

Ю. П. Тітова

## Патоморфологічна характеристика впливу пінного склерозанту на венозну стінку при варикозній хворобі

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ

**Ключові слова:** варикозна хвороба, полідоканол, морфологія вени, експерименти на тваринах.

Нині на перший план у лікуванні варикозної хвороби виходять методи інтраопераційної склерооблітерації з використанням внутрішньовенних склерозантів. Питання, що стосуються морфологічних змін, є актуальними та недостатньо вивченими. Мета роботи – охарактеризувати морфологічні зміни у стінках вен у ранньому та віддаленому періоді після введення пінної форми полідоканолу різної концентрації хворим на варикозну хворобу та експериментальним тваринам. Дослідження здійснили з використанням світлової та електронної мікроскопії. Встановили, що використання пінної форми полідоканолу як у людей, так і у щурів впливає на ендотеліальні клітини та спричиняє їх загибель. У судинах судин спостерігали повнокров'я, стаз, тромбоз, а в стінці вени – набряк і діапедезні крововиливи. Показали в експерименті, що у віддалені терміни (через місяць) ін'єкція склерозанту призводить до обтурації судини з розвитком у ній сполучної тканини.

### Патоморфологическая характеристика влияния пенного склерозанта на венозную стенку при варикозной болезни

Ю. П. Титова

Сегодня на первый план в лечении варикозной болезни выходят методы интраоперационной склерооблитерации с использованием внутривенных склерозантов. Вопросы, касающиеся морфологических изменений, – актуальны и недостаточно изучены. Цель работы – охарактеризовать морфологические изменения в стенках вен в раннем и отдаленном периоде после введения пенной формы полидоканола различной концентрации больным с варикозной болезнью и экспериментальным животным. Исследование проводили с использованием световой и электронной микроскопии. Установлено, что использование пенной формы полидоканола как у людей, так и у крыс влияет на эндотелиальные клетки и вызывает их гибель. В сосудах сосудов наблюдали полнокровие, стаз, тромбоз, а в стенке вены – отек и диапедезные кровоизлияния. Показали в эксперименте, что в отдаленные сроки (через месяц) инъекция склерозанта приводит к обтурации сосуда с развитием в ней соединительной ткани.

**Ключевые слова:** варикозное расширение вен, полидоканол, вены, эксперимент на животных.**Патология.** – 2014. – №3 (32). – С. 88–91

### Pathomorphological characteristic of the impact of foam sclerosant on the venous wall in case of varicose disease

Yu. P. Titova

In treatment of varicose disease methods of intraoperative phlebosclerotic obliteration involving injection of sclerosant into vein lumen come to the fore. Issues of morphological changes in venous wall are actual and unstudied.

The aim was to characterize morphological changes in the wall s of veins in the early and distant periods after the injection of foam polidocanol of different concentrations into patients' varicose veins and into veins of experimental animals.

Methods and results. Segments of veins were investigated using the light and electron microscopy. It was confirmed that application of foam polidocanol for 10 minutes both in patients and rats influences endothelium cells and causes their damage. In vasa vasorum we saw hyperemia, stasis, thrombosis and in venous wall oedema and diapedesis of erythrocytes.

Conclusion. We revealed in experiment that in remote period (after 1 month) the injection of sclerosant leads to vessel obstruction with fibrosis.

**Key words:** Varicose Veins, Polidocanol, Veins, Experimentation Animal.**Pathologia.** 2014; №3 (32): 88–91

**В**арикозне розширення вен – серйозна та поширена в Україні та світі патологія, що успішно піддається лікуванню з використанням новітніх технологій [6]. Сьогодні у флебології широко застосовуються малоінвазивні методики лікування: лазерна коагуляція, радіочастотна абляція та склерооблітерація, котрі спрямовані на зниження травматичності операційних втручань та покращення життя пацієнтів. У лікуванні варикозного розширення вен застосовуються внутрішньовенні склерозанти, найбільш поширеними серед них є полідоканол, тетрадецилсульфат натрію. Однак дотепер дискутуються питання ефективності і безпечності кожного з цих методів [7,10]. Публікацій щодо впливу методів хімічного склерозування на структуру судинної стінки при варикозній хворобі поки небагато [1,6]. Не-

достатньо вивчені зміни в vasa vasorum венозних судин під впливом склерозантів, а також морфологічні зміни у венах у віддаленому періоді після їх введення.

