

## НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ВЕНОЗНЫХ ЯЗВ

Харьковская медицинская академия последипломного образования (г. Харьков)

metide@ukr.net

Данная работа является фрагментом НИР «Комплексная профилактика гнойно-септических осложнений у больных неосложненными заболеваниями органов брюшной полости и мягких тканей», № государственной регистрации U0111U003580.

**Вступление.** Патогенез венозных язв нижних конечностей служит предметом активного изучения на протяжении уже многих десятилетий. Согласно последним рекомендациям ведущих мировых флебологических обществ под венозной язвой следует понимать кожный дефект голени или стопы в зоне венозной гипертензии [2,7]. Ключевым звеном в патогенезе венозных язв обоснованно являются нарушения в системе микроциркуляции [5]. При длительном существовании язвы наслаиваются другие патогенетические механизмы: бактериальная и медикаментозная аллергизация, изменение местной иммунологической реактивности и местные аутоиммунные процессы. При этом в области раневого дефекта происходят нарушения на клеточном и субклеточном уровнях.

В настоящее время опубликовано достаточное количество исследований, посвященных морфологии трофических язв [3,4]. Однако, в них нет четкого указания на сроки ее существования. Кроме того, морфологические методы исследования не дают полной характеристики изменений метаболизма внеклеточного матрикса. Корректная оценка таких данных и выбор оптимального способа лечения крайне затруднительны. Необходимость более четкого обозначения морфологии хронических венозных язв с помощью современных иммуногистохимических методик является актуальной на сегодняшний день.

**Цель исследования** – изучение морфологических, а также иммуногистохимических особенностей хронических венозных язв.

**Объект и методы исследования.** Материалом для гистологического и иммуногистохимического исследования послужили иссеченные фрагменты ткани венозных язв размерами 1,0x0,5x0,5 см и существующих от 6 мес. до 10 лет. Биоптаты фиксировали 10% забуференным формалином и подвергали парафиновой проводке. Парафиновые срезы толщиной 5-8 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизон, а также трихромом по Массону. Классический морфометрический анализ был проведен в соответствии со сложившимися принципами количественных морфологических исследований [1]. Микропрепараты изучались на микроскопе Carl Zeiss Primo Star при

100-, 200- и 400-кратном увеличении. Микрофотографии получены с помощью камеры AxioCam.

Имуногистохимическим методом [6] выявляли в тканях: степень пролиферативной активности с использованием маркера пролиферативной активности ki 67, экспрессию коллагенов I, III и IV типов, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), маркер эндотелиальных клеток (CD 34), фактора роста фибробластов (FGF), эпидермального фактора роста (EGF), экспрессию высокомолекулярного цитокератина (Cytokeratin HMW), также определялись рецепторы к макрофагам (CD 68). Использовались мышиные моноклональные антитела (МКАТ) фирмы DAKO (Дания), Ready-to-Use. Демаскирующая термическая обработка выполнялась путем кипячения срезов в цитратном буфере (рН 6,0). Для визуализации первичных антител использовалась система детекции LSAB-2 System, HRP (стрептавидин-биотин-пероксидазный комплекс), фирма DAKO (Дания). В качестве хромогена использовался DAB (диаминобензидин). Подсчет количества клеток, которые демонстрировали интенсивное связывание пероксидазы в 1 мм<sup>2</sup> осуществлялся в 10 полях зрения, для оценки степени экспрессии антител использовали полуколичественную шкалу: + – слабая, ++ – умеренная, +++ – выраженная реакция.

Комплекс морфологических и морфометрических исследований проводился на микроскопе Primo Star (Carl Zeiss) с использованием программ AxioCam (ERc 5s).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Биоптаты тканей венозных язв имели следующее морфологическое строение. На фоне плотной фиброзно-рубцовой ткани отмечались различной величины и формы узлы рыхлой и богатой потерянными вертикальную ориентацию сосудами грануляционной ткани. За счет этого грануляционная ткань имела «ячеистое» или «гроздьевидное» строение. Внутри узлов располагались многочисленные сосуды и аргирофильные коллагеновые волокна. Причем фибриллярные типы коллагена, представленные в основном I типом выявлялись в виде беспорядочно разбросанных комплексов случайно ориентированных волокон. Коллаген III типа демонстрировал крайне низкую степень экспрессии, обнаруживаясь в виде нечетко очерченных, разобщенных формаций. При этом коллаген IV типа выявлялся в виде хорошо сформированной четко очерченной сети с очагами спонтанной концентрации коллагеновых комплексов, что не характерно для нормального распределения различных типов

коллагена в тканях и свидетельствует о резком нарушении процессов его синтеза.

