

Т.П. Сегеда<sup>1</sup>, В.А. Ходос<sup>2</sup>, В.І. Заріцька<sup>2</sup>

## Ультраструктура венозної стінки до та після лікування склерозуючим препаратом

<sup>1</sup>Інститут екологічної патології людини, м. Київ,<sup>2</sup>Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ**Ключові слова:** варикозна хвороба, флебосклероблітерація, морфологія вен, електронна мікроскопія.

На підставі результатів ультраструктурних досліджень операційного матеріалу венозних судин, отриманого у зв'язку із застосуванням склерозуючого препарату, з'ясовано, що виразність порушень зростає зі збільшенням концентрації останнього (2%, 3%, 5% відповідно), а оптимальними для лікувального фібросклерозу є 3%.

### Ультраструктура венозної стінки до и после лечения склерозирующим препаратом

Т.П. Сегеда, В.А. Ходос, В.И. Заритская

На основании результатов ультраструктурных исследований операционного материала венозных сосудов, полученного в связи с использованием склерозирующего препарата, выяснено, что выраженность нарушений возрастает с увеличением концентрации последнего (2%, 3%, 5% соответственно), а оптимальными для лечебного фибросклероза являются 3%.

**Ключевые слова:** варикозная болезнь, флебосклероблитерация, морфология вен, электронная микроскопия.**Патология.** – 2012. – №3 (26). – С. 34–39

### Ultrastructure of venous wall before and after the treatment with sclerosant

T.P. Segeda, V.A. Khodos, V.I. Zaritskaya

Basing upon results of ultrastructure studies of surgical specimens obtained from venous vessels after the use of sclerosant, it has been found out that the intensity of damage rises according to medicine concentrations increase (2%, 3%, 5% respectively), and 3% concentration is optimal for the purposes of surgical fibrosclerosis.

**Key words:** varicose disease, phlebosclerotic obliteration, vein morphology, electron microscopy.**Pathologia.** 2012; №3 (26): 34–39

В останні роки для лікування варикозної хвороби все ширше застосовується метод флебосклероблітерації [3,7]. Він полягає в руйнуванні ендотелію шляхом введення в просвіт вени склерозуючого препарату (СП), з подальшим розвитком фіброзу і облітерації судини [5,6]. Різновидом даного методу є усунення рефлюксу по магістральних підшкірних венах шляхом застосування СП у вигляді мікропіної форми (foam form) [1,4]. Стійкий фіброз і облітерація настають лише у відповідь на незворотне пошкодження ендотелію, що значною мірою залежить від концентрації використовуваного СП. У проведених патогістологічних дослідженнях показано, що при використанні СП недостатньої концентрації ендотелій залишається або зовсім непошкодженим, або пошкодженим частково, що може призвести до реканалізації. При використанні високої концентрації СП хімічне пошкодження судини може поширюватись за її межі і викликати ускладнення у вигляді патологічної гіперпигментації шкіри. Встановлено, що 3% концентрація склерозуючого препарату оптимальна для подальшого розвитку фіброзного процесу в стовбурових венах після мікропіної флебосклероблітерації [2]. Для підтвердження або спростування цих патогістологічних досліджень використано електронну мікроскопію.

#### Мета роботи

Визначити ультраструктурні критерії впливу на венозну стінку склерозуючого препарату.

#### Матеріали і методи дослідження

Матеріал для електронно-мікроскопічних досліджень отримували під час виконання склерохірургічних операцій з приводу варикозної хвороби нижніх кінцівок. У якості склерозуючого препарату (СП) використовували препарат «Склеровейн» (полідоканол) виробництва компанії G.Streuli & Co. (Швейцарія). Для комплексного морфологічного дослідження у 92 хворих під час операції кросектомії взято шматочки з пригирлового відділу великої або малої підшкірних вен. Усі пацієнти розділені на три групи. Першу склали 30 хворих, яким для склероблітерації стовбурових підшкірних вен застосовували склерозуючу мікропіну (СМП), відтворену з СП за методом Тессарі [8] у концентрації 2%. До другої увійшли 32 особи, яким застосовували СП у концентрації 3%, і до третьої – 30 хворих, лікованих СП у концентрації 5%. Висічення біоптатів довжиною до 2 см здійснювали до і після введення в просвіт вени СМП. Експозиція СМП у просвіті вени склала 10 хв.