#### Мета роботи

Охарактеризувати морфологічні зміни у стінках вен у ранньому та віддаленому періодах після введення пінної форми полідоканолу різної концентрації хворим на варикозну хворобу та експериментальним тваринам.

#### Матеріали і методи дослідження

Морфологічні зміни у стінці вен під впливом пінної форми полідоканолу різної концентрації досліджені у 90 хворих на варикозну хворобу та у 99 експериментальних нелінійних білих щурів. Шматочки варикозно розширених підшкірних вен стегна отримували від пацієнтів під час операції склерохірургічного лікування варикозної

хвороби нижніх кінцівок до введення пінної форми полідоканолу 2%, 3% та 5% концентрації та через 10 хвилин після завершення введення цього склерозанту. В експерименті на білих щурах вивчали морфологічні зміни у хвостовій вені через 10 хвилин, 5 днів та через 1 місяць після введення в цю вену 0,5 мл пінної форми 0,5%, 2%, 3% і 5% полідоканолу. Шматочки вилучених вен фіксували у 10% нейтральному формаліні та вміщували в парафін. Мікропрепарати, що виготовили на мікротомі, забарвлювали гематоксиліном та еозином, за Вейгертом, ван Гізоном, за Хейлом. Здійснили PAS-реакцію, використовували комбіноване забарвлення MSB (Martius Scarlet Blue) в модифікації Д.Д. Зербіно та Л.Л. Лукасевича (1984). Мікроскопічні зміни аналізували на мікроскопі «Carl Zeiss» (ФРН) при збільшенні об'єктива  $\times 5$ ,  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ , біокулярної насадки  $\times 1,5$  та окулярів  $\times 10$ . Для електронної мікроскопії брали по одному шматочку з кожної групи. Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю. Препарати вивчали та фотографували під електронним мікроскопом JEM 100 CX (Японія) за прискорювальної напруги 50–60 кВ.

#### Результати та їх обговорення

Патоморфологічні дослідження показали: при варикозній хворобі атрофічно-гіпертрофічні зміни у стінках вен поєднуються зі склеротичними змінами. Інтима та м'язовий шар стінки варикозно розширених вен нерівномірної товщини внаслідок нерівномірного розвитку сполучної тканини. Внутрішня оболонка розширених вен є гладенькою або утворює вирости. Уся стінка вен або стоншена, або значно потовщена. Під ендотелієм визначається вогнищевий або дифузний фіброз, внутрішня еластична мембрана або потоншена і розщеплена, або потовщена. У м'язовій оболонці варикозно зміненої вени вогнища гіпертрофії одних міоцитів поєднуються з вогнищами атрофії інших скоротливих м'язових та еластичних елементів. У зовнішній оболонці вен також спостерігається розростання сполучної тканини. Аналогічні зміни у варикозно розширених венах описують інші дослідники [2], які вказують, що при магістральній формі варикозної хвороби у венозній стінці стовбурових вен переважають явища склерозу та дегенерації м'язово-еластичних елементів. За даними Н.І. Напалкова [5], такі зміни згодом переходять в атрофію, яка розвивається внаслідок венозного стазу та тривалої некомпенсованої гіпоксії, а також внаслідок недостатньої для гіпертрофованої стінки вени трофічної функції наявних у ній мікросудин.

