

## Динаміка ендотеліальної дисфункції після прямих методів реваскуляризації з приводу хронічної ішемії нижніх кінцівок

В. І. Русин<sup>1</sup>, В. В. Корсак<sup>1</sup>, Ф. В. Горленко<sup>1</sup>, А. Ю. Кенідра<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ужгородський національний університет,  
<sup>2</sup>Закарпатський обласний клінічний онкологічний диспансер, м. Ужгород

## Dynamics of endothelial dysfunction after direct methods of revascularization for chronic ischemia of the lower extremities

V. I. Rusyn<sup>1</sup>, V. V. Korsak<sup>1</sup>, F. V. Horlenko<sup>1</sup>, A. Yu. Kenidra<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uzhgorod National University,  
<sup>2</sup>Zakarpattia Regional Clinical Oncological Dispenser, Uzhgorod

### Реферат

**Мета.** Вивчити динаміку ендотеліальної дисфункції у хворих з дистальними формами ураження артеріального русла до та після відновлення плинності крові.

**Матеріали і методи.** Вивчено та проаналізовано результати комплексного обстеження 30 хворих, прооперованих у відділенні судинної хірургії Закарпатської обласної клінічної лікарні імені Андрія Новака з 2012 по 2018 р. з приводу хронічної ішемії нижніх кінцівок (НК): ІІБ ступінь ішемії був у 17 (56,7%) пацієнтів, ІІІА – у 13 (43,3%). Усім хворим виконано стегново–підколінне шунтування. У всіх хворих до та через 30 днів після оперативного втручання забирали вену крові з подальшим визначенням кількості десквамованих ендотеліоцитів (ДЕТ), за якою судили про ступінь ендотеліальної дисфункції.

**Результати.** Зменшення кількості ДЕТ з  $(6,12 \pm 0,21)$  до  $(3,9 \pm 0,08) \times 10^5$  в 1 л плазми після виконання прямих методів реваскуляризації з приводу хронічної ішемії НК свідчить про достовірне зниження ступеня ендотеліальної дисфункції ( $p < 0,001$ ).

**Висновки.** Переважання процесів регенерації над виявленням апоптозних ендотеліоцитів в інтимі судин та кількості ДЕТ свідчить про зниження ступеня ураження судин, позитивний динамічний ангиогенез та ефективність проведеного лікування.

**Ключові слова:** облітеруючий атеросклероз судин нижніх кінцівок; хронічна ішемія нижніх кінцівок; ендотеліальна дисфункція; десквамовані ендотеліоцити; стегново–підколінне шунтування.

### Abstract

**Objective.** To study up the endothelial dysfunction in patients with distal forms of the arterial bed affection before and after the blood flow restoration.

**Materials and methods.** The results of complex examination of 30 patients, who were operated in Department of Vascular Surgery of Zakarpattia Regional Clinical Hospital named after Andriy Novak in 2012 – 2018 yrs for chronic ischemia of the lower extremities (the ischemia of IIB degree was in 17 (56.7%) patients, and IIIA – in 13 (43.3%) were studied and analyzed. In all the patients a femoro–popliteal shunting was performed. A venous blood was probed with further determination of the desquamated endotheliocytes (DE) quantity, in accordance to which the endothelial dysfunction degree was calculated in all the patients before and 30 days after the operation performance.

**Results.** Reduction of the DE quantity from  $(6.12 \pm 0.21)$  to  $(3.9 \pm 0.08) \times 10^5$  in 1 l of plasma after performance of direct methods of revascularization for the lower extremities chronic ischemia witnesses a trustworthy lowering of the endothelial dysfunction degree ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion.** Prevailing of regeneration processes over detection of apoptotic endotheliocytes in the vessels intima and the DE quantity witnesses the lowering of the vascular affection degree, positive dynamical angiogenesis and efficacy of the treatment conducted.

**Keywords:** obliterating atherosclerosis of the lower extremities vessels; chronic ischemia of lower extremities; endothelial dysfunction; desquamated endotheliocytes; femoro–popliteal shunting.

У 1883 р. Жан Лобштейн увів у клінічну практику термін «атеросклероз», і лише у середині 1970–х рр. Рассел Росс запропонував теорію розвитку атеросклерозу як локального запального процесу в ендотеліальному шарі стінки артерій [1, 2]. Згідно з однією з найпопулярніших теорій розвитку атеросклерозу в даний час цей патологічний процес розглядають як реакцію на ушкодження ендотелію, розуміючи під ушкодженням ендотелію не механічну травму, а його дисфункцію [3].

