

© Качинский А.Е., Никифорова Л.В., 2013
УДК: 616.14-007.64-089

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССАХ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

А.Е. Качинский,¹ Л.В. Никифорова²

ГБУ Рязанской области Областной клинический кардиологический диспансер (1)
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань (2)

В исследование, выполненное в соответствии с критериями ICH GCP, включены 127 больных варикозной болезнью (ВБ), поступивших на оперативное лечение в ГБУ РО «ОККД». Пациенты были разделены на 3 группы: первую (контрольную) – составили 14 волонтеров без признаков варикозной трансформации вен нижних конечностей, во вторую вошли 112 пациентов с ВБ, разделенной на три подгруппы, соответственно клиническим классам хронической венозной недостаточности (ХВН) 1 – С2, 2 – С3-С4, 3 – С5-С6 по классификации CEAP. Всем пациентам проведено комплексное исследование функционального состояния эндотелия (ФСЭ) по уровню его основных метаболитов: NO, эндотелина 1-21, молекул адгезии sICAM-1, sICAM-2, sICAM-3 и их топографическому распределению. У 15 пациентов с односторонним поражением исследовался уровень маркеров эндотелиальной дисфункции на здоровой и больной конечности, что позволило выделить третью группу пациентов.

На основании полученных данных можно судить, что проявления эндотелиальной дисфункции имеют прямую зависимость от клинических классов ХВН. Наибольшей чувствительностью обладают NO метаболиты, эндотелин 1-21, sICAM-1. При повышении класса ХВН нарастает гипофункция эндотелия варикозно измененных вен.

Ключевые слова: хроническая венозная недостаточность, эндотелиальная дисфункция, оксид азота, эндотелин, молекулы адгезии.

Новое понимание в патогенез варикозной болезни и хронической венозной недостаточности внесло активное изучение сосудистого эндотелия, породившее такое важное понятие, как «эндотелиальная дисфункция» [2]. В том, что термин «функциональное состояние эндотелия» в литературе не определен, в объяснении патогенеза многих сосудистых заболеваний данный термин употребляется весьма широко. Согласно современным представлениям функциональное состояние эндотелия во многом зависит от активности эндотелина-1-21 и NO [1,2,3,10]. В постоянной регуляции сосудистого тонуса основную роль играют оксид азота и эндотелины, которые являются антагонистами [9, 11].

Оксид азота синтезируется эндотелием и является сигнальной молекулой в сердечно-сосудистой системе – реакция сосудов определяется степенью образования NO. Состояние эндотелия при варикозной болезни продолжает существенно меняться после появления признаков хронической венозной недостаточности. Одним из возможных следствий изменения функции эндотелия может являться гипоплазия или аплазия эндотелия и как следствие – неконтролируемое и необратимое расширение вены, усугубление трофических изменений, высокий риск тромботических осложнений. Эндотелины – группа биологически активных пептидов широ-

кого спектра действия, являющихся одним из важнейших регуляторов функционального состояния эндотелия, морфологически сопряженных с кровью, с одной стороны, и с мышечной стенкой сосудов – с другой. Их вазоконстрикторные эффекты сопровождаются изменениями системной и регионарной гемодинамики [9, 11]. Взаимодействие лейкоцитов с эндотелием происходит посредством специальных адгезивных молекул sICAM-1, sICAM-2, sICAM-3, которые представлены как на эндотелиоцитах, так и на лейкоцитах. Основным регулятором процесса адгезии лейкоцитов является сам эндотелий. Адгезия лейкоцитов проходит в две стадии: стадия роллинга (прокатывания лейкоцитов вдоль эндотелия) и стадия плотной адгезии (остановки лейкоцитов). Эти стадии связаны с различными адгезивными молекулами, поскольку последовательность и время экспрессии молекул адгезии различно. Повышение адгезивности эндотелия имеет большое значение в патогенезе дисфункции эндотелия при воспалении, атеросклерозе, септическом шоке и других патологических процессах.

Цель исследования: изучение динамики основных маркеров эндотелиальной дисфункции и оценка их роли в формировании хронической венозной недостаточности у больных варикозной болезнью нижних конечностей. Также предпринята попытка прогнозирования течения заболевания в зависимости от изменений изучаемых показателей.

Материалы и методы

С применением современных лабораторных диагностических методов проведено комплексное исследование активных метаболитов эндотелия в крови больных варикозной болезнью.

