



К. В. Мішеніна,
В. П. Невзоров, Д. В. Оклей

МОРФОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ ГОСТРИХ ВЕНОЗНИХ ТРОМБОЗІВ

ДУ «Інститут загальної
та невідкладної хірургії
ім. В. Т. Зайцева НАМН
України», м. Харків

© Колектив авторів

Резюме. Метою роботи стало виявлення ролі ультраструктурних перебудов внутріклітинних структур і органел клітин судинної стінки у формуванні тромбів в судинах вен нижніх кінцівок хворих. Матеріалом для дослідження стали шматочки вен хворих на гострий тромбоз, посічені під час оперативного втручання. Електронно-мікроскопічне вивчення ендотеліальних клітин, взятих з області локалізації тромбу, показало наявність дистрофічних і деструктивних змін органел. Виявлено причини формування тромбів у судинах вен нижніх кінцівок хворих на ультраструктурному рівні.

Ключові слова: гострий тромбоз, ендотеліальна дисфункція, ультраструктура вен.

Вступ

Результати різних медичних статистичних досліджень в індустріально розвинених країнах вказують, що захворюваннями венозної системи нижніх кінцівок страждає до 20 % населення. Це визначає соціальну значимість проблеми. В даний час спостерігається тенденція до збільшення кількості хворих, страждаючих на гострий тромбоз вен нижніх кінцівок.

Відомо, що в основі виникнення захворювання лежать спадкові порушення еластичності венозної стінки на тлі венозної гіпертензії, що реалізуються через гормональні впливи [1-3].

Причини гострого тромбозу глибоких вен нижніх кінцівок точно не встановлені. Процес починається при поєднанні ушкодження судинної стінки, стазу крові, а також порушення реологічних властивостей крові. Однак цих причин недостатньо для розвитку гострих тромбозів в більш великих судинах, так як тромб, що формується, буде легко змитий інтенсивним струменем крові [4, 5].

Дисфункція ендотелію розглядається як можлива причина патологічних змін у венозній стінці і порушень системи згорнення крові, які характерні для тромбозу глибоких вен [6, 7].

В результаті пошкодження ендотелію тромбоцити затримуються волокнами субендотеліального колагену і під впливом фактора Вілдебранда стають активованими, а в подальшому піддаються дегрануляції. Пошкодження ендотелію і контакт крові з колагеном також активують систему згорнення крові.

Колагенові волокна беруть участь у підтриманні нормальної конфігурації судини і збереження її при екстремальних впливах. Судинний тонус і вазомоторні реакції регулюються гладком'язовими клітинами судинної стінки [9-11].

Слід зазначити, що наявність у стегновій вені пучків гладких міоцитів в оболонках і клапанах виявляється недостатнім для підйому крові проти сил тяжіння. Істотну роль в цьо-

му відіграє скорочення скелетної мускулатури нижніх кінцівок.

В ендотеліальних клітинах, як відомо, синтезується судинорозширювальні та антиагрегаційні агенти, за допомогою яких ендотелій може впливати на тонус гладкої мускулатури. Функції ендотелію складаються як баланс протилежно діючих початків: посилення — ослаблення судинного тонусу, агрегація — дезагрегація клітин крові, збільшення — зменшення кількості судинних клітин. У кожному випадку результат визначається концентрацією синтезованих в ендотеліоцитах речовин, між якими існують сувора залежність і рівновага.

Гіпоксія тканин активує ендотеліальні клітини, які звільняють медіатори запалення, що індукують адгезію і агрегацію лейкоцитів.

Від адекватного функціонування ендотеліоцитів залежать тонус судин, загальний судинний опір, венозний тиск, атромбогенність судинної стінки, активність згортання. При порушенні структури ендотеліоцитів змінюється спектр біологічно активних речовин, що ними виділяється. Ендотелій починає виробляти агреганти, коагулянти, вазоконстриктори і стає ініціатором багатьох патологічних процесів в організмі [12].

Мета дослідження

Виявлення ролі ультраструктурних перебудов внутріклітинних структур і органел клітин судинної стінки у формуванні тромбів в судинах вен нижніх кінцівок хворих.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для дослідження стали шматочки вен хворих на гострий тромбоз, взяті під час оперативного втручання. Забір тканини проводився з області локалізації тромбу. Шматочки венозної стінки піддавалися попередній фіксації в 2,5 % забуференому розчині глютарового альдегіду протягом 4—5 год за темпера-



тури 4 °С. Після закінчення попередньої фіксації тканину промивали буферним розчином і відправляли до 1 % забуференого розчину чотириокису осмію на 3–4 год для остаточної фіксації. Дегідратацію здійснювали в спиртах зростаючої концентрації та ацетоні. Тканини просочували в суміші епоксидних смол (Епон-аралдіт) за загальноприйнятими методиками. Полімеризацію блоків проводили в термостаті за температури 60 °С протягом двох діб.