За даними літературних джерел увага науковців усього світу зосереджена на дослідженнях, об'єктом яких є ендотелій як орган–мішень, що найбільш рано ушкоджується, та як ключова ланка патогенезу захворювань [4]. Ендотелій – це активний ендокринний орган, один з найбільших в організмі, який дифузно розсіяний разом із судинами по всіх тканинах. Ендотелій, який розподілений по всьому тілу, по суті, є органом з величезною поверхнею. У цілому він є диференційованою структурою. Ендотеліоцити,

його складові, виконують в організмі певні специфічні функції. Він є частиною й об'єктом управління системи кровообігу. За визначенням гістологів ендотелій – моношар спеціалізованих клітин, що вистилають все серцево–судинне дерево зсередини, маса якого близько 1,8 кг. Це один трильйон клітин із різноплановими біохімічними функціями, які включають системи синтезу білків та низькомолекулярних речовин, рецептори, іонні канали [5].

Серед численних функцій ендотелію основними є такі: участь у здійсненні транспортних функцій системи кровообігу; участь у модифікації біоактивних речовин, зокрема, перетворення прогормонів на гормони; участь у підтримці необхідного рівня в'язкості крові і зупинці кровотечі (гемостаз): ендотелій секретує і виводить ряд речовин, які перешкоджають згортанню крові і забезпечують низьку в'язкість крові, необхідну для безперешкодного кровотоку, та які сприяють згортанню крові у разі кровотечі; участь у регулюванні тонуусу судин, а отже, у регулюванні кровотоку: ендотелій секретує і виводить ряд речовин, які як звужують (вазоконстриктори), так і розширюють (вазодилататори) просвіт кровоносних судин, і в такий спосіб, за інших рівних, змінюють об'ємну швидкість кровотоку по цих судинах; участь у здійсненні ряду захисних функцій системи крові – в організації запалення, алергії і імунітету: ендотелій секретує і виводить ряд речовин, що активують вихід лейкоцитів з кров'яного русла, їх міграцію до місця потенційного патологічного вогнища і участь в організації запалення [6, 7].

У хірургічній практиці процеси ангиогенезу є дуже важливими для прогнозування результатів оперативного втручання на судинах. У людському організмі ендотеліальні клітини утворюють нові капіляри там, де в них є потреба. Такий феномен супроводжує процес загоєння ран у ділянці, що прилягає до пошкодженої тканини, відбувається короткочасний «спалах» утворення капілярів.

Порушення функціонального стану ендотелію призводять до порушення балансу між вазоконстрикторними і вазодилаторними факторами регуляції судинного тонуусу, трофіки судинної стінки, збільшення агрегації тромбоци-

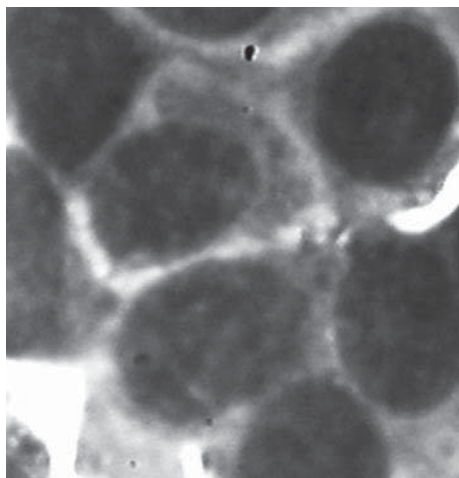
тів і посилення проліферації судинної стінки [8, 9]. У той же час у доступній літературі надзвичайно мало публікацій, пов'язаних з вивченням ендотеліальної дисфункції у хворих з ішемією НК до та після відновлення плинину крові.

Мета дослідження: вивчити динаміку ендотеліальної дисфункції у хворих з дистальними формами ураження артеріального русла до та після відновлення плинину крові.

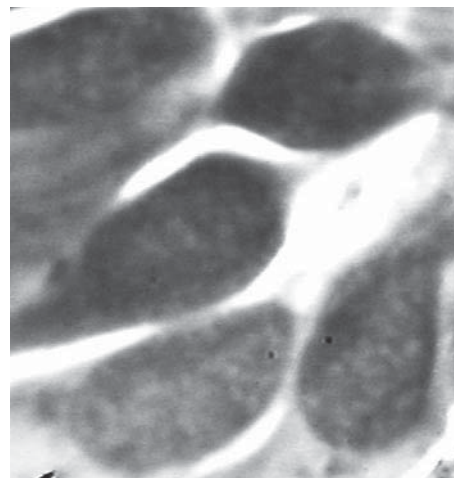
#### **Матеріали і методи дослідження**

Вивчено та проаналізовано результати комплексного обстеження 30 хворих, прооперованих у відділенні судинної хірургії Закарпатської обласної клінічної лікарні імені Андрія Новака з 2012 по 2018 р. з приводу хронічної ішемії НК при облітеруючому атеросклерозі з оклюзією стегново–підколінного сегмента. У 17 (56,7%) пацієнтів був ІІБ ступінь ішемії, у 13 (43,3%) – ША. Всім хворим виконано стегново–підколінне шунтування: у 20 (66,7%) – вище щілини колінного суглоба, у 10 (33,3%) – нижче. Як шунт використали велику підшкірну вену після реверсії. Середній вік пацієнтів становив  $(56,32 \pm 1,09)$  року.