Дослідження [3,4] показали, що в ранньому періоді після введення у варикозно розширену вену хворих на ВХ пінної форми 2%, 3% і 5% полідоканолу відбувається руйнування ендотелію. У внутрішній оболонці інтими вени в її субендотеліальних структурах визначили набряк і дистрофічні зміни сполучнотканинних волокон, у середній оболонці вени – набряк, місцями внутрішня

оболонка стінки вени відділяється від її середньої оболонки. Коагуляційний некроз м'язових волокон або фібриноідний некроз колагенових волокон у середній та зовнішній оболонках не розвивається. За даними електронної мікроскопії, у експериментальних білих щурів через 10 хвилин після введення 0,5 мл пінного 2%, 3% та 5% полідоканолу визначили часткове руйнування ендотелію та базальної мембрани вени, набряк волокнистих структур та вогнища руйнування клітинних елементів середньої оболонки вени. Деструктивні зміни підшкірної вени після введення 3% полідоканолу виявили лише в інтимі і не визначили в середній оболонці вени. В отворі вени спостерігали внутрішньовенні еритроцитарні агрегати, пристінкові тромби з наявністю в їх складі гемолізованих еритроцитів і клітинного детриту. Дистрофічні зміни ендотеліальних клітин та їхню десквамацію в отвір судин, набряк венозної стінки спостерігали як у експериментальних тварин, так і в людей. Гістохімічними дослідженнями довели [3], що після введення у вену склерозанту різної концентрації дистрофічні зміни ендотеліоцитів вен супроводжувались збільшенням кількості глікозаміногліканів в інтимі та утворенням фібрину.

Як показали дослідження, введення пінного полідоканолу викликає у хворих на ВХ значне повнокров'я *vasa vasorum* вени, стаз крові, а в деяких випадках – їх тромбоз. Унаслідок підвищення проникності стінок *vasa vasorum* відзначається набряк венозної стінки та дрібні діapedезні крововиливи.

Вивченню змін судинної стінки під впливом склерозантів значну увагу приділили й інші дослідники. В.І. McAree et al. [7] в моделі *in vitro* визначили, що через 5 хвилин після впливу 3% полідоканолу втрачається в середньому 63,5% ендотеліальних клітин, через 15 хвилин – 85,9% ендотеліоцитів. Інші автори [8] при дії склерозантів різних концентрацій спостерігали набряк ендотеліальних клітин, потовщення інтими, вакуолізацію клітин м'язового шару, набряк у середній оболонці вени. А.Г. Хитар'ян та співавт. [1] через одну годину після введення 3% склерозанту відзначили десквамацію ендотелію, наявність фібрину та геморагічні зміни вени; збільшення об'єму склерозанту не підсилювало зміни судинного ендотелію. Бойко В.В. та співавт. [6] після внутрішньовенної склеротерапії протягом мікроскопії виявили у венах гомогенну, еозинофільну склерозуючу речовину з домішками крові та ендотелію, виражений набряк і некроз ендотелію, набряк м'язового шару судин і десквамацію пластів ендотелію.

В експерименті на білих щурах встановили, що склерозування отвору вени при дії пінного полідоканолу йде через тромбоутворення, яке запускається при руйнуванні ендотеліальних клітин під впливом склерозуючої речовини (рис. 1).

При застосуванні пінного полідоканолу як низької (0,5%), так і високої (2%, 3%) концентрації через п'ять днів в експериментальних тварин спостерігали тромбоз венозних судин. Група австралійських вчених під

керівництвом К. Parsi (2007, 2008, 2009) визначила, що високі концентрації тетрадецилсульфату натрію і полідоканолу викликають *in vitro* гемоліз крові та руйнування тромбоцитів, ендотеліоцитів, а низькі концентрації діють як прокоагулянти. У наступних роботах [9] вони встановили, що полідоканол викликає незначне зниження рівня протеїну С та антитромбіну III, а також помірне зниження протеїну S, чим чинить незначну прокоагулянтну дію.