З отриманих блоків на ультрамікросомі УМТП-3 виготовляли ультратонкі зрізи, монтували їх на електролітичні сіточки, після контрастування цитратом свинцю вивчали під електронним мікроскопом ЕМВ-100БР.

Результати досліджень та їх обговорення

Електронно-мікроскопічне вивчення ендотеліальних клітин, взятих з області локалізації тромбу, показало наявність дистрофічних і деструктивних змін органел.

Ядра ендотеліоцитів мали фестончастий вигляд (рис. 1). Ядерна мембрана утворювала глибокі інвагінації, втрачала чітко контуровану структуру, була розпушена. Перинуклеарний простір нерівномірно розширений. Ядерний хроматин перебував переважно в конденсованому стані. Його осміофільні грудочки щільним кільцем концентрувалися уздовж ядерної мембрани. Центральна частина матриксу ядра містила гранули деконденсованого хроматину і володіла низькою електроною щільністю. Цитоплазма в перинуклеарній області мала більш високу електронну щільність, в ній присутня невелика кількість деструктивно змінених органел.

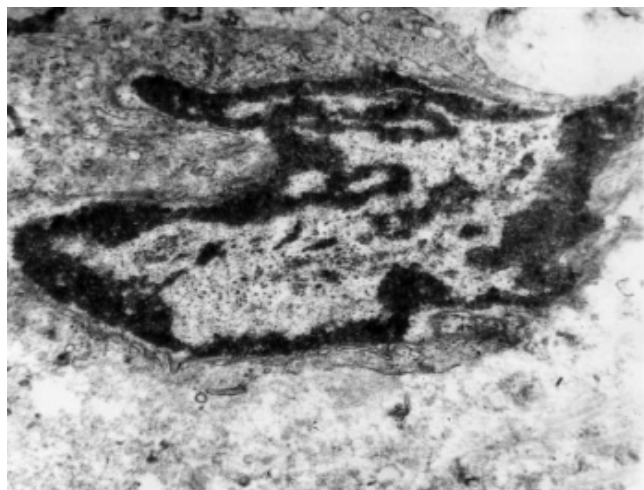


Рис. 1. Ультраструктура ендотеліоцитів вен нижніх кінцівок хворих на гострий тромбоз. Розпушення ядерної мембрани, конденсація хроматину, розширення перинуклеарного простору, $\times 37\ 000$

Мітохондрії ендотеліоцитів володіли середньої електронної щільністю і гомогенним матриксом. Крісти значного числа мітохондрій

не виявлялись. Окремі мітохондрії містили грубоволокнистий матрикс. Зовнішні мембрани мали осередки деструкції.

Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулулу були сильно розширені і представляли собою електронно-прозорі вакуолі. На мембранах практично були відсутні рибосоми, а в цитоплазмі виявлялася велика кількість рибосом і полісом. Спостерігався вогнищевий лізис мембран гранулярної ендоплазматичної мережі.

Пластичний цитоплазматичний комплекс Гольджі був схильний до редукції і представлений окремо лежачими, безладно орієнтованими гладкими мембранами, поблизу яких розташовувалися великі електронно-прозорі вакуолі, первинні і вторинні лізосоми, а також включення ліпідів.

Цитоплазма відростків ендотеліоцитів була стоншена і містила великі вакуолі. Цитоплазматична мембрана, звернена до току крові, утворила вирости у вигляді мікроворсинок і ділянок, які зазнали руйнації (рис. 2).

