

МОРФОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕНОЗНОЙ СТЕНКИ ПРИ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ У ЛИЦ РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Абдувосидов Х.А.^{1,2}, Чудных С.М.^{1,2}, Чекмарева И.А.³, Минаев А.В.¹, Островская И.Г.¹, Вавилова Т.П.¹, Алекберова Г.И.¹, Кравченко Е.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, e-mail: sogdiana99@gmail.com;

²ГБУЗ «Московский клинический научный центр имени А.С. Логинова» ДЗМ, Москва;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневого» Минздрава России, Москва

Изучены и оценены морфологические особенности большой подкожной вены и интенсивность метаболических процессов в венозной стенке при варикозной болезни у лиц разных возрастных групп. Исследован операционный материал БПВ 80 больных варикозной болезнью. Выделены 4 возрастные группы: молодого возраста, среднего, пожилого и старческого возраста. Всего исследовано 160 фрагментов БПВ. Выполнено гистологическое, морфометрическое, электронно-микроскопическое и биохимическое исследование. В надосадочной жидкости определена активность трансаминаз и лактатдегидрогеназы. Выявленное увеличение активности всех исследуемых ферментов в биоптатах вен свидетельствует об изменении скорости метаболических процессов и активации процессов деградации белков и нарастании воспалительной реакции по мере увеличения возраста пациентов. Повышение активности лактатдегидрогеназы в биоптатах вен у пациентов старшего возраста свидетельствует о преобладании анаэробных процессов. С возрастом и прогрессированием заболевания в меди нарастают признаки фиброза. На фоне инволютивных изменений с увеличением длительности заболевания на ультраструктурном уровне происходит гипертрофия ГМК, с явлениями фенотипической гетерогенности ГМК, нарушаются коммуникационные связи между измененными миоцитами, выявляется дезорганизация соединительной ткани. При варикозной болезни с увеличением возраста больного и длительности заболевания морфологические изменения в БПВ прогрессируют на гистологическом и ультраструктурном уровне. Описанные морфологические изменения приводят к снижению и нарушению сократительной функции средней оболочки вен и венозному застою в бассейне БПВ. Изменение скорости метаболических процессов в венозной стенке свидетельствует о необходимости комплексного подхода к лечению варикозной болезни.

Ключевые слова: варикозная болезнь, большая подкожная вена, фиброз, трансаминазы, гладкие мышечные клетки.

MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF VENOUS WALL IN PEOPLE WITH DIFFERENT AGE GROUPS WITH VARICOSE DISEASE

Abduvosidov H.A.^{1,2}, Chudnikh S.M.^{1,2}, Chekmareva I.A.³, Minaev A.V.¹, Ostrovskaya I.G.¹, Vavilova T.P.¹, Alekberova G.I.¹, Kravchenko E.V.¹

¹BEI HE A.I. Yevdokimov MSMSU MOH Russia, Moscow, e-mail: sogdiana99@gmail.com;

²FSBI «Moscow Clinical Scientific Center named after A.S. Loginov» Ministry of Health of the Moscow;

³FSBI «National Medical Research Center for Surgery named after A.V. Vishnevsky, Ministry of Health of the Russian Federation», Moscow

Morphological features and intensity of metabolic processes were studied in the venous wall of great saphenous vein (GSV) in people of different age groups with varicose disease. Postoperative material of 80 patients GSV fragments with varicose disease were estimated. Four age groups were identified: young age, middle age, elderly and senile age. We studied 160 fragments of GSV. A histological, morphometric, electron microscopic and biochemical studies were performed. Activity of transaminases and lactate dehydrogenase had been determent in the supernatant. The revealed increase in the activity of all the investigated enzymes in the fragments of the veins indicates a change in the speed of metabolic processes and the activation of protein degradation processes and an increase in inflammatory reaction as the age of patients increases. Increased lactate dehydrogenase activity in veins of older patients indicates the predominance of anaerobic processes. In the middle sheath of the GSV an increase in fibrosis was noted with age. There are involutive changes with an increase in the duration of the disease at the ultrastructural level smooth muscle cells (SMC) hypertrophy occurs with phenomena of phenotypic heterogeneity of SMC, communication links between altered myocytes are disrupted and connective tissue disorganization is revealed. In varicose veins, histological and ultrastructural changes in the middle layer of the GSV depend on the age and duration of the disease. Described morphological changes lead to a decrease in contractile function of the

media and venous stagnation in the GSV basin. Changing the speed of metabolic processes in the venous wall indicates need for an integrated approach in treatment of varicose disease.

