

УДК 616.14-004.6-005.6:615.275:615.451-091.8-092.9



І. В. Іркін, Ю. П. Тітова, Ю. І. Бондаренко,
В. І. Паламарчук, В. І. Заріцька

Національна медична академія післядипломної освіти
імені П. Л. Шупика МОЗ України, Київ

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН, СПРИЧИНЕНИХ ДІЄЮ ПІННОЇ ФОРМИ ПОЛІДОКАНОЛУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Мета роботи — вивчити морфологічні зміни внутрішніх органів та хвостової вени щура після введення пінної форми склерозанту.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 80 безпородних білих щурах віком 3—4 міс з масою тіла 0,22—0,27 кг. Порівнювали склерозувальну дію 0,5; 2,0 та 3,0 % розчину полідоканолу у вигляді мікропіни. Матеріал забирали на 10-й хвилині і на 30-ту добу після введення 0,5 см³ препарату в бічну хвостову вену щура. Проводили гістологічне дослідження внутрішніх органів (серце, легені, нирки, печінка, мозок) з метою виявлення системного впливу пінної форми полідоканолу, а також вивчали пряму дію препарату на стінку судин. У групі контролю застосовували фізіологічний розчин у тому самому об'ємі.

Результати та обговорення. Зміни у внутрішніх органах тварин у всіх дослідних групах та групі контролю полягали у повнокров'ї судин, що можна вважати особливістю танатогенезу. Вплив пінної форми полідоканолу через 10 хв виявлявся альтерацією ендотелію та венозної стінки, вираженість змін посилювалася зі збільшенням концентрації препарату. На 30-ту добу виявлено фіброзну трансформацію судин і поширення склеротичних процесів за межі власне стінки судини після внутрішньовенного введення склерозувальної піни у 2,0 та 3,0 % концентрації в усіх тварин. Після введення 0,5 % розчину полідоканолу облітерацію спостерігали у 91 % випадків, але без ураження паравазальних тканин.

Висновки. Встановлено, що під дією полідоканолу розвивається фіброзний процес у вені, але він не має системного впливу на організм та не спричиняє зміни у внутрішніх органах при перевищенні рекомендованих доз і концентрацій препарату.

■

Ключові слова: пінна склерооблітерація, морфологія вен, морфологія внутрішніх органів.

Багатоатомний спирт полідоканол з групи препаратів для склерооблітерації широко застосовують у лікуванні варикозної хвороби. Головною мішенню при цьому є ендотеліальна клітина, а основною метою — її пошкодження, необхідне для активації низки процесів, які завершуються склерозом та припиненням кровотоку в склерозованій судині.

Дію склерозантів на ендотелій та клітини крові *in vitro* вивчали S. Rotter та R. Weiss (1993), які запропонували як модель сегмент великої підшкірної вени людини, видалений для аортокоронарного шунтування. Вивчали дію 3,0 % тетрадецил-сульфату натрію, 1,0 % полідоканолу та 23,4 % гіпертонічного розчину хлориду натрію [9].

S. Kobayashi та співавт. (2006) провели дослідження для визначення взаємозв'язку між концен-

трацією склерозанта та мінімальною експозицією, необхідною для ефективного руйнування ендотеліальних клітин при склерооблітерації [6].

Група австралійських учених під керівництвом К. Parsi (2007, 2008, 2009) провела дослідження дії тетрадецилсульфату натрію і полідоканолу *in vitro* на деякі фактори зсідання крові, форменні елементи крові, ендотеліальні клітини, а також на антитромботичні механізми, вивчаючи антикоагулянтну дію склерозантів класу детергентів [7, 8].

Полідоканол як представник класу детергентів має поверхнево-активні властивості і може перетворюватися на піну при застосуванні деяких методик. Доведено переваги застосування пінної форми склерозантів [5]. Проте у деяких публікаціях, крім позитивних результатів, повідомлено про випадки

виникнення системних ускладнень [4]. З'ясуванню їх причин приділяється недостатньо уваги.

