



О. С. Рябинская,
О. Ф. Невзорова, Р. Р. Османов

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии
НАМН Украины», г. Харьков

© О. С. Рябинская, О. В. Невзорова,
Р. Р. Османов

Резюме. Ведущим звеном в развитии хронической венозной недостаточности поверхностных вен нижних конечностей является прогрессирующая митохондриальная дисфункция, приводящая к гипоксическим повреждениям внутриклеточных мембранных компонентов эндотелиоцитов и гладких миоцитов.

В статье показано, что изменения субмикроскопической организации эндотелиоцитов и гладких миоцитов вен нижних конечностей у больных со 2—3 степенями хронической венозной недостаточности являются компенсаторно-адаптационными и лежат в пределах физиологической компенсации. При 4 степени развития хронической венозной недостаточности изменения переходят в деструктивную фазу, у больных с 5—6 степенями катаболические процессы в эндотелиоцитах и гладких миоцитах поверхностных вен нижних конечностей на субмикроскопическом уровне превалируют над репаративными и синтетическими.

Ключевые слова: хроническая венозная недостаточность, митохондриальная недостаточность, ультраструктура венозной стенки.

Вступление

Проблема лечения хронической венозной недостаточности (ХВН), наиболее частой причиной развития которой служит варикозная болезнь нижних конечностей, остается актуальной многие годы, о чем свидетельствуют публикации в специальной литературе [4, 5, 7]. Варикозная болезнь нижних конечностей — одно из наиболее распространенных хирургических заболеваний, которое встречается у 26—38% женщин и 10—20% мужчин трудоспособного возраста [6]. Появление различных миниинвазивных методик (эндовенозная лазерная коагуляция, радиочастотная абляция, пенная склеротерапия) диктует необходимость выработки оптимальных показаний для применения каждой из них. Все перечисленные методики в той или иной степени предполагают физическое или химическое воздействие на венозную стенку [1, 2, 3]. Таким образом, для прогнозирования эффективности миниинвазивного вмешательства у пациентов с различной степенью выраженности ХВН необходимо располагать информацией о состоянии эндотелиального и мышечного слоев венозной стенки.

Исходя из этого целью нашей работы явилось исследование эндотелиального и мышечного слоев венозной стенки на субмикроскопическом уровне у больных с различной степенью выраженности ХВН.

Материал и методы

Электронно-микроскопическому исследованию подвергались клетки стенки вен, взятые во время оперативного лечения. Больные были разделены на три группы: в первую вошли пациенты со 2—3 степенями хронической венозной недоста-

точности, во вторую — с 4 степенью и в третью — с 5—6 степенями. Кусочки стенки ткани, иссеченные во время операции, подвергались предварительной фиксации в 2,5%-ном забуференном растворе глутарового альдегида в течение 4—5 часов при температуре 4 °С. По окончании фиксации ткань промывали буферным раствором и помещали в 1%-ный забуференный раствор четырехоксида осмия на 3—4 часа для окончательной фиксации. Дегидратацию осуществляли в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Ткань пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток. Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-3 изготавливали ультратонкие срезы, которые монтировали на электролитические сеточки и после контрастирования цитратом свинца изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ. Контролем качества гистологической обработки служили кусочки ткани, взятые из участков макроскопически неизмененных вен.

Результаты исследования и их обсуждение

Электронно-микроскопическое исследование неизмененных вен показало типичное строение клетки, что свидетельствовало об адекватности выбранных режимов обработки кусочков ткани. Субмикроскопическая архитектура клеток соответствовала современным представлениям. Повреждения мембран и внутриклеточных мембранных структур отсутствовали.

Проведенные электронно-микроскопические исследования ультраструктуры клеток стенки варикозно расширенных вен больных со 2—3 степе-



нями хронической венозной недостаточности показали существенные изменения ультраструктур, ответственных за активацию местных метаболических процессов. Значительная часть митохондрий эндотелиоцитов имела выраженные признаки набухания, просветленный гомогенизированный матрикс, а количество крист существенно снижалось относительно группы клеток, взятых из зоны неизмененных вен. Изредка обнаруживались очаги деструкции крист митохондрий.