Изучались содержание и топографическое распределение метаболитов NO, эндотелина 1-21, молекул адгезии sICAM-1, sICAM-2, sICAM-3.

В исследование были включены 112 больных варикозной болезнью, соответствующих клиническим классам С2-С6, согласно классификации CEAP.

Специального отбора пациентов не проводилось, обследовались все пациен-

ты, поступающие в отделение для планового хирургического лечения. У 15 пациентов с односторонним поражением исследовали уровень метаболитов на здоровой и больной конечности.

Контрольную группу составили 14 волонтеров без признаков варикозной трансформации вен нижних конечностей.

Женщин было 88, мужчин – 53.

Возраст пациентов колебался от 19 до 72 лет. Средний возраст составлял $45,5 \pm 16,5$ лет.

Забор крови осуществлялся из кубитальной вены и одновременно из варикозно трансформированной вены (или не измененной у волонтеров и пациентов с односторонним поражением) на голени.

Уровень метаболитов оксида азота определялся фотоколориметрическим методом: «Фотоколориметрический метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови» [4, 5, 6].

Уровень эндотелина 1-21 и молекул адгезии sICAM-1, sICAM-2, sICAM-3 определялся количественным иммуноферментным методом в сыворотке крови с помощью наборов фирмы Biomedica на иммуноферментных анализаторах Stat Fax 2100 и Stat Fax 2600.

Результаты и их обсуждение

В процессе исследования наиболее интересен оказался выведенный нами показатель «к», который определялся как уровень метаболита в варикозной вене к уровню метаболита в кубитальной вене. На наш взгляд он более объективно отражает выраженность дисфункции эндотелия, чем абсолютные числовые значения.

Как показали результаты наших исследований, в крови волонтеров показатели находились в пределах физиологических норм. Однако было выявлено повышение уровня метаболитов оксида азота в венах нижних конечностей в 1,45 раза ($k=1,45 \pm 0,26$).

Также отмечалось незначительное повышение уровня активности sICAM-1 ($k=1,23 \pm 0,05$) в венах нижних конечностей. Различий в содержании эндотелинов ($k=1 \pm 0,05$) и активности молекул адгезии sICAM-2 ($k=1,05 \pm 0,05$), sICAM-3 ($k=1 \pm 0,05$) обнаружено не было.

В группе больных варикозной болезнью изменения в анализах разительно отличались от контрольной группы. Особенно это касалось уровня оксида азота в крови. Это позволило ввести в эту группу три подгруппы соответствующие клиническим классам хронической венозной недостаточности 1 – С2, 2 – С3-С4, 3 – С5-С6. В крови пациентов 1 подгруппы, взятой из кубитальной вены уровень NO был $7,23 \pm 1,74$ мкМ и находился на уровне физиологической нормы и на уровне содержания этого маркера у волонтеров – $7,28 \pm 1,42$ мкМ. Однако уровень метаболитов оксида азота в крови, взятой из варикозной вены нижней конечности многократно превышал уровень маркера, полученного из крови верхней конечности и достигал $34,4 \pm 7,2$ мкМ. Таким образом, уровень метаболитов оксида азота в варикозно расширенной вене нижней конечности превысил их уровень в кубитальной вене в $4,76 \pm 1,21$ раза.

Уровень эндотелина 1-21 у пациентов этой подгруппы достигал $0,33 \pm 0,11$ ф/моль в крови из кубитальной вены и $0,59 \pm 0,12$ ф/моль в крови из варикозно расширенной вены нижней конечности. Следовательно превышение уровня эндотелина 1-21 в варикозно измененной вене было в $1,7 \pm 0,21$ раза больше чем в верхней конечности.

С молекулами адгезии наблюдалась следующая картина. У всех больных отмечалось превышение уровня sICAM-1 в варикозных венах по сравнению с венами верхних конечностей.

Показатель sICAM-1 в крови кубитальной вены составлял $280 \pm 21,5$ нг/мл, в варикозной вене $325 \pm 19,5$ нг/мл, превышение – в $1,16 \pm 0,12$ раза. Также отмечалось повышение абсолютных значений этого маркера с $202,5 \pm 19,5$ до $280 \pm 21,5$ нг/мл в кубитальной вене и с $250 \pm 19,0$ до $325 \pm 19,5$ нг/мл в варикозно расширенной вене.