У всіх пацієнтів до та через 30 днів після оперативного втручання забирали венозну кров з подальшим визначенням кількості ДЕТ (з урахуванням морфометричної характеристики), за якою судили про ступінь ендотеліальної дисфункції. Приховану ендотеліальну дисфункцію діагностують в такий спосіб: на область плеча накладають манжету, в якій, нагнітаючи повітря, створюють позитивний тиск, що перевищує систолічний артеріальний тиск на 5,3 – 6,7 кПа (40 – 50 мм рт. ст.). Через 4 хв здійснюють декомпресію, після чого забирають кров з ліктьової вени і визначають кількість ДЕТ за методом J. Hladovec у перерахунку на 1 л плазми. У разі виявлення фрагментів ендотелію підраховують клітини, які складають даний фрагмент. Отримані результати порівнюють з вихідною кількістю ендотеліальних клітин. Ушкодження ендотелію оцінювали за наявністю ДЕТ у плазмі крові пацієнтів у кількості, яка перевищує  $2,77 \times 10^5$  в 1 л плазми. Спосіб має високу чутливість і уможливило діагностувати приховану ендотеліальну дисфункцію (Пат. RU (11)2234094(13)C2). Для



**а**



**б**

*Мікрофото.  
Препарат ДЕТ до (а) та після (б) оперативного втручання.  
Фарбування за Паттенгеймом. Зб.  $\times 100$ .*

виявлення кількості ДЕТ у судинах використовували мікроскоп MicrosMCX–100 Daffodil із збільшенням 1:100 та попереднім фарбуванням мазка крові за Паппенгеймом.

### Результати

На початку дослідження кількість ДЕТ у хворих перевищувала референтні значення –  $(3,22 \pm 0,39) \times 10^5$  в 1 л плазми та у разі компресії збільшувалась у 2 рази –  $(6,12 \pm 0,21) \times 10^5$  в 1 л плазми ( $p < 0,001$ ), що підтверджувало наявність ендотеліальної дисфункції.

Значне підвищення кількості ДЕТ у крові після проби з компресією судин плеча вказує на їх тенденцію до десквамації при незначному механічному впливі (зовнішньому – компресія; внутрішньому – напруга зсуву після декомпресії), що є свідченням дисфункції ендотелію. Після оперативного втручання та проведення проби з компресією судин плеча кількість ДЕТ значно знижувалась – відповідно  $(2,81 \pm 0,18)$  та  $(3,9 \pm 0,08) \times 10^5$  в 1 л плазми ( $p < 0,001$ ). Вона не досягала референтних величин, але тенденція до зниження була виражена.

На підставі комплексу загальноклінічних і спеціальних методів дослідження було підтверджено наявність у пацієнтів ендотеліальної дисфункції.

Під час морфометричного дослідження ендотеліоцитів до оперативного втручання (*див. рисунок, а*) спостерігали виражений поліморфізм та проліферацію клітин, нуклеоли візуалізувались, хроматин був грубозернистий, ядро займало практично всю цитоплазму. У препаратах ДЕТ після відновлення плинності крові в кінцівці нуклеоли практично не візуалізувались, з'явилися клітини з овоїдними та видовженими ядрами і більш розвинутою цитоплазмою, хроматин був ніжний (*див. рисунок, б*).

### Обговорення

Як відомо, ендотелій судин регулює місцеві процеси гемостазу, проліферації, міграції клітин у судинну стінку і судинний тонус. Під дисфункцією ендотелію розуміють дисбаланс між факторами, що забезпечують всі ці процеси. Фіксація ендотеліоцитів до базальної мембрани здійснюється за допомогою вітронектина, фібронектина, кадгеринів і більш ефективна у молодих клітин. Процес десквамації відображає оновлення ендотелію, який втратив здатність виконувати притаманні йому функції через старіння або вплив шкідливих факторів. В основі десквамації ендотелію лежать активація протеїназ, некроз і/або апоптоз ендотеліоцитів. У разі ушкодження апоптозу порушується функціонування протеїнів, які забезпечують з'єднання ендотеліоцитів з базальною мембраною, що призводить до їх десквамації. ДЕТ у крові перебувають близько 24 – 42 год, протягом цього часу відбувається їх захоплення й руйнування макрофагами печінки, легенів і селезінки. Апоптозу та некрозу ендотеліоцитів, підвищенню продукції протеїназ, розриваючи з'єднання ендотеліоцитів, сприяють провокаційні цитокіни, вільні радикали й активні форми кисню. Джерелом цих біологіч-

но активних речовин можуть бути лейкоцити, особливо адгезовані на ендотеліоцитах, що підтверджує запальну відповідь організму [10, 11].