Система гранулярной эндоплазматической сети эндотелиоцитов состояла из одномембранных образований округлой формы, самых разнообразных размеров, расположенных вблизи ядра или цитоплазматической мембраны. На его мембранах присутствовали довольно многочисленные рибосомы. Заполняющий цистерны матрикс был представлен веществом умеренной или низкой электронной плотности. Наряду с вакуолизацией эндоплазматического ретикулума отмечается увеличение количества включений липидных капель в цитоплазме (рис. 1).

Обычно жировая инфильтрация эндотелиоцитов носит локальный характер. Как вакуолизация, так и наличие в цитоплазме липидных капель существенно не нарушают структуры клетки, но может быть индикатором развития умеренно выраженной хронической гипоксии.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи несколько гипертрофирован. Цитоплазматическая мембрана, обращенная к току крови, очагово разрыхлена. В просвете вены обнаруживались малоизмененные клеточные элементы крови и эритроциты.

Матрикс ядер гладких миоцитов обладал средней электронной плотностью и содержал преимущественно деконденсированный хроматин, гранулы которого равномерно распределялись по площади среза. Часть гладких миоцитов имела ядра, заполненные конденсированным хромати-

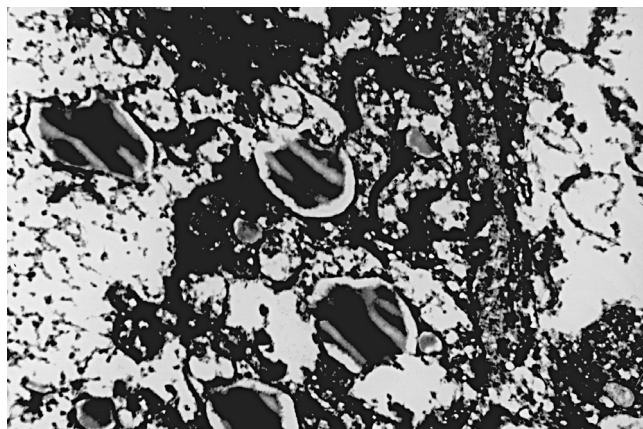


Рис. 1. Ультраструктура эндотелиальных клеток поверхностных вен нижних конечностей больных со 2—3 степенями хронической венозной недостаточности. Включения липидов. $\times 48\,000$. Контрастировано цитратом свинца

ном (рис. 2). Ядерная мембрана гладкая, обычной структуры, иногда встречались мелкие инвагинации. Митохондрии были несколько набухшие, их матрикс обладал низкой электронной плотностью. Кристы митохондрий и наружные мембраны не содержали очагов деструкции. Цитоплазматическая мембрана — без существенных изменений. Вблизи цитоплазмы локализовались многочисленные кавеолы.

Четвертая степень хронической венозной недостаточности характеризуется массивной деструкцией мембран митохондрий и других органелл эндотелиальных клеток.

Ядерная мембрана эндотелиоцитов образовывала довольно глубокие инвагинации и теряла четко контурированную структуру. Перинуклеарные пространства были неравномерно расширены. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированном состоянии, и его осмиофильные глыбки концентрировались вдоль ядерной мембраны. Центральная часть матрикса ядра содержала гранулы деконденсированного хроматина и рибосомы.

Цитоплазма в перинуклеарной области имела среднюю электронную плотность, в ней присутствовало небольшое количество деструктивно измененных органелл митохондрий, обладающих средней электронной плотностью и гомогенным матриксом. Отдельные митохондрии содержали разрушенные кристы. Наружные мембраны имели очаги деструкции.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума были расширены и представляли собой электронно-прозрачные вакуоли. На мембранах практически отсутствовали рибосомы. В цитоплазме выявлялось небольшое количество рибосом и полисом. Гиалоплазма эндотелиоцитов умеренно просветлена. Наблюдались очаговый лизис и разрыхление мембран гранулярной эндоплазматической сети.