Отношение уровней sICAM-2 в кубитальной и варикозно расширенной вене оставалось практически одинаковым, хотя абсолютное значение возросло в кубитальной вене с $332,0 \pm 8,42$ до $406,0 \pm 9,1$ Е/мл и варикозной вене с $347,5 \pm 9,21$ Е/мл до $414,3 \pm 12,13$ Е/мл.

Не изменялось отношение уровней активности sICAM-3 в кубитальной и варикозной вене с незначительным повышением активности с $41,9 \pm 2,0$ до $45,8 \pm 1,8$ нг/мл.

В подгруппе соответствующей клиническим классам С3 – С4 отмечалось снижение абсолютных значений уровня всех исследуемых маркеров.

Наиболее значимые изменения произошли с метаболитами оксида азота, эндотелином 1-21, и sICAM-1.

Для данных маркеров отмечалось значительное снижение активности в варикозно расширенных венах. Так у оксида азота отношение уровня метаболитов в кубитальной вене по отношению к варикозной снизилось с $4,76 \pm 1,21$ до $2,33 \pm 0,49$, у эндотелина 1-21 с $1,7 \pm 0,21$ до $1,33 \pm 0,14$, у sICAM-1 с $1,16 \pm 0,1$ до $1 \pm 0,05$.

У молекул sICAM-2 и sICAM-3 при общем незначительном снижении активности отношения между исследуемыми значениями не изменились.

У больных с клиническим классом С5 – С6 продолжал более значительно снижаться абсолютный уровень метаболитов оксида азота, эндотелина 1-21, и sICAM-1 в варикозных венах и отношения уровней активности в венах нижних и верхних конечностей становился: $1,36 \pm 0,21$ у метаболитов оксида азота, $0,87 \pm 0,05$ у эндотелина 1-21 и $0,96 \pm 0,07$ у sICAM-1.

Те же тенденции только менее выраженные сохранились у маркеров sICAM-2 и sICAM-3.

В 3 группе уровень исследуемых маркеров в здоровой конечности был аналогичен их уровню у волонтеров. Уровень показателей и полученные коэффициенты на пораженной конечности совпадают с показателями из 2 группы.

Все данные суммированы в таблице.

Резюмируя вышеизложенное, можно выделить следующие закономерности в течении варикозной болезни с точки зрения изучения эндотелиальной дисфункции.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности локального ответа эндотелия, т.к. наиболее выраженные изменения произошли в варикозных венах, при практически неизменном системном уровне исследуемых

Таблица

Уровень маркеров эндотелиальной дисфункции (p<0,05)

Группа		Оксид Азота (мкМ)	к	Эндотелин 1-21 (фмоль/л)	к	sICAM-1 (нг/мл)	к	sICAM-2 (Е/мл)•	к	sICAM-3 (нг/мл) •	к
1 контроль	Рука Нога	7,28 ± 1,46 10,6 ± 1,37	1,45 ± 0,26	0,28 ± 0,05 0,28 ± 0,05	1 ± 0,05	202,5 ± 19,5 250 ± 19,0	1,23 ± 0,07	332 ± 8,4 347,5 ± 9,2	1,05 ± 0,03	41,9 ± 3,4 43,1 ± 3,9	1,03 ± 0,05
2 C2	Рука Нога	7,23 ± 1,74 31,04 ± 5,2	4,76 ± 1,21	0,34 ± 0,07 0,51 ± 0,06	1,7 ± 0,21	290 ± 21,5 325 ± 19,5	1,12 ± 0,06	406 ± 9,1 414,3 ± 12,1	1,02 ± 0,02	45,7 ± 4,2 45,8 ± 4,3	1,0 ± 0,05
	С3-С4	Рука Нога	10,11 ± 1,40 23,58 ± 3,84	2,33 ± 0,49	0,36 ± 0,03 0,48 ± 0,05	1,33 ± 0,14	320 ± 15,7 319,5 ± 16,0	1 ± 0,04	352,9 ± 6,2 359,58 ± 5,4	1,02 ± 0,02	42,8 ± 3,9 45,7 ± 4,6
С5-С6	Рука Нога	10,78 ± 1,76 14,66 ± 1,93	1,36 ± 0,21	0,30 ± 0,03 0,26 ± 0,01	0,87 ± 0,05	307,5 ± 11,0 296,5 ± 9,5	0,96 ± 0,03	347,6 ± 5,9 345,7 ± 6,1	0,99 ± 0,03	44,8 ± 3,8 45,2 ± 4,1	1,01 ± 0,05
3	Рука	4,78 ± 0,92		0,26 ± 0,02		255,0 ± 11,5		364,4 ± 10,8		43,7 ± 3,3	
	Зд. нога	7,68 ± 1,39	1,61 ± 0,35	0,29 ± 0,01	1,11 ± 0,07	307 ± 12,0	1,20 ± 0,12	397,3 ± 11,2	1,1 ± 0,05	46,1 ± 4,3	1,05 ± 0,05
	Пор. нога	14,06 ± 1,89	2,94 ± 0,69	0,34 ± 0,02	1,29 ± 0,08	316 ± 10,0	1,01 ± 0,04	387,1 ± 11,7	1,06 ± 0,05	46,0 ± 4,0	1,05 ± 0,05

