

УДК 616.018+616-002.3+616.43

С. М. Василюк¹
С. А. Кримець²

¹ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»,
²Міська клінічна лікарня № 1 м. Івано-Франківська

ГІСТОЛОГІЧНА ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛАСНИХ М'ЯЗІВ СТОПИ ТА ЇХ АНГІОНЕВРАЛЬНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ У ХВОРИХ НА СИНДРОМ ДІАБЕТИЧНОЇ СТОПИ УСКЛАДНЕНИЙ ІНФІКОВАНИМИ ВИРАЗКАМИ

Ключові слова: синдром діабетичної стопи, інфікована виразка, тканини стопи, гістологічні зміни, ультраструктурні зміни.

Резюме. Проведено гістологічне та ультраструктурне одномоментне дослідження тканин стопи 42 хворих синдромом діабетичної стопи II–IV ст. за Meggit-Wagner. Критеріями включення в дослідження були цукровий діабет типу 2 та наявність виразкового дефекту тканин стопи. Критеріями виключення: цукровий діабет типу 1, критична ішемія кінцівки, гострі ускладнення цукрового діабету, туберкульоз, СНІД. Метою дослідження було оцінити гістологічні та ультраструктурні зміни м'язових волокон, нервових закінчень та судин мікроциркуляторного русла дистальних відділів нижніх кінцівок у пацієнтів із синдромом діабетичної стопи, ускладненнями інфікованими ранами різного ступеня тяжкості. Установлено, що для синдрому діабетичної стопи, незалежно від ступеня важкості ранового процесу характерні фазні морфологічні зміни, які свідчать про особливу чутливість скелетних м'язів до порушень вуглеводного обміну, що супроводжувалося відповідними змінами мікрогемосудин і нервова-м'язових закінчень. В цілому, відокремили декілька стадій цих змін: первинно-компенсаторну стадію, при якій була перебудова та незначні деструктивні зміни нервова-м'язових закінчень за вираженого порушення умов мікроциркуляції; стадію вторинно-гіпотрофічних реакцій, яка проявлялася деструктивними змінами нервова-м'язових закінчень м'язових волокон на фоні різкого зниження кількості функціонуючих гемокапілярів і стадію виснаження з порушенням тонкої архітектоники нервова-м'язових закінчень, різким зниженням просвіту гемокапілярів та їх тромботизацією.

Вступ

Понад 3 млн. смертей в рік пов'язані з цукровим діабетом, що робить це захворювання п'ятою за значимістю причиною смерті в усьому світі [7]. При глобальній оцінці поширеності цукрового діабету в 2030 році, за прогнозами, в світі хворітимуть на цю недугу до 366 мільйонів осіб [8]. Враховуючи великий ризик інвалідності і смертності серед хворих на цукровий діабет, ця патологія вважається однією з основних загроз для здоров'я людини 21-го століття [7].

Найбільш тяжким пізнім ускладненням цукрового діабету є Синдром діабетичної стопи (СДС). В половині випадків СДС закінчується ампутацією однієї чи обох кінцівок виникаючи у 80 % пацієнтів через 15 – 20 років від початку захворювання на цукровий діабет [5]. Підрахова-

но, що 80 % високих ампутацій нижніх кінцівок передують наявності виразкового дефекту на ногах. Саме тому запобігання розвитку виразок на ногах у хворих цукровим діабетом знижує частоту високі ампутації ноги на 49 – 85 % [6]. Висока теперівитратна витрати і низька якість життя в результаті ампутації нижніх кінцівок це найбільш серйозним наслідком захворювання, які становлять значну частину матеріальних витрат як пацієнта так і держави.

Одними із факторів патогенезу тривало незагоєних ран шкіри нижньої кінцівки при синдромі діабетичної стопи є мікроангіопатія, що супроводжується порушенням мікроциркуляції, ішемічним пошкодженням та порушенням бар'єрної властивості шкірного покриву. [1] Визначена провідна роль нейропатії в розвитку більшості виразкових

дефектів стоп, що характеризуються хронічним перебігом, схильністю до рецидивування та порушеному загоєнню внаслідок супутньої нейропатичної мікроциркуляторної дисфункції й ряду інших причин [2].

Ефективність хірургічного лікування синдрому діабетичної стопи на даний час є доволі низькою. Це пояснюється мультифакторністю генезу захворювання, що ускладнює контроль за перебігом ранового процесу, медикаментозний та операційний вплив на нього. [4]. Зустрічаються у 10 – 30% хворих на цукровий діабет, СДС зумовлений розвитком остеоартропатії, ангіопатії та поліневропатії. В лікуванні синдрому діабетичної стопи існує багато невирішених і суперечливих питань, продовжується пошук ефективних заходів впливу на його патогенетичні ланки. Тому прогноз у цієї категорії хворих є несприятливим, через високу частоту розвитку інфікованих виразок, які погано гояться і стають причиною високої ампутації кінцівки та інвалідизації пацієнта [3].