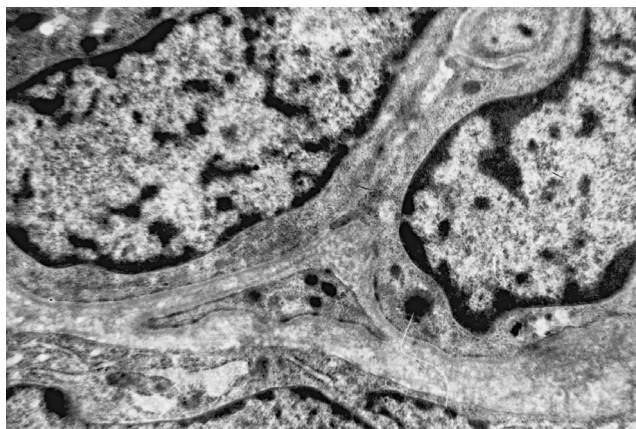


Рис. 2. Ультраструктура гладкомышечных клеток поверхностных вен нижних конечностей больных со 2—3 степенями хронической венозной недостаточности. Преобладание деконденсированного хроматина в ядре. $\times 39\,000$. Контрастировано цитратом свинца

Пластический цитоплазматический комплекс Гольджи подвержен редукции и представлен отдельно лежащими, беспорядочно ориентированными гладкими мембранами, вблизи которых располагались крупные электронно-прозрачные вакуоли. В области локализации комплекса Гольджи находились первичные и вторичные лизосомы, а также включения липидов.

Цитоплазматическая мембрана, обращенная к току крови, подвержена очаговому разрушению. В цитоплазме отростков присутствовало небольшое количество микропиноцитозных пузырьков.

Базальная мембрана имела неравномерную толщину с участками очень низкой электронной плотности. В структуре базальной мембраны выявляются вакуолеподобные образования, не ограниченные мембраной.

В ультраструктурной организации гладких миоцитов поверхностных вен нижних конечностей больных с 4 степенью ХВН обнаруживались дистрофические и деструктивные нарушения их субмикроскопической архитектоники (рис. 3). Ядерная мембрана их сохраняла четко контурированную структуру. Вместе с тем присутствовали очаги ее разрыхления. Хроматин ядра находился в конденсированном состоянии. Его гранулы собраны в осмиофильные глыбки, более или менее равномерно локализованные по площади среза ядра.

Митохондрии имели вытянутую форму. Матрикс митохондрий обладал высокой электронной плотностью. Наружная мембрана и кристы были существенно разрыхлены, осмиофильны и очагово лизированы.

В цитоплазме гладких миоцитов обнаруживались скопления липидных включений (рис. 4). Цистерны гранулярной эндоплазматической сети были сильно расширены и заполнены веществом низкой электронной плотности.

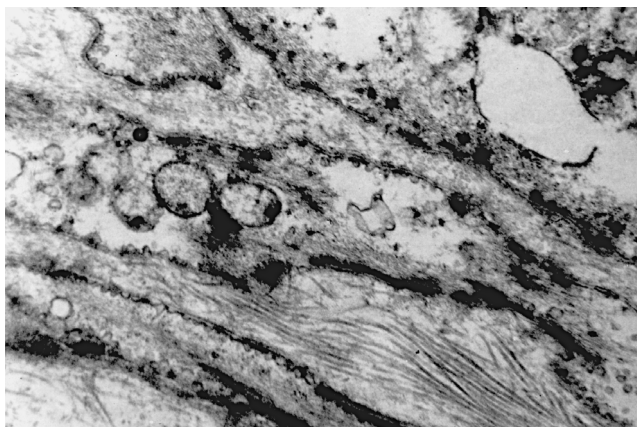


Рис. 3. Ультраструктура эндотелиальных клеток поверхностных вен нижних конечностей больных с 4 степенью хронической венозной недостаточности. Очаговая деструкция мембран митохондрий. $\times 46000$. Контрастировано цитратом свинца

В группе больных с 5—6 степенями хронической венозной недостаточности наблюдались деструктивные нарушения субмикроскопической организации эндотелиоцитов и гладких миоцитов венозной стенки.

В цитоплазме эндотелиоцитов находились тотально разрушенные внутриклеточные органеллы. Ядра их были пикнотичны и обладали высокой электронной плотностью, создаваемой глыбками конденсированного хроматина. В центральной области ядра располагалась электронно-прозрачная субстанция с включениями единичных гранул деконденсированного хроматина. Ядерная мембрана была разрыхленной и имела множественные очаги лизиса (рис. 5).

В перинуклеарной области цитоплазмы эндотелиоцитов располагались деструктивно измененные митохондрии. Наблюдался тотальный лизис крист и наружных мембран митохондрий.

Гранулярный эндоплазматический ретикулум был подвержен фрагментации. Рибосомы, как свободно лежащие в цитоплазме, так и связанные с мембранами гранулярного эндоплазматического ретикулума, практически отсутствовали (рис. 6).

