

Иммуногистохимическое обоснование общности патогенеза варикозной трансформации вен при варикоцеле и варикозном расширении вен нижних конечностей

Л.О. Севергина¹, В.В. Студенникова¹, Л.М. Рапопорт², И. А. Коровин¹, Д.О. Королев²

¹Институт клинической морфологии и цифровой патологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

²Институт урологии и репродуктивного здоровья человека ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119992 Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 1

Контакты: Валентина Владимировна Студенникова studennikova_v_v@staff.sechenov.ru

Введение. Варикоцеле, а также варикозное расширение вен нижних конечностей достаточно широко распространены. На сегодняшний день механизмы варикозной трансформации остаются не до конца ясными.

Цель исследования – изучение иммуногистохимического профиля для обоснования общности патогенеза варикозной трансформации вен при варикоцеле и варикозной болезни вен нижних конечностей; подтверждение ключевой роли синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани в развитии данных заболеваний.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили фрагменты стенок вен от 24 пациентов мужского пола в возрасте 6–35 лет, которые были разделены на соответствующие группы: 1-я группа – 12 пациентов с варикоцеле, 2-я группа – 12 пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей. Группа контроля – 5 практически здоровых мужчин (возраст – 16–32 года). Иммуногистохимическое исследование проведено с моноклональными антителами к коллагену III, IV типов, α -SMA, фибронектину, ламинину, MMP-2, MMP-9, TGF- β 1.

Результаты и обсуждение. При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании биоптатов стенок вен в обеих группах сравнения выявлены схожие морфологические изменения, отличающиеся от таковых в группе контроля. При оценке уровня экспрессии α -SMA в обеих группах исследования отмечены выраженная экспрессия в пучках гипертрофированных гладкомышечных клеток (в зоне утолщения стенок, где фиброз выражен минимально) и слабая экспрессия в пучках гладкомышечных клеток, «замурованных» в соединительнотканые муфты. Коллаген III типа демонстрировал слабую экспрессию в субинтимальной зоне и между пучками поверхностно расположенных гладкомышечных клеток в обеих группах исследования. В участках утолщения стенок и гипертрофии гладкомышечных клеток выявлена экспрессия коллагена IV типа. В обеих группах исследования наблюдалась выраженная экспрессия фибронектина в наиболее измененных участках стенок вен, особенно в среднем слое, вокруг пучков гладкомышечных клеток. Отмечены выраженная экспрессия MMP-2 во всех слоях стенки и суперэкспрессия MMP-9 в участках истончений стенки (в субинтимальной зоне и мышечном слое). Также выявлена суперэкспрессия TGF- β 1 в биоптатах вен пациентов обеих групп, преимущественно в участках истончения и выраженно-го межмышечного фиброза.

Заключение. С учетом схожести иммуногистохимических проявлений в стенках вен при варикоцеле и варикозной болезни вен нижних конечностей можно говорить о единых морфогенетических механизмах их ремоделирования. Таким образом, мы считаем возможным объединение различных форм варикоза в одно заболевание – болезнь варикозно расширенных вен.

Ключевые слова: иммуногистохимическое исследование, варикоцеле, варикозное расширение вен нижних конечностей, синдром недифференцированной дисплазии соединительной ткани

Для цитирования: Севергина Л.О., Студенникова В.В., Рапопорт Л.М. и др. Иммуногистохимическое обоснование общности патогенеза варикозной трансформации вен при варикоцеле и варикозном расширении вен нижних конечностей. Андрология и генитальная хирургия 2023;24(2):77–84. DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-2-77-84

Immunohistochemical basing of the pathogenesis equality of varicose vein transformation in varicocele and varicose veins of the lower extremities

L.O. Severgina¹, V.V. Studennikova¹, L.M. Rapoport², I.A. Korovin¹, D.O. Korolev²

¹Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Bld. 8, 2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia;

²Institute of Urology and Human Reproductive Health of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Bld. 1, 2 Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow 119992, Russia

Contacts: Valentina Vladimirovna Studennikova studennikova_v_v@staff.sechenov.ru

Background. Varicocele as well as varicose veins of the lower extremities are quite widespread. To date, the mechanisms of variceal transformation remain not completely clear.

Aim. To study the immunohistochemical profile in order to substantiate the common pathogenesis of varicose veins transformation in varicocele and varicose veins of the lower limbs; to confirm the key role of undifferentiated connective tissue dysplasia syndrome in the development of these diseases.

Materials and methods. Vein wall fragments from 24 male patients aged 6–35 years old divided into the corresponding groups: group 1–12 patients with varicocele, group 2–12 patients with varicose veins of the lower limbs. Control group – 5 practically healthy men (age 16–32 years). Immunohistochemical study was performed with monoclonal antibodies to collagen types III, IV, α -SMA, fibronectin, laminin, MMP-2 and MMP-9, TGF- β 1.