Ультраструктурно проаналізовано по одному випадку з кожної клінічної групи (зразки брали до та після введення СП). Матеріал подрібнювали до розміру 1 мм<sup>3</sup> та обробляли за стандартною методикою з подвійною фіксацією в глютаральдегіді і чотириокисі осмію та заливкою в епон. На ультрамікроскопі LKB 8800 III виготовляли напівтонкі зрізи (1–2 мкм), забарвлювали їх метиленовим синім. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом і цитратом свинцю. Препарати вивчали та фотографували

під електронним мікроскопом JEM 100 CX (Японія) за прискорюючої напруги 50–60 кВ.

**Результати та їх обговорення**

За даними світлооптичного дослідження напівтонких зрізів структура всіх наданих зразків судин до впливу склерозуючого препарату відповідала будові вен. Різні за товщиною шари гладких м'язових клітин (ГМК) чергувались з прошарками власне сполучної тканини, основним компонентом якої були пучки колагенових волокон, виявлялась незначна кількість еластину. В зонах судинної стінки, прилеглих до адвентиції, траплялись поодинокі краплі жиру. Внутрішня поверхня вен вкрита ендотелієм, що розташовувався на рівних або гофрованих ділянках, що відображало стан наповнення й спадання судини.

При електронномікроскопічному дослідженні ендотеліоцити не мали суттєвих відмінностей від відомих показників клітин цього типу. Вони містили стандартний набір органелів. Ядра з конденсованими маргінальним типом хроматином у більшості клітин мали нерівну поверхню (рис. 1). Про нормальний трансендотеліальний транспорт у судинах свідчили мікропіноцитозні везикули, зосереджені переважно біля базальної поверхні клітин. В ендотеліальному шарі траплялись окремі

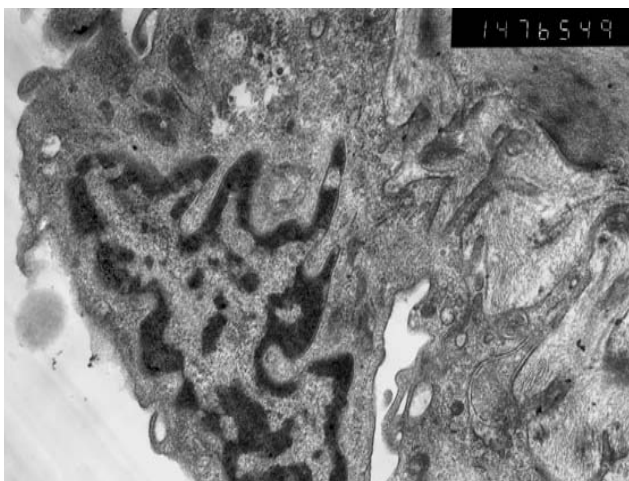


Рис. 1. Ендотеліальна клітина стінки вени до дії склерозуючого препарату. × 14 000.

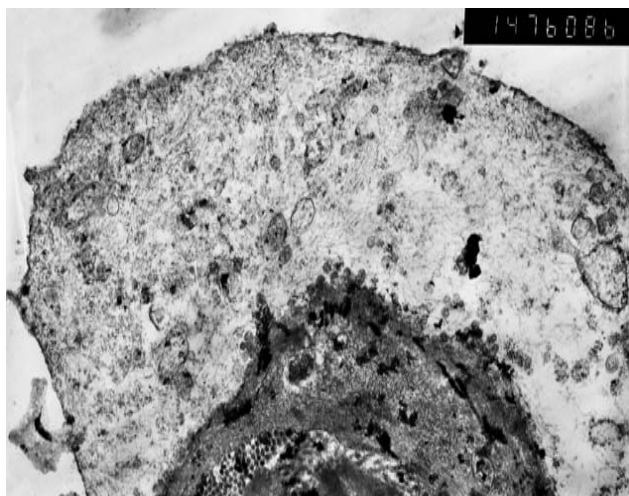


Рис. 2. Ендотеліоцит венозної стінки у стані набряку до дії склерозуючого препарату. × 14 000.

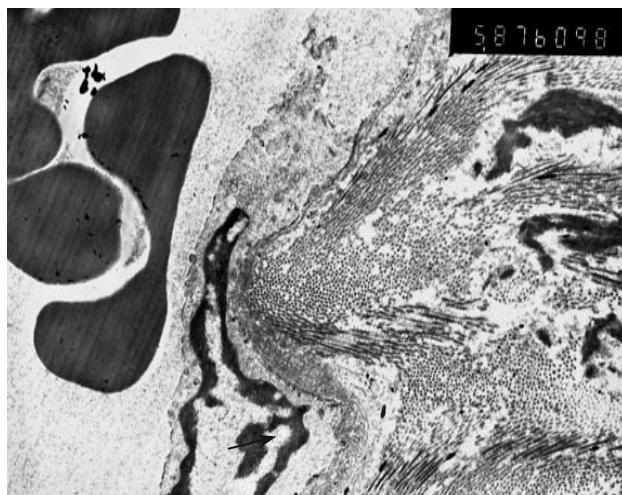


Рис. 3. Хвилеподібне залягання фібрил колагену в стінці вени до дії склерозуючого препарату. У просвіті судини поруч з ендотеліоцитом (стрілка) еритроцити. × 5 800.