Keywords: varicose disease, great saphenous vein, smooth muscle cells, transaminases, fibrosis.

Одну из пальм первенства среди заболеваний периферических сосудов занимает варикозная болезнь (ВБ). По данным эпидемиологических исследований, ВБ страдают от 15 до 70% населения индустриально развитых стран [1; 2]. Наиболее часто диагноз ВБ встречается у лиц трудоспособного возраста, приводя к хронической венозной недостаточности с последующим ухудшением качества жизни и инвалидизации больных, что определяет актуальность в диагностике и лечении данного заболевания. Несмотря на достижения в медицинской науке, на протяжении многих десятилетий ведутся активные исследования этиологии и патогенеза ВБ [3-5]. На сегодняшний день перед многими исследователями остается открытым вопрос, как и в какой последовательности развиваются проявления варикозной болезни.

Цель исследования: изучить и оценить интенсивность метаболических процессов и морфологические особенности большой подкожной вены у больных разных возрастов, страдающих варикозной болезнью.

Материал и методы исследования. Для решения поставленной цели выполнены исследования фрагментов БПВ, удаленной при флебэктомии у 80 пациентов, средний возраст которых составил 44 года. Среди них женщин было 48 (60%) и мужчин – 32 (40%). Все оперированные больные страдали варикозной болезнью с 4-6 клиническим классом хронической венозной недостаточности (ХВН) по классификации CEAP. Длительность ВБ составляла от 1 года до 44 лет. Исследуемые фрагменты БПВ разделены на 4 возрастные группы в зависимости от возраста пациентов по ВОЗ. В 1-ю группу включены лица молодого возраста от 18 до 44 лет, во 2-ю группу лица среднего возраста от 45 до 59 лет, в третью группу вошли пациенты пожилого возраста от 60 до 74 лет, и в четвертую группу включены пациенты старческого возраста с 75 до 89 лет.

Кусочки БПВ получали из участка, расположенного в верхней и средней трети бедра до сафено-фemorального соустья. Всего исследовано 160 фрагментов БПВ (табл. 1). Изучение общей гистологической картины проведено на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином-эозином и по Ван Гизону. Морфометрическое исследование препаратов выполняли с помощью окулярной стереометрической сетки по Г.Г. Автандилову. Изучали объемную долю (ОД) ГМК в процентах. Также у 19 больных выполнено ультраструктурное исследование 133 фрагментов БПВ. Фрагменты вен фиксировали в 2,5%-ном растворе глутарового альдегида, затем в 1%-ном растворе тетраоксида осмия. После дегидратации и пропитки в смоле кусочки вен заливались в аралдитовую смолу. Из полученных блоков на

ультрамикротоме LKB V (Швеция) изготавливались полутонкие, а после анализа ультратонкие срезы, которые после контрастирования исследовали в электронном микроскопе JEM 100 CX (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Таблица 1

Количество проведенных гистологических исследований

Группа	Количество больных	Количество фрагментов БПВ
№ 1	20	40
№ 2	20	40
№ 3	20	40
№ 4	20	40
Итого	80	160

Для оценки интенсивности метаболических процессов в венозной стенке выполнены биохимические исследования фрагментов БПВ у 61 оперированного пациента, из которых 25 (36,8%) мужчин и 36 (63,2%) женщин. Выделены 4 возрастные группы. До начала исследования полученный материал замораживали в морозильной камере при температуре -30 °С, а после размораживания готовили гомогенат из полученных образцов ткани путем растирания в фарфоровой ступке с кварцевым песком на холоде, с добавлением 0,9%-ного раствора NaCl. Далее гомогенат центрифугировали на аппарате Armed CH90-1S 5000 об./мин. в течение 15 минут. Для оценки интенсивности метаболических изменений на тканевом и молекулярном уровнях, оценки воспалительной реакции и выявления гипоксических изменений мы определяли активность аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы в надосадочной жидкости спектрофотометрическим методом в МЕ/г ткани.