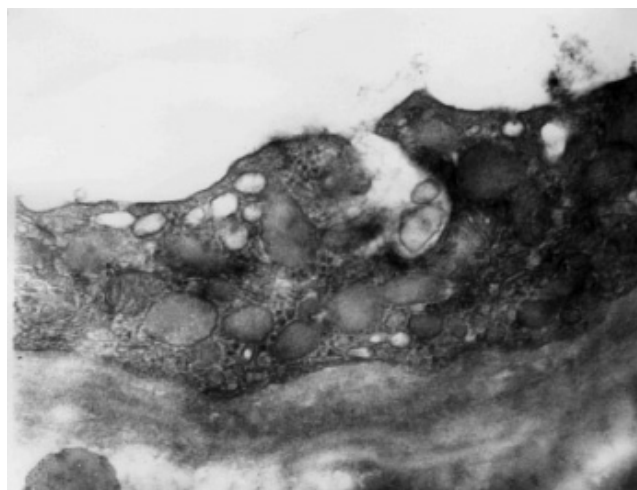


Рис. 2. Ультраструктура ендотеліоцитів вен нижніх кінцівок хворих на гострий тромбоз. Вирости цитоплазматичної мембрани, вогнищевий лізис і великі вакуолі в цитоплазмі відростків ендотеліальних клітин, $\times 49\ 000$

У цитоплазмі відростків знаходилася невелика кількість мікропіноцитозних бульбашок, заповнених електронно-прозорою субстанцією.

Базальна мембрана мала нерівномірну товщину і середню електронну щільність. У структурі базальної мембрани виявлялися вакуолеподібні освіти, не обмежені мембраною. Крім того, виявлялися ділянки руйнування базальної мембрани.

Поряд з цим в зоні локалізації тромбу зустрічалися ендотеліоцити з тотальною деструкцією всіх внутрішньоклітинних органел і мембранних структур. Ядра таких клітин мали високу електронну щільність, створені глибокими конденсованими хроматину, розташованими поблизу ядерної мембрани. У центральній ді-

лянці матриксу ядра знаходилася електронопрозора субстанція з включеннями одичних гранул неконденсованого хроматину. Ядерна мембрана була розпушена, з множинними вогнищами лізису.

У перинуклеарній ділянці цитоплазми ендотеліоцитів розташовувалися деструктивно змінені мітохондрії. Спостерігався тотальний лізис крист і зовнішніх мембран. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум був фрагментований. Рибосоми, як вільно лежачі в цитоплазмі, так і пов'язані з мембранами гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, були практично відсутні (рис. 3).

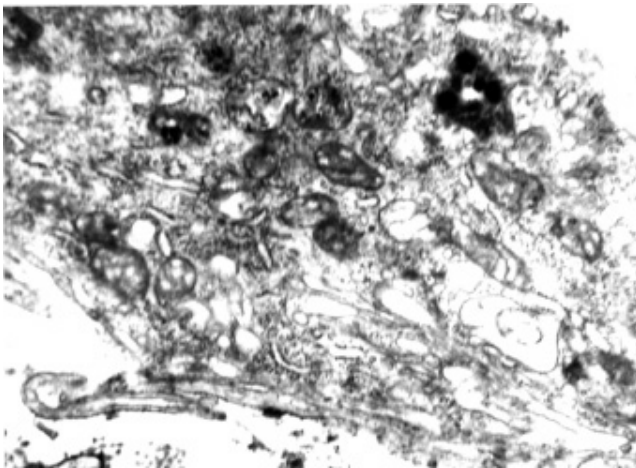


Рис. 3. Ультраструктура ендотеліоцитів вен нижніх кінцівок хворих на гострий тромбоз. Деструкція і гомогенізація мітохондрій, фрагментація мембран ендоплазматичного ретикулуму, $\times 52\ 000$

Редукція пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі супроводжувалася розпушуванням і лізисом його мембран. В області локалізації фрагментів хаотично орієнтованих гладких мембран пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі розташовувалися великі вторинні лізосоми.

Гіалоплазма ендотеліоцитів мала електронопрозорий вигляд, в відростках її цитоплазми відсутні мікропіноцитозні везикули і трансендотеліальні канали. Люмінальна мембрана ендотеліоцитів, гладка, без випинань і мікроворсинок, мала великі ділянки деструкції. У цитоплазмі ендотеліоцитів часто виявлялися включення ліпідів.

В області руйнування ендотеліального пласта спостерігався контакт еритроцитів крові з колагеновими та еластичними волокнами. Цитоплазматична мембрана еритроцитів при контакті з ними піддавалася локальному лізису.

Відомо, що навіть при відсутності порушень трофіки в медіальному шарі венозної стінки розвивається гіперплазія гладком'язових клітин з розростанням колагенових і еластичних волокон.

Ультраструктура гладких міоцитів, локалізованих в стінці трамбованих вен, була істотно порушена. Ядерний хроматин перебував переважно в конденсованому стані. Характерним був дифузний розподіл його грудочок по каріоплазмі. Перинуклеарні простори не розширювалися.

