

## ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК КРОВИ В ОБЛАСТИ ИХ КОНТАКТА С ЭНДОТЕЛИЕМ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Проф. В. В. БОЙКО, д-р мед. наук В. А. ПРАСОЛ, О. Ф. НЕВЗОРОВА,  
канд. биол. наук В. П. НЕВЗОРОВ, Е. А. РУДЕНКО

*ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины», Харьков*

**Проведено электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитарных пластинок в области нестабильного кровотока при острых и хронических заболеваниях вен нижних конечностей и установлено, что они находятся в повышенном метаболическом состоянии. Нарушения цитоплазматической мембраны лейкоцитов способствуют их фиксации на эндотелиальной поверхности венозной стенки. Отдельные эритроциты при турбулентном движении крови разрушаются.**

*Ключевые слова: ультраструктура клеток крови, хроническое заболевание вен, венозная недостаточность.*

В последнее время возрастает количество клинических и экспериментальных исследований, посвященных проблемам хронических и острых заболеваний вен нижних конечностей человека. Хронические заболевания вен сопровождаются варикозным расширением и трофическими язвами, при этом наблюдаются нарушение венозного оттока и отек. Известно, что в прогрессирующем течении хронического заболевания вен участвуют различные патогенетические механизмы, и одно из ключевых мест занимает воспаление [1–5].

Доказано, что хронические заболевания вен приводят к существенному снижению качества жизни, что связано с ограничением физической активности [6], депрессивным состоянием больного.

Все многообразные симптомы и синдромы, встречающиеся у больных с хроническими заболеваниями вен, в той или иной мере связаны с повышением венозного давления.

На силу воздействия турбулентного тока крови оказывает влияние слой гликокаликса, покрывающего эндотелий, который является трансдуктором, модулирующим и передающим механические воздействия со стороны просвета вены на эндотелий. Нарушение гликокаликса вследствие воспалительной реакции может инициировать активную адгезию лейкоцитов [7]. Активные лейкоциты и эндотелиоциты обеспечивают прочную фиксацию лейкоцитов к эндотелию, следовательно, в патогенезе хронического заболевания вен важную роль играют эндотелиально-лейкоцитарные взаимодействия.

Некоторые авторы считают, что формирование венозного тромба происходит на не измененной патологическим процессом стенке, оно связано с гиперкоагуляцией крови, снижением скорости кровотока [6, 9]. Такое представление, на наш взгляд, не является корректным, ибо в месте образования тромба должны быть благоприятные

условия для адгезии клеточных элементов крови к эндотелию [8, 10].

В условиях турбулентного тока крови и нарушенной ультраструктурной организации эндотелиоцитов в области контакта клеточных элементов крови с венозной стенкой можно предположить и изменения их субмикроскопического строения.

Цель работы — изучить особенности ультраструктурных перестроек клеточных элементов крови, взаимодействующих с эндотелием вен.

Для электронно-микроскопического исследования субоперационно произвели забор эндотелиальной стенки вены в области формирования тромба. Кусочки вены помещали для предварительной фиксации в 2–4% забуференный раствор глютарового альдегида на 2–3 ч при температуре 4 °С. После промывания в буферном растворе ткань переносили для окончательной фиксации в 1%-ный забуференный раствор четырехоксида осмия на 3–4 ч. Обезвоживание проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Ткань пропитывали и заливали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С в течение 2 сут.

Из полученных блоков на ультрамикротоме УПП-3М изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сетки и после контрастирования цитратом свинца и уранилацетатом исследовали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ. Контролем качества гистологической обработки служили кусочки макроскопически не измененных вен нижних конечностей.

Исследование ультраструктуры клеток крови, взятых в непосредственной близости к неизменному эндотелию вен, показало адекватность

применяемых методов гистологической обработки материала, так как субмикроскопическая организация их соответствовала современным представлениям.

