

ORIGINALES

Estudio de la matriz extracelular en la pared de las venas varicosas primarias**Study of the extracellular matrix in the venous wall of the primary varicose veins**

Angelina García García - Rafael Romero Campos - José Antonio Gutiérrez del Manzano -
Jose M. López Martínez - Francisco Ardila Merchán - Francisco Javier Bermúdez Rodríguez

Hospital Universitario de Valme
(Jefe de Servicio: Francisco Ardila Merchán)
Sevilla (España)

RESUMEN

Objetivo: Analizar los cambios patológicos de la pared venosa en las varices esenciales y si son causa y/o consecuencia de la hipertensión venosa.

Pacientes y método: Estudio clínico y anatopatológico de 51 pacientes intervenidos por varices esenciales. El grupo control son 20 enfermos en los que se descartó la existencia de varices.

Analizamos la matriz extracelular en las venas extirpadas, distinguiendo entre segmentos dilatados y macroscópicamente normales.

Realizamos las siguientes tinciones: Hematoxilina eosina, Orceína, Tricrómico de Masson, PAS, y azul Alcián a pH variable (0,5 y 2,5)

Resultados: La vena varicosa tiene menos fibras elásticas que la vena control ($p<0,06$). Las fibras de colágeno están aumentadas y desestructuradas en la pared de la vena varicosa ($p<0,001$). En las venas control están significativamente aumentadas las glicoproteínas de estructura ($p<0,007$ y $p<0,004$). Los mucopolisacáridos ácidos, sulfatados y no sulfatados, están aumentados en el segmento dilatado de la vena varicosa ($p<0,007$ y $p<0,015$).

Conclusiones: En las varices primarias existe una alteración estructural de la pared venosa. Esta alteración, más evidente en el segmento venoso dilatado, existe y, en el mismo sentido, en segmentos macroscópicamente normales y no sometidos a reflujo. Estos cambios de la matriz extracelular inciden en la importancia del factor parietal como causa etiopatogénica fundamental de la enfermedad varicosa esencial.

Palabras clave: Varices esenciales, matriz extracelular, fibras elásticas, fibras de colágeno, glicoproteínas de estructura, mucopolisacáridos ácidos.

SUMMARY

Objective: To assess pathological changes in walls of essential varicose veins and to find out if they are a cause and/or a result of venous hypertension.

Patients and methods: Clinical and pathological study in 51 patients with essential varicose veins that were operated on. Control group consisted of 20 patients in whom varicose veins had been excluded.

Extracellular matrix in removed veins was examined, and dilated segments were distinguished from grossly normal ones. The following stains were used: hematoxylin & eosin, orcein, Masson's trichromic, PAS and Alcian blue at a variable pH (0.5 and 2.5).

Results: Varicose veins have fewer elastic fibers than control veins ($p<0.06$). Collagen fibers are enlarged and unstructured in varicose vein walls ($p<0.001$). Control veins show a significant increase in structural glycoproteins ($p<0.007$ and $p<0.004$). Sulfated and non-sulfated acid mucopolysaccharides are increased in dilated segments of varicose veins ($p<0.007$ and $p<0.015$).

Conclusions: There is a structural change in primary varicose vein walls. This change is more prominent in dilated segments, although it can also be observed in grossly normal segments without reflux. These changes in extracellular matrix emphasize the importance of wall factor as a main etiopathogenic factor in essential varicose veins.

Key words: essential varicose veins; extracellular matrix,

elastic fibers, collagen fibers, structural glycoproteins, acid mucopolysaccharides.

Introducción y objetivos

La insuficiencia venosa crónica es un síndrome complejo de etiología multifactorial, desconociéndose las causas reales de la enfermedad, con excepción del síndrome postrombótico, en el que son evidentes la destrucción valvular y alteración parietal.

Con el término «factores de riesgo» se incluyen factores etiológicos y otros solamente agravantes de la insuficiencia venosa establecida.

