

Г.Н. Горшунова, В.В. Валиуллин**ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОЖИ БОЛЬНЫХ ДИАБЕТОМ**

ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Исследованы 105 образцов ткани кожи нижних конечностей 35 больных, перенесших ампутацию нижних конечностей по поводу диабетической гангрены. Изучено соотношение процессов апоптоза и пролиферации в коже больных диабетом. Установлено, что в коже отмечается снижение уровня пролиферации. При этом наблюдается утолщение базальных мембран сосудов, пролиферация эндотелиальных клеток, следствием чего является утолщение стенок сосудов.

Ключевые слова: ангиопатия, пролиферация, апоптоз, регенерация.

G.N. Gorshunova, V.V. Valiullin**THE IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF DIABETES PATIENT SKIN**

The material studied in the present work included 105 skin samples taken from the region of lower limb of 35 patients after amputation of lower limbs concerning diabetic gangrene. The study was focused on the elucidation of the relationship between apoptotic and proliferative process in the skin of patients by diabetes. The analysed facts revealed that the decline of proliferation level of skin cells was marked. However, the basal membrane of vessels was incrassated, the proliferation of endothelial cells and bulge of walls of vessels.

Key words: angiopathia, apoptosis, proliferation, regeneration.

Введение. Проблема репаративной регенерации органов и тканей остается одной из самых значимых и недостаточно изученных в медицине и биологии. В рамках этой проблемы актуальными являются вопросы регенераторной способности кожи при различных сосудистых нарушениях. Такая актуальность обусловлена, в первую очередь, непосредственными запросами клиники, где приходится сталкиваться с последствиями разнообразных сосудистых нарушений. Диабетические ангиопатии – грозное заболевание и в далеко зашедших случаях их результатом может быть гибель различных тканей и органов. В случае вынужденных операций (ампутаций) у таких больных впоследствии возникают проблемы с заживлением ран, что связано с разнообразными нарушениями процессов регенерации в поврежденных тканях, в том числе и коже. Непонятно, какие клеточные типы эпидермиса и дермы наиболее чувствительны к сосудистым нарушениям при диабете, вместе с тем эти данные крайне необходимы для успешного лечения таких хирургических больных. Одной из причин недостаточной изученности нарушения функционирования различных клеток кожи при диабете является отсутствие высокоинформативных морфологических подходов для изучения клеток в условиях нарушенной трофики. Появление методов иммуногистохимии с использованием антител к различным маркерам клеток позволяет обнаружить любые изменения их фенотипа. Вот почему в последние годы наметился определенный прогресс в исследовании разнообразных клеток эпидермиса и дермы при различных патологиях.

Цель: изучить соотношение процессов апоптоза, пролиферации, целостности сосудов с использованием антител к коллагену IV типа в коже больных сахарным диабетом II типа (СД II).

Материалы и методы исследования. Клинико-морфологическое исследование проведено у 35 пациентов, перенесших ампутацию нижних конечностей по поводу диабетической гангрены нижних конечностей за период с мая по декабрь 2011 г. в Городской клинической больнице № 15 г. Казани.

Больные поступали в отделение с клинической картиной распространенной диабетической гангрены стопы или голени, что и являлось критерием отбора пациентов. Возраст пациентов с диабетической гангреной составил от 42 до 83 лет, в среднем – 68,7 года. В исследовании приняли участие 22 женщины и 13 мужчин. Из них диабетическая гангрена стопы была диагностирована у 27 пациентов, голени – у 6 пациентов. В качестве контролей изучали биоптаты кожи нижних конечностей 3 здоровых лиц (1 женщина и 2 мужчин), средний возраст которых составил 39,3 года. Образцы ткани от здоровых контролей получены в момент операций (ампутаций) по поводу травмы. Всего изучено 114 образцов ткани кожи нижних конечностей: 105 биоптатов от 35 пациентов с диабетической гангреной и 9 био-