Results and discussion. Histological and immunohistochemical studies of vein wall biopsy specimens in both groups revealed similar morphological changes, different from the control group. When assessing the expression level of α -SMA in both study groups, there was marked expression in the bundles of hypertrophic smooth muscle cells (in the zone of wall thickening where fibrosis was minimal) and weak expression in the bundles of smooth muscle cells “enmeshed” in connective tissue sleeves. Collagen type III showed weak expression in the subintimal zone and between the bundles of superficially located smooth muscle cells in both study groups. Expression of type IV collagen was detected in the areas of wall thickening and hypertrophy of smooth muscle cells. In both groups there was a pronounced expression of fibronectin in the most altered sections of the vein walls, especially in the middle layer, around the bundles of smooth muscle cells. There was marked expression of MMP-2 in all layers of the wall, and overexpression of MMP-9 in the areas of wall thinning (in the subintimal zone and muscular layer). TGF- β 1 overexpression was also detected in vein biopsy specimens from both groups, predominantly in areas of thinning and pronounced intermuscular fibrosis.

Conclusion. Taking into account the similarity of immunohistochemical manifestations in the vein walls in varicocele and varicose veins of the lower limbs we can speak about the common morphogenetic mechanisms of their remodeling. Thus, we consider it possible to combine various forms of varicosity into a single disease – varicose vein disease.

Keywords: immunohistochemistry, varicocele, varicose veins of the lower extremities, syndrome of undifferentiated connective tissue dysplasia

For citation: Severgina L.O., Studennikova V.V., Rapoport L.M. et al. Immunohistochemical basing of the pathogenesis equality of varicose vein transformation in varicocele and varicose veins of the lower extremities. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = *Andrology and Genital Surgery* 2023;24(2):77–84. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-2-77-84

Введение

Варикозная трансформация вен – типичное проявление варикоцеле (ВЦ), а также варикозного расширения вен нижних конечностей (ВРВНК). Следует подчеркнуть, что оба эти заболевания достаточно широко распространены.

Заболеваемость ВЦ в общей популяции достигает 15 %, при этом его наиболее значимым и неблагоприятным последствием является нарушение фертильности – вплоть до развития бесплодия. В настоящее время проблема мужского бесплодия является довольно острой. Распространенность ВЦ резко возрастает у пациентов в период полового созревания и значительно увеличивается у взрослых мужчин. Среди пациентов, страдающих первичным бесплодием, частота встречаемости ВЦ достигает 35 %, а у мужчин с вторичным бесплодием – 81 % [1, 2].

Известно, что при наличии выраженных проявлений ВРВНК может привести к инвалидизации, а при их критической выраженности – даже к потере трудоспособности. В целом в Российской Федерации ВРВНК наблюдается у 10–20 % мужчин, при этом разброс частоты встречаемости зависит от ряда факторов: региона проживания, возраста, профессии и др. [3]. В связи с этим особенно интересным представляется изучение механизмов варикозной трансформации вен именно у молодых людей, что позволит исключить развитие ее вторичных форм.

Несмотря на большое число публикаций, на сегодняшний день остается достаточно много вопросов о механизмах варикозной трансформации. За последние 10–15 лет появилось много работ, в которых исследователи связывают развитие ВЦ, а также ВРВНК с наследственной предрасположенностью. Соответственно,

особый интерес представляет системное нарушение соединительной ткани — ее закладки в период эмбрионального развития, а также последующего созревания, поскольку ее компоненты являются основой каркаса сосудистой стенки. В связи с этим следует остановиться на роли синдрома дисплазии соединительной ткани, а именно его недифференцированной формы, в развитии данной патологии. Так, согласно общепринятой классификации Т.И. Кадуриной, ВЦ и ВРВНК рассматриваются как фенотипические признаки синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ). Данные заболевания отнесены к его так называемым «малым феномам» [4, 5].

Рассматривая генетически детерминированные, т.е. первичные механизмы варикозного расширения вен любой локализации, следует обратить внимание на их однотипность. Ряд авторов связывают причину развития варикоза любой локализации с дезорганизацией соединительнотканного каркаса стенок вен, что указывает на генетическую обусловленность процесса [6]. Данная концепция нашла свое подтверждение в проведенном нами ранее исследовании, которое было посвящено ультраструктурному анализу стенок варикозно расширенных вен при ВЦ и ВРВНК. Вне зависимости от локализации изменения в стенках вен имели однотипный характер. Нами отмечены феномен «структурного хаоса» в виде беспорядочного расположения как отдельных коллагеновых волокон, так и их пучков в стенках вен, а также участки их разрыхления, т.е. дезорганизации соединительной ткани. Кроме того, выявлены значительные ультраструктурные изменения гладкомышечных клеток (ГМК): вариативность толщины (как отдельных клеток, так и их пучков), появление между ними пучков коллагеновых волокон различной толщины [5]. Стереотипность ультраструктурных изменений подтверждает концепцию единых механизмов варикозной трансформации вен различной локализации.