Проведені дослідження дають підстави вважати, що збільшення кількості циркулюючих ДЕТ понад  $2,77 \times 10^5$  в 1 л плазми після проби з короткочасною компресією судин плеча є діагностичним критерієм ендотеліальної дисфункції.

### Висновки

1. Зменшення кількості ДЕТ з  $(6,12 \pm 0,21)$  до  $(3,9 \pm 0,08) \times 10^5$  в 1 л плазми після виконання прямих методів реваскуляризації з приводу хронічної ішемії НК вказує на достовірне зниження рівня ендотеліальної дисфункції ( $p < 0,001$ ).

2. Переважання процесів регенерації над виявленням апоптозних ендотеліоцитів в інтимі судин та кількості ДЕТ свідчить про зниження ступеня ураження судин, позитивний динамічний ангиогенез та ефективність проведеного лікування.

### References

- Nazarova YeS, Marchenko AV. Otdalennye rezultaty konservativnogo lecheniya bolnykh s obliteriruyushchim aterosklerozom arteriy nizhnikh konechnostey // Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova. 2006;4(165):74–6. [In Russian].
- Vinnik YuS, Dunaevskaya SS, Podrezenko YeS. Kachestvo zhizni patientov s obliteriruyushchim aterosklerozom sudov nizhnikh konechnostey po dannym oprosnika SF–36. Fundamentalnye issledovaniya. 2015;1–3:467–9. [In Russian].
- Kade AKh, Çanin SA, Gubareva YeA, Turovaya AYU, Bogdanova YuA, Apsalyamova SO, et al. Fiziologicheskie funktsii sosudistogo endoteliya. Fundamentalnye issledovaniya. 2011;11–3:611–7. [In Russian].
- Martynov AI, Avetyak NG, Akatova YeV, Gorokhovskaya TN, Romanovskaya GA. Endotelialnaya disfunktsiya i metody ee opredeleniya. Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal. 2005;4(54):94–8. [In Russian].
- Yushchuk YeN, Vasyuk YuA, Khadzegova AB, Filippov PG, Ivanova SV, Shkolnik YeL, et al. Endotelialnaya disfunktsiya pri zabolovaniiakh serdechno–sosudistoy sistemy i metody ee korrektsii. Klinicheskaya farmakologiya i terapiya. 2005;14(3):85–8. [In Russian].
- Tabarov MS, Toshtemirova ZM, Saidmuradova RA [i dr.]. Uchast v zdysnennii angiogenezu yak v embrionalnomu rozvitku, tak i pri regeneratsii tkalin pisllya poshkodzhennya. Fiziologiya i patologiya endoteliya. Vestnik Avitsenny. 2012;(2):196–202. [In Russian].
- Wassel CL, Berardi C, Pankow JS, Larson NB, Decker PA, Hanson NQ, et al. Soluble P–selectin predicts lower extremity peripheral artery disease incidence and change in the ankle brachial index: the Multi–Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). Atherosclerosis. 2015 Apr;239(2):405–11. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.022. Epub 2015 Jan 28.
- Titov VN. Anatomicheskie i funktsionalnye osnovy endoteliy–zavisimoy vazodilatatsii, oksid azota i endotelin. Ros kardiologicheskiy zhurnal. 2008;(1):71–85. [In Russian].
- Pokrovskiy VI, Vinogradov NA. Oksid azota, ego fiziologicheskie i patofiziologicheskie svoystva. Terapevt arkhiv. 2005;(1):82–7. [In Russian].
- Cho YI, Cho DJ, Rosenson RS. Endothelial shear stress and blood viscosity in peripheral arterial disease. Curr Atheroscler Rep. 2014 Apr;16(4):404. doi: 10.1007/s11883–014–0404–6.
- Inzhutova AI, Petrova MM. Rol endotelialnoy disfunktsii v formirovanii i progressirovanii serdechno–sosudistoy patologii. Problemy zhenskogo zdorovya. 2011;6(1):59–66. [In Russian].