збільшені у розмірах клітини з просвітленою цитоплазмою, що розцінювали як їх набряк (рис. 2). У деяких ендотеліоцитах визначено вакуолізацію цитоплазми.

У сполучній тканині серед волокнистих структур переважали колагенові волокна, що не мали характерної посмугованості фібрил. Залягали вони хвилеподібно (рис. 3). Поміж колагену зрідка траплялись еластичні волокна типової будови (рис. 4) та поодинокі фіброласти/фіброцити.

Лейоміоцити (ГМК) типової будови були або з гладенькою поверхнею (рис. 5), або з відростчастою (рис. 6), що, ймовірно, є свідченням їх розслабленого та скороченого стану.

Серед популяції гладких міоцитів виявлено клітини в дистрофічному стані. Так, дуже показовою була вакуолізація їх цитоплазми. Численні вакуолі зосереджені або навколо ядер клітин (рис. 7), або займали значну площу їх цитоплазми. Виразна вакуолізація лейоміоцитів, як правило, супроводжувалась пошкодженням міофібрил цих клітин, що є свідченням часткового порушення їх скоротливої функції.

У vasa vasorum задокументовані скупчення еритроцитів, що повністю перекривали просвіт судин різного

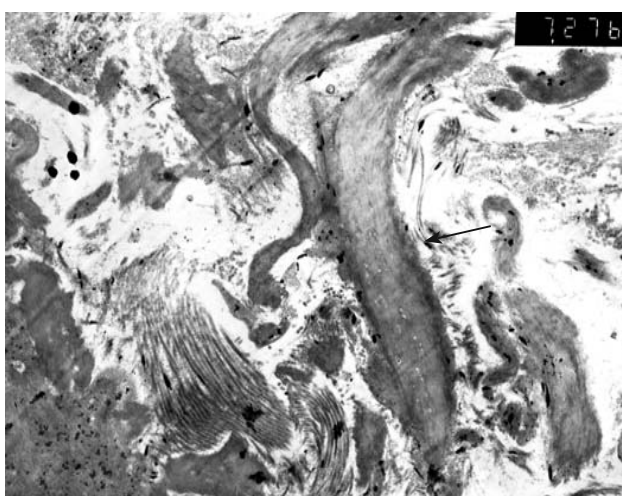


Рис. 4. Еластичне волокно типової будови (стрілка) сполучної тканини вени до дії склерозуючого препарату. × 7 200.

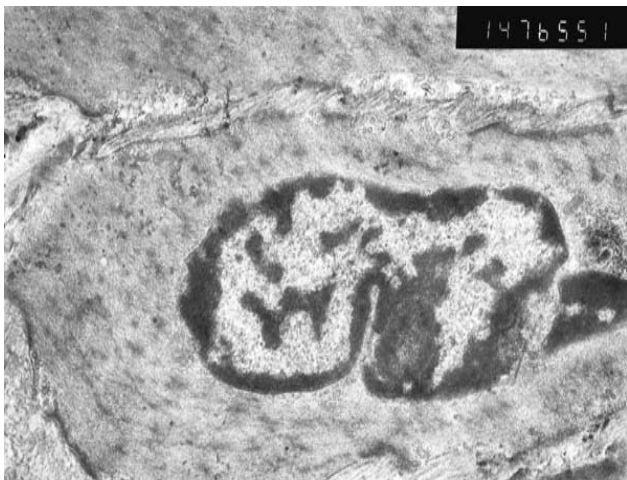


Рис. 5. Лейоміоцит з гладенькою поверхнею в стінці судини до дії склерозуючого препарату.  $\times 14\ 000$ .