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован, его мембраны дезорганизованы, разрыхлены и очагово лизированы. В области локализации фрагментов хаотически ориентированных гладких мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи встречались крупные вторичные лизосомы.

В цитоплазме эндотелиоцитов довольно часто обнаруживались включения липидов. В области разрушения эндотелиального пласта наблюдался контакт эритроцитов крови с коллагеновыми и эластическими волокнами.

Цитоплазматическая мембрана эндотелиальных клеток зачастую подвергалась локальному лизису.

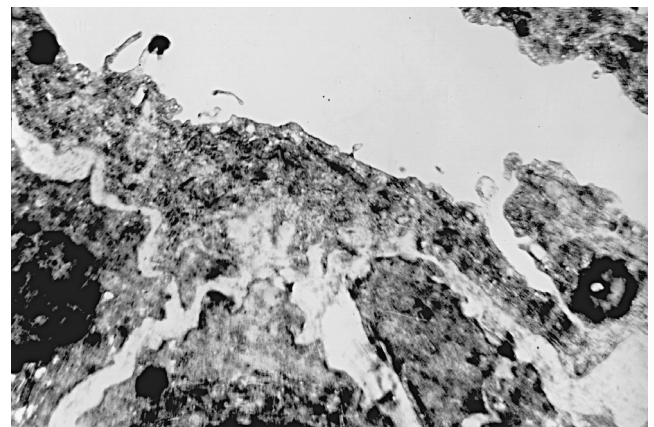


Рис. 4. Ультраструктура гладкомышечных клеток поверхностных вен нижних конечностей больных с 4 степенью хронической венозной недостаточности. Скопления липидных включений в цитоплазме. $\times 39000$. Контрастировано цитратом свинца



Ультраструктура гладких миоцитов была существенно нарушена. Ядра клеток имели вытянутую форму, обычные размеры и локализацию в цитоплазме. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированном состоянии. Характерно диффузное распределение его глыбок по кариоплазме. Ядерная мембрана сохраняла четко контурированную структуру. Перинуклеарные пространства были вакуолеобразно расширены.

Цитоплазма гладких миоцитов заполнена ориентированными вдоль длинной оси актиновыми и миозиновыми микрофиламентами. Цитоплазматическая мембрана содержала мелкие очаги лизиса.

Органеллы не всегда локализовались в перинуклеарной области гладких миоцитов. Иногда они располагались в виде скоплений в других отделах цитоплазмы. Эти скопления были окружены пучками микрофиламентов. В области локализации митохондрий и пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи часто присутствовали включения липидов.

Заключение

Проведенное электронно-микроскопическое исследование субмикроскопической организации эндотелиальных клеток поверхностных вен нижних конечностей больных со 2—3 степенями ХВН выявило нарушение метаболической активности внутриклеточных мембран и органелл.

Существенным дистрофическим изменениям подвергаются митохондрии, что указывает на нарушение биоэнергетического обеспечения синтетических процессов. Следствием нарушения биоэнергетики является снижение активности синтеза веществ, что структурно подтверждается резким расширением цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, исчезновением

связанных с его мембранами рибосом, редукцией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

В силу того, что эндотелиальные клетки принимают участие в регулировке местных процессов гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в стенку сосудов и сам тонус сосудов, выявленные изменения органелл указывают на развитие эндотелиальной дисфункции.

В основе развития эндотелиальной дисфункции ведущая роль принадлежит изменениям в митохондриях. Недостаточность, структурным выражением которой являются набухание митохондрий, разрыхление наружных мембран и крист существенным образом нарушают внутриклеточную биоэнергетику.

Параллельно с этим снижаются репаративные возможности как внутриклеточных мембранных структур и органелл, так и метаболизма эндотелиоцитов в целом. Это структурно подтверждается расширением цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума и редукцией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

Отсутствие в цитоплазме отростков эндотелиоцитов микропиноцитозных пузырьков свидетельствует и о снижении трансцеллюлярного транспорта веществ и электролитов.

Выявленные дистрофические и деструктивные изменения ультраструктурной архитектоники гладких миоцитов подчеркивают нарушение эластических свойств венозной стенки и снижении ее тонуса.