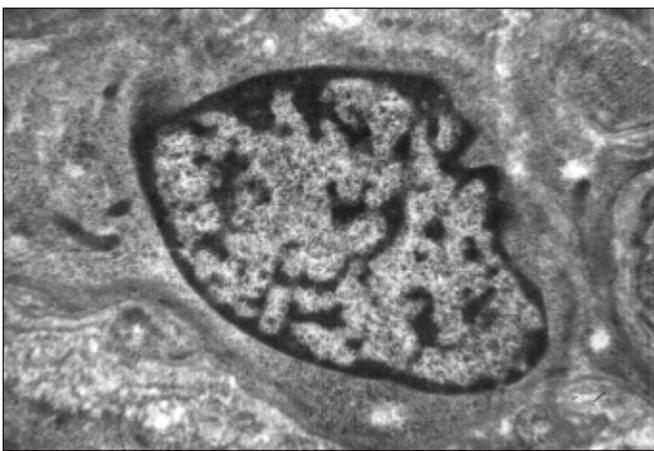
Изучение ультраструктурной организации лейкоцитов венозной крови, контактирующей с патологически измененной веной, показало, что подавляющее количество лейкоцитов находилось в метаболически активном состоянии, их ядра содержали как конденсированный, так и деконденсированный хроматин. Гранулы конденсированного хроматина, собранные в осмиофильные глыбки, концентрировались на ядерной мембране (рис. 1, а), в то время как деконденсированный хроматин локализовался в **центральной области** матрикса, которая имела низкую электронную плотность. Ядерная мембрана образовывала многочисленные мелкие и глубокие инвагинации. Перинуклеарные пространства были умеренно и равномерно расширены. Кариолемма некоторых лейкоцитов содержала очаги разрыхления.

В цитоплазме локализовалось большое количество рибосом и полисом (рис. 1, б).

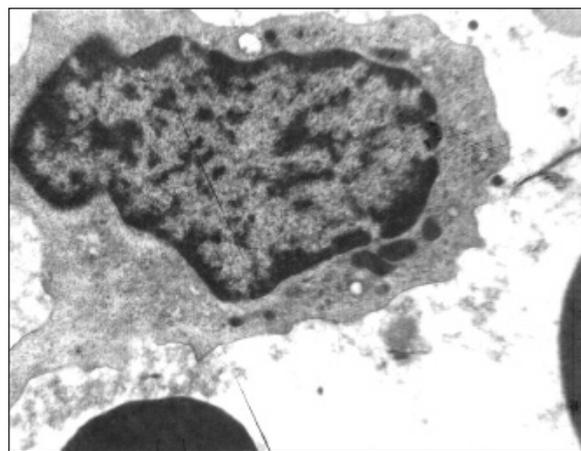
Митохондрии имели различную форму и размеры, а их матрикс обладал высокой электронной плотностью и мелкогранулярной структурой. Кристы в митохондриях сохраняли параллельную ориентацию (рис. 1, в). Наряду с этим встречались набухшие митохондрии с просветленным матриксом, очаговым разрыхлением и лизисом наружных мембран и крист.

Цистерны гранулярной эндоплазматической сети были умеренно расширены и **заполнены** веществом низкой электронной плотности. В целом, гранулярный эндоплазматический ретикулум был развит хорошо, на мембранах выявлялось большое количество рибосом (рис. 1, г). Очаги разрыхления и лизиса отсутствовали.

