

ВНУТРІШНІ ХВОРОБИ

© П.Я. Боднар, 2019

УДК 616.74 – 091.8 – 02:616.147.23 – 005.6 – 06:616 – 006.6

Структурні зміни скелетних м'язів при тромбозі глибоких вен нижніх кінцівок у хворих на рак

П.Я. Боднар
bodnarpi@tdmu.edu.ua

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, Тернопіль

Реферат

Вступ. У більшості онкологічних пацієнтів тромбоемболія легеневої артерії виникає через тромбоз глибоких вен нижніх кінцівок або ж тазу. Серед найбільш вірогідних його причин виділяють: тривалу іммобілізацію пацієнтів, ендотеліальну дисфункцію, гіперкоагуляцію, зумовлену прокоагулятивною активністю пухлинних клітин, хіміотерапію, операційні втручання тощо. Водночас залишається відкритим питання участі в патогенезі гострого тромбозу глибоких вен нижніх кінцівок у онкологічних хворих структурних змін скелетних м'язів.

Мета дослідження. Оцінити структурні зміни скелетних м'язів при тромбозі глибоких вен нижніх кінцівок хворих на рак.

Матеріали та методи. Проведено світлооптичне гістологічне і поляризаційне дослідження, за стандартною методикою виготовлених і забарвлених гематоксиліном і еозином 54 некропсій скелетних м'язів, померлих від кардіопульмонального шоку хворих на рак ободової кишки. Окрім аналізу некропсій проведено гістологічне і поляризаційне дослідження біопсій скелетних м'язів та електронномікроскопічне ендотеліоцитів, отриманих із різних топографічних ділянок нижньої кінцівки при 12 операціях з приводу гострого висхідного тромбофлебиту у хворих на рак ободової кишки. Одночасно усім пацієнтам визначали кількість вільноциркулюючих у цитратній крові ендотеліоцитів за методикою J. Hladovez, в модифікації Сівак В.В. і співавт. [7].

Результати досліджень та їх обговорення. При гістологічному дослідженні некропсій і біопсій м'язової тканини нижніх кінцівок при раку ободової кишки виявлені дегенеративні зміни ендотеліоцитів, їх десквамація із «оголенням базальної мембрани», що вважаємо першопричиною гемодинамічних порушень: повнокров'я артерій і венул, дистонія венул, периваскулярний та інтерстиціальний набряк. На цьому фоні спостерігалися гетерогенні прояви ремоделювання посмугованих м'язових волокон, які в основному проявлялися різним ступенем атрофічно-гіпертрофічних змін, гомогенізацією саркоплазми з міоцитолізом та контрактурних ушкоджень. Отже, враховуючи, що м'язам нижніх кінцівок через їх скоротливу здатність належить суттєва роль у забезпеченні венозної гемодинаміки, комплекс виявлених змін можна вважати важливою додатковою ланкою патогенезу венозної недостатності у хворих на рак та розвитку у них тромботичних ускладнень.

Висновки. При раку ободової кишки на фоні гемодинамічних порушень, що виражаються дегенеративними ушкодженнями ендотеліоцитів із їх десквамацією, повнокров'ям венул із дистонією їх просвіту, інтерстиціальним та периваскулярним набряком наявні гетерогенні прояви ремоделювання посмугованих м'язових волокон, які в основному характеризуються різним ступенем атрофічно-гіпертрофічних і контрактурних змін, гомогенізацією саркоплазми з міоцитолізом.

Ключові слова: глибока вена стегна, рак, скелетні м'язи.

Structural changes of the skeletal muscles in phlebotrombosis in cancer patients

Bodnar P. Ya.

Ternopil National Medical University I. Horbachevsky, Ternopil

Abstract

Introduction. In most cancer patients, pulmonary embolism occurs as a result of deep vein thrombosis or pelvis. Among its most probable causes are: prolonged immobilization of patients, endothelial dysfunction, hypercoagulation caused by the procoagulative activity of tumor cells, chemotherapy, surgery and the like. It is now an open question to participate in the pathogenesis of acute lower extremity deep vein thrombosis in cancer patients with structural changes in skeletal muscle.

The aim of the study. To evaluate the structural changes of skeletal muscle in deep vein thrombosis of cancer patients.

