

УДК 616.14-008.64-036.12:616.5-002.44-02:616.14-007.64:616.14.018.74-008.6]-074-092.19

В.І. РУСИН, В.В. КОРСАК, В.В. РУСИН, С.С. КАЛИНИЧ, О.М. КОЧМАРЬ

*Ужгородський національний університет, медичний факультет, кафедра хірургічних хвороб, Ужгород***РЕОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ ЗМІНИ І ПОКАЗНИКИ ЗАПАЛЕННЯ ТА ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ ДЕКОМПЕНСОВАНІЙ ХРОНІЧНІЙ ВЕНОЗНІЙ НЕДОСТАТНОСТІ**

Проаналізовано результати обстеження реологічних та імунологічних змін крові, а також вивчено показники запалення та ендотеліальної дисфункції у 47 хворих із хронічною венозною недостатністю, що виникла на основі варикозної хвороби в стадії декомпенсації. Встановлено, що міжнародне нормалізоване відношення (МНВ) та фібринолітична активність у таких пацієнтів у регіональному кровоплинні значно знижені, що створює умови для виникнення тромботичних ускладнень. Доведено, що в зоні патологічного джерела у венозній стінці та в оточуючих вену тканинах спостерігається аутоімунна агресія, завдяки якій створюються сприятливі умови для індурації тканин із наступним порушенням їх мікроциркуляції і трофіки. Встановлено, що збільшення фактора фон Віллебранда може слугувати маркером не тільки ендотеліальної дисфункції, але і гострого варикотромбофлебіту у хворих з відкритими трофічними виразками.

Ключові слова: хронічна венозна недостатність, трофічні венозні виразки, реологічні зміни, імунологічні зміни, показники запалення, показники ендотеліальної дисфункції.

Вступ. Хронічна венозна недостатність нижніх кінцівок (ХВН) – глобальна медико-соціальна проблема сучасності. ХВН нижніх кінцівок відносно самостійний патологічний стан (симптомокомплекс), в основі якого лежить низка патологічних змін на молекулярному, клітинному і тканинному рівнях, який викликається венозним стазом, що призводить до дезорганізації регіонарної системи мікроциркуляції [2, 3].

Висока частота незадовільних результатів лікування хворих з хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок із венозними трофічними виразками пояснюється тим, що при даній патології відбуваються зміни мікроциркуляторного русла, подовжуються фази запалення і регенерації, гальмується проліферація фібробластів і знижується синтез ДНК, РНК, глікопротеїдів і колагену, що, в свою чергу, затримує формування грануляційної тканини і епітелізацію виразок. Зміни у венозній системі призводять до різних за важкістю і розповсюдженістю вторинних змін у лімфатичній системі [1, 5].

Загальноприйнято, що варикозно змінені вени стають підґрунтям для тромбозу. Створюється комплекс для прогресування тромботичного процесу завдяки статичному перенавантаженню, пошкодженню ендотелію вени, неспроможності клапанного апарату та гіперкоагуляції [6].

Мета дослідження. Для покращення діагностики та лікування ХВН в стадії декомпенсації вивчити реологічні, імунологічні зміни в загальному та регіональному кровоплинні та показники запалення та ендотеліальної дисфункції в залежності від ускладненого перебігу захворювання на гострий варикотромбофлебіт.

Матеріали та методи. В хірургічній клініці Закарпатської обласної клінічно лікарні імені Андрія Новака м. Ужгород із січня 2014 по січень 2015 року проліковано 47 хворих із хронічною

венозною недостатністю, що виникла на основі варикозної хвороби в стадії декомпенсації С6 згідно з класифікацією СЕАР. Хворі були поділені на дві групи. Першу групу склали 20 хворих із відкритими трофічними виразками, другу групу – 27 хворих, у яких основне захворювання ускладнилося гострим стовбуровим поверхневим варикотромбофлебітом (ГВТФ) великої підшкірної вени. Контрольну групу склали 10 пацієнтів із варикозною хворобою С4 згідно з класифікацією СЕАР.