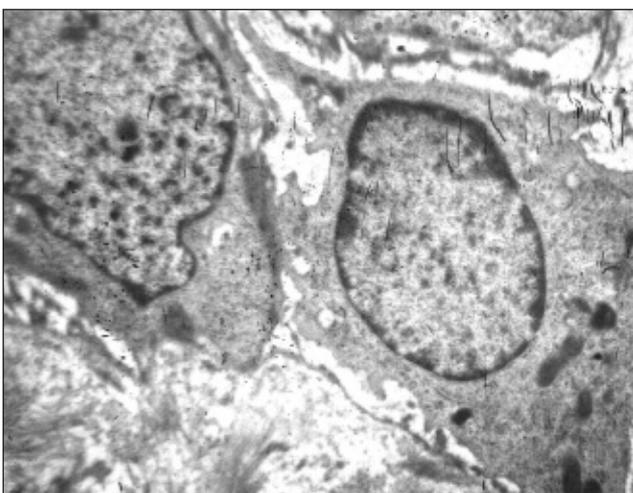
Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи развит слабо, его параллельно ориентированные гладкие мембраны окружены небольшим количеством мелких электронно-прозрачных



а



б



в



г

Рис. 1. Ультраструктура лейкоцитов венозной крови пациентов с заболеванием вен нижних конечностей: а — конденсация ядерного хроматина,  $\times 31\ 000$ ; б — скопление рибосом в цитоплазме,  $\times 30\ 000$ ; в — электронно-плотный матрикс митохондрий,  $\times 29\ 000$ ; г — хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум,  $\times 28\ 000$

везикул. В области расположения в цитоплазме комплекса Гольджи зачастую выявлялись вторичные лизосомы. Цитоплазматическая мембрана была четко контурирована и образовывала большое количество микроворсинок различной длины.

В препаратах встречались лейкоциты с осмиофильными ядрами и плотно упакованными гранулами конденсированного хроматина. Ядерная мембрана их разрыхлена, образует очень глубокие инвагинации. В цитоплазме обнаруживалось большое количество мелких неизменных митохондрий, их матрикс имел мелкогранулярную структуру и высокую электронную плотность.

Многочисленные рибосомы и полисомы диффузно рассеяны по цитоплазме. Мембраны гранулярной эндоплазматической сети без существенных изменений. На цитоплазматической мембране лейкоцитов присутствовали многочисленные микроворсинки. Иногда в цитоплазме выявлялись вторичные лизосомы и включения липидов. В структуре вторичных лизосом присутствовали фрагменты дегенеративно измененных

внутриклеточных мембран и органелл, а также аморфное вещество высокой электронной плотности. Цитоплазматическая мембрана лейкоцитов имела многочисленные очаги разрыхления и лизиса. Очаговый лизис зачастую располагался в зоне их контакта с цитоплазматической мембраной эндотелиальных клеток.

Существенным изменениям были подвержены эритроциты. Часть эритроцитов венозной крови была заполнена электронно-плотным гемоглобином, контактировала со слоем гликокаликса, и в месте контакта их цитоплазматическая мембрана была подвержена лизису (рис. 2, а). В препаратах присутствовали «сладжи» эритроцитов (рис. 2, б). Цитоплазматическая мембрана эритроцитов, собранных в стопки, как правило, теряла четко контурированную структуру, становилась разрыхленной, на ее поверхности концентрировался осмиофильный слой гемоглобина (рис. 2, в).

У небольшой части эритроцитов цитоплазматическая мембрана была подвержена тотальному лизису, и вблизи нее располагались мелкие