Статистическая обработка данных включала вычисление среднеарифметического значения (M), его ошибки (m). О значимости различий судили по величине t-критерия Стьюдента и считали их значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. При оценке результатов биохимического исследования нами было выявлено увеличение активности всех исследуемых ферментов в биоптатах вен в зависимости от возраста пациентов и длительности заболевания. Так, у пациентов из первой группы активность АЛТ составила 23,86 [21,31; 25,48] МЕ/г ткани (табл. 2). У пациентов второй группы полученное значение увеличивалось до 29,94 [27,64; 30,78] МЕ/г ткани ($p < 0,001$). В третьей возрастной группе пациентов в биоптатах вен активность аланинаминотрансферазы достигала 35,89 [33,03; 38,43] МЕ/г ткани, что статистически значимо выше по сравнению с более молодыми группами ($p < 0,001$). У пациентов четвертой

группы активность АЛТ повышалась почти в три раза по сравнению с первой возрастной группой ($p < 0,001$).

Таблица 2

Активность АЛТ в биоптатах варикозно измененных вен у пациентов разных возрастных групп

Группа	Средняя	Медиана	Минимум	Максимум	25% прец.	75% прец.	Станд. ошибка
№ 1	23,83	23,86	20,02	30,10	21,31	25,48	0,691
№ 2	29,24	29,94	20,32	36,14	27,64	30,78	0,878
№ 3	35,68	35,89	29,54	42,65	33,03	38,43	0,970
№ 4	64,17	62,12	50,01	102,5	52,46	65,33	3,994

Аналогично с изменением возраста пациентов и длительности ВБ статистически значимо менялось и значение активности аспартатаминотрансферазы в биоптатах ткани ($p < 0,001$). В первой возрастной группе пациентов активность АСТ составила 20,1 [18,03; 21,45] МЕ/г ткани (табл. 3). В группе больных старческого возраста активность АСТ повышалась более чем в два раза по сравнению с пациентами молодого возраста ($p < 0,001$).

Таблица 3

Активность АСТ в биоптатах варикозно измененных вен у пациентов разных возрастных групп

Группа	Средняя	Медиана	Минимум	Максимум	25% прец.	75% прец.	Станд. ошибка
№ 1	19,33	20,1	13,45	22,36	18,03	21,45	0,67
№ 2	23,23	23,03	18,56	29,45	20,98	25,78	0,75
№ 3	30,16	30,22	27,15	34,12	29,08	30,54	0,46
№ 4	41,20	40,20	37,26	45,32	39,10	43,37	0,68

По мере увеличения возраста пациентов статистически значимо менялись и показатели активности лактатдегидрогеназы в биоптатах ткани ($p < 0,001$). Так, у пациентов первой группы активность ЛДГ составила 133,9 [105,9; 188,5] МЕ/г ткани (табл. 4).

Таблица 4

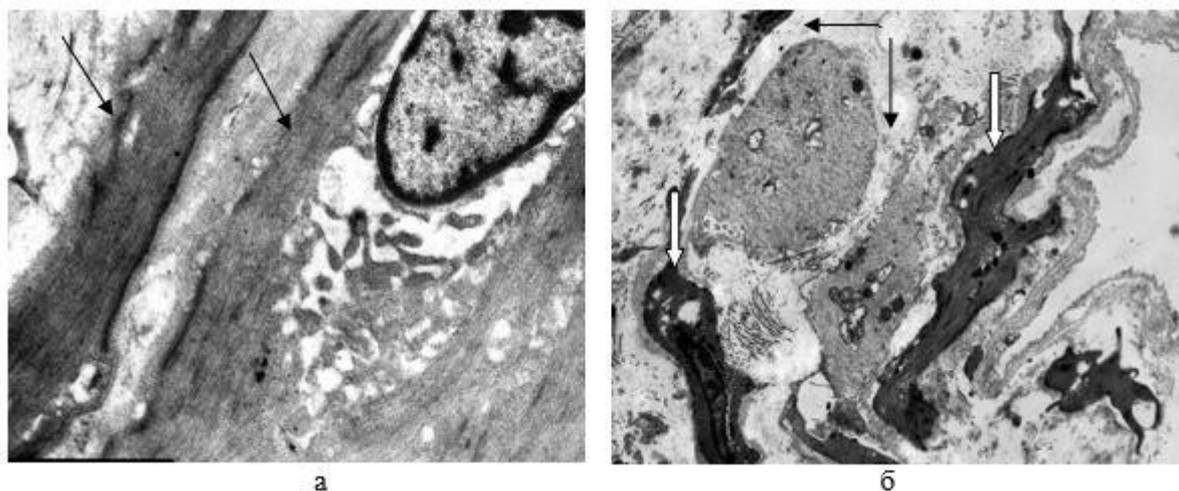
Активность ЛДГ в биоптатах варикозно измененных вен у пациентов на разных стадиях заболевания