Clásicamente se ha considerado la insuficiencia valvular, primaria o secundaria, como la causa fundamental de la insuficiencia venosa. Para otros autores, en cambio, el origen de las varices parece ser consecutivo más a menudo a una alteración parietal.

Como objetivo nos hemos propuesto estudiar la secuencia de cambios morfológicos de la pared venosa en la enfermedad varicosa primaria, así como aportar datos acerca de su etiopatogenia.

Pacientes y método

Hemos diseñado un estudio de casos y controles. Nuestra casuística la constituyen 51 enfermos intervenidos, de forma consecutiva, por varices esenciales entre noviembre y diciembre de 1994. El grupo control lo forman 20 pacientes de edad comprendida entre 35 y 45 años (rango de edad predominante en nuestros enfermos varicosos) intervenidos por patología ósteo-articular, traumatológica o no, de miembros inferiores, en los que se ha descartado la existencia de patología varicosa mediante estudio clínico y hemodinámico.

A todos los pacientes incluidos en el estudio se les ha realizado:

1. **Estudio clínico**, antecedentes familiares y personales, análisis de factores de riesgo de insuficiencia venosa y estudio hemodinámico.

2. **Obtención de segmentos venosos**. En los pacientes varicosos se extirparon segmentos dilatados y otros macroscópicamente normales y no sometidos a reflujo, previamente estudiados hemodinámicamente. En los casos control se extrajo un segmento venoso superficial de la región quirúrgica intervenida, safena interna ma-

leolar en intervenciones de tobillo, safena externa distal en fracturas de peroné, o en la pierna y muslo en intervenciones de rodilla y fémur, previo consentimiento del enfermo tras informarle de la finalidad de la prueba y con la aprobación del Comité de Ensayos Clínicos del Hospital de Valme.

A todas las muestras se les ha realizado el siguiente **estudio anatomo-patológico**:

Estudio histológico rutinario: Hematoxilina Eosina.

Estudio de las fibras elásticas mediante la tinción de Orceína.

Estudio de las fibras colágenas mediante la tinción del Tricrómico de Masson.

PAS para valorar la distribución de mucopolisacáridos neutros.

Estudio con Azul Alcián a pH 2,5 y 0,5, para valorar los mucopolisacáridos ácidos sulfatados y no sulfatados.

Estudio de captación de prolina tritiada mediante histoautoradiografía con el fin de estudiar la síntesis proteica.

La cuantificación de los componentes de la matriz extracelular estudiados se ha realizado mediante un análisis semicuantitativo: técnica de valoración anatomo-patológica de muestras en la que se utiliza una tinción específica de un determinado componente tisular (Orceína para fibras elásticas, Tricrómico de Masson para fibras de colágeno, PAS para mucopolisacáridos neutros o Azul Alcián a pH variable para mucopolisacáridos ácidos) y se cuantifican la extensión, amplitud e intensidad de la tinción de la muestra problema respecto a un control; tanto la extensión como la amplitud son objetivamente cuantificables, mientras que la intensidad se valora subjetivamente.

Estudio estadístico. Las distintas variables fueron medidas en una escala ordenada en la cual los distintos valores representaban:

0: + 1: ++ 2: +++

Para analizar las diferencias entre segmentos de vena dilatada y sin dilatar se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon, dado que se trataba de muestras relacionadas por proceder de un mismo paciente.

La comparación de los segmentos venosos del grupo control con los segmentos venosos dilatados y no dilatados de los casos se realizó mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney para muestras independientes.

La correlación de las distintas variables se midió con el coeficiente de corrección por rangos de Spearman.

Resultados

Estudio clínico:

De los 51 pacientes estudiados, 8 son hombres (15,7%) y 43 mujeres (84,3%), con una relación mujer/hombre de 5,3/1.

La edad media de nuestros enfermos es de 44,2 ($\pm 8,9$) años.

