

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ И СОДЕРЖАНИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СОСУДИСТОЙ СТЕНКЕ ПРИ ВАРИКОЗНОМ РАСШИРЕНИИ ПОДКОЖНЫХ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Татьяна Павловна Вавилова, Магомед Дибирович Магомедов, Антон Валерьевич Минаев*

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, г. Москва, Россия

Поступила 09.10.2017; принята в печать 25.10.2017.

Реферат

DOI: 10.17750/КМЖ2017-968

Цель. Исследовать роль аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, фактора некроза опухоли α и интерлейкина-1 β в патогенезе варикозной болезни в варикозно расширенных участках вен у пациентов в разных возрастных группах.

Методы. В исследование включены 43 пациента. Выделено три группы: пациенты в возрасте 30–44 лет (11 человек, первая группа), 45–59 лет (18 человек, вторая группа), 60–74 лет (14 человек, третья группа). В сосудистой стенке спектрофотометрическим методом определяли активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы у больных после флебэктомии. Содержание фактора некроза опухоли α и интерлейкина-1 β определяли методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Наиболее высокая активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы выявлена в образцах ткани, взятых у пациентов в возрасте от 60 до 74 лет, по сравнению с данными, полученными в образцах тканей у пациентов других возрастных групп. Определение количества интерлейкина-1 β также показало, что наибольшая концентрация данного показателя у пациентов в возрасте 60–74 лет, она достигает $13,2 \pm 0,54$ пг/г ткани, что достоверно выше, чем у пациентов других исследуемых групп. По данным иммуноферментного анализа (определения содержания фактора некроза опухоли α) в исследуемых образцах было выявлено увеличение содержания данного показателя во второй возрастной группе и снижение в третьей.

Вывод. Повышение количества интерлейкина-1 β , активности аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы в сосудистой стенке у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей имеет прямую зависимость от возраста пациента; количество фактора некроза опухоли α возрастает во второй группе со снижением данного показателя в третьей исследуемой группе, что свидетельствует о дисрегуляции иммунновоспалительных реакций в пожилом возрасте.

Ключевые слова: варикозная болезнь, аминотрансферазы, патофизиология, цитокины.

MEASUREMENT OF AMINOTRANSFERASES ACTIVITY AND CONCENTRATION OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN VASCULAR WALL IN VARICOUS VEINS OF LOWER EXTREMITIES

T.P. Vavilova, M.D. Magomedov, A.V. Minaev

Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

Aim. To investigate the role of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, tumor necrosis factor α and interleukin-1 β in the pathogenesis of varicose veins in patients of different age groups.

Methods. The study included 43 patients. Three groups were identified: patients aged 30–44 years (11 patients, group 1), patients aged 45–59 years (18 individuals, group 2), patients aged 60–74 years (14 individuals, group 3). Alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity in vascular wall were determined spectrophotometrically in patients after phlebectomy. The content of tumor necrosis factor α and interleukin 1 β was measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. The highest alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity was detected in tissue samples taken from patients aged 60 to 74 years compared to those obtained from tissue samples from patients of other age groups. Determination of the concentration of IL-1 β also showed that the highest concentration of this parameter was found in patients aged 60–74 years, and reaches 13.2 ± 0.54 pg/g of tissue, which is significantly higher than in patients of other study groups. According to enzyme-linked immunosorbent assay for determining the content of tumor necrosis factor α in the test samples, increased concentration of this parameter was observed in age group 2, and decreased one in group 3.

Conclusion. Increased concentration of IL-1 β and alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity in the vascular wall of patients with varicose veins of the lower extremities positively correlates with the patient's age; concentration of tumor necrosis factor α increases in group 2 and decreases in study group 3, which indicates dysregulation of immuno-inflammatory reactions in the elderly.

Keywords: varicose veins, aminotransferase, pathogenesis, cytokines.

В последнее время отмечают увеличение частоты выявления варикозной болезни нижних конечностей, хотя ранее статистические данные указывали на 15–30% распространённости разных форм варикоза [1, 2–4]. Варикоз — стойкое и необратимое расширение подкожных вен с истончением

венозной стенки и образованием «узлов» в результате грубой патологии венозных стенок, а также недостаточности их клапанов вследствие генетических дефектов.

В основе этого заболевания лежит флегмопертензия, связанная с ответом клеток сосудистой стенки на воздействие повышенного давления в венозном русле [5, 6]. Установлено, что варикозное заболевание вен

нижних конечностей чаще встречается у людей женского пола и зависит от профессии человека, причём выявлена прямая зависимость частоты возникновения данной патологии от увеличения возраста пациента [7].