Группа	Средняя	Медиана	Минимум	Максимум	25% прец.	75% прец.	Станд. ошибка
№ 1	156,5	133,9	98,78	345,5	105,9	188,5	17,14
№ 2	401,2	360	236,2	654,2	321,7	480,7	28,08

№ 3	597	576,4	495,3	782,1	541,6	641,7	21,63
№ 4	923,4	934,5	763,5	1029	878,2	974,7	18,23

У пациентов среднего возраста активность фермента увеличивалась более чем в два раза ($p < 0,001$) по отношению к первой возрастной группе. Ещё большее увеличение, более чем в 3 раза, наблюдалось в биоптатах вен у пациентов третьей группы ($p < 0,001$). У пациентов четвертой группы активность ЛДГ повышалась в 6,5 раз ($p < 0,001$) по сравнению с молодыми пациентами (табл. 4).

Морфологическое исследование показало, что на ранних этапах ВБ в молодом возрасте структура средней оболочки БПВ имеет неоднородный характер. Выявлено отсутствие типичных миоцитов между циркулярным и продольным слоем меди, где располагались измененные миоциты в виде утонченных или закрученных в спираль ядер. Нами выявлено, что у пациентов данной возрастной группы с более длительным сроком заболевания (более 5 лет) в структуре средней оболочки БПВ появляются незначительные прослойки соединительнотканых волокон между пучками неизмененных циркулярно расположенных ГМК, указывающие на начальные проявления склеротических изменений. Ультраструктурные исследования также указывали на незначительную гипертрофию циркулярно расположенных ГМК средней оболочки и некоторое уплотнение соединительнотканых прослоек между пучками ГМК (рис. а).



Электроннограммы:

- а) фрагмент БПВ больного первой возрастной группы с длительностью заболевания до 10 лет (1-5 лет), гипертрофия ГМК (стрелки). Ув. $\times 14000$;
- б) фрагмент БПВ больной четвертой возрастной группы, «темная» ГМК (белая стрелка); «светлая» ГМК (стрелка). Ув. $\times 9000$

В средней оболочке БПВ больных среднего возраста при ВБ во всех слоях, как в продольном, так и циркулярном, между гладкими миоцитами отмечали элементы соединительной ткани, что закономерно с возрастом и длительностью заболевания учащалось и указывало на нарастание признаков миоэластофиброза и диффузного склероза. Данные электронной микроскопии также подтверждают нарастание признаков фиброза, на что указывало хаотичное расположение измененных коллагеновых волокон, фибрилл и эластических волокон между ГМК в продольном и циркулярном слоях меди. Отмечена гетерогенность ГМК стенки БПВ, более выраженная у больных ВБ длительностью заболевания свыше 10 лет. Ультраструктурные изменения указывали на низкую сократительную функцию ГМК, что характеризовалось деструкцией миофиламентов и органелл в большинстве гладких миоцитов («светлые» клетки). В структуре меди мы часто наблюдали миоциты («темные» клетки) с высокой электронной плотностью, в них отмечены короткие и деформированные миофиламенты, которые были компактно упакованы. «Темные» и «светлые» ГМК отражают разные типы повреждения клеток, при этом коммуникационная связь между ними была нарушена.

У пожилых пациентов в стенке БПВ нами отмечены изменения типичной ориентации продольно ориентированных ГМК, выявлена фрагментация отдельных пучков за счет появления и увеличения соединительнотканых волокон, с появлением в них грубоволокнистых структур. В циркулярном слое ГМК средней оболочки стенки БПВ выявлялись атрофированные мышечные клетки, между пучками ГМК увеличивались очаги диффузного склероза и рубцовых полей. В средней оболочке между рыхло расположенными ГМК мы наблюдали пучки соединительнотканых волокон, преобладали «темные» клетки, находящиеся в состоянии деструкции, что указывало на фенотипическую гетерогенность гладких миоцитов меди.

