

И.В. Сорокина¹, В.А. Прасол², В.И. Троян², Л.С. Куприянова¹, А.О. Пономарев²

Иммунорфологические особенности строения стенки большой подкожной вены у больных, страдающих осложненной варикозной болезнью

¹ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», г. Харьков,

²Харьковский национальный медицинский университет МОЗ Украины

Ключевые слова: большая подкожная вена, варикозная болезнь, коллаген, иммуногистохимия, дисплазия соединительной ткани.

В статье раскрыты иммуногистохимические особенности строения стенки большой подкожной вены у больных осложненной варикозной болезнью в сравнении со строением стенки подкожной вены у здоровых людей. Материалом исследования послужил сегмент большой подкожной вены. Комплексное исследование структурных компонентов стенки большой подкожной вены у больных с варикозной болезнью, по сравнению со строением стенки подкожной вены у здоровых людей, выявило ряд особенностей. Так, во внутренней оболочке стенки вены определялись изменения по типу миоэластоза. В среднем и наружном слоях, наряду с массивным разрастанием соединительной ткани, наблюдались утолщение и разволокнение мышечных волокон. Во всех слоях стенки вены выявлено нарушение коллагенообразования. Изменения в структуре соединительной ткани привели к снижению величины показателя соотношения свечения основных типов коллагенов. Выявленные особенности свидетельствуют о наличии признаков дисплазии соединительной ткани в структуре стенки большой подкожной вены у больных варикозной болезнью.

Имуноморфологічні особливості будови стінки великої підшкірної вени у хворих, що страждають ускладненою варикозною хворобою

И.В. Сорокина, В.А. Прасол, В.И. Троян, Л.С. Куприянова, А.О. Пономарев

У статті розкрито імуногістохімічні особливості будови стінки великої підшкірної вени у хворих ускладненою варикозною хворобою в порівнянні з будовою стінки підшкірної вени у здорових людей. Матеріалом дослідження став сегмент великої підшкірної вени. Комплексне дослідження структурних компонентів стінки великої підшкірної вени у хворих з варикозною хворобою, в порівнянні з будовою стінки підшкірної вени у здорових людей, виявило ряд особливостей. Так, у внутрішній оболонці стінки вени визначалися зміни за типом міоеластоза. У середньому й зовнішньому шарах, поряд з масивним розростанням сполучної тканини, спостерігалися потовщення й разволокнення м'язових волокон. У всіх шарах стінки вени виявлено порушення коллагенотворення. Зміни в структурі сполучної тканини призвели до зниження величини показника співвідношення світіння основних типів колагену. Виявлені особливості свідчать про наявність ознак дисплазії сполучної тканини в структурі стінки великої підшкірної вени у хворих варикозною хворобою.

Ключові слова: велика підшкірна вена, варикозна хвороба, коллаген, імуногістохімія, дисплазія з'єднувальної тканини.

Патологія. – 2010. – Т.7., №2. – С. 85–89

Immunomorphological structural features of the wall of the great saphenous vein in patients with complicated varicose

I.V. Sorokina, V.A. Prasol, V.I. Troyan, L.S. Kupriyanova, A.O. Ponomarev

The article deals with immunohistochemical features of the structure of the wall of the great saphenous vein in patients with complicated varicose disease in comparison with the structure of the saphenous vein wall in healthy people. Segment of great saphenous vein was the subject of this research. Comprehensive study of the structural components of the walls of the great saphenous vein in patients with varicose disease, in comparison with the structure of the saphenous vein wall in healthy subjects, revealed the following features. Thus, in the inner layer of veins mioelastose-like changes were revealed. In the middle and outer layers, along with the massive growth of connective tissue, thickening and defiberability of muscle fibers were observed. In all layers of the vein wall violation of collagen production was revealed. Changes in the structure of connective tissue led to the decrease in the value ratio of luminescence of basic types of collagen. These features indicate the presence of signs of connective tissue dysplasia in the structure of the wall of the great saphenous vein in patients with varicose disease.

Key words: great saphenous vein, varicosity, collagen, immunohistochemistry, apoptosis, connective tissue dysplasia.