Мета дослідження

Оцінити гістологічні та ультраструктурні зміни м'язових волокон, нервових закінчень та судин мікроциркуляторного русла дистальних відділів нижніх кінцівок у пацієнтів із синдромом діабетичної стопи, ускладненим інфікованими ранами різного ступеня тяжкості.

Матеріал і методи

Нами було проведено гістологічне та ультраструктурне одномоментне дослідження тканин стопи 42 хворих на синд--ром діабетичної стопи II-IV ст. за Meggit-Wagner. Критеріями включення у дослідження були: ЦД типу 2, наявність виразкового дефекту тканин стопи. Критеріями виключення: ЦД типу 1, критична ішемія кінцівки, гострі ускладнення цукрового діабету, туберкульоз, СНІД. Глибока виразка, з пошкодженням шкіри, підшкірної основи, м'язових тканин, сухожилків, з остеомиєлітом або септичним артритом (II ст. за Meggit-Wagner) зустрічалась у 15 хворих, III ст. (глибока виразка з пошкодженням сухожилків, кісток, обмеженою гангrenoю) діагностували також у 15 пацієнтів. Виразковий дефект із локальною гангrenoю, яка уражала палець чи дистальну 1/3 стопи (IV ст.) діагностували у 12 випадків.

Для гістологічного дослідження висікали шматочки м'язової тканини в початковому, середньому і кінцевому відділах власних м'язів стопи. Поздовжні і поперечні зрізи товщиною 6-8 мкм фарбували по методу Кульчицького – для виявлення мієлінової оболонки, Массона – для забар-

влення аксонів МНВ, Маркі – для виявлення дегенеративних змін в мієлінових оболонках. Безін'єкційні способи вивчення нервово-м'язових закінчень та кровоносних судин власних м'язів стопи проводили для поєднаного виявлення нервових елементів і кровоносних судин і використовували методику Ю. П. Мельмана і М. В. Долішнього. Матеріал для електронно-мікроскопічного дослідження забирали під час проведення оперативного втручання, після попередньо отриманої згоди пацієнта. Після підготування блоків і проведення їхньої заточки для напівтонких зрізів, проводили світлооптичне дослідження внутрішньостовбурових кровоносних судин і нервових волокон. Після цього з відібраної ділянки тканини готували зрізи на ультрамікротомі УМТП-6М і «TESLA BS-492» для послідовного вивчення під електронним мікроскопом марки ПЭМ-125 К з прискорюючою напругою 75 кВ. На отриманих мікрофотографіях з серійних зрізів гістопрепаратів власних м'язів стопи з зображенням калібрувальної лічильної сітки проводили підрахунок кількості МНВ і НМЗ. Радіус зон васкуляризації і діаметр просвіту кровоносних судин виміряли за допомогою окулярної мікроскопічної лінійки. Цифрові дані обробляли за допомогою програми «Stastica-5».

Обговорення результатів дослідження

Кількісний аналіз м'язових волокон у пацієнтів з II ст. СДС за Meggit-Wagner показав, що у м'язах стопи середній діаметр FOG м'язових волокон зменшувався на 19,2 %, FG м'язових волокон – на 14,0 % і в SO м'язових волокон – на 11,1 %. Що стосується загальної кількості м'язових волокон, то в м'язах стопи вона зменшувалась на 14,9 % ($p < 0,05$). При цьому найбільший дефіцит спостерігався з боку FG м'язових волокон (46,0 %), тоді як SO м'язові волокна зменшувались тільки на 2,6 %. На ультраструктурному рівні деструктивні зміни характеризувалися фрагментацією міофібрил. В цілому ряді FOG- і FG- м'язових волокон найбільш вразливими структурами були мітохондрії, в яких майже повністю руйнувалися кристи, просвітлювався матрикс, що свідчило про розбалансування системи енергозабезпечення м'язових волокон. Стереологічний аналіз показав, що відносний об'єм міофібрил продовжував зменшуватися, в залежності від тяжкості ранового процесу стопи Поверхнева щільність міофібрил зменшувалась на 18,1 %. Непропорційні зміни поверхнево-об'ємних характеристик міофібрил призводили до зменшення їхнього поверхнево-об'ємного відношення на 28,6%. Відносний об'єм і поверхнева щільність мітохондрій знижувалась

відповідно на 17,4 % і 28,9 % Поверхнево-об'ємне відношення мітохондрій при цьому зменшувалось на 14,0 %, що свідчило про набухання цих органел. Непропорційні зміни об'ємної щільності мітохондрій, відносного об'єму міофібрил обумовлювали зниження об'ємного відношення мітохондрій до міофібрил на 28,4%.

