

## УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК ВЕНОЗНОЙ СТЕНКИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ТРОМБОЗОМ

Канд. мед. наук В. А. ПРАСОЛ, О. Ф. НЕВЗОРОВА,  
канд. биол. наук В. П. НЕВЗОРОВ, канд. мед. наук В. И. ТРОЯН

*ГУ «Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины», Харьков*

**Изучены ультраструктурные перестройки внутриклеточных структур и органелл клеток сосудистой стенки. Выявлены причины формирования тромбов в сосудах вен нижних конечностей больных на ультраструктурном уровне.**

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

Результаты различных медицинских статистических исследований в индустриально развитых странах указывают, что заболеваниями венозной системы нижних конечностей страдает до 20 % населения. Это определяет социальную значимость проблемы. В настоящее время наблюдается тенденция к увеличению количества больных, страдающих острым тромбозом вен нижних конечностей, которые являются наиболее частой локализацией острых окклюзий сосудов.

Известно, что в основе возникновения заболевания лежат наследственные нарушения эластичности венозной стенки на фоне венозной гипертензии, реализующиеся через гормональные воздействия [1–3].

Причины острого тромбоза глубоких вен нижних конечностей точно не установлены. Процесс начинается при сочетании повреждения сосудистой стенки, стазе крови, а также нарушении реологических свойств крови. Однако этих причин недостаточно для развития острых тромбозов в более крупных сосудах, так как формирующийся тромб будет легко смыт интенсивной струей крови [4, 5].

Дисфункция эндотелия рассматривается как возможная причина патологических изменений в венозной стенке и нарушений системы свертывания крови, которые характерны для тромбоза глубоких вен [6, 7].

В результате повреждения эндотелия тромбоциты задерживаются волокнами субэндотелиального коллагена и под воздействием фактора Виллебранда становятся активированными, а в дальнейшем подвергаются дегрануляции. Повреждение эндотелия и контакт крови с коллагеном также активизируют свертывающую систему крови.

Коллагеновые волокна участвуют в поддержании нормальной конфигурации сосуда и сохранении ее при экстремальных воздействиях. Сосудистый тонус и вазомоторные реакции регулируются гладкомышечными клетками сосудистой стенки [9–11].

Следует отметить, что наличие в бедренной вене пучков гладких миоцитов в оболочках

и клапанах оказывается недостаточным для подъема крови против сил тяжести. Существенную роль в этом играет сокращение скелетной мускулатуры нижних конечностей.

В эндотелиальных клетках, как известно, синтезируются сосудорасширяющий и антиагрегационный агенты, при помощи которых эндотелий может влиять на тонус гладкой мускулатуры. Функции эндотелия складываются как баланс противоположно действующих начал: усиление — ослабление сосудистого тонуса, агрегация — дезагрегация клеток крови, увеличение — уменьшение числа сосудистых клеток. В каждом случае результат определяется концентрацией синтезируемых в эндотелиоцитах веществ, между которыми существует строгая зависимость и равновесие.

Гипоксия тканей активизирует эндотелиальные клетки, которые освобождают медиаторы воспаления, индуцирующие адгезию и агрегацию лейкоцитов.

От адекватного функционирования эндотелиоцитов зависят тонус сосудов, общее сосудистое сопротивление, венозное давление, атромбогенность сосудистой стенки, активность свертывающей системы. При нарушении структуры эндотелиоцитов меняется спектр выделяемых ими биологически активных веществ. Эндотелий начинает секретировать агреганты, коагулянты, вазоконстрикторы и становится инициатором многих патологических процессов в организме [12].

Целью настоящей работы явилось выявление роли ультраструктурных перестроек внутриклеточных структур и органелл клеток сосудистой стенки в формировании тромбов в сосудах вен нижних конечностей больных.