Цитоплазма гладких міоцитів була заповнена орієнтованими вздовж довгої осі актиновими та міозиновими мікрофіламентами. Цитоплазматична мембрана — чітка, з дрібними вогнищами лізису.

Органили не завжди локалізувалися в перинуклеарній ділянці гладких міоцитів. Іноді вони розташовувалися у вигляді скупчень в інших відділах цитоплазми і були оточені пучками мікрофіламентів. Мітохондрії і гладкі мембрани пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі були деструктивно змінені (рис. 4).

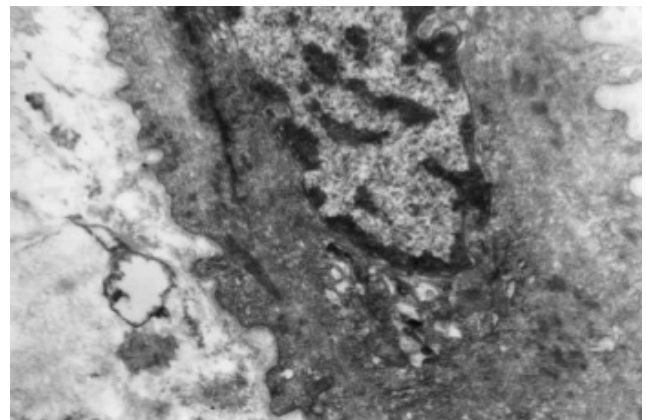


Рис. 4. Ультраструктура гладких міоцитів вен нижніх кінцівок хворих на гострий тромбоз. Деструкція цитоплазматичних органел, $\times 39\ 000$

В області розташування тромбу в просвіті вени виявлялися еритроцити і фрагменти дегенеративно змінених органел, мембран, включень ліпідів і безструктурної субстанції ліпопротеїнового походження.

У стінці вен, в області руйнування ендотеліального пласта спостерігався контакт еритроцитів безпосередньо з міоцитами. У цій області еритроцити стикалися один з одним, і в місцях зіткнення мембрана еритроцитів піддавалася очаговому лізису.

Деструктивні зміни гладких міоцитів в області сформованого тромбу вказували на порушення еластичних властивостей венозної стінки і зниження її тону.

У місці руйнування епітеліального пласта активувалися внутрішньоклітинні процеси в фібробластах. Їх ядра набували фстончастий вигляд з безліччю глибоких і дрібних інвагінацій ядерної мембрани. Ядерний хроматин частково конденсувався і концентрувався поблизу ядерної мембрани. У центральній ділян-



ці матриксу з'являлися скупчення рибосом. Перинуклеарні простори не були розширені. У цитоплазмі фібробластів розташовувалися добре розвинені мембрани гранулярного ендоплазматичного ретикулума, їх цистерни були сплюснені. На мембранах присутні численні рибосоми. В окремих фібробластах спостерігалася гіперплазія мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулуму.

Невелика кількість дрібних мітохондрій містили крісти, кількість яких відповідала даному виду клітин.

Базальна мембрана була потовщена, мала різну щільність. В області розташування тромбу в просвіті вени виявлялися еритроцити і фрагменти дегенеративно змінених органел і мембран, включення ліпідів і безструктурна аморфна субстанція.

Вогнищ деструкції мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрій, їх кріст і мембран пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі не виявляється. Фібробласти оточувалися великою кількістю колагенових волокон.

Поряд з метаболічно активними фібробластами іноді в препаратах зустрічалися клітини, із деструктивними процесами (рис. 5). Цитоплазма цих клітин електроннощільна. Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулума були вакуолізовані, а мембрани мали множинні осередки лізису. У цитоплазмі знаходилися зруйновані мітохондрії, первинні та вторинні лізосоми, дрібні включення ліпідів. У ядерній мембрані зустрічалися численні інвагінації. Виявлялися вогнища лізису ядерної мембрани і ділянки її розпушення.