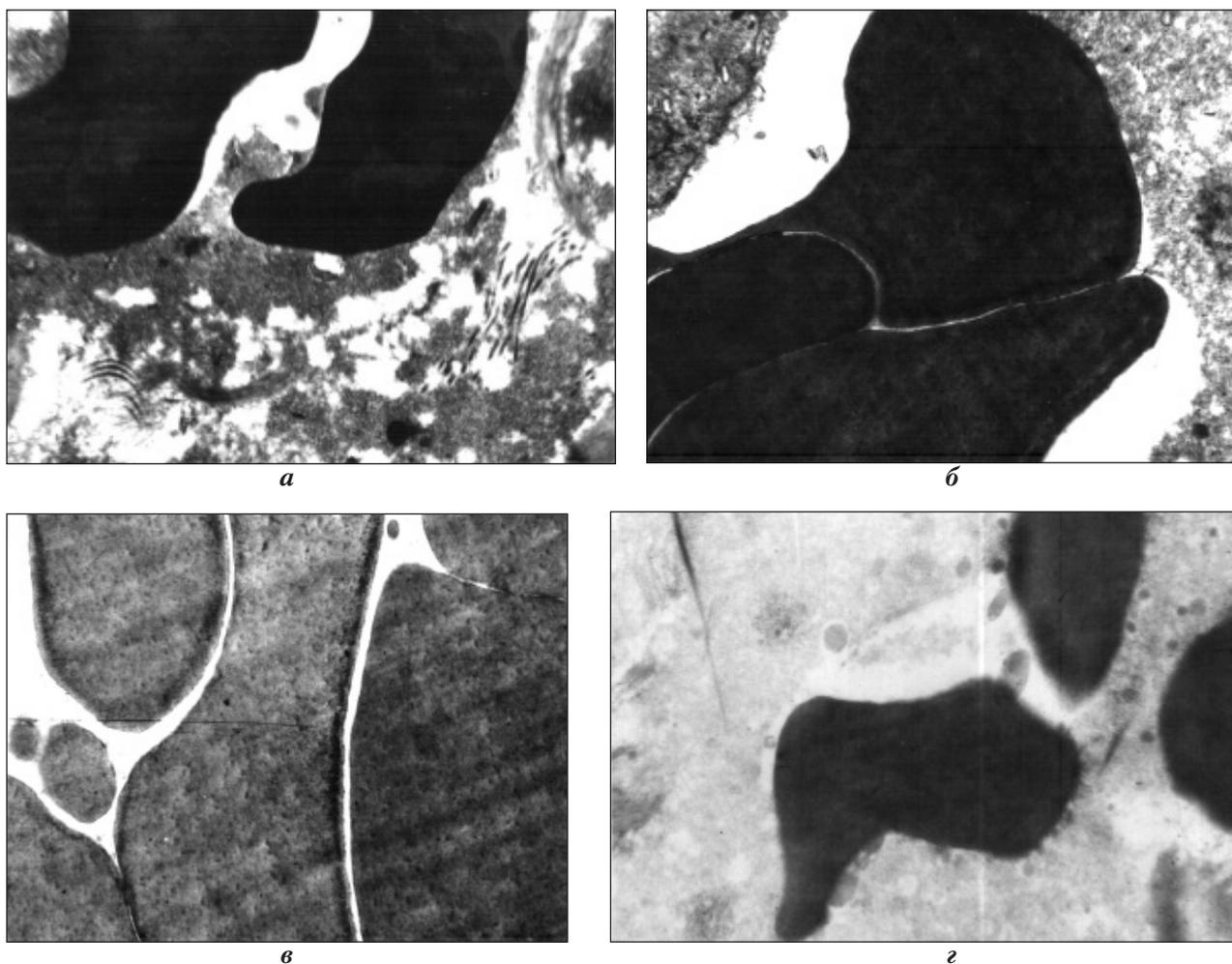


Рис. 2. Ультраструктура эритроцитов венозной крови пациентов с заболеванием вен нижних конечностей: а — лизис цитоплазматической мембраны в области контакта с гликокаликсом,  $\times 36\ 000$ ; б — «сладжи» эритроцитов в кровеносном русле,  $\times 38\ 000$ ; в — осмиофильный слой вблизи цитоплазматической мембраны эритроцитов,  $\times 56\ 000$ ; з — тотальный лизис эритроцитов,  $\times 42\ 000$