Материалом для исследования послужили кусочки вен больных острым тромбозом, иссеченные во время оперативного вмешательства. Забор ткани производился из области локализации тромба. Кусочки венозной стенки подвергались предварительной фиксации в 2,5 %-ном забуференном растворе глютарового альдегида в течение 4–5 ч при температуре 4 °С. По окончании предварительной фиксации ткань промывали буферным

раствором и помещали в 1%-ный забуференный раствор четырехокси осмия на 3–4 ч 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 сут.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-3 изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и после контрастирования цитратом свинца изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кв.

Электронно-микроскопическое изучение эндотелиальных клеток, взятых из области локализации тромба, показало наличие дистрофических и деструктивных изменений органелл.

Ядра эндотелиоцитов имели фестончатый вид (рис. 1). Ядерная мембрана образовывала глубокие инвагинации, теряла четко контурированную структуру, была разрыхлена. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированном состоянии. Его осмиофильные глыбки плотным кольцом концентрировались вдоль ядерной мембраны. Центральная часть матрикса ядра содержала гранулы деконденсированного хроматина и обладала низкой электронной плотностью. Цитоплазма в перинуклеарной области имела более высокую электронную плотность, в ней присутствовало небольшое количество деструктивно измененных органелл.

Митохондрии эндотелиоцитов обладали средней электронной плотностью и гомогенным матриксом. Кристы значительного числа митохондрий не выявлялись. Отдельные митохондрии содержали тотально лизированные кристы

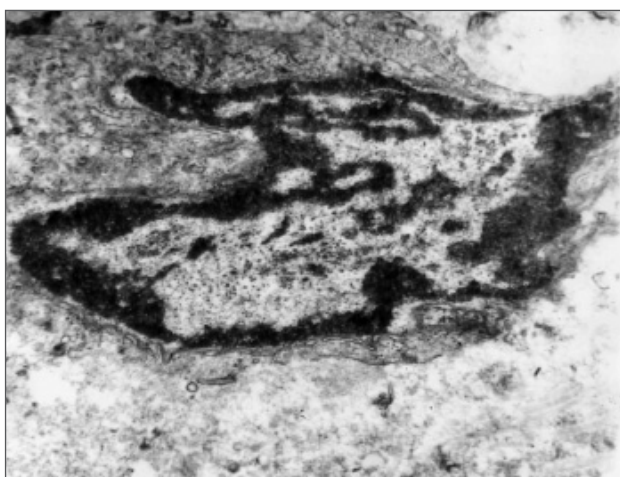


Рис. 1. Ультраструктура эндотелиоцитов вен нижних конечностей больных острым тромбозом. Разрыхление ядерной мембраны, конденсация хроматина, расширение перинуклеарного пространства,  $\times 37\,000$

и грубо-волоконистый матрикс. Наружные мембраны имели очаги деструкции.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума были сильно расширены и представляли собой электронно-прозрачные вакуоли. На мембранах практически отсутствовали рибосомы, а в цитоплазме выявлялось большое количество рибосом и полисом. Гиалоплазма эндотелиоцитов была умеренно просветлена. Наблюдался очаговый лизис мембран гранулярной эндоплазматической сети.

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

Цитоплазма отростков эндотелиоцитов была истончена и содержала крупные вакуоли. Цитоплазматическая мембрана, обращенная к току крови, образовала выросты в виде микроворсинок и участки, подвергшиеся разрушению (рис. 2).

В цитоплазме отростков находилось небольшое количество микропиноцитозных пузырьков, заполненных электронно-прозрачной субстанцией.

Базальная мембрана имела неравномерную толщину и среднюю электронную плотность. В структуре базальной мембраны выявлялись вакуолеподобные образования, не ограниченные мембраной. Кроме того, обнаруживались участки разрушения базальной мембраны.