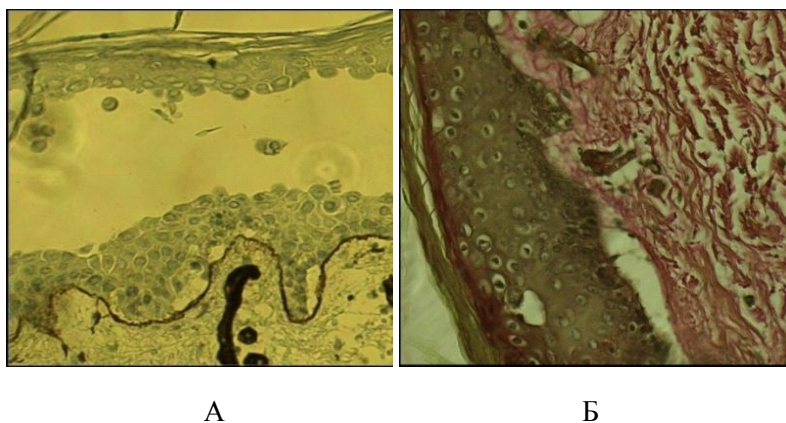
платов от 3 здоровых контролей.

Исследование выполнено на материале, забор которого проводился во время ампутаций нижних конечностей по поводу диабетической гангрены.

Полученные образцы размером 5 мм фиксировали в 4 % нейтральном забуференном формалине. Морфологическое исследование проводили на серийных срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, по Ван Гизону и Пикро Маллори [4], методом иммуногистохимии по общепринятой методике [2]. Демаскировку антигенов осуществляли при кипячении в цитратном буфере. В качестве первичных антител использовали поликлональные антитела к маркерам пролиферации клеток PCNA (Santa Cruz); антиапоптоза-Bcl-2 (Santa Cruz); антитела к коллагену IV типа (Sanbio).

Результаты. Проведено исследование образцов кожи больных сахарным диабетом II типа. При исследовании образцов ткани ампутированной конечности во всех случаях имелось скопление серозного экссудата в межклеточных пространствах шиповатого слоя, приводящее к их расширению. В зоне непосредственного прилегания к области некротически измененной части конечности обнаруживаются разрывы межклеточных связей с образованием полостей, вследствие чего кератиноциты приобретают звездчатый вид. На этих препаратах наблюдается утолщение базальных мембран сосудов, пролиферация эндотелиальных клеток и, как следствие, утолщение интимы артериол (рис. А, Б). Проплиферацию различных клеток эпидермиса выявляли по наличию PCNA. При СДII в коже отмечается снижение уровня пролиферации эпителиоцитов по сравнению с контролем. Кроме того, в этих клетках уменьшен уровень экспрессии bcl-2.

При длительном течении заболевания и существенного развития ангиопатии в поврежденных тканях происходит частичная регенерация эпителия с сохраненной, но значительно сниженной способностью к пролиферации по сравнению с кожей здоровых людей.



А

Б

Рис. Экспрессия коллагена IV типа при СД. Гистологическая картина кожи больных СД, увелич. $\times 200$.

А – утолщение и уплотнение (гиалиноз) базальной мембраны капилляров, буллезные изменения;

Б – межклеточный отек (спонгиоз) эпидермиса, окраска по Ван Гизону

Обсуждение. Несмотря на бурное развитие современной регенераторной медицины, ампутация нижних конечностей по поводу диабетической гангрены остается одной из самых распространенных операций в общехирургических стационарах [5]. Это обусловлено отсутствием надежных тестов для определения функционального состояния различных органов и тканей в клинике. Так, определение проходимости магистральных и периферических артерий у таких больных повсеместно проводится с помощью ультразвуковой доплерографии с учетом индекса регионарного давления, данных рентгеновской и лазерной доплеровской флоуметрии [3]. Оценить жизнеспособность тканей на разных уровнях и прогнозировать заживление раны после ампутации можно, определяя парциальное напряжение кислорода и принимая во внимание результаты термографии, радиоизотопной сцинтиграфии, пункционной биопсии тканей с гистологическим исследованием [1]. Однако ни один из предложенных методов не позволяет достоверно судить о жизнеспособности тканей и прогнозировать заживление операционной раны на выбранном уровне. Вот почему исследование клеточных основ нарушений функционирования кожи в условиях диабетической ангиопатии может позволить разработать методы коррекции деструктивных процессов в коже больных диабетом.