У зазначених роботах морфологічні дослідження не проводили і даних щодо морфологічного підтвердження змін та фіброзної трансформації склерозованої судини немає. Результат лікування підтверджують лише клінічним обстеженням пацієнтів та даними ультразвукового дослідження судин [2]. Тому для морфологічного вивчення та підтвердження або спростування клінічних результатів ми обрали експеримент. У попередній публікації ми описали макроскопічні зміни внутрішніх органів щура та зміни в судинах, які підлягали процесу склерозування, на різних етапах експерименту з різними концентраціями полідоканолу в пінній формі. У цій статті висвітлено мікроскопічні зміни.

Мета роботи — вивчити морфологічні зміни внутрішніх органів та хвостової вени щура після введення пінної форми склерозанту.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 80 безпородних білих щурах — здорових статевозрілих самців віком 3—4 міс з масою тіла 0,22—0,27 кг.

Як склерозант використовували розчин полідоканолу («Склеровейн», Resinag AG, Швейцарія). Порівнювали склерозувальну дію 0,5; 2,0 та 3,0 % розчину полідоканолу у вигляді мікропіни *in vivo*, вводячи 0,5 см³ препарату в бічну хвостову вену щура. Дозу препарату розраховували відповідно до об'єму хвостової вени. Піну готували за методикою Тессарі і вводили шляхом пункції вени голкою 21G на відстані 1,5—2,0 см від кінчика. У групі контролю застосовували фізіологічний розчин хлориду натрію в тому самому об'ємі. Процедура не потребувала знеболювання, оскільки полідоканол має властивості анестетика [3].

Дані щодо груп тварин наведено у табл. 1.

Для вибору методу евтаназії застосували пілотне дослідження на 8 тваринах, яких виводили з експерименту за допомогою хлороформу в інгаль-

ційній формі. Подальше виведення з експерименту проводили шляхом перевищення наркотичної дози (100 мг/кг) тіопенталу натрію внутрішньоочеревинно.

Для гістологічного дослідження матеріал забиравали на 10-й хвилині і на 30-ту добу після введення препарату. При автопсії брали внутрішні органи (серце, легені, нирки, печінку, мозок) для вивчення можливого впливу на них склерозувальної піни і опосередкованого визначення її поширення в організмі тварини. Досліджували також хвостову вену, яку виділяли разом із шкірою, з метою вивчення прямої дії препарату на судинну стінку та паравазальні тканини. Матеріал фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну. Після стандартної спиртово-хлороформової проводки шматочки заливали в парафін. Зрізи товщиною 3—5 мкм робили з парафінових блоків з подальшим забарвленням гематоксиліном та еозином. Додатково застосовували забарвлення за методом Ван-Гізона — для диференціювання колагенових волокон і за методом Хейла — для визначення глікозаміногліканів, ставили ШИК-реакцію, за допомогою якої виявляли глікопротеїни. Мікроскопічне дослідження проводили з використанням світлооптичного мікроскопа Karl Zeiss (Німеччина) при збільшенні об'єктива 10, 20, 40, бінокулярної насадки — 1,5 та окулярів — 10.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Характер змін у внутрішніх органах через 10 хв та через 1 міс в усіх дослідних групах і в групі контролю не відрізнявся. Основні морфологічні зміни полягали у порушенні кровонаповнення судин, яке виявлялося повнокров'ям від помірного до вираженого, та у помірних дистрофічних змінах паренхіматозних клітин. Привертають увагу мікроскопічні зміни в легенях. У всіх тварин, у яких застосовували для евтаназії хлороформ, окрім повнокров'я судин, місцями з тромбозом, виявлено вогнища ателектазів, емфізематозне розширення альвеол з руйнуванням міжальвеолярних перегородок, а також набряк епітелію бронхів усіх порядків з дистрофією, вогнищевими некрозами та злушчуванням у просвіт бронха, іноді — з розвитком бронхоспазму (рис. 1). При виведенні з експерименту за допомогою внутрішньоочеревинного введення тіопенталу натрію характер змін дещо відрізнявся. Не було змін з боку бронхіального дерева, а ознаки гострого пошкодження легеневої тканини були виражені значно менше (рис. 2). Виникнення подібних змін у внутрішніх органах тварин дослідних груп та порівняння можна вважати результатом гострого токсичного впливу хлороформу і тіопенталу натрію та особливості танатогенезу.