Pathologia. 2010; 7(2): 85–89

В последние годы внимание ученых многих стран привлекают вопросы этиологии и патогенеза варикозной болезни нижних конечностей [1,2]. Возросший интерес к данной проблеме обусловлен увеличением числа больных, страдающих этой патологией, а также развитием грозных осложнений у лиц молодого возраста [3,4]. По данным Международного общества флебологов, развитие варикозной болезни связано с аутосомно-доминантным типом наследования и является признаком

недифференцированной дисплазии соединительной ткани [5,6]. Морфологическим эквивалентом данного состояния является нарушение коллагенообразования во всех структурных компонентах стенки сосуда и проявляется изменением соотношения основных типов коллагенов в их составе [7,8].

Цель работы

Выявить иммуногистохимические особенности строения стенки большой подкожной вены у больных ослож-

ненной варикозной болезнью, в сравнении со строением стенки подкожной вены у здоровых людей.

Материалы и методы исследования

Материал исследования представлен сегментом большой подкожной вены, удаленным во время операции по поводу варикозной болезни (группа сравнения). В группе контроля аналогичный по расположению сегмент вены иссекался во время аутопсии.

Группа сравнения представлена 11 больными, которые были прооперированы по поводу варикозной болезни. Среди пациентов было 6 мужчин и 5 женщин. Возраст больных – от 23 до 53 лет.

В группу контроля вошли 4 случая аутопсии молодых людей мужского пола возрастом от 18 до 28 лет. Причиной смерти в данных наблюдениях послужили: черепно-мозговая травма, тяжелая сочетанная травма и закрытая травма живота.

Методы исследования: гистологический (окраска препаратов гематоксилином-эозином, пикрофуксином по ван-Гизону); гистохимический (окраска срезов альциановым синим, по методу Маллори, ШИК-реакция); иммуноморфологический; морфометрический; статистический.

После фиксации в 10% растворе нейтрального формалина и проводки по спиртам возрастающей концентрации, материал заливался в целлоидин – парафин. По мере застывания кусочков, их наклеивали на деревянные промаркированные колодки, с которых в дальнейшем производили серийные срезы [9]. На препаратах, окрашенных гематоксилином-эозином, с использованием сетки Г.Г. Автандилова (в одном поле зрения – 100 мкм), определяли толщину основных компонентов стенки вены (внутреннего, среднего и наружного слоев). Уровень содержания гликопротеидов (ГАГ) в межтканевой соединительной ткани стенки вен был оценен следующим образом. Если в препаратах, окрашенных альциановым синим, отмечалось темно-красное окрашивание, то реакция считалась положительной и оценивалась в 3 балла; неравномерное окрашивание сниженной интенсивности оценивалось в 1–2 балла; отсутствие изменения цвета – в 0 баллов [10].

Иммуногистохимическое исследование производилось с использованием непрямого метода Кунса в модификации М. Brosman (1979) [11]. С помощью МКАт к коллагенам I, III, IV типов, выявляли особенности структуры коллагенов в составе основных компонентов сосудистой стенки. Коллагены I, III и IV типов определяли МКАт фирмы Chemicon international (a Serological company). Показатели интенсивности свечения коллагенов, полученные при изучении препаратов, окрашенных иммуногистохимическим методом, использовали при определении соотношения: интенсивность свечения коллагена I типа: (интенсивность свечения коллагена III типа+интенсивность свечения коллагена IV типа).

Гистологическое, гистохимическое и морфометрическое исследование проводилось на микроскопе Olympus BX-41 с использованием программ Olympus DP-Soft 4

(Version 3:1) и Microsoft Excel [12].

Иммуногистохимическое исследование проводилось в люминисцентном микроскопе ЛЮМАМ ИЛ-2 с использованием светофильтров ФС – 1-2, СЗС – 24, СФС – 24, БС – 8 – 2, УФС – 6 – 3. Интенсивность свечения препаратов, обработанных МКАт, определялась при использовании метода количественного определения содержания антигена в биологических тканях и выражалась в условных единицах свечения (усл. ед. св.).

Методами вариационной статистики были обработаны полученные цифровые данные. При этом определялись средняя арифметическая, среднее квадратическое отклонение, достоверность разницы, средняя ошибка средней арифметической [12].