Цель исследования — изучение иммуногистохимического профиля для обоснования общности патогенеза первичной варикозной трансформации вен при ВЦ и ВРВНК, а также подтверждение значимости синдрома НДСТ в развитии данных заболеваний.

Материалы и методы

Изучены фрагменты стенок вен (биопсийный материал), полученные от 24 пациентов мужского пола — детей, подростков и молодых мужчин, страдающих ВЦ и ВРВНК. Возраст больных варьировал от 6 до 35 лет. Следует особо подчеркнуть, что в исследование были включены только пациенты мужского пола, что позволяет обеспечить максимальную достоверность в интерпретации результатов: сравнение изменений стенок вен при ВЦ и ВРВНК. Кроме того, общеизвестно, что важнейшим триггером развития ВРВНК у молодых

женщин является беременность. Молодой возраст пациентов (I возрастная группа по классификации Всемирной организации здравоохранения) являлся своеобразной гарантией «первичности» варикозной трансформации (помимо этого, у всех молодых мужчин, страдающих ВРВНК, был собран расширенный анамнез). Критериями исключения были особенности профессии (длительное стояние на ногах, поднятие тяжестей), а также избыточные физические нагрузки (например, во время интенсивных занятий спортом), что могло спровоцировать «вторичную» варикозную трансформацию вен.

Пациенты были разделены на 2 группы.

В 1-ю группу сравнения вошли 12 пациентов с левосторонним ВЦ, в том числе:

- 5 пациентов в возрасте 6–14 лет, находившиеся на лечении в отделении урологии и плановой хирургии ГБУЗ г. Москвы «Детская городская клиническая больница № 13 им. Н.Ф. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы»;
- 7 пациентов в возрасте 16–35 лет, поступившие во 2-е урологическое отделение Института урологии и репродуктивного здоровья человека ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Все пациенты 1-й группы имели II и III степень выраженности заболевания по классификации L. Dubin. Всем детям и пациентам младшего подросткового возраста выполнена лапароскопическая перевязка яичковых вен слева с сохранением путей лимфооттока с интраоперационным иссечением фрагмента вены. Всем пациентам старшего подросткового возраста и взрослым мужчинам было выполнено микрохирургическое вмешательство — операция Мармара.

Во 2-ю группу сравнения были включены 12 пациентов с диагнозом ВРВНК:

- 4 пациента в возрасте 5–15 лет, проходившие лечение в отделении микрохирургии № 2 Российской детской клинической больницы ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;
- 8 пациентов в возрасте 16–35 лет, поступившие в отделение кардиохирургии Университетской клинической больницы № 1 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет).

Пациенты 2-й группы также имели II и III степени выраженности заболевания по классификации хронической венозной недостаточности, предложенной В.С. Савельевым. Всем детям и пациентам младшего подросткового возраста была проведена минифлебэктомия по Варади. Всем пациентам старшего подросткового возраста и взрослым мужчинам выполнена комбинированная флебэктомия — операция Нарата.

Всем пациентам в группах сравнения диагноз был поставлен лечащим врачом на основании характерных жалоб, данных анамнеза, объективного осмотра и подтвержден результатами дуплексного сканирования вен.

В качестве контрольных образцов использованы фрагменты стенок вен (аутопсийный материал) от 5 практически здоровых мужчин в возрасте от 16 до 32 лет (группа контроля). Забор материала проводился в ГБУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения города Москвы». У каждого погибшего (несчастные случаи) были взяты фрагменты двух типов вен: левой яичковой вены (контроль ВЦ) и поверхностной вены голени (контроль ВРВНК). Все вскрытия выполнялись в 1-е сутки от момента смерти.

Для проведения гистологического исследования полученные фрагменты стенок вен фиксировали в нейтральном забуференном формалине (10 %), выполнялась стандартная аппаратная проводка с последующей парафиновой заливкой и подготовкой серийных срезов. Материал изучен на светооптическом уровне с использованием окраски гематоксилином и эозином. Гистохимический метод включал окраску пикрофуксин-ом по Ван-Гизону, трихромом по Массону. Иммуногистохимическое исследование проведено с помощью стандартного стрептавидин-биотин-пероксидазного метода с качественным определением интенсивности реакции с моноклональными антителами к коллагену III, IV типов, α -гладкомышечному актину (α -SMA), фибронектину, ламинину, матриксным металлопротеиназам (MMP) 2-го и 9-го типов (MMP-2, MMP-9), трансформирующему фактору роста β 1 (TGF- β 1). Интенсивность реакции была оценена как суперэкспрессия (+++), выраженная экспрессия (++) , слабая/незначительная экспрессия (+) и отрицательная (—).