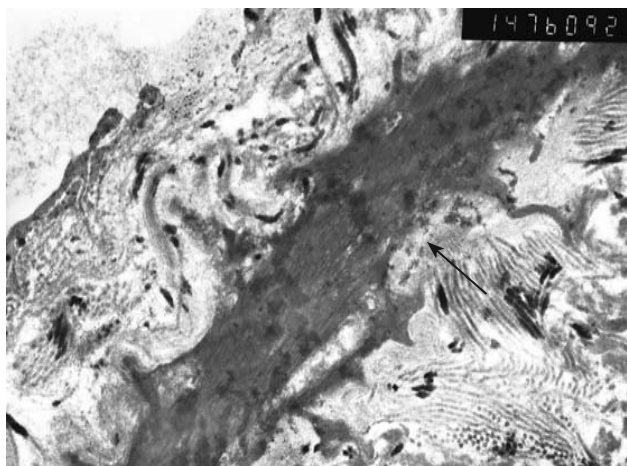


Рис. 6. Лейоміоцит з відростчастою поверхнею (стрілка) в стінці вени до дії склерозуючого препарату.  $\times 14\ 000$ .

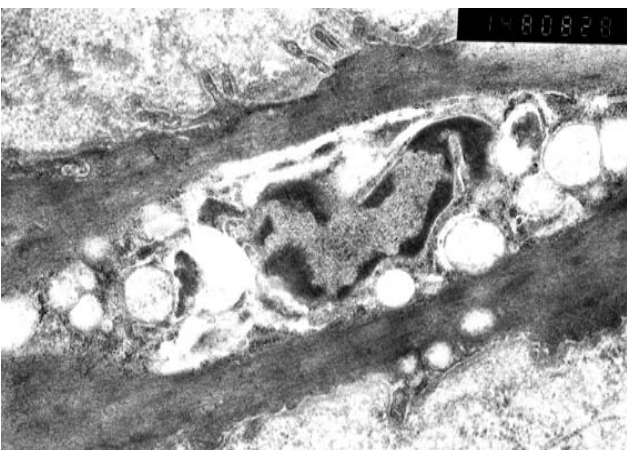


Рис. 7. Вакуолі навколо ядра гладкої м'язової клітини вени до дії склерозуючого препарату.  $\times 14\ 000$ .

калібру й анатомічної будови (артеріоли, венули, капіляри) (рис. 8). Частина внутрішньосудинних еритроцитів визначено у стані гемолізу, що при ультрамікроскопії проявлялось їх гетерогенним за щільністю вмістом. Про уповільнення кровотоку свідчив щільний контакт еритроцитів з ендотеліоцитами. Певні відхилення спостерігались у стані ендотеліальних клітин vasa vasorum.

Ознаки набряку ендотеліоцитів є типовим проявом місцевої запальної реакції (рис. 9).

Отже, за даними електронномікроскопічного дослідження структура стінки вени до дії препарату «Склеровейн» відповідала стану хронічного запалення. Ультраструктурні особливості ГМК свідчили про порушення їх скоротливої функції.

При дії СП 2% концентрації ендотеліальна вистилка внутрішньої поверхні вени збереглась частково. Над судинною базальною мембраною подекуди спостерігали скупчення конденсованого електроннощільного матеріалу, що є залишками коагульованих некротизованих ендотеліоцитів (рис. 10).

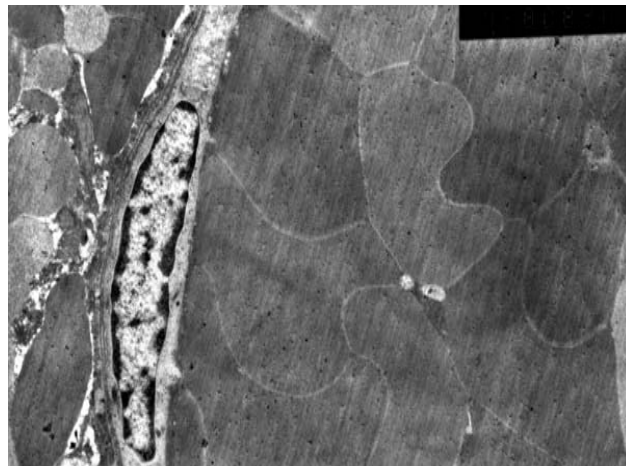


Рис. 8. Скупчення гемолізованих еритроцитів у просвіті vasa vasorum до дії склерозуючого препарату.  $\times 4\ 800$ .