Основні відмінності між дослідними групами виявлено на рівні морфологічних змін у венах хвоста. У групі контролю при використанні фізіо-

Т а б л и ц я 1
Розподіл тварин на групи залежно від концентрації препарату і терміну виведення з експерименту

Група	Препарат	10-та хвилина	30-та доба
I (дослідна; n = 20)	3,0 % розчин полідоканолу	10	10
II (дослідна; n = 20)	2,0 % розчин полідоканолу	10	10
III (дослідна; n = 22)	0,5 % розчин полідоканолу	11	11
IV (контроль; n = 18)	0,9 % розчин хлориду натрію	9	9

логічного розчину через 10 хв зафіксовано розширення просвіту судини, в яку безпосередньо вводили фізіологічний розчин (9 тварин), її повнокров'я помірного та незначного ступеня. Цілісність стінки судини збережена, ендотелій не пошкоджений (6 тварин) або частково пошкоджений (3 тварини). Пошкодження ендотелію розцінювали як результат механічної травми під дією високого тиску при введенні розчину. У м'язовому шарі та в адвентиції патологічних змін не виявлено (рис. 3). При виведенні тварин з експерименту через 1 міс морфологічна характеристика судинної стінки була типовою для хвостової вени щура. Просвіт вени збережений, нерозширений, ендотелій без ознак пошкодження в усіх випадках (рис. 4).

Морфологічні зміни в групах після дії 3 та 2 % розчину полідоканолу були схожими, що можна пояснити концентрацією препарату, яка є переви-

щеною для цього діаметра судини [1]. Через 10 хв основні зміни відбулися у внутрішній стінці вени. Просвіт судини при цьому був розширений, стінка — стоншена, визначалося повнокров'я помірного або вираженого ступеня (10 тварин при застосуванні 3 % концентрації полідоканолу та 10 — при застосуванні 2 % концентрації), пошкодження ендотелію (по 10 тварин), адгезія еритроцитів на пошкоджену інтиму (9 та 7 тварин). Зміни ендотелію виявлялися набряком клітин, дистрофічними змінами, некрозом, злушчуванням ендотелію в просвіт судини, зміни м'язового шару судини — набряком волокон (9 та 8 тварин), зміни адвентиційної оболонки — повнокров'ям судин на деяких ділянках (10 та 7 тварин). Пошкодження шкіри та її придатків не виявлено (рис. 5, 6). Через 1 міс у цих двох групах склерозована судина являла собою сполучнотканинний тяж з повною обтурацією

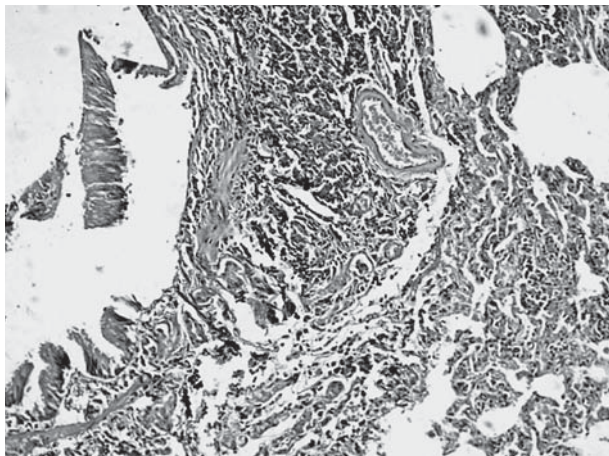


Рис. 1. Інгаляція хлороформу. Пошкодження епітелію бронхів з його злушчуванням у просвіт бронха, повнокров'я судин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$

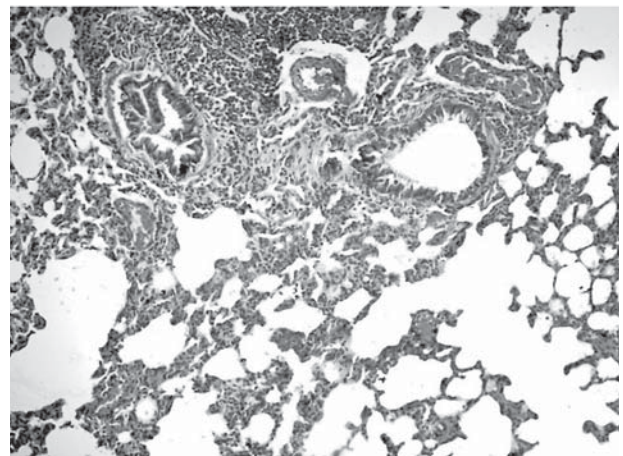


Рис. 2. Введення тіопенталу натрію. Повнокров'я судин легень. Епітелій бронхів збережений, незначні вогнища емфіземи з руйнуванням міжальвеолярних перегородок. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$