Наряду с этим в зоне локализации тромба встречались эндотелиоциты с тотальной деструкцией всех внутриклеточных органелл и мембранных структур. Ядра таких клеток были пикнотичны и обладали высокой электронной плотностью, создаваемой глыбками конденсированного

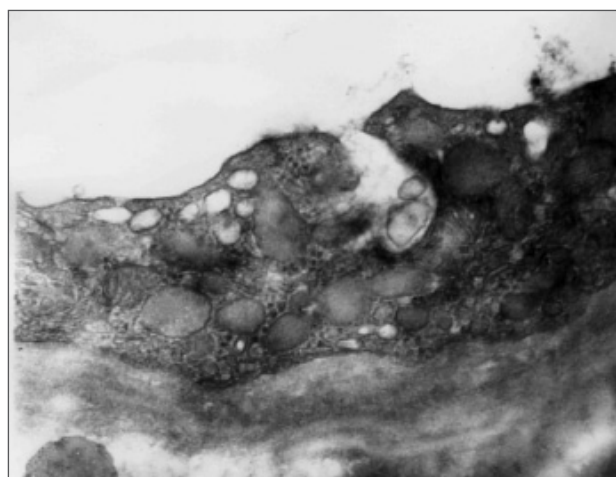


Рис. 2. Ультраструктура эндотелиоцитов вен нижних конечностей больных острым тромбозом. Выросты цитоплазматической мембраны, очаговый лизис и крупные вакуоли в цитоплазме отростков эндотелиальных клеток,  $\times 49\,000$

хроматина, расположенными вблизи ядерной мембраны. В центральной области матрикса ядра находилась электронно-прозрачная субстанция с включениями единичных гранул деконденсированного хроматина. Ядерная мембрана была разрушенной, со множественными очагами лизиса.

В перинуклеарной области цитоплазмы эндотелиоцитов располагались деструктивно измененные митохондрии. Наблюдался тотальный лизис крист и наружных мембран. Гранулярный эндоплазматический ретикулум был подвержен фрагментации. Рибосомы, как свободно лежащие в цитоплазме, так и связанные с мембранами гранулярного эндоплазматического ретикулума, практически отсутствовали (рис. 3).

Редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи сопровождалась разрыхлением и лизисом его мембран. В области локализации фрагментов хаотически ориентированных гладких мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи располагались крупные вторичные лизосомы.

Гиалоплазма эндотелиоцитов имела электронно-прозрачный вид, в отростках ее цитоплазмы отсутствовали микропиноцитозные везикулы и трансэндотелиальные каналы. Люминальная мембрана эндотелиоцитов, гладкая, без выпячивания и микроворсинок, имела большие участки деструкции. В цитоплазме эндотелиоцитов часто обнаруживались включения липидов.

В области разрушения эндотелиального пласта наблюдался контакт эритроцитов крови с коллагеновыми и эластическими волокнами. Цитоплазматическая мембрана эритроцитов при контакте с ними подвергалась локальному лизису.

Известно, что даже при отсутствии нарушений трофики в медиальном слое венозной стенки развивается гиперплазия гладкомышечных клеток с разрастанием коллагеновых и эластических волокон.

Ультраструктура гладких миоцитов, локализованных в стенке тромбированных вен, была

существенно нарушена. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированном состоянии. Характерным было диффузное распределение его глыбок по кариоплазме. Перинуклеарные пространства не расширились.

Цитоплазма гладких миоцитов была заполнена ориентированными вдоль длинной оси актиновыми и миозиновыми микрофиламентами. Цитоплазматическая мембрана — четкая, с мелкими очагами лизиса.

Органеллы не всегда локализовались в перинуклеарной области гладких миоцитов. Иногда они располагались в виде скоплений в других отделах цитоплазмы и были окружены пучками микрофиламентов. Митохондрии и гладкие мембраны пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи были деструктивно изменены (рис. 4).

В области расположения тромба в просвете вены обнаруживались эритроциты и фрагменты дегенеративно измененных органелл, мембран, включений липидов и бесструктурной субстанции липопротеидной природы.

В стенке вен, в области разрушения эндотелиального пласта наблюдался контакт эритроцитов непосредственно с миоцитами. В этой области эритроциты соприкасались друг с другом, и в местах соприкосновения мембрана эритроцитов подвергалась очаговому лизису.