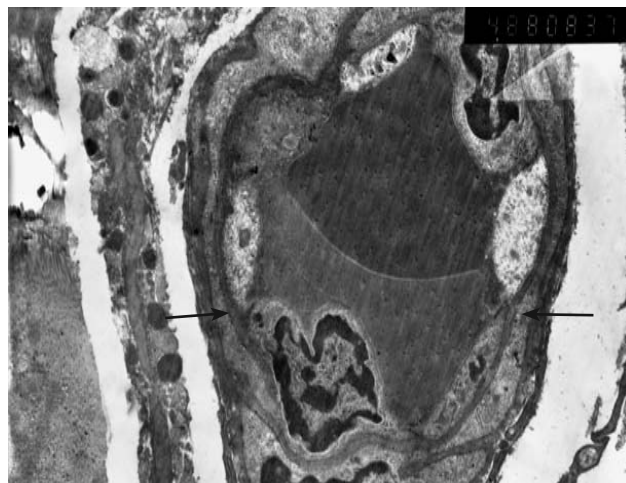


Рис. 9. Ендотеліоцити vasa vasorum у стані набряку (стрілки) до дії склерозуючого препарату. Гемолізовані еритроцити у просвіті гемомікросудини.  $\times 4\ 800$ .

У сполучній тканині серед волокнистих структур переважали колагенові волокна. Еластичні волокна мали вигляд більш конденсованих, ніж до введення препарату СП 2% концентрації. На окремих ділянках сполучної тканини визначено дезорганізацію компонентів строми з ознаками набряку.

Несуттєві зміни після впливу препарату даної концентрації визначено у ГМК. Помірний набряк цитоплазми цих клітин зосереджений переважно у навокоядерних ділянках. Він супроводжувався частковим руйнуванням

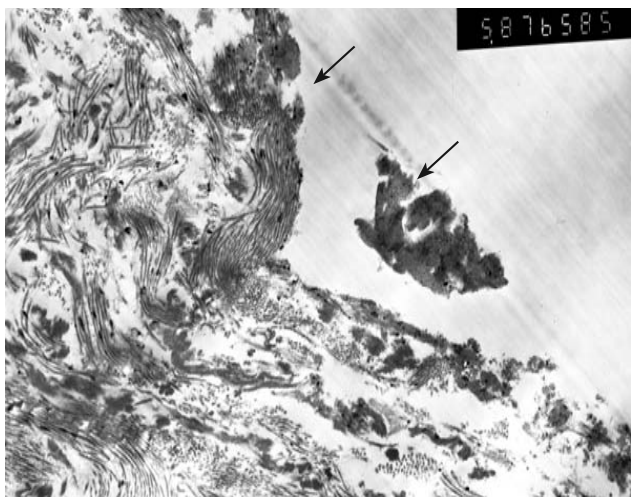


Рис. 10. Залишки некротизованих ендотеліоцитів (стрілки) над внутрішньою поверхнею вени при дії склерозуючого препарату 2% концентрації.  $\times 5\ 800$ .

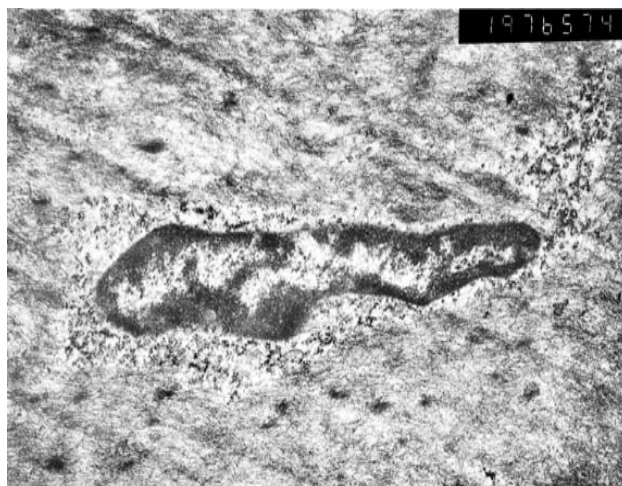


Рис. 11. Перинуклеарне накопичення гранул глікогену в гладкому м'язиті вени при дії склерозуючого препарату 2% концентрації.  $\times 19\ 000$ .

фібрилярних компонентів ГМК у цих зонах. В окремих лейоміоцитах перинуклеарно накопичувався глікоген у вигляді досить крупних контрастних гранул, що є свідченням вуглеводної дистрофії (рис. 11).

При використанні СП 3% концентрації ультроструктурні зміни однонаправлені щодо попереднього спостереження, але є виразнішими. Ендотеліальний шар майже повністю відсутній на внутрішній поверхні вени. У просвіті судини місцями спостерігали окремі конденсовані фрагменти десквамованих ендотеліоцитів.

Про глибші порушення сполучної тканини судинної стінки свідчили ознаки мезенхімальної дистрофії. Переважно у зонах, наближених до базальної мембрани, спостерігали розпад колагенових та еластинових волокон з накопиченням пластівчастого матеріалу (рис. 12). Відомо, що фібриноїдне набухання – ознака деструктивних процесів основної речовини та волокнистих структур сполучної тканини, аж до фібриноїдного некрозу. Посилювалась і дезорганізація міофібрил у ГМК на фоні вакуолізації цитоплазми.