•изменения недостоверные

двух маркеров: у здоровых в венах нижних конечностей уровень оксида азота повышен на 35-50% по сравнению с кубитальной веной, у больных на 200-300%, следовательно можно говорить о локальном ответе.

Наиболее высокие показатели, характерные для выраженной дисфункции эндотелия наблюдаются при начальных стадиях варикозной болезни. При прогрессировании заболевания показатели и выведенные коэффициенты снижались и приходили к значениям, полученным у здоровых волонтеров. Однако это свидетельствует не о нормализации функции эндотелия, а о прогрессировании его дисфункции, связанной по-видимому с продолжающейся гипоплазией и последующей атрофией эндотелия в пораженных (склерозированных) венах. Следовательно клиническая картина осложненной варикозной болезни в сочетании с нормальными значениями уровня маркеров может свидетельствовать о глубоких, необратимых нарушениях функции эндотелия.

Биологические эффекты оксида азота включают: вазодилатацию, ингибирование адгезии и агрегации тромбоцитов, подавление адгезии моноцитов и лейкоцитов к эндотелию. Оксид азота также снижает пролиферацию гладкомышечных клеток, обеспечивает обезвреживание свободных радикалов, ингибирует окисление липопротеинов низкой плотности. Следовательно, напрашивается вывод о том, что высокий уровень оксида азота препятствует адгезии моноцитов на стенках вены (нормальный уровень молекул адгезии). При морфологических исследованиях (более 1 тыс.) лейкоцитарная инфильтрация стенки и клапанов не обнаружена [7]. Также возможно, что именно оксид азота является тем эндогенным фактором, который препятствует тромбообразованию в варикозно расширенных венах, несмотря на имеющуюся триаду Вирхова.

Оксид азота помимо описанных положительных свойств является функциональным антагонистом Э-1-21. Незначительное возрастание концентрации эндотелина в начальных стадиях варикозной болезни свидетельствует о углублении дисбаланса NO/эндотелин и свидетельст-

вует о прогрессировании ХВН. Высокая концентрация NO способствует вазодилатации и, следовательно, может выступать в качестве предиктора ХВН. Также нельзя забывать, что распространенное в физиологических условиях проявление цитотоксического действия высоких концентраций NO – это инициация апоптоза [8].

Самый известный из эндотелинов – эндотелин-1 – в настоящее время имеет смысл рассматривать не только как маркер и предиктор тяжести и исхода ишемической болезни сердца, в частности острого инфаркта миокарда (ИМ), нарушений ритма сердца, легочной и системной гипертензии, атеросклеротического повреждения сосудов, специфических сосудистых нарушений (рестеноз после коронарной ангиопластики) [11], но и как маркер варикозной болезни и один из предикторов развития ХВН.

Приведённые данные свидетельствуют об адаптивных изменениях в стенке вены при хронической венозной недостаточности, комплексный анализ указанных параметров позволяет наметить пути коррекции патологических изменений, оценив индивидуальные изменения изучаемых показателей.

На основании полученных данных можно говорить о возможной скорости прогрессирования заболевания. Высокий уровень метаболитов оксида азота в варикозно измененной вене при одинаковой клинической картине наблюдается при быстро прогрессирующем течении болезни.

Выводы

1. При хронической венозной недостаточности возможен локальный ответ эндотелия.
2. Эндотелиальная дисфункция является одним из пусковых моментов развития хронической венозной недостаточности.
3. Оксид азота и эндотелин 1-21 являются маркерами хронической венозной недостаточности.
4. Значительное повышение в венах нижних конечностей уровня оксида азота наряду с угнетением биосинтеза эндотелинов является предиктором варикозной болезни.
5. Динамика показателей содержания и активности молекул адгезии не по-

звояет судить об их роли в возникновении «лейкоцитарной агрессии».