El 62,7% de los pacientes tienen historia familiar de varices.

La mayoría de las mujeres han tenido algún embarazo (93%).

Ortostatismo prolongado o trabajo sedentario lo refieren 6 enfermos (11,8%). Dos pacientes (3,9%) varones son de estatura elevada.

La afectación fue bilateral en 15 casos (29,4%), unilateral en miembro inferior izquierdo en 27 enfermos (52,9%) y en miembro inferior derecho en 9 (17,6%).

En nuestra serie se estudian 38 pacientes (74,5%) con síntomas ortostáticos permanentes (pesadez y dolor el 100% de los enfermos, parestesias el 91%, calambres frecuentes en el 68,2% y edema vespertino el 70,6% de los pacientes), 9 enfermos (13,6%) con signos de sufrimiento cutáneo (pigmentación e hipodermatitis en 6 pacientes, eczema en 8 casos y atrofia cutánea en 4) y 4 pacientes (7,8%) con úlcera flebostática.

Un 19,6% de nuestra casuística (10 enfermos) son varices intervenidas previamente al menos una vez.

La anamnesis y exploración clínica revelaron también la existencia de otras patologías y sintomatología, tales como: acrocirosis, hernias, epistaxis, presentaban hipermovilidad articular, osteoartritis primaria de la mano, diabetes, escoliosis e hipertensión arterial.

Estudio anatopatológico:

Las fibras elásticas de la capa media están aumentadas en los segmentos venosos no dilatados de un mismo paciente al compararlos con el segmento venoso dilatado, con un valor de $p=0,01$.

Hay más fibras elásticas en las venas de los casos control que en las de los pacientes, tanto en los segmentos venosos no dilatados ($p=0,06$) como en los dilatados ($p=0,063$) (Fig. 1).

El contenido de colágeno en los segmentos venosos dilatados de un mismo paciente es significativamente mayor, con $p<0,001$, que en el segmento no dilatado.

El contenido de colágeno en los segmentos venosos dilatados de los pacientes es significativamente mayor que en las venas control, $p<0,001$, existiendo una desestructuración de las capas de la pared venosa (Fig. 2). Hay más fibras de colágeno en el segmento venoso no dilatado de los pacientes que en las venas control.

Los mucopolisacáridos neutros están aumentados en las venas de los casos control si se compara con el segmento venoso dilatado y no dilatado de los pacientes varicosos ($p=0,007$ y $p=0,004$, respectivamente) (Fig. 3). Hay más mucopolisacáridos neutros en los segmentos venosos no dilatados que en los morfológicamente normales de un mismo paciente.

Los segmentos venosos dilatados tienen más mucopolisacáridos ácidos, sulfatados y no sulfatados, que los segmentos no dilatados de un mismo paciente con $p=0,015$ (Azul Alcian a pH 2,5) y $p=0,007$ (Azul Alcian a pH 0,5) (Fig. 4).

La captación de prolina tritada por la pared venosa es muy escasa y poco valorable, tal vez por la escasa celularidad de la misma.

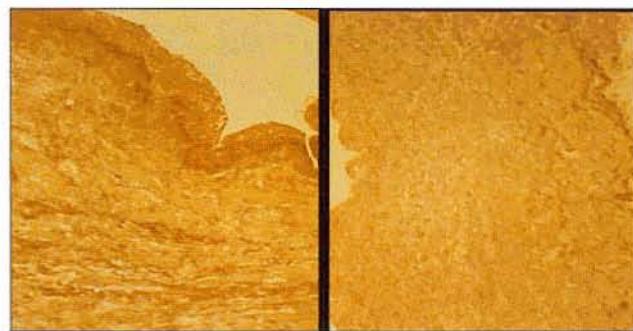


Fig. 1: Orceína. Aumento de fibras elásticas (color rojo pardo) en la vena control (izq.) con disminución, fragmentación y desestructuración de las mismas en la vena varicosa dilatada (der.).