Всего исследовано 34 фрагмента стенок вен: 12 — ВЦ, 12 — ВРВНК, 5 — контроль ВЦ, 5 — контроль ВРВНК.

Учитывая, что размеры вен (диаметр просвета и толщина стенок) при ВЦ и ВРВНК значительно различаются, именно иммуногистохимическое исследование, которое позволяет провести оценку и анализ качественных параметров в виде уровня экспрессии, является максимально достоверным при выполнении сравнительного анализа.

Результаты и обсуждение

При гистологическом и иммуногистохимическом исследовании биоптатов стенок вен в обеих группах сравнения (у детей, подростков младшего и старшего возраста и у взрослых мужчин) выявлены схожие характерные морфологические изменения, отличающиеся от данных группы контроля.

Так, у пациентов с ВЦ и ВРВНК стенки вен имели неравномерную толщину и структуру — вплоть до их критического истончения. В утолщенных участках стенок выявлена неравномерная гипертрофия ГМК,

чередующаяся с фокусами атрофии и/или уменьшения количества клеток — данные изменения затрагивали преимущественно средний слой мышечной оболочки с циркулярным расположением ГМК. Кроме того, в мышечном слое стенок отмечено разрастание соединительной ткани разной степени выраженности, вплоть до образования соединительнотканых муфт как вокруг пучков ГМК, так и отдельных клеток (в истонченных участках стенки), что четко прослеживается при применении селективных окрасок. Перечисленные изменения строения стенок вен (ремоделирование) мы рассматриваем как проявления компенсаторно-адаптивных процессов, вызванных повышением гидростатического давления венозной крови; в качестве фона для развития данных изменений можно рассматривать дезорганизацию компонентов основного вещества соединительной ткани в рамках синдрома НДСТ.

Для более детального изучения «неполноценности» соединительнотканного каркаса стенок вен и подтверждения роли дисплазии соединительной ткани в развитии их варикозной трансформации нами проведено иммуногистохимическое исследование, которое позволило уточнить некоторые морфологические изменения, полученные при исследовании биоптатов стенок вен на светооптическом уровне (рис. 1–6).

При оценке состояния мышечного слоя стенок обращает на себя внимание схожесть уровня экспрессии α -SMA при ВЦ и ВРВНК как в зоне истончения стенок вен, так и в участках их утолщения. Так, отмечена выраженная экспрессия α -SMA в пучках гипертрофированных ГМК (в зоне утолщения стенок), где фиброз выражен минимально; слабая экспрессия (+) выявлена в пучках ГМК, «замурованных» в соединительнотканых муфтах, где мышечный слой нечеткий (см. рис. 1), с признаками гомогенизации пучков и имеет прерывистый характер: данные изменения обнаружены в биоптатах пациентов с III степенью ВЦ и ВРВНК. Снижение уровня экспрессии α -SMA объясняется сменой статуса ГМК — переход от состояния так называемого «покоя» (контрактивный статус) в состояние продуктивной активности (синтетический статус) с усилением выработки коллагена I и III типов. Интересен тот факт, что, находясь в своем «активном» статусе, ГМК способны синтезировать ингибиторы протеаз, что замедляет деградацию вновь синтезированных коллагеновых волокон и усугубляет фибротический процесс, т. е. приводит к несостоятельности стенок вен [7, 8]. Данный феномен можно рассматривать как своеобразный процесс «самоубийства» ГМК, который запускает порочный круг — вследствие нарастания склеротических процессов в стенках вен происходят атрофия, дегенеративные изменения и тотальная потеря ГМК, что в финале неизбежно приводит к несостоятельности мышечного каркаса сосудистой стенки,

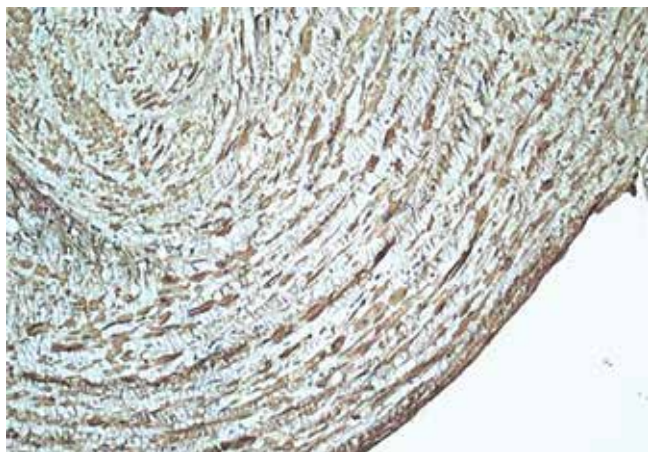


Рис. 1. Иммуногистохимическое исследование. Варикоцеле III степени. Экспрессия α-SMA мозаичного характера: нечеткий мышечный слой, прерывистость пучков гладкомышечных клеток. ×200