У больных старческого возраста при ВБ в структуре меди наблюдали остатки атрофированных миоцитов, которые располагались неравномерно среди элементов плотной волокнистой соединительной ткани, в которой выявлялись участки с рубцовыми очагами. При этом электронно-микроскопическое исследование показало преобладание гладких миоцитов («темных клеток»), которые имели длинные и тонкие цитоплазматические отростки и электронно-плотную цитоплазму. В структуре других ГМК («светлые клетки») в околядерной зоне сохраненные миофиламенты были разряжены, также наблюдали деструкцию цитоплазмы и светлый матрикс в единичных митохондриях (рис. б). При ВБ у больных старческого возраста морфологические изменения характеризуются прогрессирующим атрофией ГМК, склеротических процессов, с появлением рубцового

склероза и гиалиноза, что подтверждается и на ультраструктурном уровне, прогрессирующим склеродегенеративных изменений.

При ВБ измененные вены потребляют кислород и глюкозу в 2 и более раз меньше, чем неизмененные вены в условиях нормы, что свидетельствует о метаболических нарушениях в стенке измененных вен. Еще одним подтверждением происходящих метаболических изменений в варикозно измененных венах является подъем уровня таких провоспалительных цитокинов, как интерлейкин- 1β и фактор некроза опухоли- α , а также повышение уровня D-димера непосредственно в стенке вен [3]. Вместе с тем эти данные указывают на стимуляцию нейтрофилов, эндотелиоцитов и макрофагов и на активацию системы фибринолиза по мере увеличения возраста пациентов. В рамках данного исследования нами установлено, что с увеличением возраста пациентов и длительности заболевания на метаболическом уровне происходит активация деградации белков, усиление скорости реакций трансаминирования и нарастания воспалительной реакции, подтверждением чему является подъем активности аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы, вместе с тем повышение активности лактатдегидрогеназы в стенке БПВ свидетельствует о преобладании анаэробных процессов над аэробными.

По данным некоторых авторов, при ВБ в стенке БПВ происходят структурные изменения в виде фиброза и склероза [5-7]. В некоторых работах проведен сравнительный анализ изменений в БПВ у больных разных возрастных групп при ВБ, выявлена структурная перестройка средней оболочки вен в зависимости от возраста и стадии заболевания [8-10]. В научной литературе описана в сравнительном аспекте гистологическая структура нормальных и варикозно измененных вен, при этом многие исследователи приходят к заключению, что в структуре стенки вен нижних конечностей при ВБ происходит снижение эластических волокон и плотности гладких мышечных клеток (ГМК). Данные выводы подтверждают гипотезу начальной недостаточности и слабости стенки вен при ВБ [5; 9; 10]. В условиях нормы ГМК обуславливают активный тонус и возможность регуляции просвета сосуда, являясь важным конструкционным и структурно-функциональным элементом венозной стенки [11-13]. Благодаря мышечным пучкам происходит активное сопротивление функциональной нагрузке стенки вен со стороны просвета вены, что препятствует расширению сосуда. За счет циркулярного слоя происходит сужение просвета, в то время как продольный слой, сокращаясь, противостоит суживающему действию циркулярного слоя и экстравазальному давлению на стенку вены [11]. Некоторыми авторами описывается, что в условиях нормы инволютивные процессы протекают в виде структурной перестройки во всех оболочках БПВ, в том числе и в средней оболочке [11; 12]. Результаты нашего исследования, показали, что на фоне метаболических изменений происходят и морфологические изменения,

которые зависят от возраста больных и длительности заболевания. На гистологическом уровне с увеличением возраста пациентов и прогрессированием заболевания в медиі нарастают признаки фиброза, вплоть до появления плотной волокнистой соединительной ткани, с появлением различной формы рубцовых очагов между пучками ГМК, соответствующих рубцовому склерозу с гиалинозом и атрофией миоцитов. При этом с увеличением длительности заболевания на ультраструктурном уровне происходит гипертрофия ГМК, с явлениями фенотипической гетерогенности ГМК, нарушаются коммуникационные связи между измененными миоцитами, снижается прочность соединительнотканного каркаса, к которой приводит дезорганизация соединительной ткани. Параллельно морфологическим изменениям.