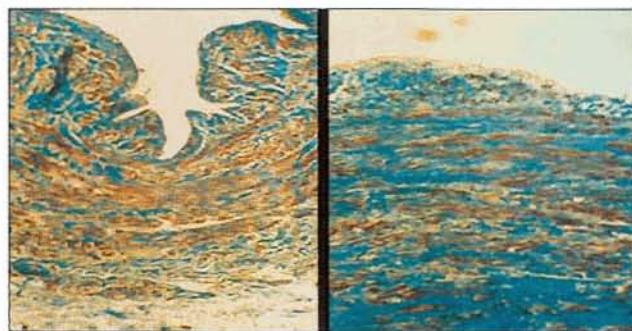


Fig. 2: Tricrómico de Mason. Aumento de las fibras de colágeno (color verde azulado) en la vena varicosa (der.), afectando a todas las capas de la pared, con respecto a la vena control (izq.).

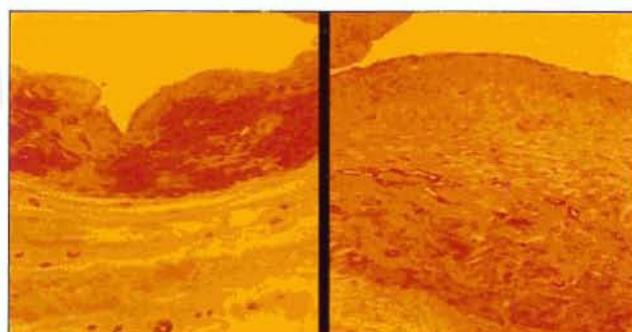


Fig. 3.: PAS. Las glicoproteínas de estructura (color rojo) están aumentadas en la vena control (izq.).

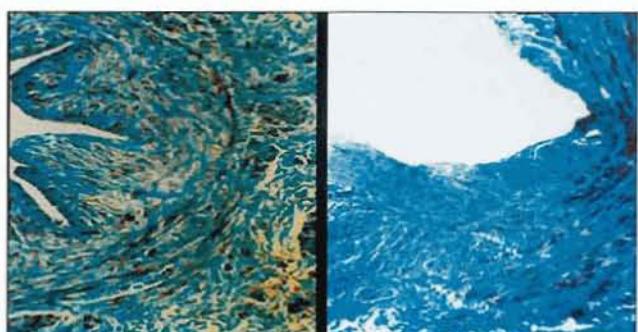


Fig. 4.: Azul Alcian (pH 0,5). Aumento de los mucopolisacáridos ácidos sulfatados en el segmento dilatado de la vena varicosa (der.).

Discusión

Un importante aspecto al considerar la etiopatogenia de la enfermedad varicosa es el estudio de los denominados factores de riesgo. El análisis de los mismos en nuestra casuística coincide en general con el de los distintos autores, si bien hay algunas diferencias que detallaremos. Hay que señalar que no hemos escogido una muestra homogénea ni representativa de la población general en cuanto a la incidencia en ella de todo tipo de varices, sino que se trata de 51 pacientes con varices primarias y con indicación quirúrgica de las mismas.

La relación mujer/hombre es de 5,3/1, superior a la comunicada por la mayoría de los autores, lo que consideramos que es debido a que la mujer consulta más frecuentemente que el hombre por sus varices dado que éstas representan un problema estético.

El análisis histopatológico de nuestra serie pone de manifiesto que las venas varicosas tienen menos fibras elásticas de colágeno que las venas control; estando significativamente aumentada la proporción entre fibras de colágeno y elásticas. Estos cambios, aunque más evidentes en los segmentos venosos dilatados, están presentes también en los segmentos venosos macroscópicamente sanos.

Autores como Niebes (1-5) o Psaila y Melhuish (6) afirman que las venas varicosas contienen menos colágeno que las normales.