«Ячеистый» характер грануляционной ткани объясняется выраженной извилистостью сосудов, благодаря чему последние теряют строго вертикальную ориентацию и создают визуальное впечатление наличия множества сосудов. Извилистость сосудов, с одной стороны обусловлена хорошо сформированной сетью из коллагена IV типа, с другой стороны – активной пролиферацией и ростом эндотелиоцитов, функциональность которых при этом невелика, что определяется неравномерным расположением эндотелиоцитов на базальной мембране сосудов, широкими межклеточными щелями. Это увеличивает сосудистую проницаемость и предрасполагает к усилению тканевого отека. На ангиогенез ткани оказывают влияние ангиогенные факторы, вырабатываемые макрофагами, большое количество которых обнаруживается в толще грануляционной ткани.

Степень фиброзирования грануляционной ткани венозных язв достаточно вариативна, в некоторых случаях она выражена незначительно, что сочетается с относительно вертикальным расположением сосудов грануляционной ткани, отсутствием в них микротромбов и фибриноидного некроза. Грануляционная ткань при этом резко отечна, среди клеточных элементов преобладают полиморфноядерные лейкоциты.

В ряде случаев в строении грануляционной ткани язв можно выделить 3 слоя: глубокий слой склерозированной жировой клетчатки, фиброзно-рубцовый слой с включениями «гроздьевидной» грануляционной ткани разной степени зрелости и поверхностный лейкоцитарно-фибринозный слой. И также отмечались случаи наблюдений, где фиброзно-рубцовый слой заполняет весь раневой дефект, распространяясь из глубины раны до фибринозно-лейкоцитарного слоя, при этом «гроздьевидная» грануляционная ткань сохраняется лишь в отдельных участках раны. В отдельных срезах обнаруживаются очаги вторичного некроза и воспаления, сменяющихся формированием очагов грануляционной ткани. В последней отмечается резкое изменение микроциркуляторного русла, проявляющееся наличием внутрисосудистых, сосудистых и внесосудистых признаков нарушения микроциркуляции. В просвете сосудов (капилляров, артериол, венул) часто определяются гемолизированные эритроциты и микротромбы смешанного характера. Просвет большинства микрососудов резко сужен или полностью закрыт. Развиваются продуктивно-деструктивные васкулиты, стенки сосудов резко утолщены. Наблюдается отек, деструкция и десквамация эндотелиоцитов контракция части эндотелиоцитов с образованием широких межэндотелиальных щелей, набухание и деструкция базальных мембран, пролиферация перичитов и эндотелиальных клеток, инфильтрация стенок и периваскулярных пространств полиморфноядерными лейкоцитами, отдельными моноцитами и лимфоцитами. Наиболее выражена инфильтрация стенок сосудов полиморфноядерными лейкоцитами в сочетании с фибриноидным некрозом сосудов, что отражает обострение заболевания.

Фибробластические элементы грануляционной ткани малочисленны, определяются в основном периваскулярно. Среди фибробластов преобладают малодифференцированные и юные формы, коллагенобласты и миофибробласты единичны, причем часть из них подвержена дистрофическим изменениям, процессы формирования коллагеновых волокон резко заторможены, наблюдаются признаки дефектного фибриллогенеза.

Хроническая воспалительная инфильтрация представлена гистиоцитами, лимфоцитами и плазматическими клетками в различных пропорциях, локализована преимущественно периваскулярно. Кроме указанных форм в составе воспалительного инфильтрата обнаруживаются полиморфноядерные лейкоциты – представители популяции клеток острого воспаления. Они могут обнаруживаться как диффузно, смешиваясь с прочими клеточными типами, так и в виде компактных скоплений, формируя структуры типа микроабсцессов.