Поскольку прекращение нормального функционирования клеток кожи при диабете во многом есть следствие нарушения репаративной регенерации, то изучение патогенетических звеньев измене-

ния гомеостаза эпидермиса, вовлеченного в патологический процесс, безусловно, будет способствовать пониманию механизмов развития заболевания. Известно, что диабетическая микроангиопатия сопровождается плазморрагическим повреждением базальной мембраны микроциркуляторного русла с соответствующей реакцией эндотелия и перицитов, что приводит к склерозу и гиалинозу сосудистой стенки. Морфологические проявления диабетической микроангиопатии, несмотря на формальное сходство с таковыми при воспалении, в действительности никакого отношения к воспалению не имеют.

Заключение. В коже больных диабетом отмечается снижение уровня пролиферации эпителиоцитов, при этом наблюдается пролиферация эндотелиальных клеток, утолщение базальных мембран сосудов, утолщение интимы артериол. Полученные данные могут служить основой для дальнейших исследований изменений, происходящих в коже при диабетической болезни. Помимо набора клинического материала для более достоверного подтверждения полученных данных предстоит более детально изучить активность клеточной дифференцировки, неоангиогенеза, оценить степень васкуляризации в коже с применением маркера CD 31.

Список литературы

1. Буров, Ю. А. Применение лазерной доплеровской флоуметрии для выявления необратимости ишемии нижних конечностей. / Методология флоуметрии / Ю. А. Буров, Е. Г. Микульская, А. Н. Москаленко. – Саратов : Изд-во СГМУ, 1999. – С. 29–41.
2. Киясов, А. П. Современные технологии морфологических исследований : метод. пос. для студентов, аспирантов и врачей-патологов / А. П. Киясов. – Казань : Изд-во КГМУ, 2001. – 38 с.
3. Клиническая ангиология : рук-во для врачей / под ред. А. В. Покровского. – М. : Медицина, 2004. – Т. 1. – 808 с.
4. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия : пер. с англ. / Р. Лилли. – М. : Мир, 1969. – 646 с.
5. Harker, J. Wound healing complication associated with lower limb amputation / J. Harker. – Режим доступа : <http://www.worldwidewounds.com/2006/september/Harker/Wound-Healing-Complications-Limb-Amputations.html>, свободный. – Заглавие с экрана. – Яз. англ. – Дата обращения : 10.04.2012.

Горшунова Галина Николаевна, аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 420066, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49, тел.: 8-917-228-80-63, e-mail: galakzn@mail.ru.

Валиуллин Виктор Владимирович, доктор биологических наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 420012, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49, тел.: 8-987-297-93-40, e-mail: valvv@kzn.ru.

УДК 616.91:616.5-005

© О.В. Грачиева, Д.Н. Рассказов, Г.А. Харченко, Р.А. Садретдинов, 2012

О.В. Грачиева, Д.Н. Рассказов, Г.А. Харченко, Р.А. Садретдинов

РОЛЬ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ ДОПЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ В ОЦЕНКЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России

Представлены результаты обследования 43 детей, больных энтеровирусной инфекцией, методом лазерной доплеровской флоуметрии. В патогенезе инфекционного васкулита, обусловленного энтеровирусной инфекцией, одну из важнейших составляющих составляет эндотелиальная дисфункция. По данным лазерной доплеровской флоуметрии определены нарушения микроциркуляции в коже в группе больных. Показатели лазерной доплеровской флоуметрии могут быть использованы для ранней диагностики, прогноза, профилактики осложнений, а также для оценки эффективности проводимой терапии больных энтеровирусной инфекцией.

Ключевые слова: энтеровирусная инфекция, лазерная доплеровская флоуметрия, васкулит, микроциркуляция.