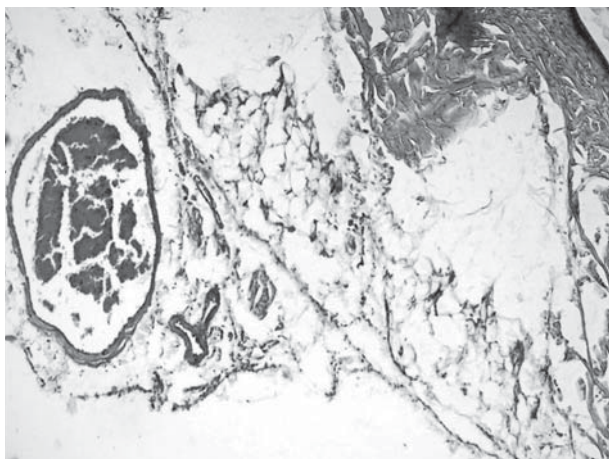


Рис. 3. Стан судини через 10 хв після введення фізіологічного розчину. Повнокров'я вени з помірним розширенням її просвіту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 50$

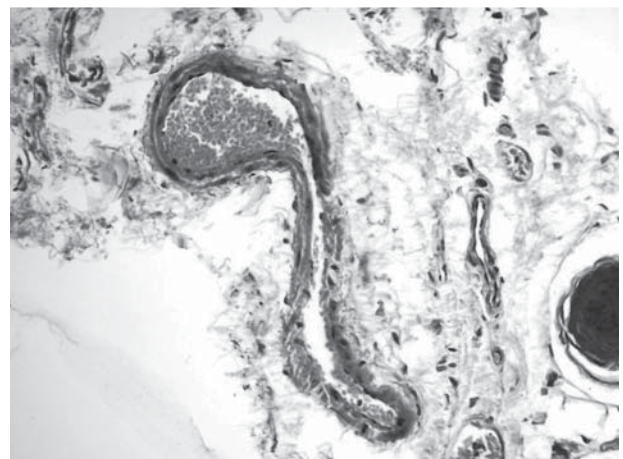


Рис. 4. Стан судини через 1 міс після введення фізіологічного розчину. Просвіт вени та кровоплин збережені, ендотелій без ознак пошкодження. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 50$

просвіту (9 та 8 тварин відповідно). У деяких тварин відзначено неповну облітерацію просвіту, що можна пояснити технічними труднощами та відсутністю компресії вени. Фіброзні зміни поширювалися на адвентиційну оболонку, проте дрібні судини адвентиції мали збережений кровоплин. Власне шкіра не пошкоджена, волосяні фолікули збережені (рис. 7).

У дослідній групі з використанням піни з 0,5 % розчину полідоканолу зміни в судинах через 10 хв були подібними до таких у двох інших дослідних групах, проте були менш вираженими (рис. 8). Особливістю спостереження через 1 міс була відсутність поширення склерозу за межі судинної стінки (рис. 9).

Дані щодо кількості тварин з певним морфологічним критерієм у групах через 10 хв після впливу пінної форми полідоканолу на хвостову вену наведено в табл. 2, через місяць — в табл. 3.

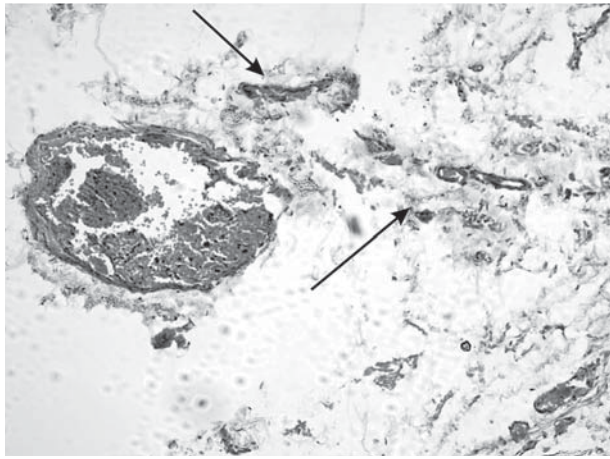


Рис. 6. Стан судин через 10 хв після впливу піни з 2 % розчину «Склеровейн». Повнокров'я судин мікроциркуляторного русла (вказано стрілкою). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$