У хворих із III ст. СДС за Meggit-Wagner відбувалось посилення репресивного впливу гіперглікемії на м'язові волокна. Так, в м'язах стопи дефіцит діаметру м'язових волокон був більший, ніж на попередньому етапі захворювання і складав 38,6% у FOG MB, 24,5 % у FG м'язові волокна, та тільки 7,5 % в SO MB ($p < 0,05$). Абсолютна кількість м'язових волокон зменшувалась на 11,2 %. При гістохімічному дослідженні FOG м'язові волокна виявляється на 5,5 % менше, FG м'язові волокна – на 37,8 % ($p < 0,05$). Зменшення кількості SO м'язових волокон становила тільки 0,75 % ($p > 0,05$). Виявлялися м'язові волокна, які зазнали коліквацийного некрозу. Виникали множинні розриви сарколеми та, інколи, частковий вихід мітохондрій в інтерстиціальний простір. Просвітлена набрякла саркоплазма була позбавлена глікогену, рибосом. Поодинокі мітохондрії знаходилися на різних стадіях дегенерації, з фрагментами міофібрил, які розпадалися. Розпад м'язових волокон завершувався, в основному, за участю макрофагів, однак при коліквацийному некрозі волокна, макрофагальна реакція строми м'язів була відсутня. При морфометричному дослідженні скелетних м'язів після у пацієнтів з IV ст. СДС за Meggit-Wagner загальна кількість м'язових волокон зменшувалась до критичних показників. При цьому, в м'язах стопи найбільшою мірою (66,9 %) зменшувалась кількість FG м'язових волокон. Відмічається також інтенсивна атрофія м'язових волокон інших фенотипів. В м'язах стопи діаметр FG- і SO м'язових волокон зменшувався відповідно на 20,1% та 6,5 %. У цієї категорії хворих практично у всіх м'язових волокнах відбувалося розрихлення протофібрил, пов'язане з масовим розпадом Z-ліній. Однак головною патологічною ознакою був лізис великих ділянок міофібрилярного апарату в FOG і FG- м'язових волокон, внаслідок чого відбувається «оголення» саркоплазматичного матриксу. В ультраструктурній організації аксом'язових синапсів відбувалася певна перебудова, яка пов'язана, із зменшенням площі поперечного перетину термінальних розгалужень аксону. Вище зазначені зміни найбільш характерні для аксом'язових синапсів FOG та FG м'язових волокон. При цьому периметр окремих терміналей в SO м'язових волокон зменшувався на 36,0 %, тоді як в FOG і FG м'язових волокнах цей показник ста-

новив відповідно 35,0 % і 44,0 % ($p < 0,01$). У цих пацієнтів скорочувалась довжина синаптичного контакту: у FOG і FG м'язових волокнах відповідно на 43,9 % і 50,1 %, в SO м'язових волокнах тільки на 39,2 %. Еферентні нервові волокна зазнавали глибоких деструктивних змін. По-перше порушувалась бар'єрна функція ендоневральної оболонки в результаті пошкодження елементарних мембран в клітинах фібробластичного ряду. По-друге, суттєвих змін зазнавали аксоннейролемоцитні стосунки, що було обумовлено розпадом мієлінових пластин, гомогенізацією ядерної речовини в ядрах нейролемоцитів, зморщуванням аксонів та філаментозною деструкцією аксоплазми.

У пацієнтів із IV ст. СДС за Meggit-Wagner виникало збільшення відстані між гемокапілярами в ділянці деструкції більшості нервово-м'язових закінчень. При імпрегнації за Більшовським-Грос виявлялися примітивної форми тонкі терміналі, які на нашу думку, необхідно відносити до, так званих, вторинних розгалужень рухових аксонів. Їхня площа складала $156,1 \pm 18,54$ мкм², що на 59,0% менше за показники, які спостерігалися у пацієнтів, із II ст. СДС за Meggit-Wagner Виявлялися масову атрофія аксонів та суттєва дезінтеграція мієлінової оболонки у внутрішньом'язових еферентних волокнах, особливо їх претермінальних відділів. Електронно-оптична щільність аксоплазми в атрофованих аксонах різко знижувалась, при цьому виявлялися тільки поодинокі нейрофіламенти, мікротрубочки були відсутні.