При застосуванні СП у концентрації 5% ознаки пошкодження всіх структурних компонентів судинної стінки набували максимальних показників. Ендотеліальний шар на внутрішній поверхні судини повністю десквамований. Руйнувалась і судинна базальна мембрана (рис. 13).

Посилювалась деструкція компонентів сполучної тканини з формуванням поширених по всій товщині судинної стінки набряків (рис. 14). Поглиблювалась дистрофія ГМК. Набряк більшості клітин охоплював цитоплазму і ядра, що позбавлялись типової маргінальної конденсації хроматину з втратою електронної щільності (рис. 15). В зонах набряку цитоплазми ГМК спостерігали локальну деградацію міофібрил (рис. 16). В окремих лейоміоцитах набряк охоплював лише навколядерні зони цитоплазми з руйнуванням міофібрил без залучення у цей процес самих ядер.

Набряк охоплював усі структури *vasa vasorum* включно з внутрішньосудинними еритроцитами (рис. 17). Це призводило до некробіотичних змін ендотеліоцитів мікросудин і до їх масової десквамації (рис. 18).

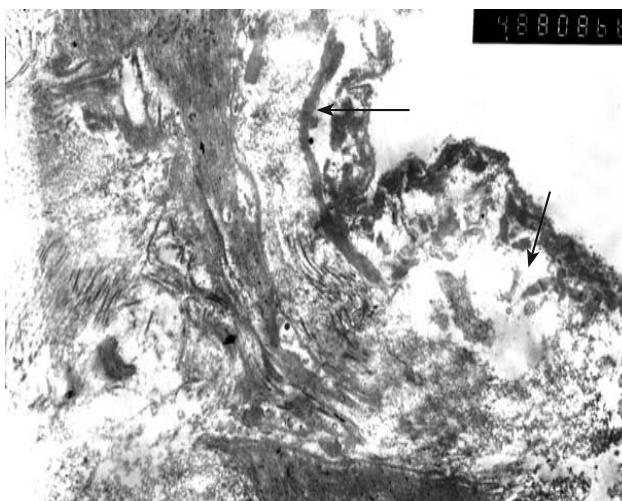


Рис. 12. Ознаки фібриноїдного набухання в зонах поблизу базальної мембрани вени (стрілки) при дії склерозуючого препарату 3% концентрації.  $\times 4\ 800$ .

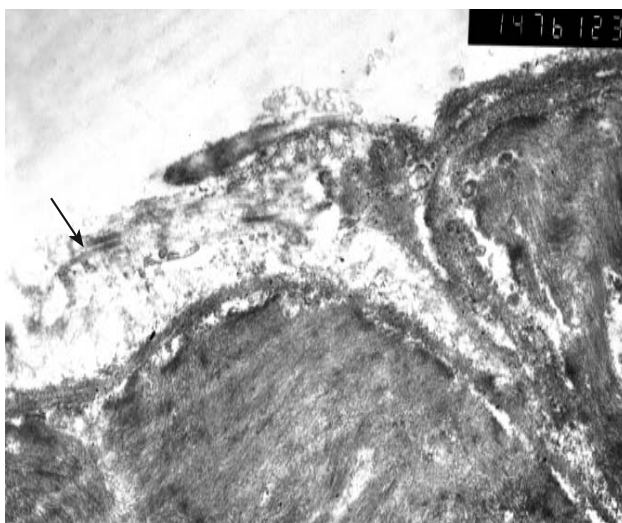


Рис. 13. Відсутність ендотеліального шару та ділянка руйнування базальної мембрани (стрілка) вени при дії склерозуючого препарату 5% концентрації.  $\times 14\ 000$ .

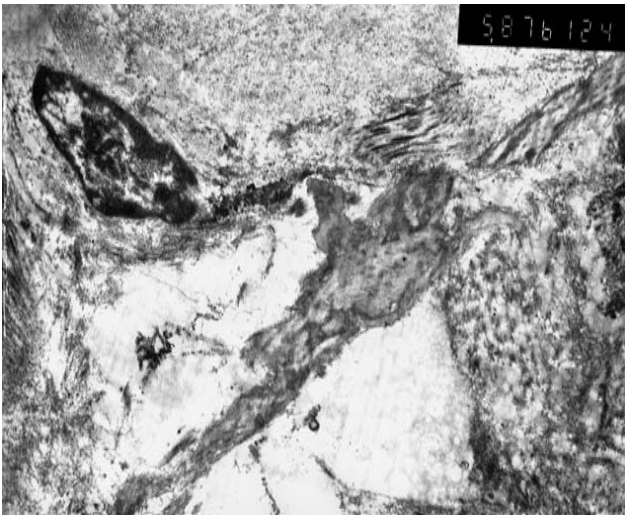


Рис. 14. набряк власне сполучної тканини вени при дії склерозуючого препарату 5% концентрації.  $\times 5\ 800$ .