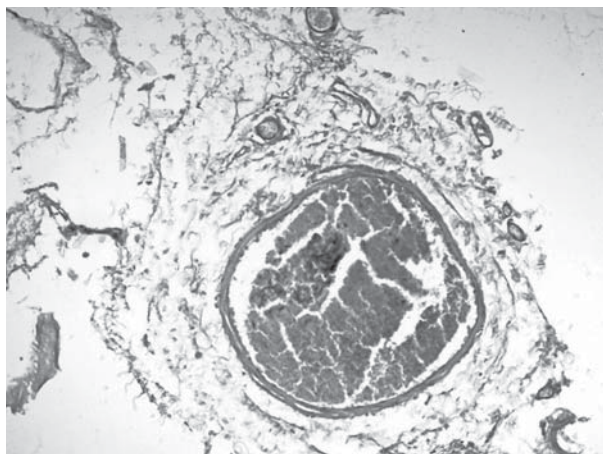


Рис. 8. Стан судини через 10 хв після впливу піни з 0,5 % розчину «Склеровейн». Розширення просвіту, повнокров'я вени, часткове пошкодження ендотелію. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$

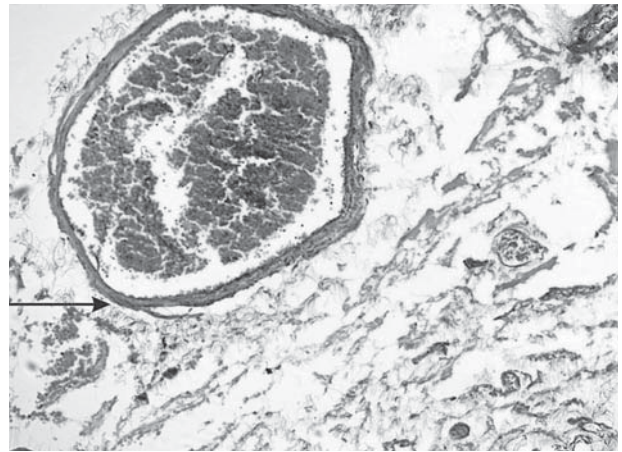


Рис. 5. Стан судини через 10 хв після впливу піни з 3 % розчину «Склеровейн». Повнокров'я судини, розширення просвіту, пристінкова адгезія еритроцитів, злизування ендотеліоцитів у просвіт судини (вказано стрілкою). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$

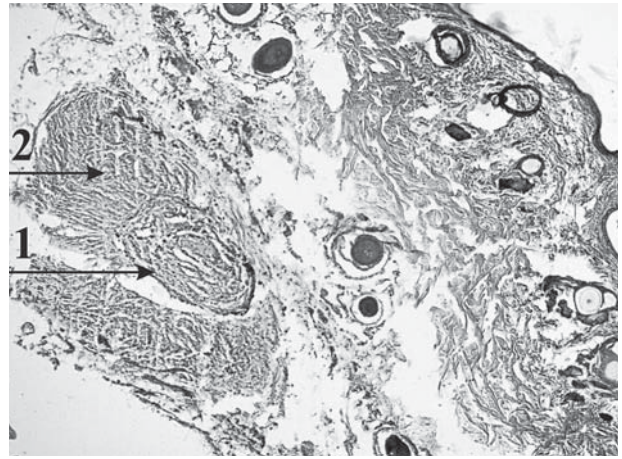


Рис. 7. Стан судини через 1 міс після впливу піни з 3 % розчину «Склеровейн». Фіброзне заміщення просвіту судини (1), розростання сполучної тканини поза стінкою судини (2). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 50$