Fig. 1. Immunohistochemistry. Varicocele, III stage. Mosaic expression of α-SMA: indistinct muscular layer, discontinuity of the bundles of smooth muscle cells. ×200

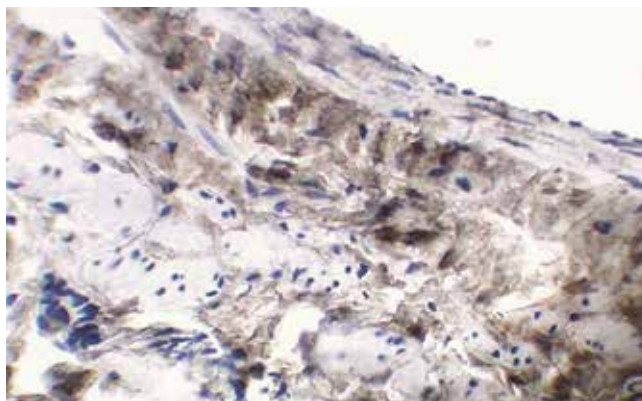


Рис. 2. Иммуногистохимическое исследование. Варикоцеле III степени. Слабая экспрессия коллагена III типа в субинтимальном пространстве и между пучками поверхностно расположенных гладкомышечных клеток. ×400

Fig. 2. Immunohistochemistry. Varicocele, III stage. Low expression of collagen III in subintimal zone and between the superficial bundles of smooth muscle cells. ×400

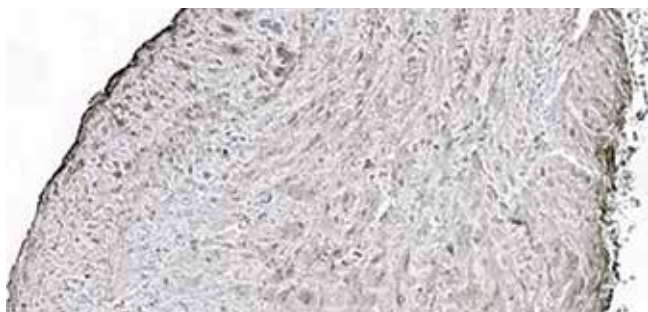


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование. Варикоцеле II степени. Выраженная экспрессия коллагена IV типа в субинтимальном пространстве и вокруг пучков гладкомышечных клеток. ×200

Fig. 3. Immunohistochemistry. Varicocele, II stage. Superexpression of collagen IV in subintimal zone and between the bundles of smooth muscle cells. ×200



Рис. 4. Иммуногистохимическое исследование. Варикоцеле III степени. Выраженная экспрессия фибронектина вокруг пучков гладкомышечных клеток. ×200

Fig. 4. Immunohistochemistry. Varicocele, III stage. Marked expression of fibronectin between the bundles of smooth muscle cells. ×200

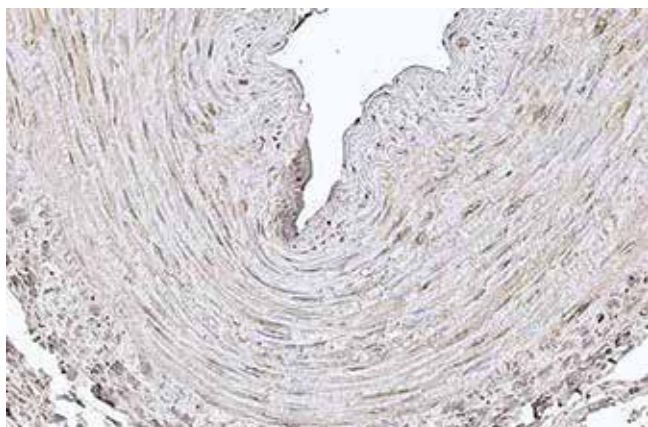


Рис. 5. Иммуногистохимическое исследование. Варикоцеле II степени. Выраженная экспрессия MMP-2 между пучками гладкомышечных клеток. ×200

Fig. 5. Immunohistochemistry. Varicocele, II stage. Marked expression of MMP-2 between the bundles of smooth muscle cells. ×200

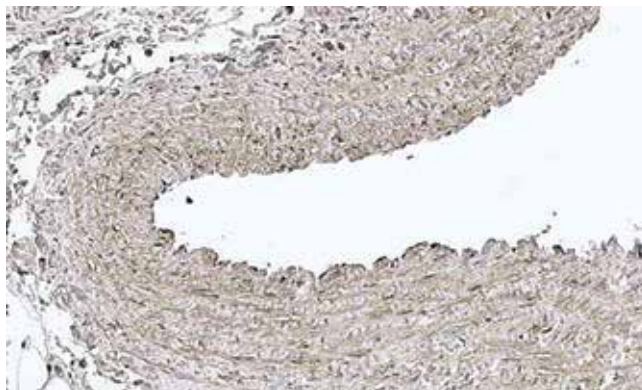


Рис. 6. Иммуногистохимическое исследование. Варикоцеле III степени. Суперэкспрессия MMP-9 в субинтимальном пространстве, в мышечном слое в зоне истончения стенки. ×200