Результаты и их обсуждение

При макроскопическом исследовании стенки вен названных выше групп выявлены следующие особенности. Так, характерным для стенки вены больных группы сравнения было наличие выпячиваний, на уровне которых определялось неравномерное утолщение и уплотнение стенки сосуда. Нарушения целостности сосуда при этом не отмечалось.

Обзорное гистологическое исследование препаратов, окрашенных гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону, не выявило существенных различий в строении стенки вен исследуемых групп. Во всех наблюдениях структура стенки вены соответствовала венам мышечного типа с сильным развитием мышечных элементов, а в составе ее определялись три основных компонента: внутренняя, средняя и наружная оболочка. Однако обращало на себя внимание изменение толщины стенки вены в исследуемых группах. Так толщина стенки вены в группе контроля составила $322,67 \pm 43,12 \times 10^{-3} \text{ м}$, а в группе сравнения была достоверно увеличена и составила $490,27 \pm 18,65 \times 10^{-3} \text{ м}$.

Внутренняя оболочка стенки вены в группе контроля представлена несколькими слоями эндотелиальных клеток, расположенных на базальной мембране. Подэндотелиальный слой состоит из гладких мышечных волокон, залегающих в рыхлой соединительной ткани. Под ним определяются скопления эластических волокон. В интиме стенки вены группы сравнения выявлены изменения по типу миоэластоза, о чем свидетельствует нарушение структурного расположения эндотелиоцитов на базальной мембране и проявляется нарушением целостности стенки сосуда с образованием дефектов и краевым стоянием лейкоцитов вокруг них. Иммуногистохимическим методом с использованием МКАт к основным типам коллагенов, в составе интимы вен исследуемых групп определены следующие изменения. Так, если в составе внутренней оболочки стенки вены группы контроля, выявлен коллаген IV типа в виде непрерывного линейного свечения, то в группе сравнения данный тип коллагена определяется в виде прерывистого мелкоочагового свечения слабой интенсивности (рис. 1, цв. вкладка 3), а преобладающим является коллаген III типа.

При окраске срезов по Маллори выявлено, что, по

сравнению с группой контроля, в структуре интимы стенки вены основной группы преобладают пучки коллагеновых волокон, в то время как клеточный компонент практически не определяется (рис. 2, цв. вкладка 3).

Окраска срезов по Рего выявила деструкцию эндотелиальных клеток и наличие массивных очагов повреждения внутренней оболочки стенки вены группы сравнения.

Средняя оболочка стенки вены группы контроля состояла из 2 слоев клеток. Первый – внутренний – был представлен пучками гладких мышечных клеток, вокруг которых расположены коллагеновые и эластические волокна. Второй слой – наружный – состоял из мышечных клеток и единичных фибробластов. При окраске альциановым синим межклеточная ткань данного слоя давала положительную реакцию на ГАГ, оцененную в 2–3 балла. В составе соединительной ткани данного слоя преобладали коллагены I и III типов в виде прерывистого свечения умеренной интенсивности.

В мышечной оболочке стенки вены группы сравнения определялись следующие изменения. Мышечные волокна были гипертрофированы, местами разволокнены. Наряду с этим, выявлялось массивное разрастание соединительной ткани как вокруг мышечных пучков, так и внутри них (рис. 3, цв. вкладка 3).

При окраске альциановым синим в мышечной оболочке определялось снижение интенсивности окраски, оцененное в 2 бала (рис. 4, цв. вкладка 3).

Иммуногистохимическим методом были изучены особенности состава соединительной ткани в структуре средней оболочки группы сравнения. Так, определялись 2 типа коллагенов – I и III. Однако, если коллаген III типа выявлялся в виде непрерывного интенсивного свечения (рис. 5, цв. вкладка 3), то коллаген I типа определялся в

виде очагового свечения пониженной интенсивности.

Наружная оболочка стенки сосуда в контрольных наблюдениях была выражена слабо и представляла собой грубую волокнистую соединительную ткань, образующую наружную и внутреннюю эластические мембраны. В составе адвентиции обнаруживались продольно расположенные пучки гладких мышечных клеток. Иммуногистохимическим методом было обнаружено, что в составе наружной оболочки стенки сосуда преобладал коллаген III типа.