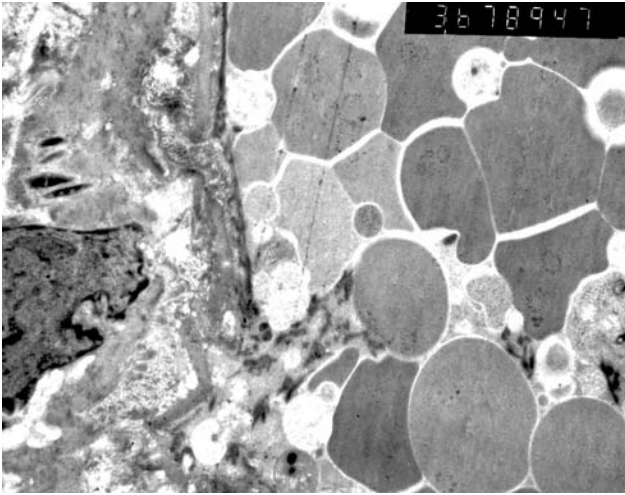


Рис. 1. Деендотелізована ділянка вени з утворенням пристінкового тромбу у просвіті вени через 10 хв після введення 2% розчину склерозуючого препарату. Гемоліз еритроцитів. Збільшення  $\times 3600$ .

У віддаленому періоді після введення склерозанту у хворих на ВХ у тромбах спостерігали розвиток сполучної тканини та облітерацію отвору вени, тобто розвивається так звана склерооблітерація венозних судин. Розвиток сполучної тканини на місці тромбу з наявністю колагенових волокон типової будови в отворі цих судин підтверджують також дані електронної мікроскопії венозної судини експериментальних тварин через один місяць (рис. 2).

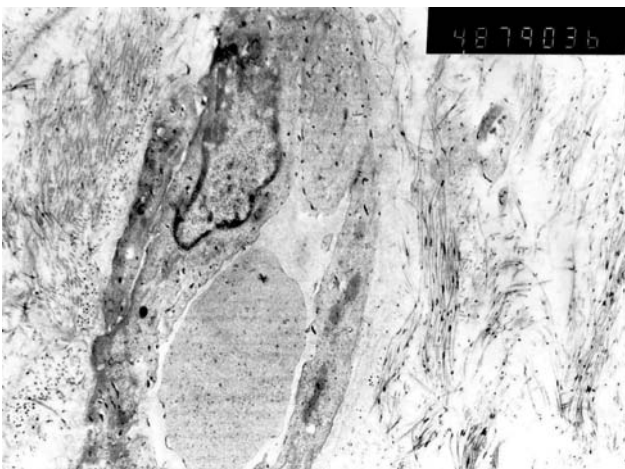


Рис. 2. Розростання колагенових волокон на місці просвіту вени через один місяць після введення 2% розчину склерозуючого препарату. Просвіт новоствореної гемомікросудини. Збільшення  $\times 4800$ .

В експериментальних дослідженнях визначили, що при застосуванні 0,5% полідоканолу процес склерозування триває в межах отвору судини і не поширюється на суміжні тканини. Після внутрішньовенного введення 2% та 3% полідоканолу в експериментальних щурів склероз охоплює всю стінку вени та перивенозну сполучну тканину. У сполучній тканині, що сформувалась на місці вени, спостерігали відкладення гемосидерину.

У морфологічних та експериментальних роботах значна увага приділяється вивченню ускладнень склерооблітерації [7, 9], серед них найбільш тяжкими та загрозливими вважаються некрози шкіри або судинної стінки вен чи артерій. Під час експериментальних досліджень на білих щурах встановили, що при внутрішньовенному введенні 0,5 мл 0,5% полідоканолу в пінній формі в жодній з піддослідних тварин не виникли некрози шкіри. При застосуванні 2% та 3% полідоканолу поширені некрози шкіри зареєстрували в 1 (9%) та 2 (18%) тварин відповідно. Некроз шкіри спочатку виникав у точці ін'єкції монофокально, а потім мав тенденцію до поширення, що можна пояснити технічними огріхами введення препарату з пошкодженням артеріальних судин, відсутністю компресійної терапії, а також тим, що 2% та 3% полідоканол є концентрацією, котра перевищує рекомендовані норми для судин надто малого діаметра, якими є хвостові вени щурів. В експерименті на щурах S. Schuller-Petrovic et al. [10] також встановили, що пінна форма склерозантів різних концентрацій дає менший ризик виникнення некрозів у порівнянні з рідинною формою склерозанту, зокрема 1% рідинний полідоканол спричиняв очевидні некрози, а 2% пінний полідоканол викликав мінімальні зміни у венах [10].