Fig. 6. Immunohistochemistry. Varicocele, III stage. Superexpression of MMP-9 in subintimal zone and within the muscular layer in wall thinning area. ×200

слабости стенки и дилатации просвета. Можно утверждать, что избыточная синтетическая активность ГМК всегда ассоциирована с ригидностью стенок вен за счет утраты полноценного и «компетентного» мышечного слоя, способного противостоять гидростатическому давлению — данный процесс лежит в основе варикозной трансформации вен. В более сохранных участках стенок (биоптаты пациентов со II степенью ВЦ и ВРВНК), где имеет место относительная сохранность слоев мышечного каркаса стенки, а также гипертрофия пучков ГМК, отмечена суперэкспрессия α -SMA (+++), что отражает их классический контрактильный фенотип.

Как известно, при варикозной трансформации вен всегда нарушается баланс между активацией и ингибированием синтеза протеаз, что приводит к относительно быстрому синтезу и столь же быстрой деградации коллагеновых волокон. «Оборот» коллагеновых волокон играет ключевую роль в обеспечении состоятельности стенок вен. Одним из основных типов коллагена сосудистой стенки является III тип — он составляет около 30 % всех волокнистых структур [8]. В одном из исследований была выполнена количественная оценка уровня синтеза коллагена III типа в культурах клеток, полученных от пациентов с ВРВНК: авторами отмечено снижение его содержания в культурах ГМК. Поскольку сам коллаген III типа напрямую влияет на эластичность и сопротивляемость сосудистой стенки, данные результаты могут объяснить чрезмерную растяжимость стенок вен, подверженных варикозной трансформации. Кроме того, авторы указывают на вероятность дефицита коллагена III типа системного характера, что объясняет причину подобного ремоделирования стенок как генетически детерминированную [9].

Для более детального понимания как архитектуры, так и последующего изменения структуры стенок вен мы оценивали уровень экспрессии коллагена III и IV типов. Коллаген III типа рассматривается как интерстициальный, формирующий крупные фибриллы в стенке вен, а коллаген IV типа имеет нефибриллярную структуру — он играет важную роль в формировании своеобразной сети между ГМК. В нашем исследовании коллаген III типа демонстрировал слабую экспрессию (+) в субинтимальной зоне и между пучками поверхностно расположенных ГМК как при ВЦ, так и при ВРВНК при III степени заболеваний (см. рис. 2); между пучками ГМК, расположенными в толще стенки, экспрессия практически отсутствовала. В образцах группы контроля коллаген III типа экспрессировался рассеянно в субэндотелиальной зоне (+).

В участках утолщения стенок и гипертрофии ГМК отмечено расширение субинтимальной зоны, наиболее выраженное при ВРВНК при II степени заболевания; в этих же участках и вокруг пучков ГМК выявлена выраженная экспрессия (++) коллагена IV типа (см. рис. 3). В образцах группы контроля уровень экспрес-

сии слабый (+/-). Как известно, коллаген IV типа чаще присутствует в базальных мембранах стенок вен, однако он может верифицироваться и в субэндотелиальном пространстве, а также вокруг ГМК срединного слоя, когда запускается процесс активной перестройки стенок вен адаптивного характера и начинается формирование более густой межклеточной сети [8]. Таким образом, выраженная экспрессия коллагена IV типа в субинтимальной зоне и между пучками ГМК, ассоциированная с их гипертрофией, может рассматриваться как маркер начала перестройки или ремоделирования стенок вен. Параллельное снижение экспрессии коллагена III типа отражает интересный феномен замены одного типа коллагена на другой — IV вместо III, что и приводит к чрезмерной растяжимости стенок.

Помимо коллагена IV типа, при варикозной трансформации вен наблюдается усиление синтеза и других компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) — ламинина, тенасцина и фибронектина [10]. В участках расширения субинтимальной зоны нами выявлена экспрессия ламинина (+/++) и фибронектина (++). Кроме того, обнаружена тенденция к увеличению экспрессии фибронектина в наиболее измененных участках стенок вен, особенно в среднем слое, где ГМК окружены соединительнотканными муфтами (см. рис. 4); в обеих группах исследования усиление его экспрессии выявлено в биоптатах пациентов с III степенью заболеваний. Полученные результаты нашли подтверждение и в других исследованиях, авторы которых отмечали усиление экспрессии компонентов ЭЦМ, в частности ламинина и фибронектина, преимущественно в субэндотелиальной зоне стенки варикозно измененных вен [11, 12]. Увеличение экспрессии фибронектина свидетельствует об активации синтезирующих его фибробластов и миофибробластов в участках ремоделирования стенок вен. По данным J. Kanta и соавт., фибронектин играет решающую роль в организации ЭЦМ, и дальнейшее изучение механизмов нарушения его метаболизма при заболеваниях вен может дать результаты, которые найдут применение при таргетной терапии варикоза [13]. Таким образом, дисбаланс в распределении различных типов коллагена, а также других компонентов ЭЦМ в стенках варикозно расширенных вен можно считать основой нарушения их состоятельности.