В першій групі було 18 жінок та 2 чоловіків, у другій – 24 жінки та 3 чоловіків, у контрольній групі – 7 жінок та 3 чоловіків.

Трофічні виразки площею до 10 см² в першій групі спостерігалися у 7 пацієнтів, у другій групі – у 11, до 50 см² – в першій групі спостерігалися у 10 пацієнтів, у другій групі – у 12, понад 50 см² – в першій групі спостерігалися у 3 пацієнтів, у другій групі – у 4.

Для визначення стану гемокоагуляції у всіх хворих вранці проводили забір крові із ліктьової вени (центральний кровоплин), а також із стегнової вени ураженої кінцівки (регіональний кровоплин) для визначення коагулограми, клітинної та гуморальної ланки імунітету в центральному та регіональному кровоплинні.

Дослідження клітинної ланки імунітету виконували у всіх хворих визначенням кількості Т-лімфоцитів методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Е-рок). В пробірку вносили 0,1 мл суспензії лімфоцитів і змішували з рівним об'ємом 1% суспензії еритроцитів барана. Суміш інкубували в термостат при 37° С протягом 10 хвилин, прокручували в центрифугі при 1000 об/хв. протягом 5 хвилин, витримували в холодильнику при 4° С упродовж години. Потім фіксували суспензію в глутаровому альдегіді (0,05 мл 2% розчину в фосфатному буфері) з наступним приготуванням мазків і підрахунком розеток в під-

мальованих препаратах. Мазки підмальовували азур-еозином. Кількість розеткоутворюючих лімфоцитів виражали у відсотках по відношенню до загального числа лімфоцитів. Розетки, що утворюються в присутності теофіліна, називали теофілінстійкими або резистентними. Теофілінчутливі лімфоцити визначали за різницею між загальним числом Т-лімфоцитів і числом теофілінрезистентних Т-лімфоцитів за формулою:

$$T_{ф.р.} = [(A-B) : A] \times 100,$$

де А – загальна кількість Т-лімфоцитів, В – кількість теофілінрезистентних Т-лімфоцитів, що утворюється після інкубації з теофіліном.

З метою вивчення гуморальної ланки імунітету визначали імуноглобуліни А, М і G у сироватці крові. Для визначення концентрації імуноглобулінів використовували спеціальні імунодифузні планшети (Реафарм, Київ). В основі методу лежить одномірна, радіальна імунодифузія за Манчіні. В пластмасовому планшеті міститься спеціально підготовлена суміш агарового гелю, моноспецифічної антисироватки і консервантів. Сироватка крові, яка досліджується, розміщується в лунках в дозованому об'ємі. В результаті дифузії антигена в шари агарового гелю з антисироваткою утворюються кільця преципітації, діаметр яких відображає концентрацію відповідного імуноглобуліну в сироватці крові [1, 2].

Методом імуноферментного аналізу (ІФА) на апараті «Humanreader» проводили визначення Р-селектину з використанням тест-систем фірми «Bioscience» (Австралія). За допомогою хромато-генного аналізу на апараті Sysmex 500 та 560 (Японія), використовуючи реактиви фірми Siemens, проводили визначення рівня фактора фон Віллебранда (ФФВ) у сироватці крові.

Результати досліджень та їх обговорення.

Дослідження гемокоагуляції у хворих з хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок (табл. 1) виявило зменшення часу згортання крові на 23% в центральному і на 27% – в регіональному кровоплинні, зниження толерантності плазми до гепарину на 6% в центральному і на 19% – в регіональному кровоплинні, підвищення рівня фібриногену на 36% в центральному і на 42% – регіональному кровоплинні, підвищення протромбованого індекса на 14% в центральному і на 16% – в регіональному кровоплинні, пригнічення фібринолітичної активності на 8,5% в центральному і на 21,8% – в регіональному кровоплинні. Фібриноген у центральному кровоплинні був виявлений у 43% хворих, в регіональному – у 76% пацієнтів. Зміни як в центральному, так і в регіональному кровоплинні були більш виражені у хворих на ХВН з відкритими трофічними виразками при ГВТФ.