Для наружной оболочки стенки вены в группе сравнения характерным было наличие массивное разрастание соединительной ткани, а также утолщение и разволокнение мышечных волокон (рис. 6, цв. вкладка 3).

Во всех наблюдениях стенка вены была сформирована правильно. Однако, обращало на себя внимание изменение показателей толщины основных слоев стенки в группе сравнения по отношению к контрольным показателям.

Средние показатели толщины основных слоев стенки сосуда в исследуемых группах представлены в табл. 1.

Данные таблицы 1 свидетельствуют о достоверном снижении показателя толщины внутренней оболочки и достоверном увеличении показателя толщины средней оболочки стенки вен основной группы по сравнению с таковыми в группе контроля. Изменение толщины стенки вен в исследуемой группе подтверждается морфологическими изменениями, описанными выше.

Показатели интенсивности свечения основных типов коллагенов в стенке вен больных исследуемых групп, а также показатель соотношения свечения коллагенов представлены в таблице 2.

Таблица 1

Показатели толщины слоев стенки вены в основной группе 1 (м)

Группа	Внутренняя оболочка	Средняя оболочка	Наружная оболочка
Группа контроля	33,87±4,09x10 ⁻¹	239,0±49,9x10 ⁻¹	51,13±4,9x10 ⁻¹
Основная группа, больные, страдающие варикозной болезнью	23,8±3,5x10 ⁻¹ *	415,86±49,9x10 ⁻¹ *	50,6±2,3x10 ⁻¹

Примечание: * – p<0,05 (по сравнению с контролем).

Таблица 2

Показатели интенсивности свечения коллагенов I, III и IV типов в составе соединительной ткани стенки вен исследуемых групп и показатель соотношения свечения коллагенов (усл. ед. св.)

Группа	Коллаген I типа	Коллаген III типа	Коллаген IV типа	Показатель соотношения свечения коллагенов
Группа контроля	2,15±0,27	3,04±0,18	2,96±0,16	0,356± 0,044
Основная группа, больные, страдающие варикозной болезнью	1,89±0,19	3,86±0,28*	2,06±0,28*	0,319±0,033

Примечание: * – p<0,05 (по сравнению с контролем).

Данные *таблицы 2* свидетельствуют о снижении содержания коллагенов I и IV типов, наряду с увеличением содержания коллагена III типа в составе соединительной ткани в стенке вены больных основной группы. Показатель соотношения коллагенов в стенке вен больных, страдающих варикозной болезнью, был незначительно снижен, по сравнению с таковым в группе контрольных наблюдений.

У больных, страдающих осложненной варикозной болезнью, ведущим звеном в развитии изменений в стенке сосудов является изменение в соотношении основных типов коллагенов в составе стенки вен. Безусловно, играют роль местные и общие факторы, оказывающие влияние на стенку сосуда, но ключевая роль в снижении эластичности стенки и появлении признаков указанных заболеваний принадлежит структурной перестройке соединительной ткани [13,14]. Согласно данным научной литературы [15,16,17], описанные нами изменения в содержании основных типов коллагенов в составе соединительной ткани стенки вен при указанных заболеваниях, в сопоставлении с возрастными особенностями больных исследуемых групп, могут быть признаком дисплазии соединительной ткани. Вероятно, что если в фенотипе этих больных присутствуют признаки системной дисплазии соединительной ткани, имеют место нарушения в иммунном гомеостазе, а также в дальнейшем исследовании будет выявлено усиление экспрессии эндотелина-1 венозным эндотелием, то можно будет утверждать о наличии у данных групп пациентов системной дифференцированной дисплазии соединительной ткани [18,19,20].

Выводы

В стенке вен больных, страдающих варикозной болезнью, в результате комплекса исследований были выявлены следующие изменения. Несмотря на то, что в структуре стенки вены определялись все структурные компоненты, обращало на себя внимание наличие грубых деструктивных процессов в них. Для внутренней оболочки стенки большой подкожной вены характерными были изменения по типу миоэластоза. Мышечная оболочка стенки вен исследуемой группы отличалась от таковой в группе контрольных наблюдений выраженной гипертрофией и склеротическими изменениями. В наружной оболочке стенки вен отмечались деструктивные изменения и склеротические процессы. Описанные особенности стенки вен исследуемой группы способствовали изменению показателей толщины основных структурных компонентов, а именно снижению показателя толщины внутренней и наружной оболочек и увеличению показателя толщины средней оболочки стенки вен.