Продолжая оценку качественных параметров ЭЦМ при варикозной трансформации, необходимо остановиться на той роли, которую играют ММР в регуляции его состояния. За счет способности вызывать деградацию компонентов ЭЦМ ММР имеют прямое отношение к формированию варикозной трансформации. При исследовании биоптатов вен пациентов с ВЦ и ВРВНК отмечены схожие результаты: выраженная экспрессия ММР-2 (++) во всех слоях стенки, включая мышечный — между пучками гипертрофированных ГМК (см. рис. 5), а также суперэкспрессия ММР-9

(++/+++), в зоне истончений стенки, в частности в субинтимальной зоне и мышечном слое (см. рис. 6); при этом в контрольных образцах наблюдался слабый уровень экспрессии (+). Полученные результаты подтверждаются данными литературы — именно выраженная экспрессия MMP-9 может рассматриваться как основной стигмат варикозной трансформации, поскольку является индикатором деградации ЭЦМ и нарушения метаболизма коллагена, а также процесса ремоделирования стенок вен [14, 15].

Следует отметить, что нами выявлена суперэкспрессия TGF- β 1 (+++) в биоптатах вен пациентов обеих групп, преимущественно в участках истончения и выраженного межмышечного фиброза стенок (пациенты с III степенью обоих заболеваний). Известно, что TGF- β 1 является важнейшим ингибитором MMP и синергистом их тканевого ингибитора; это объясняет его избыточный синтез эндотелиальными клетками и ГМК при варикозной трансформации. Интересен тот факт, что MMP способны стимулировать эндотелиальные клетки и переводить ГМК в синтетический фенотип уже на ранних стадиях варикозной трансформации даже при отсутствии значительных структурных изменений стенки вен [16, 17], что можно рассматривать как активацию защитной реакции и запуск адаптивного ответа.

Таким образом, можно утверждать, что при варикозной трансформации происходит нарушение шаткового равновесия между процессами гипертрофии ГМК (укрепления) и фиброза (ригидности и слабости) стенки, а также сбой регуляции работы протеазной/антипротеазной системы.

Заключение

Общность морфологических проявлений, а также иммуногистохимического фенотипа у детей и молодых пациентов с варикозной трансформацией вен (ВЦ и ВРВНК) позволяет выдвинуть концепцию первичности данных изменений, в основе которых лежит несостоятельность соединительной ткани в рамках синдрома НДСТ. Можно утверждать, что при варикозной трансформации вен любой локализации в их стенках имеет место некорректная регуляция синтеза/деградации коллагеновых волокон, а также других компонентов ЭЦМ (процесс ремоделирования), что дает негативный эффект и в финале приводит к несостоятельности стенок. С учетом схожести морфологических, иммуногистохимических и ультраструктурных проявлений, а также единых морфогенетических механизмов ремоделирования стенок вен мы считаем возможным объединение различных форм варикоза (прежде всего ВЦ и ВРВНК) в одно заболевание — болезнь варикозно расширенных вен. Предлагаемая концепция подтверждается данными других авторов, которые также проводили сравнительный морфологический анализ при варикозном расширении вен различной локализации [12].