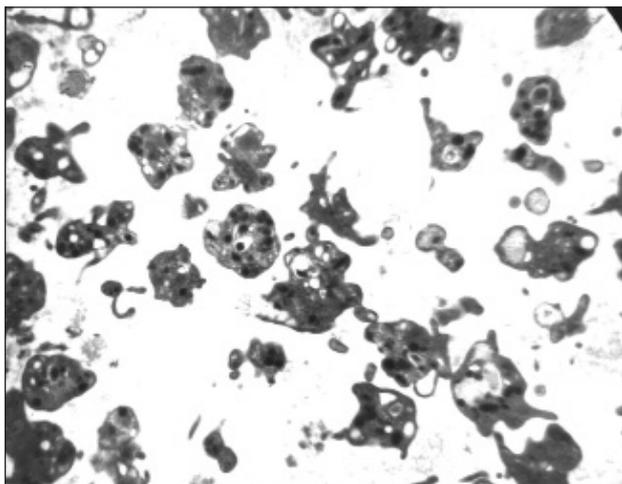


Рис. 3. Ультраструктура тромбоцитов венозной крови пациентов с заболеванием вен нижних конечностей. Секреторные гранулы в цитоплазме тромбоцитов,  $\times 39\,000$ . Контрастировано цитратом свинца

везикулы, заполненные аморфным веществом средней электронной плотности (рис. 2, г).

Высокой метаболической активностью обладали тромбоциты, плазматическая мембрана которых была покрыта толстым слоем осмиофильного вещества и образовывала глубокие инвагинации. В цитоплазме выявлялись пучки актиновых микрофиламентов, образующих цитоскелет тромбоцитов, а также микротрубочки. Кроме открытой системы канальцев, образуемых инвагинациями цитоплазматической мембраны, в цитоплазме была сохранена плотная тубулярная система в виде трубочек, заполненных электронно-плотным аморфным веществом. В цитоплазме присутствовали единичные митохондрии, рибосомы, полисомы, элементы эндоплазматической сети, мембраны пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи и гранулы гликогена. Тромбоциты содержали многочисленные  $\alpha$ - и  $\delta$ -гранулы, содержимое которых имело различную степень осмиофилии (рис. 3).

#### Список литературы

1. *Баешко А. А.* Послеоперационный тромбоз глубоких вен нижних конечностей и тромбоэмболия легочной артерии / А. А. Баешко.— М.: Триада-Х, 2000.— 136 с.
2. Динамика структурных изменений при экспериментальном флеботромбозе / А. А. Баешко, Г. А. Берлов, Ю. И. Рогов [и др.] // *Здравоохранение Беларуси.*— 1999.— № 1.— С. 17–21.
3. *Баркаган З. С.* Основы диагностики нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот.— М.: Ньюдиамед-АО, 1999.— 246 с.
4. *Ванков В. Н.* Строение вен / В. Н. Ванков.— М.: Медицина, 1974.— 208 с.
5. *Jantet G.* Chronic venous insufficiency: worldwide results of the RELIEF study. Reflux assessment and qua-

lity of life improvement with micronized Flavonoids / G. Jantet // *Angiol.*— 2002.— Vol. 53.— P. 245–256.

Лейкоциты в области нестабильного кровотока, вызванного нарушением ламинарности движения, при заболевании вен нижних конечностей находились в метаболически активном состоянии, что структурно подтверждается хорошо развитым эндоплазматическим ретикулулом, многочисленными рибосомами на его мембранах, а также большим количеством митохондрий и крист в них.

Вместе с тем были выявлены элементы деструкции цитоплазматической мембраны лейкоцитов в виде очагового лизиса. Особенно часто эти нарушения цитоплазматической мембраны были локализованы в местах контакта их с цитоплазматической мембраной дистрофически и деструктивно измененных эндотелиоцитов, что, вероятно, способствует их фиксации на поверхности венозной стенки. Отдельные эритроциты при турбулентном движении крови подвергаются разрушению.

В области турбулентности тока венозной крови образовывались «сладжи». Цитоплазматические мембраны составляющих их эритроцитов были сильно разрыхлены. Наблюдалось и разрыхление как цитоплазматических мембран эритроцитов, так и плазмалемм эндотелиоцитов в местах их соприкосновения.