Выводы. Таким образом, при ВБ с увеличением возраста больного и длительности заболевания в венозной стенке происходят биохимические изменения, в виде изменений скорости метаболических процессов, что приводит к морфологическим изменениям в БПВ, прогрессирующим на гистологическом и ультраструктурном уровне, и, следовательно, к снижению и нарушению сократительной функции стенки вен.

Список литературы

1. Селиверстов Е.И., Авакьянц И.П., Никишков А.С., Золотухин И.А. Эпидемиология хронических заболеваний вен // Флебология. 2016. Т. 10 № 1. С. 35-43. DOI: 10.17116/flebo201610135-42.
2. Золотухин И.А., Селиверстов Е.И., Шевцов Ю.Н., Авакьянц И.П., Никишков А.И., Татаринцев А.М., Кириенко А.И. Распространенность хронических заболеваний вен: результаты популяционного эпидемиологического исследования // Флебология. 2016. Т. 10. № 3. С. 119-125. DOI: 10.17116/flebo2016103119-125.
3. Вавилова Т.П., Магомедов М.Д., Минаев А.В. Определение активности трансаминаз и провоспалительных цитокинов в сосудистой стенке при варикозном расширении подкожных вен нижних конечностей // Казанский медицинский журнал. 2017. Т. 98. № 6. С. 968-970.
4. Goldman M.P., Fronek A. Anatomy and pathophysiology of varicose veins. Journal of Dermatologic Surgery and Oncology. 1989. vol. 15. no. 2. P. 138-45. DOI: 10.1111/j.1524-4725.1989.tb03020.x.
5. Porto L.C., Ferreira M.A., Costa A.M., da Silveira P.R. Immunolabeling of type IV collagen, laminin, and alpha-smooth muscle actin cells in the intima of normal and varicose saphenous veins. Angiology. 1998. vol. 49. no. 5. P. 391-398. DOI: 10.1177/000331979804900508.
6. Шайдаков Е.В., Булатов В.Л., Чумасов Е.И., Петрова Е.С., Соськин И.Н., Черных К.П.

Структурные особенности варикозно расширенной большой подкожной вены у пациентов разных возрастных групп // Новости хирургии. 2014. Т. 22. № 5. С. 560-567. DOI: 10.18484/2305-0047.2014.5.560.

7. Sayyed Mohammad, Hossein Ghaderian, Zohreh Khodaii. Tissue remodeling investigation in varicose veins. International Journal of Molecular and Cellular Medicine. 2012. vol. 1. no. 1. P. 80-84

8. Санников А.Б., Шайдаков Е.В., Емельяненко В.М. Формальный генез морфологических изменений стенки большой подкожной вены на голени в различные периоды жизни человека, при развитии ее эктазии и варикозной трансформации // Клиническая и экспериментальная хирургия // Журнал имени академика Б.В. Петровского. 2020. Т.8. №4. С.74-86. DOI 10.33029/2308-1198-2020-8-4-74-86.

9. Абдувосидов Х.А., Колесников Л.Л. Особенности структурных изменений стенки большой подкожной вены у лиц разных возрастных групп при варикозной болезни // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 3. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27637> (дата обращения: 28.10.2021).

10. Санников А.Б., Шайдаков Е.В., Емельяненко В.М. Особенности морфологического строения стенки большой подкожной вены человека при ее эктазии // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). 2021. Т. 5. № 1. С. 35-48. DOI: 10.17116/operhirurg2021501135.

11. Ванков В.Н. Строение вен. М.: Медицина, 1974. 208 с.

12. Абдувосидов Х.А., Макеева Е.А., Колесников Л.Л. Морфологические параметры компонентов стенки вен нижних конечностей у людей разных возрастных групп // Морфология. 2017. Т. 152. № 6. С. 29-34.

13. Санников А.Б., Шайдаков Е.В., Емельяненко В.М. Закономерности морфологической перестройки стенки большой подкожной вены на различных уровнях нижних конечностей в различные периоды жизни человека // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). 2020. Т. 4. № 4. С. 28-45. DOI: 10.17116/operhirurg2020404128.