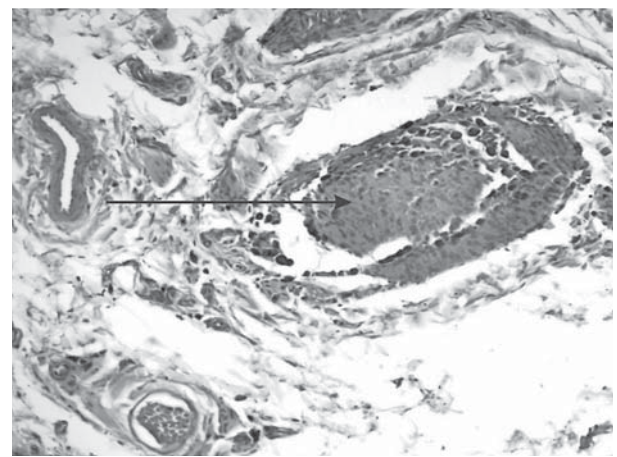


Рис. 9. Стан судини через 1 міс після введення піни з 0,5 % розчину «Склеровейн». Фіброз у межах судини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$

Т а б л и ц я 2

Кількість тварин з певним морфологічним критерієм у групах через 10 хв після впливу пінної форми полідоканолу на хвостову вену

Показник	I група (n = 10)	II група (n = 10)	III група (n = 11)	IV група (n = 9)
Повнокров'я судини	10	10	11	9
Розширення просвіту судини	10	10	10	9
Пошкодження ендотелію	10	10	9	3
Пристінкова адгезія еритроцитів	9	7	4	0
Набряк м'язової оболонки	9	8	5	0
Зміни судин адвентиції	10	7	2	0

Т а б л и ц я 3

Кількість тварин з певним морфологічним критерієм у групах через 1 міс після впливу пінної форми полідоканолу на хвостову вену

Показник	I група (n = 10)	II група (n = 10)	III група (n = 11)	IV група (n = 9)
Збереження просвіту судини	0	0	1	9
Повна обтурація, фіброзні зміни	9	8	7	0
Часткова обтурація	1	2	3	0

ВИСНОВКИ

Дія склерозувальної піни виявляється вже через 10 хв після внутрішньовенного введення у вигляді альтеративних змін в ендотелії та стінці судини. Рівень руйнації структур венозної стінки збільшується зі зростанням концентрації препарату з 0,5 до 3,0 %.

Ефективність впливу полідоканолу полягає у фіброзній трансформації судини. Досягти сполучнотканинної обтурації просвіту вени після введення 2 і 3 % препарату «Склеровейн» у вигляді піни вдалося в усіх тварин. Однак при введенні цих концентрацій препарату виявлено поширення

склеротичних процесів за межі власне стінки судини. Введення 0,5 % розчину полідоканолу спричинило облітерацію у 91 % тварин без ураження паравазальних тканин.

Полідоканол не має системного впливу на організм і не спричиняє змін у внутрішніх органах щура при перевищенні рекомендованих доз та концентрацій препарату.

Представлена експериментальна робота може стати основою для перегляду максимально допустимих доз при проведенні інтраопераційної пінної склерооблітерації у клінічних умовах, що потребує додаткового вивчення.

Література

1. Основные аспекты лечения различных проявлений варикозной болезни путем применения склерозирующей пены (по материалам 2-го Европейского консенсуса по склеротерапии пеной, принятого в январе 2006 года в Тегернзи, Германия) // Хірургія України. — 2009. — № 4. — С. 12—19.
2. Сморжевський В. Й., Паламарчук В. І., Ходос В. А. та ін. Досвід використання інтраопераційної склерооблітерації та ендовазальної лазерної коагуляції при лікуванні варикозної хвороби нижніх кінцівок // Хірургія України. — 2011. — № 4. — С. 79—85.
3. Ходос В. А. Склерозувальне лікування варикозної хвороби // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. — 2013. — № 1 (46). — С. 208—213.
4. Cavezzi A., Parsi K. Complications of foam sclerotherapy // Phlebology. — 2012. — Vol. 27, N 1. — P. 46—51.
5. Frullini A. Foam sclerotherapy: a review // Phlebology. — 2003. — Vol. 40. — P. 125—129.
6. Kobayashi S., Crooks S., Eckmann D. M. Dose- and time-dependent liquid sclerosant effects on endothelial cell death // Dermatol. Surg. — 2006. — N 32. — P. 1444—1452.
7. Parsi K., Exner T., Connor D. E. et al. In vitro effects of detergent sclerosants on coagulation, platelets and microparticles // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. — 2007. — N 4 (6). — P. 731—740.
8. Parsi K., Exner T., Low J. et al. In vitro effects of detergent sclerosants on antithrombotic mechanisms // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. — 2009. — N 38 (2). — P. 220—228.
9. Rotter S. M., Weiss R. A. Human saphenous vein in vitro model for studying the action of sclerosing solutions // J. Dermatol. Surg. Oncol. — 1993. — N 19 (1). — P. 59—62.