Таким образом, расстройства микроциркуляции, воспалительная инфильтрация и извращенный синтез коллагена являются основными патогенетическими факторами, ведущими к пролонгированию и извращению воспалительных процессов, торможению репарации, возникновению вторичных некротических изменений, что обуславливает рецидивирующее течение венозных язв, создавая «порочный круг». При этом персистирующее повреждение (некроз) ведет к хроническому воспалению, последнее к незавершенной регенерации (персистирующая грануляционная ткань), та в свою очередь к прогрессирующему склерозу, а неполноценная грануляционная и фиброзная ткани склонны к вторичному некрозу. Патологические взаимосвязи в виде «порочного круга» замыкаются, формируя новую патологическую самоподдерживающуюся систему, выходящую, в известной мере, из-под регулирующего влияния организма.

Таким образом, основываясь на полученных данных, можно сделать следующие **выводы**:

1. На фоне деструктивно-некротических и воспалительных процессов, происходящих в тканях венозной язвы происходит значительная дезорганизация фибриллярных типов коллагена, а также изменение их соотношения, вплоть до полного исчезновения коллагена III типа.

2. В тканях язвы отмечается атипичная локализация коллагена IV типа, относящегося к «сетчатым» типам, в виде компактных депозитов, не связанных с базальными мембранами.

3. Расстройства микроциркуляции в зоне венозной язвы в значительной мере связаны со снижением функциональности эндотелия сосудов, что ведет к нарушению сосудистой проницаемости, увеличению тканевого отека.

### **Перспективы дальнейших исследований**

Выявленные патологические процессы, происходящие в хронической венозной язве, являются основой для выработки терапевтических мероприятий, направленных на коррекцию нарушений кровообращения, и снижение деструкции и отека тканей для ускорения процессов заживления язвы.

## Литература

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Гудз І. М. Актуальні питання лікування венозних виразок / І. М. Гудз // Клінічна Флебологія. – 2015. – Т. 8, № 1. – С. 15-16.
3. Домбровський Д. Б. Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках / Д. Б. Домбровський, І. С. Давиденко, Ю. В. Оліник, М. В. Ільчишин // Клінічна флебологія. – 2014. – Т. 7, № 1. – С. 149-150.
4. Швальб П. Г. Патология венозного возврата из нижних конечностей / П. Г. Швальб, Ю. И. Ухов. – Рязань, 2009. – 152 с.
5. Bergan J. J. Chronic venous disease / J. J. Bergan, G. W. Schmid-Schombein, P. D. Coleridge-Smith // N. Engl. J. Med. – 2006. – Vol. 355, № 3. – P. 488-496.
6. Dabbs D. Diagnostic immunohistochemistry / D. Dabbs. – 3rd ed. – Philadelphia, 2010. – 952 p
7. O'Donnell Jr T. F. Management of venous leg ulcers: Clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum / T. F. O'Donnell Jr, M. A. Passman, W. A. Marston [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2014. – Vol. 60, Suppl. 2. – P. 3-59.

УДК 617.58:616.14 – 002.44 – 036.12 – 091:577.27:611.018

### **ДЕЯКІ МОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ХРОНІЧНИХ ВЕНОЗНИХ ВИРАЗОК**

**Тамм Т. І., Олійник А. Є., Решетняк О. М.**

**Резюме.** У роботі проводилося вивчення морфологічних особливостей будови хронічних венозних виразок з використанням сучасних імуногістохімічних методів із застосуванням моноклональних антитіл. Згідно з отриманими даними, наявними є: розлади мікроциркуляції у вигляді недосконалого ангиогенезу, появи «гроноподібної» грануляційної тканини з порушеною функціональною активністю ендотелію; запальна інфільтрація і виражений набряк тканини, а також спотворений синтез колагену, що проявляється в порушенні співвідношення фібрилярних колагенів I і III типів і появі в товщі тканин виразки вогнищ сітчастого колагену IV типу в вигляді великих депозитів, які не пов'язані з базальними мембранами. Виявлені патологічні процеси, що відбуваються в хронічній венозній виразці, є основою для вироблення терапевтичних заходів.