Таблиця 1

Показники коагулограми в центральному і регіональному кровоплинні у хворих на ХВН нижніх кінцівок

Показники	Хворі С6 СЕАР, n=20		Хворі С6 СЕАР з ГВТФ, n=27		Контрольна група хворих С4 СЕАР, n=10
	Центральний кровоплин	Регіональний кровоплин	Центральний кровоплин	Регіональний кровоплин	
Час згортання крові (хв)	4,0±0,2	3,8±0,4	3,9±0,2	3,6±0,3	5,2±0,2
ПТІ (%)	96±3,2	98±3,1	98±1,3	101,1± 3,1	84±1,3
МНО	0,76	0,73	0,741,2	0,70±2,1	0,9±1,2
Толерантність плазми до гепарину (хв.)	8,0±0,5	6,9±0,3	7,9±0,5	7,0±1,5	8,3±0,1
Час реканалізації плазми (сек)	120±5,4	134±3,8	128±5,2	140±3,6	110±0,2
Тромботест (ступінь)	IV–V	V–VI	V–VI	VI	IV
Фібриноген (г/л)	3,76±0,18	3,91±0,31	3,78±0,11	4,11±0,21	2,74±0,12
Фібриноген В	+	+	+	+	–
Фібринолітична активність (хв)	201±3,8	172±4,2	198±7,3	169±4,1	218±7,3

Згідно з даними таблиці 1, всі показники коагулограми зазнавали змін, але більш значні зміни відхилення від норми виявлені у регіональному кровоплинні хворих з ускладненим перебігом захворювання.

При дослідженні клітинної ланки імунітету у хворих з хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок виявлено достовірне зниження показників відносної і абсолютної кількості Т-лімфоцитів, найбільш виражене в регіональному кровоплинні (табл. 2).

Показники клітинного імунітету в центральному і регіональному кровоплинні у хворих із хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок

Показники		Хворі С6 СЕАР, n=20		Хворі С6 СЕАР з ГВТФ, n=27		Контрольна група хворих С4 СЕАР, n=10	
		Централь- ний крово- плин	Регіональ- ний кро- воплин	Централь- ний крово- плин	Регіональ- ний крово- плин	Централь- ний крово- плин	Регіональ- ний крово- плин
Т-лімф.	Відносні	48,7±1,1	46,7±1,2	46,6±1,5	45,2±1,3	57,6±1,5	52,1±1,2
	Абсолютні	731±27,5	623,3±26,1	728±30,2	618±29,1	988±39,4	945±27,3
Т-хелп.	Відносні	32,3±1,6	31,5±0,8	31,1±1,2	30,1±0,9	39,1±1,2	38,1±1,1
	Абсолютні	236,1±18,1	196,2±17,3	215±30,5	187±15,3	385,3±29,5	375±15,6
Т-супр.	Відносні	16,0±1,0	15,2±1,2	15,3±0,8	14,2±1,5	18,3±0,8	17,9±1,1
	Абсолютні	116,9±20,5	98,5±15,6	114±16,5	89,5±16,1	164±18,5	157±21,1

Відносний вміст Т-лімфоцитів у центральному кровоплинні у хворих з хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок був нижче норми на 19%, абсолютна кількість Т-лімфоцитів – відповідно на 16%. Вміст відносної кількості Т-хелперів був нижче як в центральному, так і в регіональному кровоплинні (відповідно на 17,4% і на 19,5%). Абсолютна кількість Т-хелперів значно відрізнялась від норми як в центральному, так і в регіональному кровоплинні (нижче норми відповідно на 39% і 49%). Вміст відносної кількості Т-супресорів у центральному кровоплинні був нижче норми на 12,6%, в регіональному – на 17%. Абсолютна кількість Т-супресорів у центральному кровоплинні була нижче норми на 28,8%, в регіональному – на 40%.