Material and methods. Optical histological and polarization studies were performed using the standard technique for the production and staining of hematoxylin and eosin 54 necropsies of skeletal muscle, which died from cardiopulmonary shock of patients with colon cancer. In addition to necropsy analysis, histologic and polarization studies of skeletal muscle biopsies and electron microscopic endothelial cells were obtained from various topographic areas of the lower extremity in 12 operations for acute ascending thrombophlebitis in patients with colon cancer. In parallel, all patients were determined to determine the number of free-circulating endothelial cells in the citrate blood by J. Hladovez method, in modification Sivak V.V. et al.

Research results. Histological examination of necropsies and biopsies of the muscular tissue of the lower extremities in colon cancer revealed degenerative changes of endothelial cells, their desquamation with the “exposure of the basement membrane”, which we consider to be the root cause of hemodynamic disorders: full-blooded arteriolar and interiostricular dystocia. Heterogeneous manifestations of remodeling of striated muscle fibers were observed, mainly manifested by varying degrees of atrophic-hypertrophic changes, homogenization of sarcoplasm with myocytolysis, and contracture lesions. Therefore, given that the muscles of the lower extremities, because of their contractile capacity, play an essential role in providing venous hemodynamics, the complex of detected changes can be considered as an important complementary link in the pathogenesis of venous insufficiency in cancer patients and the development of their thrombotic complications.

Conclusions. In colon cancer against a background of hemodynamic disorders, expressed by degenerative lesions of endothelial cells with their desquamation, plethora of venules with dystonia of their lumen, interstitial and perivascular edema, heterogeneous manifestations of remodeling, and contracture changes, homogenization of sarcoplasm with myocytolysis.

Key words: deep thigh vein, cancer, skeletal muscle.

Вступ. Перебіг онкологічних хвороб у більшості випадків ускладнюється розвитком тромбоемболії легеневої артерії. Встановлено, що серед хворих, які померли від раку, тромбоз діагностується у 50 %, а летальність, що обумовлена кардіопульмональним шоком через масивної тромбоемболію легеневої артерії, в 30 раз більша, ніж у померлих без тромбоемболії [9,11]. Причини гострого тромбозу глибоких вен нижніх кінцівок точно не встановлені [5]. Припускається, що висока частота тромбоемболій у онкологічних хворих залежить від чисельних взаємодоповнюючих причин. Перш за все від гострого тромбозу глибоких вен нижніх кінцівок, морфологічної характеристики пухлини, особливостей консервативного і хірургічного лікування, порушення імунітету і геморагічних ускладнень, лікування цитостатичними препаратами, порушення як біохімічних, так і гемостазіологічних процесів [1,3,4,12,14] ініціальним фактором активації гіперкоагуляції у таких хворих вважається експресія тканинного фактора [15] і ракового прокоагулянта, який активує X і XIII фактори [10,13]. Особливе значення при цьому надається ендогенній інтоксикації організму, оскільки цитокіни, ФНП і ІЛ-1 суттєво збільшують продукцію тканинного фактора, що також сприяє активації тромбоутворення [10]. Окрім цього, цитокіни ушкоджують ендотелій, що зумовлює посилення прокоагулянтної і пригнічення антикоагулянтної і фібринолітичної їх функції і сприяє тромбоутворенню [13]. У результаті ушкодження ендотелію тромбоцити затримуються волокнами субендотеліального колагену і під впливом фактора Вільдебранта піддаються деградації із виділення коагулянтів.

Морфологічними дослідженнями встановлено, що придикторами гострого тромбозу, окрім ушкодження ендотеліоцитів, є ремоделювання венозної стінки, а саме: осередкове потовщення інтими, адаптивна і фібропроліферативна перебудова клапанів, субінтимальної та середньої її оболонки ілейоміоцитів [2]. Водночас залишається відкритим питання участі в патогенезі гострого тромбозу глибоких вен нижніх кінцівок структурних змін скелетних м'язів у онкологічних хворих.

Мета дослідження. Оцінити структурні зміни посмугованих м'язів і ендотеліоцитів гемомікроциркуляторного русла при тромбозі глибоких вен нижніх кінцівок хворих на рак.