Lo contrario refieren otros autores (7-11), para los que existe un aumento del colágeno en la vena varicosa, tanto en los segmentos dilatados como en los macroscópicamente normales de la misma.

Nuestros resultados en cuanto a las fibras colágenas apoyan los hallazgos de estos últimos (7-11), y como ellos, creemos que este aumento del colágeno en la ve-

na varicosa que hemos puesto de manifiesto concuerda con su observación de que la lesión primaria del proceso varicoso es una densa y compacta fibrosis que se extiende desde la íntima a la adventicia, desorganizando la estructura de la pared venosa. En base a los hallazgos referidos, consideramos que el engrosamiento de ésta es debido principalmente al aumento del tejido conectivo fibroso, que es muy notable sobre todo en la capa subendotelial.

Las fibras elásticas, según todos los autores y coincidiendo con los resultados obtenidos de nuestro estudio, están reducidas significativamente en los segmentos dilatados de las venas varicosas al compararlas tanto con la vena normal como con los segmentos varicosos no dilatados. El contenido de fibras elásticas de las venas normales es mayor que en el segmento macroscópicamente sano de la vena varicosa, pero la diferencia no es significativa para ellos, en cambio en nuestra serie se acerca a la significación ($p=0,06$). Las fibras elásticas son más gruesas y tortuosas que en la pared venosa normal y no existen límites netos entre las distintas capas de la pared venosa (11).

Las alteraciones que presenta la pared de la vena varicosa no son uniformes y, así, junto a zonas donde son evidentes la totalidad de las alteraciones mencionadas existen otras donde la estructura histológica de la pared está bastante bien conservada.

En la enfermedad varicosa existe una hipertensión en el sistema venoso superficial. La respuesta inicial de la pared venosa al aumento de la presión intraluminal es su hipertrofia, respuesta en la que participan todos los elementos de su pared.

En segmentos venosos sometidos a hipertensión, como son los casos de los «by-passes» arteriales, se observa un aumento de la matriz extracelular y migración

de las células musculares lisas hacia el endotelio, rechazando la elástica interna hacia la periferia (12).

La producción de colágeno se puede estimular, además de por el fibroblasto, por otras células de la pared vascular, como las células endoteliales y musculares lisas. En estas últimas aumenta la producción de colágeno si se las somete a estiramiento mecánico repetido (13, 14).

El gran desarrollo de la matriz extracelular hace que aumente la separación entre las células endoteliales y la primera capa de células musculares lisas, a la vez que las uniones mioendoteliales son muy escasas y de pequeña superficie (15, 16). Esto modifica la propagación de los impulsos nerviosos. Así, la regulación del tono vascular se altera favoreciéndose, por tanto, la dilatación venosa.

En la pared venosa normal existe un marcado predominio de los miocitos de fenotipo contráctil, pero en condiciones patológicas, tales como las varices, abundan los miocitos de tipo metabólico. Esta transformación determina que la célula muscular lisa participe en los procesos de síntesis de la matriz extracelular, pero también libera sustancias de carácter degenerativo (15, 16). Todo ello conduce no sólo al incremento del tejido extracelular sino también a que en el mismo se aprecien abundantes fibras colágenas y elásticas desestructuradas.

El estudio de los mucopolisacáridos en nuestra casuística nos muestra que las venas del grupo control se colorean más fuertemente por el PAS que las venas varicosas; los mucopolisacáridos ácidos, sulfatados y no sulfatados, en cambio, son significativamente más abundantes en los segmentos dilatados que en los segmentos macroscópicamente sanos del enfermo varicoso.

Niebes (1, 3-5) encuentra una intensa positividad al PAS alrededor de las células musculares lisas, a modo de membrana basal, lo que permite suponer una síntesis importante de glicoproteínas por estas células.