При склерозуванні однієї з латеральних хвостових вен щура через один місяць спостерігали облітерацію отвору не тільки судини, що безпосередньо піддавалась впливу склерозанту, а і в латеральній вені з протилежного боку. Це можна пояснити наявністю анастомозів між венозними судинами. Характер морфологічних змін у цій судині був аналогічним із відкладенням гемосидерину в зоні склерозування.

#### Висновки

1. Пінна форма полідоканолу незалежно від його концентрації як у людей, так і в експериментальних тварин у гострому періоді після введення у вену індукує прямий некроз ендотеліоцитів, збільшення проникності *vasa vasorum*, дистрофічні зміни інтими вени та ініціює процес тромбоутворення в її отворі.

2. Через п'ять днів після введення полідоканолу в пінній формі морфологічна картина судини характеризується наявністю тромбу у просвіті вени.

3. У віддаленому періоді через місяць на місці тромбу формується сполучна тканина й отвір венозної судини облітерується, що в експерименті підтверджується світловою та електронною мікроскопією.

4. В експерименті полідоканол викликає облітерацію венозної судини, що пов'язана анастомозами з веною, яка безпосередньо підлягала склерозуванню.

### Список літератури

1. Безопасность foam-form склеротерапии – экспериментально-патоморфологическое исследование / А.Г. Хитарьян, Д.А. Гусарев, К.С. Велиев и др. // Флебология. – 2012. – №2. – С. 63.
2. Гнатюк М.С. Ремоделивання поверхневої венозної системи при різних формах варикозної хвороби нижніх кінцівок / М.С. Гнатюк, І.Я. Зима // Шпитальна хірургія. – 2011. – №1. – С. 9–12.
3. Морфологічна характеристика змін, спричинених дією пінної форми полідоканолу в експерименті / І.В. Іркін, Ю.П. Тітова, Ю.І. Бондаренко та ін. // Хірургія України. – 2014. – № 3. – С. 89–94.
4. Морфологічні зміни в стінці вени при мікропінній склеротерапії варикозної хвороби / І.В. Іркін, В.А. Ходос, В.І. Заріцька, Ю.П. Тітова // Патологія. – 2012. – №2. – С. 79–83.
5. Напалков Н.И. Лечение варикозных расширений вен нижних конечностей / Н.И. Напалков // Флебология. – 2009. – № 4. – С. 63–71.
6. Сравнительная морфологическая характеристика компонентов стенки варикозных вен после проведения склеротерапии и эндоваскулярной лазерной коагуляции / В.В. Бойко, В.А. Прасол, Е.А. Руденко, Н.А. Ремнёва // Харківська хірургічна школа. – 2013. – №4(61). – С. 33–37.
7. Comparative stability of sodium tetradecyl sulphate (STD) and polidocanol foam: impact on vein damage in an in-vitro model / B.J. McAree, A. Ikponmwosa, K. Brockbank et al. // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. – 2012. – Vol. 43. – №6. – P. 721–725.
8. Evaluation of the minimum effective concentration of foam sclerosant in an ex-vivo study / A. Erkin, K. Kosemehmetoglu, M.S. Diler, C. Koksall // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. – 2012. – Vol. 44. – №6. – P. 593–597.
9. In vitro effects of detergent sclerosants on antithrombotic mechanisms / K. Parsi, T. Exner, J. Low et al. // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. – 2009. – Vol. 38. – №2. – P. 220–228.
10. Subcutaneous injection of liquid and foamed polidocanol: extravasation is not responsible for skin necrosis during reticular and spider vein sclerotherapy / S. Schuller-Petrovic, M.D. Pavlovic, N. Neuhold et al. // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. – 2011. – Vol. 25. – №8. – P. 983–986.