Матеріали та методи дослідження. Проведено ретроспективний аналіз 54 некропсій скелетних м'язів померлих від кардіопульмонального шоку, зумовленого тромбоемболією легеневої артерії за 2014–2018 роки в Тернопільському обласному клінічному онкологічному диспансері. Окрім даних некропсій, проведено морфологічне дослідження біоптатів скелетних м'язів, отриманих із різних топографічних ділянок нижньої кінцівки при 12 операціях з приводу гострого висхідного тромбофлебиту у хворих на рак ободової кишки. Для виготовлення мікропрепаратів використано стандартні протоколи уцілювання і зневоднення попередньо фіксованих в 10 % розчині нейтрального формаліну тканин, із наступною заливкою в парафін і приготуванням зрізів. Депарафінізовані зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, трихромом за Малорі, резорцин-фуксином за Вейгертом, альціановим синім та ШІК-реакцією. Якщо в науковій літературі гістологічну структуру достатньо висвітлено, то при дослідженні у поляризованому світлі у онкологічних хворих потребує уточнення. Враховуючи, що цей метод дає більш чітке відображення морфофункціональних змін ніж при використанні барвників [6]. З цієї метою у нашій роботі використано для дослідження депарафінованих зрізів тринокуляр із поляризатором і аналізатором SEOSCAN. Субмікроскопічне дослідження проводили лише на біопсійному матеріалі. Біоптати попередньо фіксували в 2,5 % розчині глутаральдегіду з активною реакцією середовища рН 7,2-7,4, приготуваному на фосфатному буфері Міллоніга. Постфіксацію здійснювали 1 % розчином чотириокису осмію на буфері Міллоніга протягом 60 хвилин, після чого проводили дегідратацію матеріалу в спиртах і ацетоні та заливали в епоксидні смоли, згідно з загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі УМПТ-7, фарбували 1% водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю згідно з методом Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К. Напівтонкі зрізи фарбували

метиленовим синім. Паралельно у всіх пацієнтів визначали кількість вільноциркулюючих у цитратній крові ендотеліоцитів за методикою J. Hladovez, в модифікації Сівак В.В. і співавт. [7]. У роботі з гістологічними препаратами та напівтонкими зрізами використовували мікроскопи SEOSCAN, Люам Р-8, МБИ-15. Зображення з мікроскопів виводили на монітор комп'ютера за допомогою відеокамери VISIONColor CCD Camera і програми Inter Video Win DVR.

Результати досліджень та їх обговорення.

У померлих від кардіопульмонального шоку при тромбоемболії легеневої артерії на перший план в гистоархітектоніці м'язів, поряд із дистрофічними змінами м'язових волокон, виступали геодинамічні розлади. Порушення гемодинаміки виражалось спазмом артеріол і дистонічним розширенням просвіту венул, вираженим інтерстиціальним іперваскулярним набряком. Ендотеліоцити венул овальної форми, на значному відрізку зазнавали десквамації (рис. 1). Кількісним аналізом вільноциркулюючих ендотеліоци-

тів крові встановлено, що рівень їх $(6,5 \pm 0,2) \times 10^4/\text{л}$.

Глибокі гетерогенні структурні зміни стосувалися м'язових волокон. Перш за все звертало увагу нерівномірне забарвлення, що надавало своєрідної мозаїчності гістологічної картини. Посмугованість нечітка, нерівномірно виражена. Цитоплазма гетерогенно забарвлена – одні ділянки пофарбовані в більш насичений колір, базофільні, сусідні – більш блідо забарвлені. На поздовжніх зрізах виявлялися широкі поля неупорядкованого розміщення волокон, хвилеподібної деформації ходу та їх фрагментації. Поряд із більшістю стоншених із них наявні потовщені, що створює картину атрофії, поєднаної із компенсаторною гіпертрофією. При дослідженні в поляризованому світлі, навіть за довжиною одного волокна спостерігалися ділянки посилення анізотропії А-дисків і ділянки зближення анізотропних дисків через стоншення ізотропних, також осередки суцільної анізотропії та фрагментації (рис. 2).