Nosotros también hemos encontrado material PAS positivo en la pared de las venas varicosas estudiadas, pero son las venas del grupo control las que más fuertemente se colorean con esta tinción, así, y al contrario que los autores referidos, encontramos una disminución significativa de las glicoproteínas de estructura en la vena varicosa, tanto en su porción macroscópicamente normal como y, sobre todo, en el segmento dilatado de la misma.

Para *Bouvier* (17) la pérdida de estructura, la solubilidad anormal del colágeno y el aumento de los mucopo-

lisacáridos ácidos son característicos de la degeneración varicosa.

En los tejidos en los que existe un crecimiento activo de fibroblastos, como el dermatofibroma o en el proceso de cicatrización de las heridas, existe un incremento de mucopolisacáridos ácidos (18, 19). Por todo ello, consideramos que los cambios observados en los mucopolisacáridos de la pared de la vena varicosa dilatada de estos pacientes pueden estar en relación con un aumento de la síntesis y degradación de la matriz extracelular.

El equilibrio dinámico entre la síntesis y la degradación de dichas macromoléculas es esencial para mantener la estructura y función del tejido conectivo sano (20).

En el paciente varicoso existe un aumento de la actividad sérica de algunos enzimas, tales como la Beta-glucuronidasa, la N-acetil glucosaminidasa y la aril-sulfatasa, aumentos que son proporcionales a la gravedad del estado varicoso (1, 21, 22). Además, existe un incremento de productos de degradación del tejido conjuntivo en el plasma y la orina de los pacientes.

Algunos autores (6) afirman que los cambios estructurales de la pared venosa en la enfermedad varicosa esencial pueden deberse a un defecto enzimático que afecte la biosíntesis del colágeno, algo que ha sido también postulado en la etiopatogenia de los aneurismas arteriales.

Esta anomalía del tejido conjuntivo en la enfermedad varicosa primaria no se sitúa únicamente a nivel de los vasos clínicamente patológicos sino que afecta, asimismo, a las venas aparentemente normales y no sometidas a reflujo, de nuestros enfermos. Produce una alteración en la pared y en sus elementos valvulares, desencadenando una serie de fenómenos que conducirán a un trastorno hemodinámico, inductor de una hipertensión venosa que será responsable de la secuencia fisiopatológica de la insuficiencia venosa crónica.

Conclusiones

1. En las venas varicosas primarias existe una alteración estructural de su pared, más evidente si se analiza un segmento venoso dilatado, pero presente también y en el mismo sentido en los segmentos venosos macroscópicamente normales y no sometidos a reflujo.

2. Esta alteración estructural consiste en: disminución y desorganización de las fibras elásticas, aumento

de las fibras colágenas, que infiltran todas las capas de la pared, disminución de las glicoproteínas de estructura y aumento de los mucopolisacáridos ácidos.

3. El aumento de mucopolisacáridos ácidos, encontrado en el segmento venoso dilatado, creemos que es la expresión de un aumento del recambio de la matriz extracelular en este tejido.

4. Estos cambios de la matriz extracelular inciden en la importancia del factor parietal como causa etiopatogénica fundamental de la enfermedad varicosa esencial.

