биоэнергетических внутриклеточных процессов и окислительно-восстановительных реакций, что структурно подтверждается резким уменьшением количества крист митохондрий, а также снижением электронной плотности их матрикса. Эти нарушения можно оценивать как развивающуюся митохондриальную дисфункцию, следствием которой является снижение сократительных возможностей миосимпласта.

3. Следует отметить, что выявленные изменения субмикроскопической организации миосимпластов находятся в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми.

4. После реваскуляризации конечности в сочетании с комплексной терапией ультраструктурная организация миосимпласта приобретает в основном типичное строение. В саркоплазме присутствуют хорошо развитые митохондрии с большим количеством крист, мембраны саркоплазматического ретикулума и Т-системы, а также большое количество гранул гликогена, полисом и рибосом. Описанные перестройки субмикроскопических структур миосимпласта свидетельствуют о повышении репаративной и метаболической активности внутриклеточных структур.

Список литературы

1. Бокерия Л.А. Сердечно-сосудистая хирургия — 2009 / Л.А. Бокерия, Л.А. Гудкова. — М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2010. — 29 с.
2. Покровский А.В. Клиническая ангиология: В 2 т. / А.В. Покровский. — М.: Медицина, 2004. — Т. 1. — 808 с.
3. Olin J.W. Peripheral artery disease: current insight into the disease and its diagnosis and management / J.W. Olin, B.A. Sealove // Mayo Clin. Proc. — 2010. — V. 85. — № 7. — P. 78-92.
4. Бокерия Л.А. Хирургическое лечение больных с первичной критической ишемией нижних конечностей / Л.А. Бокерия, М.Б. Темрезов, В.И. Коваленко и др. // Анналы хирургии. — 2010. — № 1. — С. 16-20.
5. Савельев В.С. Критическая ишемия нижних конечностей: определения понятия и гемодинамическая характеристика / В.С. Савельев, В.М. Кошкин, А.В. Каралкин и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. — 1996. — № 3. — С. 84-90.
6. Luther M.A. A case for an aggressive reconstruction policy for CLI // Ann. Chir. Gynaecol. — 1998. — Т. 87(2). — P. 149-152.
7. Покровский А.В. Вазопростан в лечении критической ишемии нижних конечностей / А.В. Покровский, В.М. Кошкин, В.И. Коваленко. — М., 1995. — 16 с.
8. Российский консенсус «Диагностика и хирургическое лечение пациентов с критической ишемией нижних конечностей». — М., 2001.
9. Лосев Р.З. Оценка тяжести артериальной недостаточности культы нижних конечностей // Ангиология и сосудистая хирургия. — 1995. — № 3. — С. 119-124.
10. Пиптюк О.В. Обґрунтування класифікації хронічної критичної ішемії нижніх кінцівок / О.В. Пиптюк, С.М. Геніл // Серце і судини. — 2006. — № 4 (додаток). — С. 375-381.

Получено 29.10.14 ■

Карпович Д.І., Невзоров В.П., Невзорова О.Ф.
ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії НАМН
України», м. Харків

ДИНАМІКА УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН МІОСИМПЛАСТІВ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ХВОРИХ ІЗ КРИТИЧНОЮ ІШЕМІЄЮ НИЖНІХ КІНЦІВОК ПІСЛЯ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦІЇ

Резюме. Дослідження ультраструктурної організації миосимпластів скелетних м'язів у хворих із ураженням артерій підколінно-гомілковостопного сегмента нижніх кінцівок, ускладненим критичною ішемією, виявило наявність дистрофічних змін миосимпластів, що переростають у деструктивну фазу.

В основі порушень лежить митохондриальна дисфункція, що розвивається, яка суттєво знижує скорочувальні здібності миосимпластів.

Після реваскуляризації кінцівки в поєднанні з комплексною терапією ультраструктурна організація миосимпласта набуває в цілому типової структури. У саркоплазмі присутні добре розвинуті митохондрії з великою кількістю крист, мембрани саркоплазматичного ретикулума та Т-системи, а також велика кількість гранул глікогену, полісом і рибосом.

Ключові слова: ультраструктура миосимпластів, ішемія нижніх кінцівок, митохондриальна дисфункція.

Karpovich D.I., Nevzorov V.P., Nevzorova O.F.
State Institution «Institute of General and Emergency Surgery
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»,
Kharkiv, Ukraine

DYNAMICS OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN MYOSYMPASTS SKELETAL MUSCLES OF PATIENTS WITH CRITICAL LOWER LIMB ISCHEMIA AFTER REVASCULARIZATION

Summary. Study of the ultrastructural organization of myosymplasts of skeletal muscles in patients with arterial lesions of popliteal and talocrural segment of the lower limbs, complicated by critical ischemia, revealed the presence of degenerative changes in myosymplasts developing into a destructive phase.

Developing mitochondrial dysfunction, which significantly reduces the contractile ability of myosymplasts, underlies violations.

After limb revascularization combined with comprehensive therapy, ultrastructural organization of myosymplast gets basically typical structure. The sarcoplasm contains well-developed mitochondria with many cristae, membranes of the sarcoplasmic reticulum and T-system, as well as a large number of glycogen granules, polysomes and ribosomes.

Key words: ultrastructure of myosymplasts, lower limb ischemia, mitochondrial dysfunction.