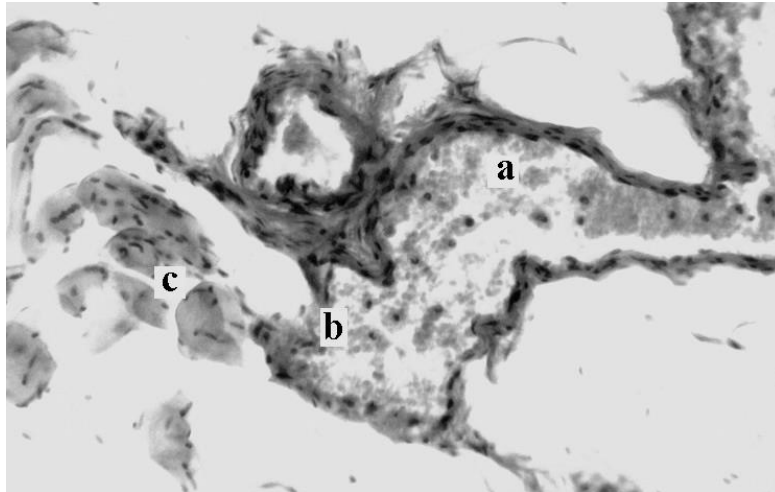


Рис. 1. А – повнокрів'я венули, б – десквамація ендотеліоцитів, с – периваскулярний набряк. Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 240.

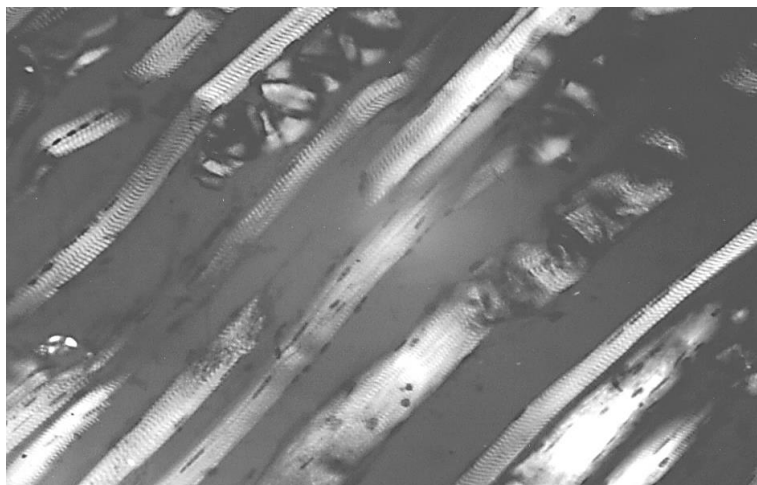


Рис. 2. Ділянки посилення анізотропії дисків і ділянки зближення анізотропних дисків через стоншення ізотропних, також осередки суцільної анізотропії та фрагментації. Поляризаційна мікроскопія. х120

Отже, дані поляризаційної мікроскопії свідчать про різні типи змін посмугованих м'язових волокон у померлих на рак ободової кишки, що відтворюють метаболічний характер їх пошкодження [8].

При дослідженні біоптатів м'язів хворих на рак ободової кишки, оперованих із приводу висхідного тромбофлебиту, виявлено осередкові зближення анізотропних дисків внаслідок вкорочення ізотропних у поєднанні з фрагментами суцільної анізотропії, що є морфологічним виразом II і III ступенів контрактурного пошкодження

ням'юфібрил. Поряд із зазначеними проявами ремоделювання м'язових волокон, траплялися осередки ослаблення або відсутності світіння А-дисків. У поодиноких волокнах наявні прояви міоцитолізу і розпад м'язових волокон на фрагменти, що розцінюється як IV ступінь контрактурного ушкодження (рис. 3). Таким чином зазначені структурні зміни в сукупності свідчать про гетерогенність і більш суттєве морфофункціональне ремоделювання посмугованих м'язів при раку ободової кишки, ускладненого флеботромбозом.