BIBLIOGRAFIA

- BOUVIER, C. A.; ENGELS, E.; GROBETY, J.; NIEBES, P.: La maladie variqueuse. Différences structurelles histochimiques et chimiques entre veine normale et variqueuse. *Zyma*, Nyon, Switzerland, 1977.
- NIEBES, P.: Etude de la dégradation du tissu conjonctif dans les veines variqueuses. Corrélations entre l'activité d'enzymes lysosomiales et l'état variqueux. *Artères et Veines*, 1988; 7:457-460.
- BOUVIER, C. A.; NIEBES, P.: Diferencias estructurales, histoquímicas y químicas entre la vena normal y varicosa. La Vena y el Capilar. De la Teoría a la Práctica. Ed. Laboratorios Servier. 1985; 4.
- NIEBES, P.: Structure Biochimique de la paroi veineuse chez les porteurs de varices. *Phlébologie*, 1983; 36(1):55-56.
- NIEBES, P.; ENGELS, E.; JEGERLEHNER, M.L.: Studies on normal and varicose human saphenous vein. Differences in the composition of collagen and glycosaminoglycans. *Bibl. Anat.*, 1977; 16:301-303.
- PSAILA, J. V.; MELHUISH, J.: Viscoelastic properties and collagen content of the long saphenous vein in normal and varicose veins. *Br. J. Surg.*, 1989; 76:37-40.
- BOUSSOU, H.; JULIAN, M.; PIERAGGI, M. T.; MAUREL, E.; LOUGE, L.: Les aspects tissulaires de la veine saphène interne normale vieillie et variqueuse. *Artères et Veines*, 1988; 7:431-435.
- MAUREL, E.; AZEMA, C.; DELOY, J.; BOUSSOU, H.: Collagen of the normal and the varicose human saphenous vein: a biochemical study. *Clinica Chimica Acta*, 1990; 193:27-38.
- BOUSSOU, H.; MAUREL, E.: Collagens of the internal saphenous vein, normal and varicose, as a function of age. *Bull. Acad. Natl. Med.*, 1991; 175 (4):603-606.
- BOUSSOU, H.; JULIAN, M.; PIERAGGI, M. T.; LOUGE, L.: Vein morphology. *Phlebology*, 1988; 3:1-11.
- CHELLO, M.; MASTROROBERTO, P.; ROMANO, R.; CIRILO, F.; CUSANO, T.; MARCHESE, A. R.: Alteration in collagen and elastin content in varicose vein. *Vascular Surgery*, 1994; 28, 1:23-27.
- BOBRIN, P. P.; LITTOOY, F. N.; EDEAN, E. D.: Mechanical factors predisposing to intimal hyperplasia and medial thickening in autogenous vein grafts. *Surgery*, 1989; 105:395-400.
- SUMPIO, B. E.; BANES, A. J.; LEVIN, L. G.; JHONSON, G. Jr.: Mechanical stress stimulates aortic endothelial cells to proliferate. *J. Vasc. Surg.*, 1987; 6(13):252-256.
- SUMPIO, B. E.; BANES, A. J.; LINK, W. G.; JHONSON, G. Jr.: Enhanced collagen production by smooth muscle cells during repetitive mechanical stretching. *Arch. Surg.*, 1988; 123(10):1233-36.
- ORTEGA, F.; SARMIENTO, L.; MOMPEO, B.: Morfología de la pared venosa y sus alteraciones en la Insuficiencia venosa crónica. *Patología Vascular*, 1995; 2:40-47.
- STAUBESAND, J.: Concepción nouvelle de la pathogénie de la maladie variqueuse. *Phlébologie*, 1983; 36(1):39-43.
- BOUVIER, C. A.: Etudes sur la veine saphène humaine normale et variqueuse. 8ème Congrès Mondial de l'Union Internationale de Phlébologie. Bruxelles, 2-6 mai, 1983.
- JOHNSON W. C.; HELWIG, E. B.: Histochemistry of the acid mucopolysaccharides of the skin in normal and in certain pathologic conditions. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1963; 123-129.
- JACQUES, J.; CAMERON, H. C. S.: Changes in the ground substance of healing wounds. *J. Pathol.*, 1968; 99:337-340.
- DECKER, R. S.; DINGLET, J. T.: Cardiac catabolic factors: the degradation of heart valve intercellular matrix. *Science*, 1982; 215:987-989.
- HAARDT, B.: Comparaison histochimique des profils enzymatiques de veines saines et de veines variqueuses. *Phlébologie*, 1986; 39(4):921-931.
- NIEBES, P.: Etude de la dégradation du tissu conjonctif dans les veines variqueuses. Corrélations entre l'activité d'enzymes lysosomiales et l'état variqueux. *Artères et Veines*, 1988; 7:457-460.