Дослідження відносної і абсолютної кількості імунорегуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів виявило суттєве зниження відносної і абсолютної кількості Т-хелперів у регіональному кровоплинні. Зниження відносної і абсолютної кількості Т-супресорів також більше виражено в регіональному кровоплинні, імунорегуляторний індекс (ІРІ) був нижче 1.

Вивчення гуморальної ланки імунітету у хворих до лікування виявило пониженою концентрацію імуноглобулінів класу А у 50% хворих до 2,14±0,3 г/л в центральному і до 2,42±0,22 г/л – в регіональному кровоплинні (при нормі 2,68±0,2 г/л). Концентрація імуноглобулінів класу М була понижена у 70% пацієнтів у центральному кровоплинні до 1,16±0,2 г/л і в регіональному кровоплинні до 1,22±0,35 г/л (при нормі 1,32±0,2 г/л). Вміст іму-

ноглобулінів класу G у 80% хворих був підвищений як в центральному, так і в регіональному кровоплинні (відповідно до 15,2±0,6 г/л і 17,5±0,51 г/л) (при нормі 13,3±0,8 г/л). Таким чином, можна відзначити, що патологічним джерелом у венозній стінці і оточуючих тканинах є аутоімунна агресія, завдяки якій створюються сприятливі умови для індурації тканин із наступним порушенням їх мікроциркуляції та трофіки.

Таким чином, у хворих із хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок з відкритими трофічними виразками спостерігалось виражене зниження теофілінрезистентних і, в меншому ступені, теофілінчутливих Т-лімфоцитів, а при ускладненні на ГВТФ це зниження є вираженішим.

Характеризуючи результати лабораторних аналізів, спостерігали збільшення показника ФфВ як одного з основних біомаркерів ендотеліальної дисфункції (ЕД), оскільки ендотелій є основним продуцентом даної біологічно-активної речовини, основна роль якої пов'язана із забезпеченням адгезії тромбоцитів до пошкодженої стінки судин при її ураженні (табл. 3). Кількість ФфВ у сироватці крові була значно збільшена у хворих із стовбуровим ГВТФ (до 199,9±5,3%), у порівнянні з показниками у хворих з ВРВ нижніх кінцівок СЕАР 6 (p<0,05). Отже, збільшення рівня ФфВ слід розцінювати як показник погіршення ендотеліальної дисфункції. При цьому достовірних змін величин отриманих показників між центральним та регіональним кровоплинами ми не спостерігали.

Таблиця 3

Зміна показників дисфункції ендотелію у обстежених пацієнтів

Показник	Хворі С6 СЕАР, n=20	Хворі С6 СЕАР з ГВТФ, n=27	Контрольна група хворих С4 СЕАР, n=10
	M±m	M±m	M±m
ФфВ (%)	109,3±5,3	199,9±5,3 *	98,4±5,5
Р-селектин (нг/мл)	226,4±4,5	368,4±4,5 *	115,5±3,9

Примітка: статистично достовірна різниця між показниками у обстежених хворих із ВРВ нижніх кінцівок СЕАР 6 та хворих із стовбуровим ГВТФ: * – p<0,05

Також спостерігали виражене підвищення показника Р-селектину у сироватці крові у обстежених хворих. Якщо у хворих з ХВН та відкритими трофічними виразками зміни були незначними (рівень Р-селектину становив $226,4 \pm 4,5$ нг/мл, $p < 0,05$), то у хворих, у яких основний процес ускладнився стовбуровим ГВТФ, показник Р-селектину збільшився до $368,4 \pm 4,5$ нг/мл, тоді як в контрольній групі він становив $115,5 \pm 3,9$ нг/мл. Достовірна різниця величин показників Р-селектину між регіональним та центральним кровоплинами спостерігалася тільки у 3 хворих першої та у 4 хворих другої групи при площі трофічної виразки понад 50 cm^2 ($p > 0,05$)

Поява селектинів (Р-селектину) в організмі пов'язано із вивільненням цитокінів внаслідок запальних змін у тканинах внутрішніх органів.