Деструктивные изменения гладких миоцитов в области сформированного тромба свидетельствовали о нарушении эластических свойств венозной стенки и снижении ее тонуса.

В месте разрушения эпителиального пласта активировались внутриклеточные процессы в фибробластах. Их ядра приобретали фестончатый вид со множеством глубоких и мелких инвагинаций ядерной мембраны. Ядерный хроматин частично конденсировался и концентрировался вблизи ядерной мембраны. В центральной области матрикса появлялись скопления рибосом. Перинуклеарные пространства не были расширены.

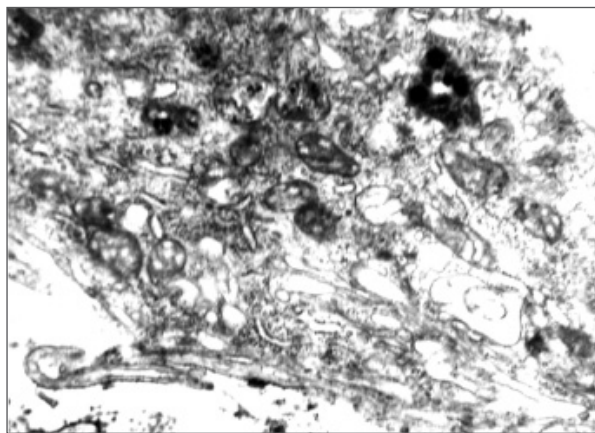


Рис. 3. Ультраструктура эндотелиоцитов вен нижних конечностей больных острым тромбозом. Деструкция и гомогенизация митохондрий, фрагментация мембран эндоплазматического ретикулума,  $\times 52\,000$

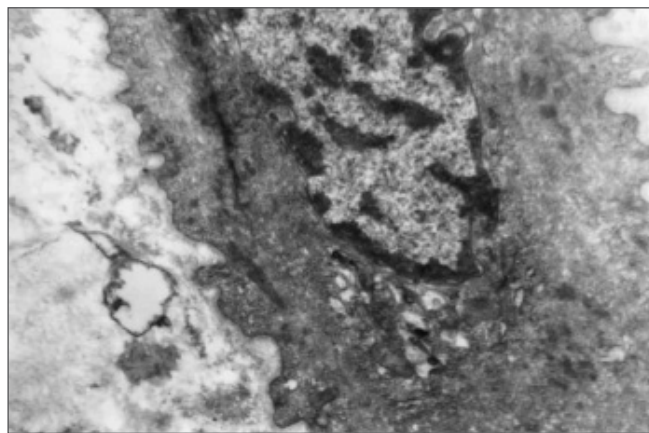


Рис. 4. Ультраструктура гладких миоцитов вен нижних конечностей больных острым тромбозом. Деструкция цитоплазматических органелл,  $\times 39\,000$

В цитоплазме фибробластов располагались хорошо развитые мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума, их цистерны были уплощены. На мембранах присутствовали многочисленные рибосомы. В отдельных фибробластах наблюдалась гиперплазия мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума.

Небольшое количество мелких митохондрий содержали кристы, количество которых соответствовало данному виду клеток.

Базальная мембрана была утолщенной, имела различную плотность. В области расположения тромба в просвете вены обнаруживались эритроциты и фрагменты дегенеративно измененных органелл и мембран, включения липидов и бесструктурная аморфная субстанция.

Очагов деструкции мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума, митохондрий, их крист и мембран пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи не выявлялось. Фибробласты окружались большим количеством коллагеновых волокон.