Весь комплекс выявленных субмикроскопических нарушений лейкоцитов и эритроцитов в области турбулентности потока крови в условиях высокой активности тромбоцитов, вероятно, способствует образованию тромбов.

В результате проведенного исследования можно сделать выводы.

Лейкоциты и тромбоцитарные пластинки в области турбулентного кровотока, вызванного нарушением ламинарности движения, при хроническом заболевании вен нижних конечностей находятся в метаболически активном состоянии.

Нарушения цитоплазматической мембраны лейкоцитов способствует их фиксации на эндотелиальной поверхности венозной стенки.

Отдельные эритроциты при турбулентном движении крови подвергаются разрушению.

6. *Bouchet A.* Morphologic anatomy of the valves of lower limbs / A. Bouchet // *Phlebol.*— 1992.— Vol. 45, № 3.— P. 233–245.
7. *Хапалюк А. В.* Патологические аспекты эффективности и безопасности применения гепаринов в лечении и профилактике тромбозов и тромбоэмболий / А. В. Хапалюк // *Медицина.*— 2006.— № 1.— С. 10–15.
8. *Флебология: руководство для врачей / В. С. Савельев, В. А. Гологорский, А. И. Кириенко [и др.]; под ред. В. С. Савельева.*— М.: Медицина, 2001.— 664 с.
9. Ультраструктура клеток венозной стенки больных острым тромбозом / В. А. Прасол, О. Ф. Невзорова,

В. П. Невзоров, В. И. Троян // Междунар. мед. журн.— 2011.— № 1.— С. 90–94.  
10. Schmid-Schonbein G. W. Inflammation and pathophysiology of chronic venous insufficiency / G. W. Schmid-Schonbein // Phlebolympology.— 2003.— Vol. 39.— P. 95–99.

ology of chronic venous insufficiency / G. W. Schmid-Schonbein // Phlebolympology.— 2003.— Vol. 39.— P. 95–99.

### **ЗМІНА УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИН КРОВІ У ДІЛЯНЦІ ЇХ КОНТАКТУ З ЕНДОТЕЛІЄМ ПРИ ХРОНІЧНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ВЕН НИЖНІХ КІНЦІВОК**

В. В. БОЙКО, В. О. ПРАСОЛ, О. Ф. НЕВЗОРОВА, В. П. НЕВЗОРОВ, К. О. РУДЕНКО

Проведено електронно-мікроскопічне дослідження ультраструктури лейкоцитів, еритроцитів і тромбоцитарних пластинок у ділянці нестабільного кровотоку при гострих і хронічних захворюваннях вен нижніх кінцівок і встановлено, що вони перебувають у підвищеному метаболічному стані. Порушення цитоплазматичної мембрани лейкоцитів сприяють їх фіксації на ендотеліальній поверхні венозної стінки. Деякі еритроцити при турбулентному русі крові руйнуються.

*Ключові слова:* ультраструктура клітин крові, хронічне захворювання вен, венозна недостатність.

### **MEASURING OF BLOOD CELL ULTRASTRUCTURE IN THE AREA OF THEIR CONTACT WITH ENDOTHELIUM AT CHRONIC DISEASES OF THE VEINS OF LOWER EXTREMITIES**

V. V. BOYKO, V. A. PRASOL, O. F. NEVZOROVA, V. P. NEVZOROV, E. A. RUDENKO

Electron microscopy of the ultrastructure of leucocytes, erythrocytes and platelets was iperformed in the area of unstable blood flow at acute and chronic diseases of the veins of lower extremities. Their increased metabolic state was determined. Disorders of cytoplasmic membrane of the leucocytes promote their fixation on the endothelial surface of the venous wall. Some erythrocytes are destroyed by turbulent blood movement.

*Key words:* blood cell ultrastructure, chronic vein diseases, venous insufficiency.

Поступила 25.03.2013