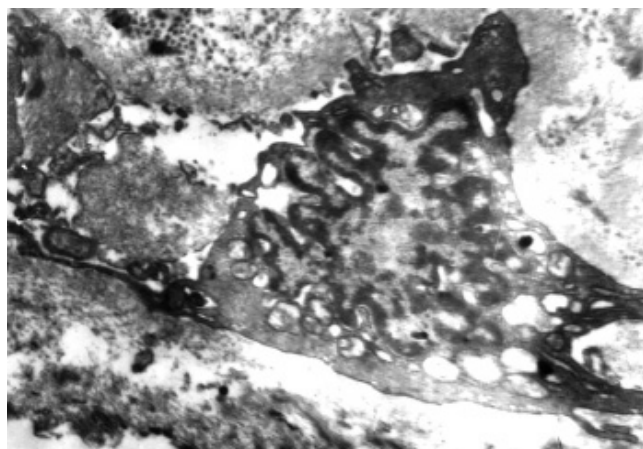


Рис. 5. Ультраструктура фібробластів венозної стінки нижніх кінцівок хворих на гострий тромбоз. Інвагінації і локальні руйнування ядерної мембрани, лізис мембран ЕПР і мітохондрій, $\times 55\ 000$

Проведене електронно-мікроскопічне дослідження субмікроскопічної організації ендотеліальних клітин вен нижніх кінцівок, взятих з області локалізації тромбу у хворих на

гострий тромбоз, виявило порушення метаболічної активності органел. Значним деструктивним змінам піддавалися мітохондрії, що вказувало на порушення біо-енергетичного забезпечення синтетичних процесів. Наслідком порушення біоенергетики було зниження активності синтезу речовин, що структурно підтверджувалося різким розширенням цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, зникненням пов'язаних з ним рибосом, редукцією пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі.

Одночасно з цим спостерігалася наростання катаболічних процесів, на що побічно вказувало збільшення кількості вторинних лізосом, локалізованих поблизу пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі.

У зв'язку з тим, що ендотеліальні клітини приймали участь у регулюванні місцевих процесів гемостазу, проліферації і в підтримці тону судин, виявлені зміни органел вказують, що в області формування тромба розвивається ендотеліальна дисфункція вен нижніх кінцівок.

В основі розвитку ендотеліальної дисфункції, на наш погляд, провідна роль відводиться змінам в мітохондріях. Мітохондріальна недостатність, структурним вираженням якої є локальний лізис зовнішніх мембран і кріст, значно порушує внутрішньоклітинну біоенергетику. Паралельно з цим знижуються і репаративні можливості внутрішньоклітинних мембранних структур, а також метаболізм ендотеліоцитів в цілому, що структурно підтверджується деструкцією мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулума і редукцією пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджі. Відсутність в цитоплазмі відростків ендотеліоцитів мікропіноцитозних бульбашок свідчить про зниження активності трансцелюлярного транспорту речовин і електролітів через ендотелій.

Деструктивні зміни гладких міоцитів вказують на порушення еластичних властивостей венозної стінки і зниження її тону. Конденсація ядерного хроматину гладком'язових клітин свідчить про зниження їх метаболічної активності, а деструкція зовнішніх мембран мітохондрій, дезорганізація і лізис крист, а також ущільнення їх матриксу є структурним підтвердженням низького рівня скорочувальних можливостей гладких міоцитів в умовах біоенергетичного дефіциту. Стан ультраструктурної організації гладком'язових клітин в умовах гострого тромбозу вен нижніх кінцівок не дозволяє підтримувати нормальний тонус судин.

Активація фібробластів венозної стінки, що продукують колагенові та еластичні волокна, ймовірно, є компенсаторною реакцією, спрямованою на підтримку нормальної конфігурації судини в місці руйнування ендотеліального



шару. Слід зазначити, що колаген не впливає на тонус судин і судинорухову реакцію, але контакт клітинних елементів крові з колагеном активує систему згортання, що створює додаткові умови для формування тромбів.

Висновки

Таким чином, електронно-мікроскопічним дослідженнями вен нижніх кінцівок хворих на гострий тромбоз встановлено, що в області формування тромбу розвиваються зміни субмікроскопічної архітекtonіки ендотеліальних клітин, в результаті чого виникає ендотеліальна дисфункція.

Провідною ланкою в розвитку патології судин на ультраструктурному рівні є мітохон-

дріальна недостатність ендотеліоцитів, яка структурно виявляється лізисом зовнішніх мембран і крист цих органел, що тягне за собою дефіцит біоенергетичного забезпечення внутрішньоклітинних синтетичних реакцій і репаративних процесів.

Порушення ультраструктурної організації гладких міоцитів у ділянці формування тромбів свідчать про неможливість підтримування оптимального тону судин.