Наряду с метаболически активными фибробластами иногда в препаратах встречались клетки, подверженные деструктивным процессам (рис. 5). Цитоплазма этих клеток электронно-плотная. Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума были вакуолизированы, а мембраны имели множественные очаги лизиса. В цитоплазме располагались очагово разрушенные митохондрии, первичные и вторичные лизосомы, мелкие включения липидов. В ядерной мембране встречались многочисленные инвагинации. Обнаруживались очаги лизиса ядерной мембраны и участки ее разрыхления.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование субмикроскопической организации эндотелиальных клеток вен нижних конечностей, взятых из области локализации тромба у больных острым тромбозом, выявило нарушение

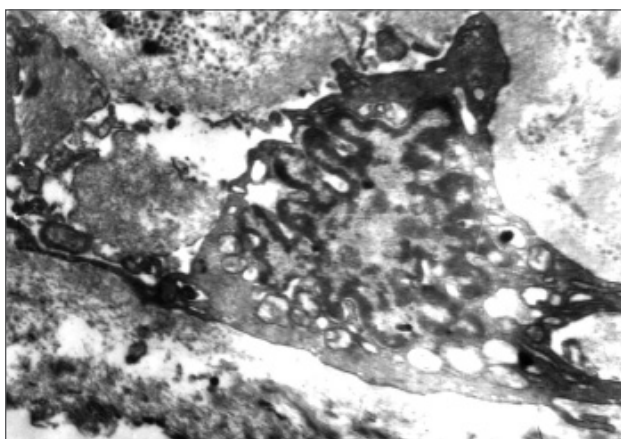


Рис. 5. Ультраструктура фибробластов венозной стенки нижних конечностей больных острым тромбозом. Инвагинации и локальные разрушения ядерной мембраны, лизис мембран эндоплазматического ретикулума и митохондрий,  $\times 55\,000$

метаболической активности органелл. Существенным деструктивным изменениям подвергались митохондрии, что указывало на нарушение биоэнергетического обеспечения синтетических процессов. Следствием нарушения биоэнергетики являлось снижение активности синтеза веществ, что структурно подтверждалось резким расширением цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, исчезновением связанных с ним рибосом, редукцией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

Одновременно с этим наблюдалось нарастание катаболических процессов, на что косвенно указывало увеличение количества вторичных лизосом, локализованных вблизи пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

В силу того что эндотелиальные клетки принимали участие в регулировке местных процессов гемостаза, пролиферации и в поддержании тонуса сосудов, выявленные изменения органелл указывают, что в области формирования тромба развивается эндотелиальная дисфункция вен нижних конечностей.

В основе развития эндотелиальной дисфункции, на наш взгляд, ведущая роль отводится изменениям в митохондриях. Митохондриальная недостаточность, структурным выражением которой является локальный лизис наружных мембран и крист, существенно нарушает внутриклеточную биоэнергетику. Параллельно с этим снижаются и репаративные возможности внутриклеточных мембранных структур, а также метаболизма эндотелиоцитов в целом, что структурно подтверждается деструкцией мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума и редукцией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Отсутствие в цитоплазме отростков эндотелиоцитов микропиноцитозных пузырьков свидетельствует о снижении активности трансцеллюлярного транспорта веществ и электролитов через эндотелий.

Деструктивные изменения гладких миоцитов указывают на нарушение эластических свойств венозной стенки и снижение ее тонуса. Наблюдаемая конденсация ядерного хроматина гладкомышечных клеток свидетельствует о снижении их метаболической активности, а деструкция наружных мембран митохондрий, дезорганизация и лизис крист, а также уплотнение их матрикса являются структурным подтверждением низкого уровня сократительных возможностей гладких миоцитов в условиях биоэнергетического дефицита. Состояние ультраструктурной организации гладкомышечных клеток в условиях острого тромбоза вен нижних конечностей не позволяет поддерживать нормальный тонус сосудов.

Активация фибробластов венозной стенки, продуцирующих коллагеновые и эластические волокна, вероятно, является компенсаторной реакцией, направленной на поддержание нормальной конфигурации сосуда в месте разрушения эндотелиального слоя. Следует отметить, что коллаген

не влияет на тонус сосудов и сосудодвигательные реакции, но контакт клеточных элементов крови с коллагеном активирует свертывающую систему, что создает дополнительные условия для образования тромбов.