Таким образом, у пациентов с варикозно расширенными венами первичный дефект может заключаться в дезорганизации соединительной ткани и нарушении структуры ЭЦМ, что приводит к чрезмерной растяжимости стенок вен и выраженному снижению их эластических свойств, т. е. к необратимой варикозной трансформации.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gorelick J.I., Goldstein M. Loss of fertility in men with varicocele. *Fertil Steril* 1993;59(3):613–6. PMID: 8458466.
- De Los Reyes T., Locke J., Afshar K. Varicoceles in the pediatric population: diagnosis, treatment, and outcomes. *Can Urol Assoc J* 2017;11(1–2 Suppl 1):S34–S9. DOI: 10.5489/cuaj.4340
- Доронин И.В. Диагностика и лечение варикозной болезни нижних конечностей у подростков. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2012.
Doronin I.V. Diagnostics and treatment of vein varicosity of lower extremities in teenagers. Abstract of dis. ... candidate of doctor of medical sciences. Rostov-on-Don, 2012. (In Russ.).
- Кадурина Т.И., Аббакумова Л.Н. Оценка степени тяжести недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей. *Медицинский вестник Северного Кавказа* 2008;2(10):15–20.
Kadurina T.I., Abbakumova L.N. Assessment of the severity of undifferentiated connective tissue dysplasia in children. *Meditinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of the North Caucasus* 2008;2(10):15–20. (In Russ.).
- Студенникова В.В., Севергина Л.О., Коровин И.А. и др. Ультраструктурная характеристика механизмов варикозной трансформации вен различной локализации. *Архив патологии* 2020;82(6):16–23. DOI: 10.17116/patol20208206116
- Студенникова В.В., Севергина Л.О., Коровин И.А. et al. Ultrastructural characteristics of the mechanisms of varicose transformation of veins of different localization. *Arkhiv Patologii = Archive of Pathology* 2020;82(6):16–23. (In Russ.). DOI: 10.17116/patol20208206116
- Bharath V., Kahn S.R., Lazo-Langner A. Genetic polymorphisms of vein wall remodeling in chronic venous disease: a narrative and systematic review. *Blood* 2014;124(8):1242–50. DOI: 10.1182/blood-2014-03-558478
- Jacob M.P. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomed Pharmacother* 2003;57(5–6):195–202. DOI: 10.1016/s0753-3322(03)00065-9
- Ghaderian S.M., Khodaii Z. Tissue remodeling investigation in varicose veins. *Int J Mol Cell Med* 2012;1(1):50–61.
- Sansilvestri-Morel P., Rupin A., Badier-Commander C. et al. Chronic venous insufficiency: dysregulation of collagen synthesis. *Angiology* 2003;54(Suppl 1):S13–8. DOI: 10.1177/0003319703054001S03
- Kirsch D., Dienes H.P., Kuchle R. et al. Changes in the extracellular matrix of the vein wall — the cause of primary varicosis? *Vasa* 2000;29(3):173–7. DOI: 10.1024/0301-1526.29.3.173

11. Birdina J., Pilmane M., Ligers A. The morphofunctional changes in the wall of varicose veins. *Ann Vasc Surg* 2017;42:274–84. DOI: 10.1016/j.avsg.2016.10.064
12. Цуканов Ю.Т., Цуканов А.Ю., Притыкина Т.В. и др. Биохимические, иммунологические и патоморфологические особенности варикозной болезни вен у больных недифференцированной дисплазией соединительной ткани. *Казанский медицинский журнал* 2006;87(5):132–7. Tsukanov Yu.T., Tsukanov A.Yu., Pritykina T.V. et al. Biochemical, immunological and pathomorphological features of varicose veins in patients with undifferentiated connective tissue dysplasia. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal* 2006;87(5):132–7. (In Russ.).
13. Kanta J., Zavadakova A. Role of fibronectin in chronic venous diseases: a review. *Vasc Med* 2020;25(6):588–97. DOI: 10.1177/1358863X20947789
14. Serra R., Buffone G., Costanzo G. et al. Altered metalloproteinase-9 expression as least common denominator between varicocele, inguinal hernia, and chronic venous disorders. *Ann Vasc Surg* 2014;28(3):705–9. DOI: 10.1016/j.avsg.2013.07.026
15. Dogan F., Armagan A., Oksay T. et al. Impact of micronised purified flavonoid fraction on increased malondialdehyde and decreased metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 levels in varicocele: outcome of an experimentally induced varicocele. *Andrologia* 2014;46(4):380–5. DOI: 10.1111/and.12091
16. Raffetto J.D., Khalil R.A. Matrix metalloproteinases in venous tissue remodeling and varicose vein formation. *Curr Vasc Pharmacol* 2008;6(3):158–72. DOI: 10.2174/157016108784911957
17. Chen Y., Peng W., Raffetto J.D., Khalil R.A. Matrix metalloproteinases in remodeling of lower extremity veins and chronic venous disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017;147:267–99. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.003

Вклад авторов

Л.О. Севергина: разработка дизайна исследования, написание текста статьи;

В.В. Студенникова: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, написание текста статьи;

Л.М. Рапопорт: научное редактирование, научное консультирование;

И.А. Коровин: написание текста статьи;

Д.О. Королев: научное редактирование текста статьи.

Authors' contributions

L.O. Severgina: development of research design, article writing;

V.V. Studennikova: obtaining data for analysis, development of research design, article writing;

L.M. Rapoport: scientific editing, scientific consulting;

I.A. Korovin: article writing;

D.O. Korolev: scientific editing of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

Л.О. Севергина / L.O. Severgina: <https://orcid.org/0000-0002-4393-8707>

В.В. Студенникова / V.V. Studennikova: <https://orcid.org/0000-0001-7909-7631>

Л.М. Рапопорт / L.M. Rapoport: <https://orcid.org/0000-0001-7787-1240>

И.А. Коровин / I.A. Korovin: <https://orcid.org/0000-0003-4009-346X>

Д.О. Королев / D.O. Korolev: <https://orcid.org/0000-0001-8861-8187>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.