**Ключові слова:** хронічна венозна виразка, колаген, порушення мікроциркуляції, грануляційна тканина.

УДК 617.58:616.14 – 002.44 – 036.12 – 091:577.27:611.018

### **НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ВЕНОЗНЫХ ЯЗВ.**

**Тамм Т. И., Олейник А. Е., Решетняк О. М.**

**Резюме.** В работе проводилось изучение морфологических особенностей строения хронических венозных язв с использованием современных иммуногистохимических методик с применением моноклональных антител. Согласно полученным данным, имели место: расстройства микроциркуляции в виде несовершенного ангиогенеза, появления «гроздьевидной» грануляционной ткани с нарушенной функциональной активностью эндотелия; воспалительная инфильтрация и выраженный тканевой отек, а также извращенный синтез коллагена, проявляющийся в нарушении соотношения фибриллярных коллагенов I и III типов и появления в толще тканей язвы очагов сетчатого коллагена IV типа в виде крупных депозитов, не связанных с базальными мембранами. Выявленные патологические процессы, происходящие в хронической венозной язве, являются основой для выработки терапевтических мероприятий.

**Ключевые слова:** хроническая венозная язва, коллаген, расстройства микроциркуляции, грануляционная ткань.

UDC 617.58:616.14 – 002.44 – 036.12 – 091:577.27:611.018

### **SOME MORPHOLOGICAL AND IMMUNOGYSTOCHEMICAL FEATURES IN STRUCTURE OF VENOUS ULCERS**

**Tamm T. I., Olejnik A. E., Reshetniak O. M.**

**Abstract.** Pathogenesis of venous ulcers of lower limbs serves a subject of active study for a many decades. Despite that in modern medical literature we can meet sufficient number of articles, devoted to morphology of chronic venous ulcers. Take place a fact of sizeable empiricism in choosing of settings of observation. Target of our research was studding of morphological features in structure of chronicle venous ulcers with using modern immunogystochemical methodic with using monoclonal antibodies to markers of proliferative activity ki 67, collagens I, III and IV types fibroblasts growth factor, vessel endothelial growth factor (VEGF), endothelial cell factor (CD34), epidermal growth factor, macromolecular cytotkeratin (Cytokeratin HMW), also was define receptors to macrophages (CD68).

According to received data, main link of pathogenesis is: disorder of microcirculation in case imperfect angiogenesis, appearance of “botryoidal” granular tissue with break down functional activity of endothelium; inflammatory infiltration and expressed tissue edema and also perverted synthesis of collagen, that apparent in disorder of ratio of fibrillar collagen I and III types and appearance in thickness of ulcer tissue seats of “net” collagen IV types in view of large deposits. This pathogenetic factors lead to prolong and perverting inflammatory processes, holding of reparation, appearance secondary necrotic changing that cause relapsing passing of venous ulcers, create “vicious circle” with persistent damage (necrosis) that lead to chronic inflammation, last one to incomplete regeneration (persistent granular tissue) which, in it turn, lead to progressive sclerosis and defective granulation and fibrous tis-

sue are prone to secondary necrosis. «The vicious circle» of pathological relation closed, forming a new pathological self-sustaining system that extends from the body's influence.

In this way, based on received data, we can make conclusion:

1. In a background of necrotic and inflammatory processes occurring in the venous ulcer tissues there is a significant disruption of fibrillar collagen types, and also changing of its ratio, to complete disappearing of III d type of collagen.

2. In ulcers tissue was observed atypical localization of collagen type IV, relating to the "net" types, in the form of compact deposits that don't compared with basal membranes.

3. Disorders of microcirculation are largely associated with reduced of vascular endothelial function, which leads to disruption of vascular permeability and increase of a tissue edema.

In this way, having an idea about the nature of the pathological processes that occurring in chronic venous ulcers, we can develop the concept of therapeutic interventions aimed at correcting disorders of blood circulation, reducing the phenomena of tissue edema and prevention development of destructive processes.

**Keywords:** chronic venous ulcers, collagen, microcirculation disorders, granulation tissue.

*Рецензент – проф. Белов С. Г.*  
Стаття надійшла 02.02.2016 року