У хворих на СДС II ст. за Meggit-Wagner у яких тривалість цукрового діабету не перевищувала 3 років спостерігалось звуження просвіту артеріальних та розширення венозних судин, збільшення кількості функціонуючих артеріоло-венозних анастомозів. Через це відмічали зменшення кількості внутрішньом'язових гемокапілярів та їх сумарної ємкості відповідно на 46,9% ($p < 0,01$) та 24,6% ($p < 0,05$).

При електронно-мікроскопічному дослідженні встановлено, що в артеріолах структурні зміни полягали у зменшенні їх просвіту, затримці клітинних елементів крові, збільшенні електронно-оптичної щільності цитоплазми ендотеліоцитів і гладких міозитів. Просвіт більшості мікрогемосудин був переповнений еритроцитами. Стінки гемокапілярів різко витонщувались, в ядрах більшості ендотеліоцитів відбувалася маргінальна конденсація хроматину і нерівномірне збільшення перинуклеарного простору.

У хворих на III ст. СДС за Meggit-Wagner характерною рисою кровоносного русла було помітне зменшення діаметру просвіту всіх складових компонентів його артеріальної та венозної

частин, за рахунок чого судинний рисунок м'язу розріджується. Діаметр магістральних артерій зменшувався до $90,0 \pm 10,22$ мкм, що супроводжувалось звуженням судин, що оточують НМЗ. Відбувається перекалібрування гемокапілярів в напрямку збільшення кількості судин дрібного діаметру, до $110-230 \times 55-80$ мкм зростає розмір петель внутрішньом'язової гемокапілярної сітки, що забезпечувала живлення НМЗ, зменшувалась сумарна ємкість гемокапілярного русла до $10780,0$ мм³.

Зменшувалась кількість ендотеліальних клітин за рахунок їх підвищеної десквамації. В окремих гемокапілярах виявляли ділянки базальної мембрани позбавлені ендотеліцитів. В ядрах ендотеліоцитів виявлялися явища гіперхромії, а в окремих випадках пікноз.

У пацієнтів з тяжким гнійно-некротичним процесом стопи (IV ст. за Meggit-Wagner) повністю порушувався конфігураційний мікрівірогемонасосний взаємозв'язок між цитомембранами в ендотеліально-м'язових контактах.

Висновки

1. Для синдрому діабетичної стопи, незалежно від ступеня важкості раневого процесу характерними є фазні морфологічні зміни які свідчать про особливу чутливість скелетних м'язів до розладів вуглеводного обміну, що супроводжувалось відповідними змінами мікрогемосудин і нервово-м'язових закінчень.

2. Гістологічні та ультраструктурні зміни у хворих на синдром діабетичної стопи мали певну стадійність: первинно-компенсаторну стадію при якій структурним слідом адаптації була перебудова і незначна деструктивна зміна нервово-м'язових закінчень при вираженому порушенні умов мікроциркуляції; стадію вторинно-гіпотрофічних реакцій, що проявлялася деструктивними змінами нервово-м'язових закінчень м'язових волоконна фоні різкого зниження кількості функціонуючих гемокапілярів та стадію виснаження з порушенням тонкої архітекτονіки нервово-м'язових закінчень, різким зниженням просвіту гемокапілярів, їх тромботизацією.

Перспективи подальших досліджень

Напрацювання заходів медикаментозної корекції вищенаведених змін.

Література. 1. Барінова М. Э. Зональная характеристика сосудистого русла кожи при синдроме диабетической стопы // Медицина сьогодні і завтра (Дар), 2009.- №1. – С. 35-38. 2. Микроциркуляция нижних конечностей у больных с нейропатической формой осложненного синдрома диабетической стопы / С. Д. Шаповал, И. Л. Савон, Е. Л. Зинич // Харківська хірургічна школа (Дар), 2011.- №3. – С. 151-154. 3. Шаповал С. Д. Уніфіковані принципи формування

клінічного діагнозу при цукровому діабеті – шлях до розробки клінічних протоколів та стандартів / Шаповал С. Д., Березницький Я. С., Савон І. Л., Зініч О. Л. // Сучасні медичні технології, 2010. - № 1. – С. 63 – 66. 4. Шідловський В. О. Проблемні питання в лікуванні хворих із синдромом діабетичної стопи / В. О. Шідловський, П. О. Герасимчук, І.Б.Романів // Вісник наукових досліджень, 2009.- №4. – С. 62-63. 5. Beckman T.J. Regular screening in type 2 diabetes. A mnemonic approach for improving compliance, detecting complications // Postgrad. Med. – 2004. – Vol. 115, N 4. – P. 19-20. 6. Ortegon M. / Cost-Effectiveness of Prevention and Treatment of the Diabetic Foot: A Markov analysis / M. Ortegon, W. Redekop, L. W. Niessen // Diabetes Care 2004 (4) 27:901-907. 7. Roglic G. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. / Roglic G., Unwin N., Bennett P.H., Mathers C., et al. // Diabetes Care 2005, 28(9):2130-2135. 8. Wild S. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. / Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R. et al. //Diabetes Care 2004, 27(5):1047-1053.