Таким образом, электронно-микроскопическими исследованиями вен нижних конечностей больных острым тромбозом установлено, что в области формирования тромба развиваются изменения субмикроскопической архитектоники эндотелиальных клеток, в результате чего возникает эндотелиальная дисфункция.

Ведущим звеном в развитии патологии сосудов на ультраструктурном уровне является митохондриальная недостаточность эндотелиоцитов,

структурно проявляющаяся лизисом наружных мембран и крист этих органелл, что влечет за собой дефицит биоэнергетического обеспечения внутриклеточных синтетических реакций и репаративных процессов.

Нарушения ультраструктурной организации гладких миоцитов в области формирования тромбов свидетельствуют о невозможности поддерживать оптимальный тонус сосудов.

Изменение субмикроскопической организации базальных мембран является существенным фактором возможности восстановления поврежденного слоя эндотелия, так как пролиферация эндотелиальных клеток в отсутствие базальной мембраны не возможна.

#### Литература

1. Голубев О. А. Особенности взаимоотношений сосудистого русла и его клеточного микроокружения в тканях фиброаденом молочной железы: Дисс. ... канд. мед. наук.— Минск, 1993.— 124 с.
2. Хворостунин В. С. Значение недостаточности перфорантных вен и малоинвазивные хирургические методы ее коррекции у больных варикозной болезнью нижних конечностей: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук.— Саратов, 2006.— 21 с.
3. Bergan J. J. Advances in evaluation and treatment of chronic venous insufficiency // *Angiology and Vasc. Surg.*— 1995.— № 3.— P. 59–80.
4. 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.
5. Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population: Edinburg Vein Study / C. J. Evans, F. G. Fowkes, C. V. Ruckley, A. J. Lee // *J. Epidemiol. Community Health.*— 1999.— № 53.— P. 149–153.
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. Standing at work and varicose veins / F. Tuchsien, N. Krause, H. Hanners et al. // *Scand. J. Work Environ. Health.*— 2000.— № 26.— P. 414–420.
8. Золотухин И. А., Богачев В. Ю., Кириенко А. И. Особенности определения показаний к лазерной облитерации магистральных подкожных вен при варикозной болезни // *Флебология.*— 2009.— № 1, Т. 3.— С. 4–10.
9. Савельев В. С. Современные направления в хирургическом лечении хронической венозной недостаточности // *Флебологическая.*— 1996.— № 1.— С. 5–7.
10. Caggiati A. Fascial relations and structure of the tributaries of the saphenous veins // *Surg. Radiol. Anat.*— 2000.— Vol 22, № 3–4.— P. 191–196.
11. 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.
12. Гавриленко А. В., Скрылев С. И., Радкевич Ф. А. Хирургические методы коррекции клапанной недостаточности глубоких вен нижних конечностей // *Ангиология и сосудистая хирургия.*— 1997.— № 2.— С. 127–134.

### УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛІТИН ВЕНОЗНОЇ СТІНКИ ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ТРОМБОЗ

В. О. ПРАСОЛ, О. Ф. НЕВЗОРОВА, В. П. НЕВЗОРОВ, В. І. ТРОЯН

**Вивчено ультраструктурні перебудови внутрішньоклітинних структур і органел клітин судинної стінки. Виявлено причини формування тромбів у судинах вен нижніх кінцівок хворих на ультраструктурному рівні.**

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

### ULTRASTRUCTURE OF THE VENOUS WALL CELLS IN PATIENTS WITH ACUTE THROMBOSIS

V. A. PRASOL, O. F. NEVZOROVA, V. P. NEVZOROV, V. I. TROYAN

**Ultrastructure reconstructions of the intracellular structures and organelles of the cells of the vascular wall were investigated. The causes of forming thrombi in the vessels of the veins of lower extremities were determined at ultrastructure level.**

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

Поступила 09.12.2010