Зміна субмікроскопічної організації базальних мембран є істотним чинником можливості відновлення пошкодженого шару ендотелію, так як проліферація ендотеліальних клітин у відсутності базальної мембрани не можлива.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гавриленко А. В. Хирургические методы коррекции клапанной недостаточности глубоких вен нижних конечностей / А. В. Гавриленко, С. И. Скрылев, Ф. А. Радкевич // *Ангиология и сосудистая хирургия*. — 1997. — № 2. — С. 127–134.
2. Голубев О. А. Особенности взаимоотношений сосудистого русла и его клеточного микроокружения в тканях фиброаденом молочной железы : дисс. ... канд. мед. наук. / О. А. Голубев. — Минск, 1993. — 124 с.
3. Золотухин И. А. Особенности определения показаний к лазерной облитерации магистральных подкожных вен при варикозной болезни / И. А. Золотухин, В. Ю. Богачев, А. И. Кириенко // *Флебология*. — 2009. — Т. 3, № 1. — С. 4–10.
4. Савельев В. С. Современные направления в хирургическом лечении хронической венозной недостаточности / В. С. Савельев // *Флеболимфология*. — 1996. — № 1. — С. 5–7.
5. Хворостунин В. С. Значение недостаточности перфорантных вен и малоинвазивные хирургические методы ее коррекции у больных варикозной болезнью нижних конечностей : Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / В. С. Хворостунин. — Саратов, 2006. — 21 с.
6. A color Doppler ultrasound study of venous reflux in patient with chronic leg ulcer / M. B. Magnusson, O. Nelzen, B. Risberg, R. Sivertsson // *Eur. J. Endovasc. Surg.* — 2001. — Vol. 21, № 4. — P. 353–360.
7. Bergan J. J. Advances in evaluation and treatment of chronic venous insufficiency / J. J. Bergan // *Angiology and Vasc. Surg.* — 1995. — № 3. — P. 59–80.
8. Caggiati A. Fascial relations and structure of the tributaries of the saphenous veins // *Surg. Radiol. Anat.* — 2000. — Vol 22, № 3–4. — P. 191–196.
9. In situ hemodynamics of perforating veins in chronic venous insufficiency / K. T. Delis, M. Husmann, E. Kalodici et al. // *J. Vasc. Surg.* — 2001. — Vol 33, № 4. — P. 773–782.
10. Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population: Edinburgh Vein Study / C. J. Evans, F. G. Fowkes, C. V. Ruckley, A. J. Lee // *J. Epidemiol. Community Health*. — 1999. — № 53. — P. 149–153.
11. Standing at work and varicose veins / F. Tuchsén, N. Krause, H. Hanners [et al.] // *Scand. J. Work Environ. Health*. — 2000. — № 26. — P. 414–420.
12. The anatomical variables of the sapheno-popliteal junction visualization by radiological and echographic examinations / L. Corcos, C. Macchi, D. de Anna et al. // *Ital. J. Anat. Embryol.* — 1996. — Vol 101, № 1. — P. 15–28.



МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБОСНОВАНИЕ
ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОСТРЫХ
ВЕНОЗНЫХ ТРОМБОЗОВ

*Е. В. Мишенина,
В. П. Невзоров, Д. В. Оклей*

Резюме. Целью работы стало выявление роли ультраструктурных перестроек внутриклеточных структур и органелл клеток сосудистой стенки в формировании тромбов в сосудах вен нижних конечностей пациентов. Материалом для исследования стали кусочки вен больных острым тромбозом, взятые во время операции. Электронно-микроскопическое изучение эндотелиальных клеток, взятых из области локализации тромба, показало наличие дистрофических и деструктивных изменений органелл. Выявлены причины формирования тромбов в сосудах вен нижних конечностей больных на ультраструктурном уровне.

Ключевые слова: *острый тромбоз, эндотелиальная дисфункция, ультраструктура вен.*

MORPHOLOGICAL STUDY
OF ACUTE VENOUS
THROMBOSIS

*K. V. Mishenina,
V. P. Nevzorov, D. V. Okley*

Summery. The aim was the discovery of the role of ultrastructural alterations of intracellular structures and organelles of cells of the vascular wall in the formation of blood clots in the vessels of the veins of the lower limbs of patients. The material for the study were pieces patients with acute venous thrombosis, excised during surgery. Electron microscopic study of endothelial cells taken from thrombus localization showed the presence of degenerative and destructive changes organelles. The reasons for the formation of blood clots in the vessels of the veins of the lower extremities of patients with ultrastructural level.

Key words: *acute thrombosis, endothelial dysfunction, vein ultrastructure.*