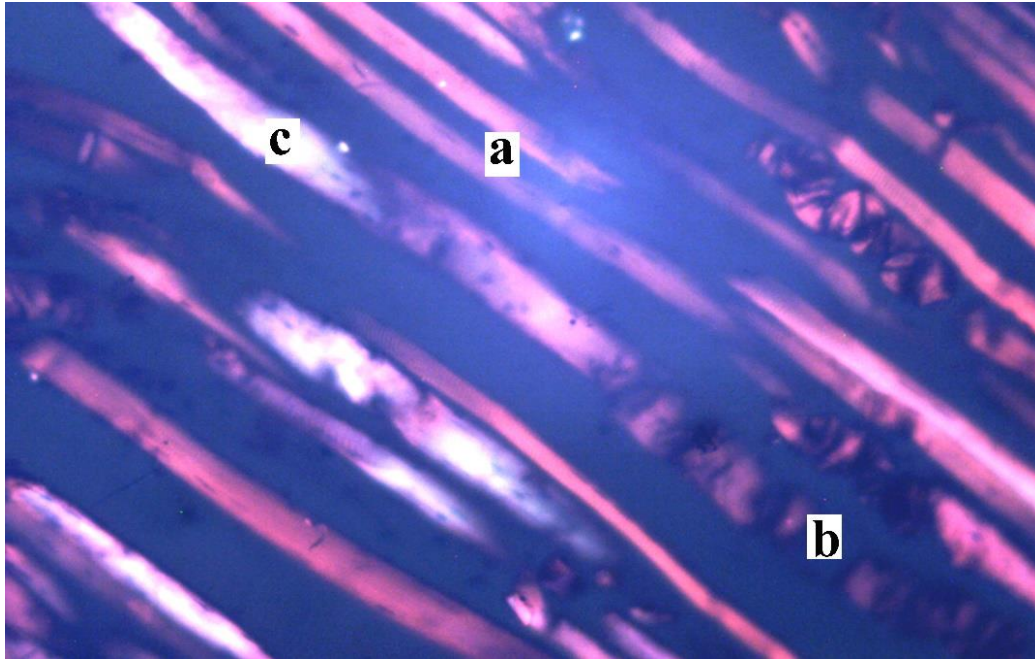


Рис. 3. а – нерівномірність товщини м'язових волокон, б – фрагментація та с – міоцитоліз. Поляризаційна мікроскопія. x120.

Стромальні зміни, головним чином, проявлялись розвитком периваскулярного й інтерстиціального набряку, набряку колагенових волокон. Поряд із цим виявлялись дрібні осередки геморагій та дифузної нейтрофільно-лімфоцитарної

інфільтрації у поєднанні з реологічними порушеннями. Характерним було дифузне виражене венозне і капілярне повнокрів'я і стази. Нерідко спостерігалася дистонія судин із проявами відсепарування рідкої частини крові (рис. 4).

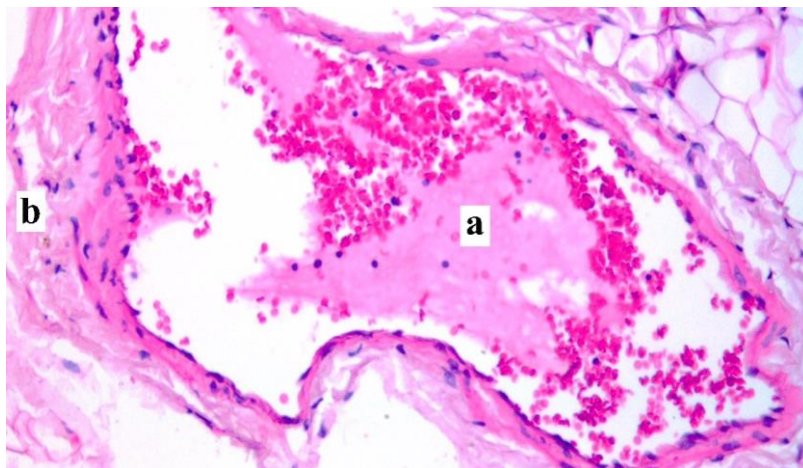


Рис. 4. Дистонія венул: а – відсепарування рідкої частини крові еритроцитів, б – периваскулярний набряк. Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 240.

Такі дистонічні прояви свідчили не тільки про сповільнення току крові, але й про активну трансудацію рідкої частини крові в перивазальний простір. Найімовірніше підвищенню судинної проникливості сприяли зміни судинної стінки, зумовлені «оголенням» субендотеліального шару внаслідок десквамації ендотеліальної вистілки. Кількісним аналізом вільноцирку-

люючих ендотеліоцитів крові встановлено, що при гострих тромбозах рівень їх був вищим ніж у попередній групі спостереження ($p < 0,001$) і становив $9,4 \pm 0,5 \times 10^4/\text{л}$.