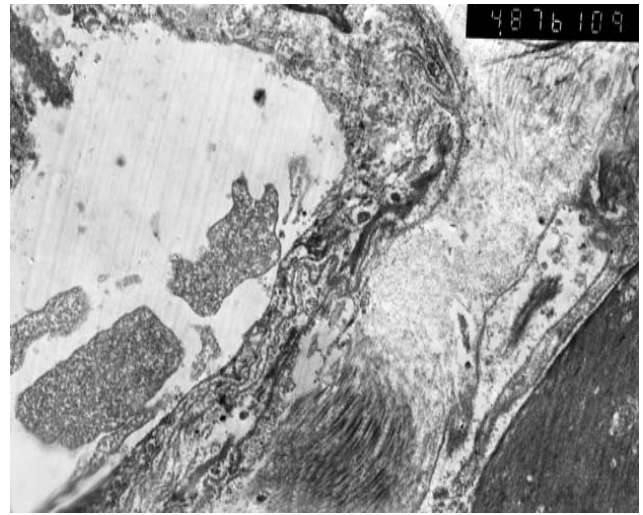


Рис. 17. набряк vasa vasorum у стінці вени при дії склерозуючого препарату 5% концентрації.  $\times 4\ 800$ .



Рис. 15. набряк цитоплазми і ядер гладком'язових клітин стінки вени при дії склерозуючого препарату 5% концентрації.  $\times 7\ 200$ .

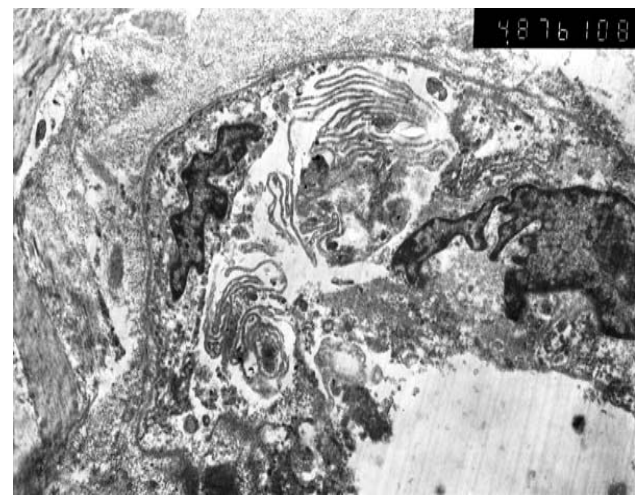


Рис. 18. десквамація ендотеліоцитів vasa vasorum венозної стінки при дії склерозуючого препарату 5% концентрації.  $\times 4\ 800$ .

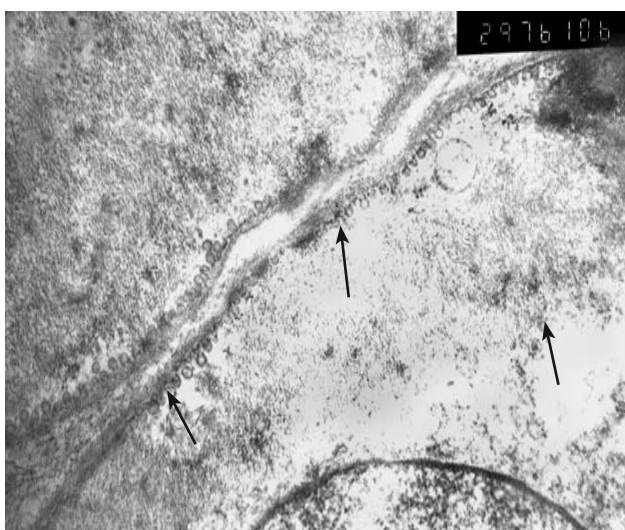


Рис. 16. локальна деградація міофібрил (стрілки) лейомиоциту стінки вени при дії склерозуючого препарату 5% концентрації.  $\times 29\ 000$ .