Наблюдаемая конденсация ядерного хроматина гладкомышечных клеток указывает на снижение их метаболической активности. Деструкция наружных мембран митохондрий, дезорганизация и лизис крист, а также уплотнение их матрикса являются структурным подтверждением недоста-

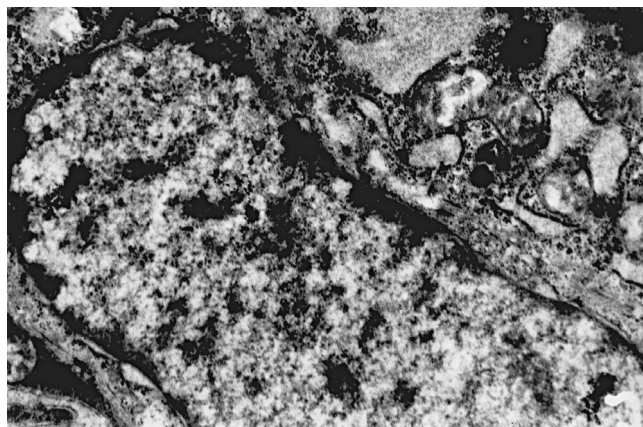


Рис. 5. Ультраструктура эндотелиальных клеток поверхностных вен нижних конечностей больных с 5—6 степенями хронической венозной недостаточности. Конденсация ядерного хроматина. $\times 47\,000$. Контрастировано цитратом свинца



Рис. 6. Ультраструктура эндотелиальных клеток поверхностных вен нижних конечностей больных с 5—6 степенями хронической венозной недостаточности. Включения липидов и вторичных лизосом в цитоплазме. $\times 40\,000$. Контрастировано цитратом свинца

точно высокого уровня сократительных возможностей гладких миоцитов в условиях биоэнергетического дефицита.

Состояние ультраструктурной организации гладкомышечных клеток у больных со 2—3 степенями ХВН поверхностных вен нижних конечностей не позволяет поддерживать нормальный тонус сосудов.

Нарушение субмикроскопической организации базальных мембран является существенным фактором в процессе возможности восстановления поврежденного слоя эндотелия, так как пролиферация эндотелиальных клеток в отсутствие базальной мембраны невозможна.

Следует отметить, что изменения субмикроскопической организации эндотелиоцитов и гладких миоцитов варикозно расширенных вен нижних конечностей, выявленные у больных со 2—3 степенями хронической венозной недостаточности, являются компенсаторно-адаптационными и лежат в пределах физиологической компенсации. Тем не менее, есть все основания констатировать начало развития эндотелиальной дисфункции.

Анализ изменений органелл эндотелиоцитов и гладких миоцитов поверхностных вен нижних конечностей показал, что при 4 степени развития хронической венозной недостаточности дистрофические изменения по глубине и степени выраженности зачастую переходят в деструктивную фазу. У этих больных наблюдается активизация катаболических процессов, на что косвенно указывает увеличение количества вторичных лизосом в цитоплазме. Увеличивается степень выраженности митохондриальной дисфункции, сопровождающейся как набуханием митохондрий, так и деструкцией крист.

Нарушения субмикроскопической организации гладких миоцитов показывает невозможность поддержания адекватного тонуса сосудистой стенки.

При 5—6 степенях хронической венозной недостаточности наблюдается превалирование ка-

таболических процессов над репаративными на субмикроскопическом уровне в эндотелиоцитах и гладких миоцитах поверхностных вен нижних конечностей. Деструктивным нарушениям подвержены мембраны митохондрий, эндоплазматической сети и ядерные мембраны.

Выводы

1. Изменения субмикроскопической организации эндотелиоцитов и гладких миоцитов варикозно расширенных вен нижних конечностей у больных со 2—3 степенями хронической венозной недостаточности являются компенсаторно-адаптационными и лежат в пределах физиологической компенсации.

2. Дистрофические нарушения органелл эндотелиоцитов и гладких миоцитов поверхностных вен нижних конечностей при 4 степени развития хронической венозной недостаточности зачастую переходят в деструктивную фазу. Наблюдается активация катаболических процессов, на что косвенно указывает увеличение количества вторичных лизосом в цитоплазме. Повышается степень выраженности митохондриальной дисфункции.

3. При 4 степени хронической венозной недостаточности субмикроскопическая организация гладких миоцитов указывает на невозможность поддержания ими адекватного тонуса сосудистой стенки.