Електронна мікроскопія біоптатів виявила ендотеліоцити витягнутої форми. У набряклій, провітленій цитоплазмі наявні деструктивно змінені органели (рис. 5).

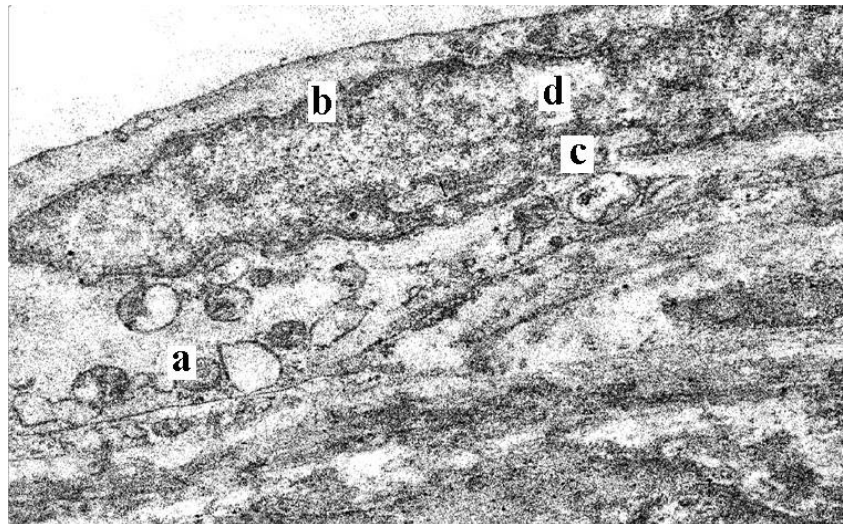


Рис. 5. а – деструкція мітохондрій, b – конденсація хроматину, с – інвагінації ядерної мембрани, d – провітлення нуклеоплазми. Ультраструктура ендотеліоцита. $\times 30000$.

Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки розширені і деформовані, із утворенням порожнин неправильної форми. Пошкодження мітохондрій супроводжується значним провітленням матриксу та деструкцією крист. Наявні первинні і вторинні лізосоми, які вільно розташовані як в цитоплазмі, так і поблизу комплексу Гольджі. Ядра зірчастої форми, з нерівними контурами, через глибокі впинання каріолеми. У центрі нуклеоплазми наявна електронно-прозора каріоплазма. Широкі ділянки конденсованої осміофільної каріоплазми, що розташовується під каріоплазмою.

Таким чином, морфологічне дослідження по-смугованих м'язів нижньої кінцівки із застосуванням поляризаційної мікроскопії при раку ободової кишки свідчить про суттєві їх контрактурні зміни на фоні дисциркуляторних змін. Враховуючи, що м'язам нижніх кінцівок належить суттєва роль у забезпеченні венозної гемодинаміки через їх скоротливу здатність зазна-

чені зміни можна вважати важливою доповнюючою ланкою патогенезу венозної недостатності у хворих на рак та розвитку у них тромботичних ускладнень. Слід відзначити, що у цьому процесі важлива роль належить ендотеліальній дисфункції. Саме ушкодження ендотеліоцитів і «оголення багальної мембрани» є ініціальною фазою у порушенні мікроциркуляції із розвитком дистонії венул, інтерстиціального і периваскулярного набряку.

Висновки. При раку ободової кишки на фоні гемодинамічних порушень, що виражаються дегенеративними ушкодженнями ендотеліоцитів із їх десквамацією, повнокрів'ям венул із дистонією їх просвіту, інтерстиціальним та периваскулярним набряком наявні гетерогенні прояви ремоделювання посмугованих м'язових волокон, які в основному характеризуються різним ступенем атрофічно-гіпертрофічних і контрактурних змін, гомогенізацією саркоплазми з міоцитолізмом.

Інформація про конфлікт інтересів: відсутній.

Інформація про фінансування. Автор гарантує, що він не отримувал жодних вирагород у будь якій формі, здатних вплинути на результат роботи.