Результати електронномікроскопічного дослідження показали, що вираженість змін у стінках венозних судин після введення СП залежить від його концентрації, а отже підтверджує отримані раніше дані щодо світлової мікроскопії. Ці спостереження дали змогу отримати додаткову інформацію на клітинному та субклітинному рівнях стосовно структурних компонентів вен на початковому етапі лікувальної процедури. Після дії СП спостерігали дистрофічні та некротичні трансформації ендотеліоцитів, що призводили до їх масової десквамації та оголення судинної базальної мембрани; дистрофію ГМК з набряком ядер і цитоплазми, що супроводжувались руйнуванням міофібрилярних компонентів цих клітин, перинуклеарне накопичення глікогену в лейомиоцитах, що свідчило про наявність вуглеводної дистрофії; визначено ознаки мезенхімальної дистрофії. Розвиток деструктивних процесів волокнистих структур сполучної тканини документувало фібриноїдне набухання, розпад колагенових та еластинових волокон. набряк (аж до некротичних змін) ендотеліоцитів та еритроцитів спостерігали і в vasa vasorum.

Описані ультраструктурні порушення вен поглиблювались при зростанні концентрації СП. Трансформації, визначені при впливі 3% та 5% розчинів препарату, найвиразніші і свідчили про наявність потужного запального процесу в стінці вени, що слугувало патогенетичним підґрунтям для подальшого розвитку лікувального флебосклерозу.

#### Висновки

1. Виразність ультраструктурних порушень у венозній стінці після впливу склерозуючого препарату залежить від його концентрації: при 2% виникають помірні деструктивні зміни; 3% – глибші, а при 5% – значні, аж до некробіотичних і некротичних.

2. Склерозуючий препарат у концентрації 3% і 5% створює сприятливі умови для подальшого розвитку лікувального флебосклерозу. Вочевидь, аби уникнути перифокальних ушкоджень тканин слід надати перевагу 3% концентрації СП.

#### Список літератури

1. Богачев В.Ю. Флебосклерозирующее лечение варикозной болезни вен нижних конечностей с использованием техники «foam-foam» / Богачев В.Ю., Золотухин И.А., Брюшков А.Ю., Журавлева О.В. // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2003. – Т. 9, №2. – С. 81–85.
2. Іркін І.В. Морфологічні зміни в стінці вени при мікропінній склерохірургії варикозної хвороби / Іркін І.В., Ходос В.А., Заріцька В.І. // *Патологія*. – 2012. – № 2 (25). – С. 79–83.
3. Суковатых Б.С. Способ лечения высокого вено-венозного рефлюкса при склеротерапии варикозной болезни нижних конечностей / Суковатых Б.С., Назаренко П.М., Беликов Л.Н., Родионов О.А. // *Вестник хирургии*. – 2002. – №2. – С.53–56.
4. Breu F.X. Результаты Европейской согласительной конференции по применению склерозирующих средств в виде пены при варикозном расширении вен нижних конечностей. Конгресс Международного союза флебологов / F.X. Breu, S. Guggenbichler, E. Rabe // *Флебологическая*. – 2003. – №22. – С. 5.
5. Ceulen R.P. Outcomes and side effects of duplex-guided sclerotherapy in the treatment of great saphenous veins with 1% versus 3% Polidocanol form: results of randomised controlled trial with 1-year follow-up / Ceulen R.P, Bullens-Coessens Y.I, Pi-Van de Venne S.J. et al. // *Dermatol Surg*. – 2007. – №33. – P. 276–281.
6. Coleridge-Smith P. Chronic venous disease treated by ultrasound guided foam sclerotherapy / Coleridge-Smith P. // *Eur. J. Vase. Endovasc. Surg.* – 2006. – Vol. 32. – P. 577–583.
7. Rabe E. Efficacy and safety of great saphenous vein sclerotherapy using sten-dardised polidocanol foam (ESAF): a randomized controlled multicentre clinical trial / E. Rabe, J. Otto, D. Schiephake, F. Pannier // *Eur J Vase Endovasc Surg*. – 2008. – Vol. 35, №2. – P. 238–245.
8. Tessari L. Nouvelle technique d'obtention de la sklero-mousse / Tessari L. // *Phlebologie*. – 2000. – Vol. 53. – P. 129–132.

#### Відомості про авторів:

Сегеда Т.П., д. біол. н., зав. лабораторією електронної мікроскопії та фізико-технічних методів дослідження Інституту екологічної патології людини.

Ходос В.А., к. мед. н., асистент каф. хірургії та судинної хірургії НМАПО ім. П.Л. Шупика.

Заріцька В.І., к. мед. н., асистент каф. патологічної та топографічної анатомії НМАПО ім. П.Л. Шупика.

Надійшла в редакцію 23.07.2012 р.