Склеротические процессы во всех компонентах стенки вен привели к изменению показателей интенсивности свечения коллагенов, а также изменению показателя их соотношения. Во всех структурных компонентах стенки вен наблюдалось снижение интенсивности свечения коллагенов I и IV типов и увеличение интенсивности свечения коллагена III типа. Изменения интенсивности свечения коллагенов способствовали снижению показателя соотношения основных типов коллагенов в стенке вены. Дистрофические изменения в основных компонентах стенки сосуда привели к снижению содержания ГАГ при окраске альциановым синим.

Литература:

1. *Кубышкин В.* Фенотипические, морфологические и иммуногистохимические особенности при варикозной болезни у лиц с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Кубышкин В.Ф., Захарьян Е.А. // Хирургия Украины. – 2006. – № 1. – С. 75–79.
2. *Чуріліна А.* Роль дисплазії сполучної тканини в патології шлунково-кишкового тракту / Чуріліна А.В., Нальотов А.В. // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2006. – № 1. – С. 29–32.
3. *Николаев К.* Дисплазия соединительной ткани и полиорганный патология у детей школьного возраста / Николаев К.Ю., Отева Э.А., Николаева А.А., Гичева И.М. [и др.] // Педиатрия. – 2006. – №2. – С. 87–92.
4. *Lapierre C.* Collagen pathology at the molecular level / Lapierre C., Nusgens B. // Biochemistry of collagen / Eds. G.N. Ramachandran and A.H. Reddy. – New York: Plenum Press, 1976. – P. 377–448.
5. *Lippi G.* Pathogenesis of venous thromboembolism: when the cup runneth over / Lippi G., Franchini M. // Semin. Thromb. Hemost. – 2008. – № 34 (8). – P. 747–761.
6. *Богмат Л.* Ендоскопічні та морфологічні аспекти захворювань верхніх відділів травного тракту у підлітків із системною дисплазією сполучної тканини / Богмат Л.Ф., Яковлева І.М. // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2005. – № 2. – С. 44–48.
7. *Утц И.* Недифференцированная дисплазия соединительной ткани у детей / Утц И.А., Городкова Е.Н. // Педиатрия. – 2008. – Т. 87. – № 2. – С. 117–119.
8. *Лили Р.* Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лили. – М.: Мир, 1960. – 648 с.
9. *Виноградов В.* Дифференциальное чисто химическое выявление мукополисахаридов / Виноградов В.В., Фукс Б.Б. // Архив патологии. – 1961. – № 2. – С. 74–78.
10. *Brosman M.* Immunofluorescence vysetrovanie formalparafinovego materialu / Brosman M. // Cs. Patol. – 1979. – № 15. – P. 215–220.
11. *Атраментова Л.* Статистические методы в биологии / Атраментова Л.А., Утевская О.М. – Горловка, 2008. – 247 с.
12. *Майоров М.* Некоторые особенности патогенеза, диагностики и лечения варикозного расширения вен малого таза у женщин / Майоров М.В. // Терапия. – 2006. – № 12. – С. 52–53.
13. *Андрианова Е.* Взаимосвязь гемодинамического профиля и функционального состояния сосудистого эндотелия у подростков с высоким нормальным артериальным давлением / Андрианова Е.Н., Рывкин А.И., Бусова О.А., Карпук Н.Л. // Педиатрия. – 2008. – Т. 87. – № 2. – С. 15–18.
14. *Бекезин В.* Особенности сосудодвигательной функции эндотелия у детей и подростков с ожирением и метаболическим синдромом / Бекезин В.В., Козлова Л.В., Козлова