І. В. Іркін, Ю. П. Титова, Ю. І. Бондаренко, В. І. Паламарчук, В. І. Зарицкая

Национальная медицинская академия последипломного образования
имени П. Л. Шупика МЗ Украины, Киев

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ДЕЙСТВИЕМ ПЕННОЙ ФОРМЫ ПОЛИДОКАНОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Цель работы — изучить морфологические изменения внутренних органов и хвостовой вены крысы после введения пенной формы склерозанта.

Материалы и методы. Исследование проведено на 80 беспородных белых крысах в возрасте 3—4 мес с массой тела 0,22—0,27 кг. Сравнивали склерозирующее действие 0,5; 2,0 и 3,0 % раствора полидоканола в виде микропены. Материал забирали на 10-й минуте и на 30-е сутки после введения 0,5 см³ препарата в боковую хвостовую вену крысы. Проводили гистологическое исследование внутренних органов (сердце, легкие, почки, печень, мозг) с целью выявления системного влияния пенной формы полидоканола, а также изучали прямое действие препарата на сосудистую стенку. В группе контроля применяли физиологический раствор в том же объеме.

Результаты и обсуждение. Изменения во внутренних органах животных во всех опытных группах и группе сравнения заключались в полнокровии сосудов, что можно считать особенностью танатогенеза. Влияние пенной формы полидоканола через 10 мин проявлялось в альтерации эндотелия и венозной стенки, выраженность изменений усиливалась с увеличением концентрации препарата. На 30-е сутки удалось достичь фиброзной трансформации сосудов и распространения склеротических процессов за пределы собственной стенки сосуда после внутривенного введения склерозирующей пены в 2,0 и 3,0 % концентрации у всех животных. После введения 0,5 % раствора полидоканола облитерация наблюдалась в 91 % случаев, но без повреждения паравасальных тканей.

Выводы. Под влиянием полидоканола развивается фиброзный процесс в вене, но он не имеет системного влияния на организм и не вызывает изменений во внутренних органах при превышении рекомендуемых доз и концентраций препарата.

Ключевые слова: пенная склерооблитерация, морфология вен, морфология внутренних органов.

I. V. Irkin, Yu. P. Titova, Yu. I. Bondarenko, V. I. Palamarchuk, V. I. Zaritskaya

P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHANGES CAUSED BY FOAM-FORM POLIDOCANOL UNDER EXPERIMENT

The aim — to study morphological changes in the internal organs and rat's tail vein after foam-form sclerosing agent administration.

Materials and methods. Study was carried out on 80 white outbred rats weighing 0.22—0.27 kg at the age of 3—4 months. The sclerosing action of 0.5 %, 2.0 %, 3.0 % polidocanol solution in a micro-foam-form was compared. The test material was taken at 10th minute and 30 days after the injection of 0.5 cm³ drug in rat's lateral tail vein. Histological examination of internal organs (heart, lungs, kidneys, liver, and brain) in order to identify the direct impact of foam-form polidocanol on the vascular wall was conducted. In the control group the physiological solution in the same amount was used.

Results and discussion. Changes in internal organs of animals in all experimental groups and the comparison group manifested by vessels' congestion that can be considered a feature of tanatogenesis. The impact of foam-form polidocanol after 10 minutes manifested by the endothelium and venous wall alteration, the changes severity grew with the drug increasing concentration. On the 30th day was managed to achieve vessels fibrous transformation after intravenous injection of sclerosing foam 2 % and 3 % concentration in all test animals. After the introduction of 0.5 %, polidocanol solution the obliteration was observed in 91 % but with no injury for paravasal tissues.

Conclusions. Polidocanol causes the development of fibrotic process in vein, but has no systemic influence upon the body, nor causes any changes in internal organs if recommended drug doses and concentrations are exceeded.

Key words: foam-form scleroobliteration, vein morphology, morphology of internal organs.