Нередко варикозное расширение подкожных вен нижних конечностей осложняется развитием тромботических процессов и становится предиктором трофических язв [8, 9]. Венозные тромбозомболические осложнения бывают ведущей причиной смертности и инвалидизации населения в России, Европе и США [6].

В настоящее время хроническую венозную недостаточность рассматривают как относительно самостоятельную патологическое состояние, и среди основных причин данной патологии выделяют каскад патологических изменений на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях, инициированный венозным стазом [2, 9, 4]. В последнее время уделяют большое внимание определению в плазме крови различных биохимических показателей, таких как фактор некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), матриксные металлопротеинзы (ММП), и изучению влияния этих молекул на различные метаболические процессы. Так, цитокины стимулируют синтез коллагена, эластина, активируют хемотаксис и митотическую активность гладкомышечных клеток, а в результате воздействия ММП, синтезируемых эндотелиоцитами и макрофагами, происходит деградация белков, формирующих межклеточный матрикс. Несмотря на то обстоятельство, что в отечественной и зарубежной литературе есть много данных об исследовании вышеперечисленных биохимических показателей у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей в плазме крови, содержание данных показателей непосредственно в сосудистой стенке практически не изучено.

Исходя из этого, целью нашего исследования были определение активности аминотрансфераз как показателя интенсивности деградации белков и оценка роли ФНО α и ИЛ-1 β в патогенезе варикозной болезни в варикозно расширенных участках вен у пациентов в разных возрастных группах.

Исследование выполнено с 2016 по 2017 гг. на кафедре биологической химии и кафедре хирургических болезней и клинической ангиологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России.

В ходе флэбэктомии с согласия пациентов было получено 43 фрагмента вен с варикозным расширением в средней трети бедра. Донорами были пациенты в возрасте от 30 до 74 лет. До начала исследования биологические образцы хранили при температуре -30°C , а затем полученные образцы ткани отмывали 0,9% раствором натрия хлорида и гомогенизировали в фарфоровой ступке с кварцевым песком с добавлением 3 мл 0,9% раствора натрия хлорида до гомогенного состояния. Полученные гомогенаты центрифугировали на аппарате Armed СН90-1S 5000 об./мин в течение 15 мин.

В надосадочной жидкости спектрофотометрическим методом определяли активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ; в МЕ/г ткани). Содержание ФНО α и ИЛ-1 β определяли методом иммуноферментного анализа (в пг/г ткани).

Все образцы тканей были разделены на группы по возрасту их доноров. В первую группу (n=11) были выделены образцы тканей, возраст доноров которых составил от 30 до 44 лет; во вторую группу (n=18) — от 45 до 59 лет, в третью (n=14) — от 60 до 74 лет.

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 8.0. Для выявления взаимосвязи между полученными параметрами применяли корреляционный анализ по Спирмену. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Изучение образцов вен с варикозным расширением показало, что наиболее высокая активность аминотрансфераз (АЛТ и АСТ) выявлена в образцах ткани, взятых у пациентов в возрасте от 60 до 74 лет, — по сравнению с данными, полученными в образцах тканей у пациентов других возрастных групп (табл. 1).

Таблица 1

Активность аминотрансфераз в исследуемых образцах ткани

Возрастные группы пациентов, годы	Аланинаминотрансфераза, МЕ/г ткани (M \pm m)	Аспаратаминотрансфераза, МЕ/г ткани (M \pm m)
30–44 (n=11)	15,1 \pm 0,89	10,4 \pm 0,94
45–59 (n=18)	46,5 \pm 0,67 $p_1 < 0,001$	24,3 \pm 0,41 $p_1 < 0,001$
60–74 (n=14)	59,4 \pm 0,74 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	35,9 \pm 0,65 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примечание: p_1 — статистическая значимость различий с показателями первой группы; p_2 — статистическая значимость различий с показателями второй группы.

Таблица 2

Показатели содержания цитокинов в исследуемых образцах ткани, пг/г ткани

Возрастные группы пациентов, годы	Содержание интерлейкина-1 β , пг/г ткани (M \pm m)	Фактор некроза опухоли α , пг/г ткани (M \pm m)
30–44 (n=11)	3,89 \pm 0,77	25,4 \pm 0,63
45–59 (n=18)	8,09 \pm 0,69 $p_1 < 0,001$	35,8 \pm 0,89 $p_1 < 0,001$
60–74 (n=14)	13,2 \pm 0,54 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	13,3 \pm 0,95 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примечание: p_1 — статистическая значимость различий с показателями первой группы; p_2 — статистическая значимость различий с показателями второй группы.