Список використаної літератури

1. Baeshko A. A. Faktoryi riska tromboza glubokih ven nizhnih konechnostey. A.A. Baeshko. *Angiologiya segodnya*. 2002. #9. S. 9-14. [In Russian].
2. Bodnar P.Ya. Patomorfologichni zminy velykoi pidshkirnoi veny pry khronichnii krytychnii ishemii nyzhnikh kintsivok. Bodnar P.Ia., Bodnar Ya.Ia., Bodnar R.Ia. ta in. *Morfologhiia na suchasnomu etapi rozvytku*

- nauky . Zbirnyk materialiv naukovo-praktychnoi konferentsii 5-6 zhovtnia 2012. Ternopil: TDMU, 1012. S. 20-23. [in Ukrainian]
3. Goryainova, N. V. Znachenie komorbidnosti dlya stratifikatsii lecheniya ostryyh mieloidnykh leykozov u vzroslyih. N. V. Goryainova. MedichnI nauki Scientific Journal «ScienceRise». 2015. №6/4(11). S. 68–72. [In Russian].
 4. Kamalov I.A. Vyyavlenie prokoagulyantnoy aktivnosti zlokachestvennykh novobrazovaniy. I.A.Kamalov, R.S. Kuratanov. Kazanskiy meditsinskiy zhurnal. 2016. T. 97. №2. S. 212-215. [In Russian].
 5. Mishenina H.B Morfolohichne obgruntuvannia vynyknennia hostrykh venoznykh tromboziv. H.B. Mishenina, V.P. Nevrozov, D.V. Oklei. Kharkivska khirurhichna shkola. 2015. №3(72). S.122-127. [in Ukrainian]
 6. Nepomnyaschih L.M. Morfogenez metabolicheskikh povrezhdeniy skeletnykh myishts. L.M. Nepomnyaschih, M. A. Bakarev. M.: Izdatelstvo RAMN, 2005.– 352 s. [In Russian].
 7. Patent 25012 U, Ukraina. Sposib vyznachennia vilnotsyrkuliuichykh endotelialnykh klityn u krovi. V.V. Sivak, N. V. Tymofieva, O. B. Donnyk ta in. № 200702080; Zaiavl. 27.02.07; Opubl. 25.07.07., Biul 6. [in Ukrainian]
 8. Tselarius Yu.G. Rannie stadii eksperimentalnogo infarkta miokarda pri issledovanii opticheskimi metodami. Yu.G. Tselarius, L.A. Semenova, R.H. Gismov. Arhiv patologii 1976.,# 8. S. 47-52 [In Russian].
 9. Shilova A. N. Metodyi medikamentoznoy profilaktiki i lecheniya trombozov u onkologicheskikh bolnyih, ih vliyanie na rost i metastazirovanie opuholey, na vyzhivaemost bolnyih (obzor literaturyi). A. N. Shilova. Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal. 2012. # 2 (50). S. 79–83. [In Russian].
 10. Hillen, H.F. Thrombosis in cancer patients / H.F. Hillen // Ann. Oncol. – 2000. – Vol. 11, Suppl. 3. – P.273–276
 11. Kobayashi T. Prophylaxis and treatment of venous thromboembolism based on Japanese clinical guides. T. Kobayashi. Rinsho Ketsueki. 2017. Vol. 58, №. 7. P. 875–882
 12. Khorana, A.A. Venous thromboembolism and prognosis in cancer. A.A. Khorana. Thromb. Res. 2010. Vol. 125, №6. P. 490–493.
 13. Loreto, M.F. Coagulation and cancer: implications for diagnosis and management. M.F. Loreto, M. De Martinis, M.P. Corsi et al. Pathol. Oncol. Res. 2000. Vol 6. №4. P. 301–312
 14. Pabinger I. Biomarkers for prediction of venous thromboembolism in cancer. I. Pabinger, J. Thaler, C. Ay. Blood. 2013. Vol. 122, №12. P. 2011–2018.
 15. Rickles, F.R. The role of the hemostatic system in tumor growth, metastasis, and angiogenesis: tissue factor is a bifunctional molecule capable of inducing both fibrin deposition and angiogenesis in cancer. F.R. Rickles, M. Shoji, K. Abe. Int. J. Hematol. 2001. Vol. 73, №2. P.145–50

Стаття надійшла до редакції: 31.10.2019 р.