- И.С., Милягин В.А., Алексеенкова М.В. // Педиатрия. – 2008. – Т. 87. – № 2. – С. 32–36.
15. *Богмат Л.* Ендоскопічні та морфологічні аспекти захворювань верхніх відділів травного тракту у підлітків із системною дисплазією сполучної тканини / Богмат Л.Ф., Яковлева І.М. // Педиатрия, акушерство та гінекологія. – 2005. – № 2. – С. 44–48.
16. *Думпе Э.* Физиология и патология венозного кровообращения нижних конечностей / Думпе Э.П., Ухов Ю.И., Швальб П.Г. – М.: Медицина, 1982. – 168 с.
17. *Кисляк О.* Состояние сосудистой стенки у подростков с метаболическим синдромом / Кисляк О.А., Петрова Е.В. // Педиатрия. – 2006. – №2. – С. 23–28.
18. *Маколкин В.* Полиморфизм клинических проявлений синдрома соединительнотканной дисплазии / Маколкин В.И., Подзолков В.И., Родионов А.В., Шеянов М.В. [и др.] // Терапевтический архив. – 2004. – № 11. – С. 77–80.
19. *Чуріліна А.* Біохімічні критерії дисплазії сполучної тканини за деяких патологічних станів / Чуріліна А.В., Арбузова С.Б., Москалюк О.М., Чала Л.Ф. [та ін.] // Педиатрия, акушерство та гінекологія. – 2007. – № 2. – С. 25–28.

Сведения об авторах:

Сорокина И.В., д. мед. н., профессор каф. патоморфологии ХНМУ.

Прасол В.А., к. мед. н., старший научный сотрудник ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», отделение острых заболеваний сосудов.

Троян В.И., к. мед. н., старший научный сотрудник ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», отделение острых заболеваний сосудов.

Куприянова Л.С., к. мед. н., ассистент каф. патоморфологии ХНМУ.

Пономарев А.О., младший научный сотрудник ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», отделение острых заболеваний сосудов.

Адрес для переписки:

Сорокина Ирина Викторовна. 61022, Украина, Харьков, пр. Ленина, 4 г, ХНМУ, каф. Патоморфологии.

Тел.: (057) 751-24-27, E-mail: lara_kupriyanova@ukr.net.

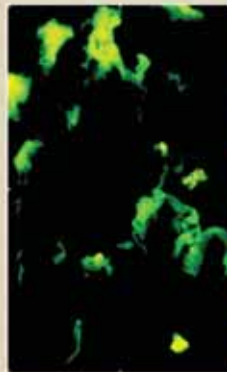


Рис. 1. Снижение интенсивности, прерывистость свечения коллагена IV типа в составе внутренней оболочки большой подкожной вены. Группа сравнения. Непрямой метод Кунца с МКАт к коллагену IV типа, 4 x 200.

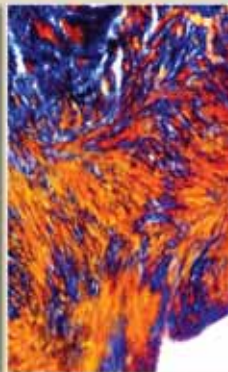


Рис. 2. Внутренняя оболочка стенки малой подкожной вены. Основная группа. Окраска по Маллори, x 200.



Рис. 3. Разрастание соединительной ткани в средней оболочке стенки большой подкожной вены. Основная группа. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону, x 200.



Рис. 4. Внутренняя и средняя оболочки стенки большой подкожной вены. Основная группа. Окраска азодиевыми синями, x 200.

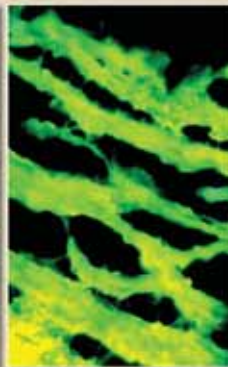


Рис. 5. Интенсивное непрерывное свечение коллагена III типа во внутренней оболочке стенки малой подкожной вены. Основная группа. Непрямой метод Кунца с МКАт к коллагену III типа, 4 x 200.



Рис. 6. Адвентия малой подкожной вены. Основная группа. Окраска гематоксилином-эозином, x 200.

(Рис. 1–6 к статье И.В. Сорокиной, В.А. Прасол, В.И. Троиц, Л.С. Кузриной, А.О. Пономарева «Имуноморфологические особенности строения стенки большой подкожной вены у больных, страдающих осложненной варикозной болезнью» С. 85–89)