1. Khitar'yan, A. H., Gusarev, D. A., Veliev, K. S., Ledenev, A. A., & Mazur, D. V. (2012) Bezopasnost' foam-form skleroterapii – e'ksperimental'no-patomorfologicheskoe issledovanie [The safety of foam-form sclerotherapy – experimental-pathomorphological study]. *Flebologija*, 2, 63. [in Russian].
2. Hnatiuk, M. S., & Zyma, I. Ya. (2011). Remodeliuvannia poverkhnevoi venoznoi systemy pry riznykh formakh varykoznoi khvoroby nyzhnikh kintsivok [Remodelling of superficial venous system at different forms of varicose illness of lower extremities]. *Shpytalna khirurgiia*, 1, 9–12. [in Ukrainian].
3. Irkin, I. V., Titova, Yu. P., Bondarenko, Yu. I., Palamarchuk, V. I., & Zaritska, V. I. (2014). Morfolohichna kharakterystyka zmin, sprychynenykh diieiu pinnoi formy polidokanolu v eksperymenti [Morphological characteristics of changes caused by foam-form polidocanol under experiment]. *Khirurgiia Ukrainy*, 3, 89–94. [in Ukrainian].
4. Irkin, I. V., Khodos, V. A., Zaritska, V. I., & Titova, Yu. P. (2012) Morfolohichni zminy v stynsi veny pry mikropinnyi sklerokhirurhii varykoznoi khvoroby [Morphological changes in venous walls caused by microfoam sclerotic surgery of varicosity]. *Patolohiia*, 2, 79–83. [in Ukrainian].
5. Napalkov, N. I. (2009). Lechenie varikoznykh rasshirenij ven nizhnikh konechnostej [The treatment of varicose veins of the lower extremities]. *Flebologhiia*, 4, 63–71. [in Russian].
6. Bojko, V. V., Prasol, V. A., Rudenko, E. A., & Remnyova, N. A. (2013). Sravnitel'naya morfologicheskaya kharakteristika komponentov stenki varikoznykh ven posle provedeniya skleroterapii i e'ndovaskulyarnoj lazernoj koagulyacii [Comparative morphological characteristics of components of the varicose veins walls after sclerotherapy and endovascular laser treatment]. *Kharkivska khirurgichna shkola*, 4(61), 33–37. [in Ukrainian].
7. McAree, B. J., Ikponmwosa, A., Brockbank, K., Abbot, C., Homer-Vanniasinkam, S., & Gough, M. J. (2012). Comparative stability of sodium tetradecyl sulphate (STD) and polidocanol foam: impact on vein damage in an in-vitro model. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 43(6), 721–725. doi: 10.1016/j.ejvs.2012.02.026.
8. Erkin, A., Kosemehmetoglu, K., Diler, M. S., & Koksall, C. (2012). Evaluation of the minimum effective concentration of foam sclerosant in an ex-vivo study. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 44(6), 593–597. doi: 10.1016/j.ejvs.2012.09.021.
9. Parsi, K., Exne, T., Low, J., Ma, D. D., & Joseph, J. E. (2009). In vitro effects of detergent sclerosants on antithrombotic mechanisms. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 38 (2), 220–228. doi: 10.1016/j.ejvs.2009.03.026.
10. Schuller-Petrovic, S., Pavlovic, M. D., Neuhold, N., Brunner, F., & Wilkart, G. (2011). Subcutaneous injection of liquid and foamed polidocanol: extravasation is not responsible for skin necrosis during reticular and spider vein sclerotherapy. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 25(8), 983–986. doi: 10.1111/j.1468-3083.2010.03873.x.

### Відомості про автора:

Тітова Ю.П., аспірант каф. патологічної та топографічної анатомії, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, E-mail: titova.yu@yandex.ua.

Надійшла в редакцію 27.11. 2014 р.