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЫШЦ СТОПЫ И ИХ АНГИОНЕВРАЛЬНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ, ОСЛОЖНЕННОЙ ИНФИЦИРОВАННЫМИ ЯЗВАМИ

С. М. Васильюк, С. А. Крымец

Резюме. Проведено гистологическое и ультраструктурное одномоментное исследование тканей стопы 42 больных синдромом диабетической стопы II – IV ст. по Meggit-Wagner. Критериями включения в исследование были сахарный диабет типа 2 и наличие язвенного дефекта тканей стопы. Критериями исключения: сахарный диабет типа 1, критическая ишемия конечности, острые осложнения сахарного диабета, туберкулез, СПИД. Цель исследования была оценка гистологических и ультраструктурных изменений мышечных волокон, нервных окончаний и сосудов микроциркуляторного русла дистальных отделов нижних конечностей у пациентов с синдромом диабетической стопы, осложненным инфицированными ранами разной степени тяжести. Установлено, что для синдрома диабетической стопы, независимо от степени тяжести раневого процесса характерны фазные морфологические изменения, которые свидетельствуют об особой чувствительности скелетных мышц к расстройствам углеводного обмена, что сопровождалось соответствующими изменениями микрогемососудов и нервно-мышечных окончаний. В общем, выделили несколько стадий этих изменений: первично-компенсаторную стадию при которой была перестройка и незначительные деструктивные изменения нервно-мышечных окончаний при выраженном нарушении условий микроциркуляции; стадию вторично-гипотрофических реакций, которая проявлялась деструктивными изменениями нервно-мышечных окончаний мышечных волокон на фоне резкого снижения количества функционирующих гемокапилляров и стадию истощения с нарушением тонкой архитектоники нервно-мышечных окончаний, резким снижением просвета гемокапилляров и их тромботизацией.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, инфицированная язва, ткани стопы, гистологические изменения, ультраструктурные изменения.

HISTOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF THE FOOT MUSCLES AND THEIR ANGIONEURAL PROVISION IN PATIENTS WITH DIABETIC FOOT SYNDROME COMPLICATED BY INFECTED ULCERS

S.M. Vasyliuk, S.A. Krymets

Abstract. Histological cross-sectional and ultrastructural study of the foot tissues in 42 patients with diabetic foot syn-

drome II - IV st. according to Meggit-Wagner has been carried out. Inclusion criteria were type 2 diabetes and the presence of the ulcerous defect of the foot tissues. Exclusion criteria: diabetes mellitus type 1, critical limbs ischemia, acute complications of diabetes, tuberculosis, and AIDS. The purpose of the study was to evaluate the histological and ultrastructural changes in the muscle fibers, nerve endings and blood vessels of the microcirculatory flow of the distal parts of the lower extremities in patients with diabetic foot syndrome, complicated with infected wounds of various severity. It has been established that phase morphological changes which are indicative of particular sensitivity of the skeletal muscle to the disorders of carbohydrate metabolism, accompanied by corresponding changes of the microhemovessels and neuromuscular endings are typical for the diabetic foot syndrome, regardless of the severity degree of the wound healing process. In general, several stages of these

changes have been distinguished: primary compensatory phase in which there were restructuring and minor destructive changes of neuromuscular endings at evident disturbances of microcirculation conditions; the stage of the secondary hypotrophic reactions that appeared the destructive changes of neuromuscular endings of the muscle fibers against a background of a sharp reduction in the number of functioning hemocapillaries and the stage of exhaustion with violation of fine architectonic of neuromuscular endings, a sharp gap reduction of capillaries lumen and by their thrombosis.

Keywords: diabetic foot syndrome, infected ulcer, tissue of the foot, the histological changes, ultrastructural changes.

Ivano-Frankivsk National Medical University (Ivano-Frankivsk)

Municipal Clinical Hospital №1 (Ivano-Frankivsk)

Clin. and experim. pathol.- 2013.- Vol.12, №1 (43).-P.46-50.

Надійшла до редакції 07.02.2013

Рецензент – проф. І.Ю.Полянський

© С. М. Василюк, С. А. Кримець, 2013