Определение количества ИЛ-1 β также показало, что наибольшая концентрация данного показателя выявлена у пациентов в возрасте 60–74 лет и достигает 13,2 \pm 0,54 пг/г ткани, что достоверно выше, чем у пациентов других исследуемых групп. По данным иммуноферментного анализа содержания ФНО α в исследуемых образцах отмечены увеличение содержания данного показателя во второй возрастной группе и снижение в третьей группе (табл. 2).

ВЫВОДЫ

1. Полученные данные свидетельствуют об изменении скорости метаболических процессов в сосудистой стенке у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей.

2. У пациентов всех возрастных групп отмечены активация процессов деградации белков и трансаминирования, нарастание воспалительной реакции, стимуляция нейтрофилов и клеток эндотелия, активация макрофагально-моноцитарной системы, что может изменить защитную адаптивную реакцию.

3. Повышение количества интерлейкина-1 β , активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в сосудистой стенке у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей имеет прямую зависимость от возраста пациента.

4. Количество фактора некроза опухоли α возрастает во второй группе со снижением

данного показателя в третьей, что свидетельствует о дисрегуляции иммуновоспалительных реакций в пожилом возрасте.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зуева Е.Е., Вахитов М.Ш., Миронова Л.С. Иммунологические аспекты ответа на ортостатическую нагрузку при осложнённой форме варикозной болезни вен нижних конечностей. *Мед. иммунол.* 2002; 4 (4): 601–608. [Zueva E.E., Vakhitov M.Sh., Mironova L.S. Immunological aspects of response to orthostatic stress in the complicated varicose disease. *Meditsinskaya immunologiya.* 2002; 4 (4): 601–608. (In Russ.)]
2. Пустошилова Н.М., Путинцева Н.И., Романов В.П., Сысоева Г.М. Фактор некроза опухолей и его рецепторы: современное состояние исследований и клиническое применение. *Успехи соврем. биол.* 2004; 124 (2): 169–184. [Pustoshilova N.M., Putintseva N.I., Romanov V.P., Sysoeva G.M. Tumornecrosis factor and its receptors: the current state of research and clinical application. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 2004; 124 (2): 169–184. (In Russ.)]
3. Waksman Y., Mashiah A., Hod I. Collagen subtype pattern in normal and varicose saphenous veins in humans. *Isr. J. Med. Sci.* 1997; (33): 6. PMID: 9254867.
4. Obi A.T. Venous endothelial dysfunction potentiates deep venous thrombosis in a mouse model of pneumonia. *J. Surg. Res.* 2014; 186 (2): 513. DOI: 10.1016/j.jss.2013.11.336.
5. Михин Н.А. Варикозное расширение вен нижних конечностей. *Бюлл. мед. Интернет-конференций.* 2015; 5 (5): 659–659. [Mikhin N.A. Varicose veins. *Byulleten' meditsinskikh Internet-konferentsiy.* 2015; 5 (5): 659–659. (In Russ.)]
6. Sisto T. Prevalence and risk factors of varicose veins in lower extremities. Finland Health Survey. *Eur. J. Surg.* 1995; (161): 405–414. PMID: 7548376.
7. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен. *Флебология.* 2013; 7 (2-2): 24–25. [Russian clinical guidelines on diagnosis and treatment of chronic venous diseases. *Flebologiya.* 2013; 7 (2-2): 24–25. (In Russ.)]
8. Савельев В.С., Гологорский В.А., Кириенко А.И. *Флебология. Руководство для врачей.* М.: Медицина. 2001; 664 с. [Savelyev V.S., Gologorskiy V.A., Kirienko A.I. *Flebologiya. Rukovodstvo dlya vrachey.* (Phlebology. A guide for doctors.) Moscow: Medicine. 2001; 664 p. (In Russ.)]
9. Кириенко А.И. Варикозная болезнь нижних конечностей у женщин и мужчин: данные проспективного observationalного исследования СПЕКТР. *Ангиол. и сосуд. хир.* 2012; 18 (3): 64–68. [Kirienko A.I. Varicose disease of the lower extremities in women and men: data from the prospective observational study SPECTR. *Angiologiya and sosudistaya khirurgiya.* 2012; 18 (3): 64–68. (In Russ.)]