б. При повышении класса ХВН нарастает гиподисфункция эндотелия варикозно измененных вен на фоне его гипотрофии с последующей атрофией.

Литература

1. Григорьев Н.Б. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств / Н.Б. Григорьев, В.Г. Граник. – М.: Вузовская книга, 2004. – 360 с.
2. Киричук В.Ф. Дисфункция эндотелия / В.Ф. Киричук, П.В. Глыбочко, А.И. Пономарева. – Саратов: Изд-во Саратов. мед. ун-та, 2008. – 129 с.
3. Малкоч А.В. Физиологическая роль оксида азота / А.В. Малкоч, В.Г. Майданник, Э.Г. Курбатова // Нефрология и гемодиализ. – 2000. – Т. 2, №1-2. – Ч. I. – С. 27-30.
4. Метельская В.П. Скрининг – метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В.П. Метельская, Н.Г. Чуманова // Клинич. лаб. диагностика. – 2005. – №6. – С. 15-18.
5. Фотоколориметрический метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / Р.Е. Калинин [и др.] // Астраханский мед. журн. – 2010. – Т. 5, № 1 (Прил.). – С. 188-189. – (Прил. к журн.: Материалы 7-й Международ. науч.-практ. конф. «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины» (Астрахань, 2010)).
6. Фотоколориметрический метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови: рационализаторское предложение № 1317 / Р.Е. Калинин, В.И. Звягина, А.С. Пшенинников. – Рязань, 2011.
7. Швальб П.Г. Морфологические основы классификации СЕАР и их терапевтическое значение / П.Г. Швальб, А.П. Швальб, А.Е. Качинский // Флебология. – 2012. – №3. – С. 10-14.
8. Apoptosis: basic concepts and implications in coronary artery disease / P.J.M. Best [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 1999. – Vol. 19. – P. 14-22.
9. Ignarro J. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide / J. Ignarro // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1990. – Vol. 30. – P. 535-560.
10. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling / F. Murad // Biosci. Rep. – 1999. – Vol. 19, №3. – P. 133-154.
11. Nitric oxide and endothelin in pathophysiological settings / T.E. Hanley [et al.] // Pediatr. Nephrol. – 1995. – Vol. 9, №2. – P. 235-244.

FUNCTIONAL STATE OF ENDOTHELIUM IN DIFFERENT CLASSES OF CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY

A.E. Kachinskiy, L.V. Nikiforova

The study was completed according to ICH GCP criteria and included 127 patients with varicose disease admitted to Ryazan Regional Clinical Cardiological Dispensary in order to undergo surgical treatment. The patients were divided into three groups: the first (control) group included 14 healthy volunteers with no signs of varicose veins of lower extremities, the second group included 112 patients with varicose disease divided into three subgroups according to the CEAP classification clinical class of chronic venous insufficiency (CVI): 1st – C2, 2nd – C3-C4, 3rd – C5-C6. All patients underwent a comprehensive analysis of functional state of endothelium (FSE) according to the level of its main metabolites: nitric oxide II (NO), endothelin 1-21, adhesion molecules sICAM-1, sICAM-2, sICAM-3, and their topographic distribution. The level of endothelial dysfunction markers was studied in 15 patients with unilateral varicose disease in both healthy and affected extremity, which allowed for including them into the third group of patients.

The results of the study suggest that the manifestation of endothelial dysfunction has the direct relationship with clinical classes of CVI. NO metabolites, endothelin 1-21, sICAM-1 had the highest sensitivity. The higher the CVI class, the higher the hypofunction of endothelium of varicose veins.

Key words: *chronic venous insufficiency, endothelial dysfunction, nitric oxide, endothelin, adhesion molecules.*

Качинский А.Е. – к.м.н., сосудистый хирург ГБУ РО Областного клинического кардиологического диспансера.
390026, г. Рязань, ул. Стройкова, д. 96.
E-mail: aekachinskiy10@rambler.ru.

Никифорова Л.В. – старший научный сотрудник ЦНИИЛ ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 7 корп. 1.
E-mail: laris-nikiforowa@yandex.ru.