4. При 5—6 степенях хронической венозной недостаточности катаболические процессы в эндотелиоцитах и гладких миоцитах поверхностных вен нижних конечностей на субмикроскопическом уровне превалируют над репаративными и синтетическими.

5. Ведущим звеном в развитии хронической венозной недостаточности поверхностных вен нижних конечностей является прогрессирующая митохондриальная дисфункция, приводящая к гипоксическим повреждениям внутриклеточных мембранных компонентов эндотелиоцитов и гладких миоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гужков О.Н. Лечение варикозных вен нижних конечностей методом внутривенной лазерной коагуляции / О.Н. Гужков, В.В. Рыбачков, А.В. Криничанская // Труды V конференции Ассоциации флебологов России. — М., 2004. — С. 189—190.

2. Игнатъев И.М. Миниинвазивные технологии в лечении рецидивов варикозной болезни / И.М. Игнатъев, Т.Н. Обухова, И.И. Гумеров // Труды V конференции Ассоциации флебологов России. — М., 2004. — С. 189—190

3. Кириенко А.И. Эхо-склеротерапия варикозной болезни / А.И. Кириенко, В.Ю. Богачев, И.А. Золотухин // Ангиология и сосудистая хирургия. — 2000. — №1. — С. 45—48.

4. Український консенсус із лікування пацієнтів із варикозною хворобою нижніх кінцівок / Л.М. Чернуха, О.В. Губка, І.М. Гудзь [та ін.]. — К., 2005. — 19 с.

5. Шевченко Ю.Л. Основы клинической флебологии / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко, М.И. Лыткин. — М.: Медицина, 2005. — 260 с.

6. Callam M.J. Epidemiology of varicose veins / M. J. Callam // Br. J. Surg. — 1994. — № 81. — P. 167—173.

7. Chronic venous disorders of the leg: epidemiology, outcomes, diagnosis and management. Summary of an evidence-based report of the VEINES task force / X. Kurz, S.R. Kahn, Abenhaim [et al.] // Int. Angiol. — 1999. — №18 (2). — P. 83—102.



УЛЬТРАСТРУКТУРНІ
АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ
ХРОНІЧНОЇ ВЕНОЗНОЇ
НЕДОСТАТНОСТІ

*О. С. Рябінська, О. Ф. Невзорова,
Р. Р. Османов*

Резюме. Провідною ланкою в розвитку хронічної венозної недостатності поверхневих вен нижніх кінцівок є прогресуюча мітохондріальна дисфункція, що призводить до гіпоксичних ушкоджень внутрішньоклітинних мембранних компонентів ендотеліоцитів і гладких міоцитів.

У статті показано, що зміни субмікроскопічної організації ендотеліоцитів і гладких міоцитів вен нижніх кінцівок у хворих із 2—3 ступенями хронічної венозної недостатності є компенсаторно-адапційними і лежать у межах фізіологічної компенсації. При 4 ступені розвитку хронічної венозної недостатності зміни переходять у деструктивну фазу, у хворих із 5—6 ступенями катаболічні процеси в ендотеліоцитах і гладких міоцитах вен нижніх кінцівок на субмікроскопічному рівні превалюють над репаративними і синтетичними.

Ключові слова: *хронічна венозна недостатність, мітохондріальна недостатність, ультраструктура венозної стінки.*

ULTRASTRUCTURAL
ASPECTS OF PATHOGENESIS
OF CHRONIC VENOUS
INSUFFICIENCY

*O. S. Riabinska, O. F. Nevzorova,
R. R. Osmanov*

Summary. A leading part in development of chronic venous insufficiency of the superficial veins of the lower extremities is a progressive mitochondrial dysfunction, leading to hypoxic damage of intracellular membrane components of endotheliocyte and smooth myocytes. It is shown that changes in the submicroscopic organization of endothelial cells and smooth myocytes of lower extremity veins in patients with 2—3 degrees of chronic venous insufficiency are compensatory-adaptive and are within the physiological compensation. At the 4-th degree of chronic venous insufficiency of the changes go into a destructive phase. In patients with 5—6 degrees of chronic venous insufficiency of the catabolic processes in endothelial cells and smooth myocytes of superficial veins of the lower extremities on submicroscopic level take precedence over the reparative and synthetic.

Key words: *chronic venous insufficiency, mitochondrial insufficiency, venous wall ultrastructure.*