У нормальних умовах інтегрини лейкоцитів та імуноглобуліни ендотеліальних клітин не можуть з'єднуватися один з одним. Ключовим механізмом, який провокується різними медіаторами запалення, є синтез селектинів. Якщо L-селектин полегшує міграцію лейкоцитів унавоколосудинний простір, то два інші селектини (Р та Е) виявляються на поверхні активованих ен-

дотеліальних клітин. Унікальною властивістю Р-селектину є його мобілізація із внутрішньоклітинного депо та його швидка поява на поверхні ендотеліальних клітин – через 5–10 хвилин після дії різноманітних медіаторів (гістамін, тромбін, вільні радикали). Таким чином, збільшення рівня Р-селектину в крові є свідченням запальних змін в організмі [4].

Висновки. 1. МНВ і фібрінолітична активність у хворих із хронічною венозною недостатністю значно знижені в регіональному кровоплинні, що створює сприятливі умови для виникнення тромботичних ускладнень.

2. В зоні патологічного джерела у венозній стінці та оточуючих тканин спостерігається аутоімунна агресія, завдяки якій створюються сприятливі умови для індурації тканин із наступним порушенням їх мікроциркуляції і трофіки. Збільшення рівня Р-селектину в крові є свідченням запальних змін в організмі.

3. Збільшення фактора фон Віллебранда може бути маркером не тільки ендотеліальної дисфункції, але і гострого варикотромбофлебиту у хворих з відкритими трофічними виразками.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Калинин Р.Е. Эндотелиальная дисфункция при моделировании экспериментального венозного тромбоза / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников, А.Н. Новиков // Материал Международного Конгресса «Салвянский венозный форум» 28—29 мая 2015 г. — Витебск: ВГМУ, 2015. — С. 106—107.
2. Ковальчук Л.Я. Системна запальна відповідь як предиктор ендотеліальної дисфункції та гіперкоагуляційного синдрому / Л.Я. Ковальчук, С.Я. Костів, І.К. Венгер, І.Ф. Ненашко // Шпитальна хірургія. — 2011. — №4. — С. 5—8.
3. Обливач А.В. Основи патології: Навчальне видання / А.В. Обливач. — Ужгород: УжНУ, 2003. — 612 с.
4. Тураев П.И. Хроническая венозная недостаточность и трофические язвы нижних конечностей / П.И. Тураев. — Винница: Нова книга, 2005. — 208 с.
5. Pannier F. Progression in venous pathology / F.Pannier, E.Rabe // Phlebology. Venous Forum of The Royal Society of Medicine. — 2015. — Vol. 30, suppl. 1. — P. 95—97.
6. Torma N. Minimally Invasive Treatment Methods of Lower Limb Varicosity of C5-C6 Classes (CEAP) / N. Torma, I. Kopolovets, M. Frankovičová [et al.] // Novosti Khirurgii. — 2016. — Vol. 24 (6). — P. 623—628.

V.I. RUSYN, V.V. KORSAK, V.V. RUSYN, S.S. KALYNYCH, O.M. KOCHMAR

Uzhhorod National University, Medical Faculty, Department of Surgical Diseases, Uzhhorod

RHEOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL CHANGES AND MARKERS OF INFLAMMATION AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN DECOMPENSATED CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY

Analysed the results of the survey of rheological and immunological changes in blood and examined indicators of inflammation and endothelial dysfunction of 47 patients with chronic venous insufficiency in decompensation stage based on varicose veins. Established that the INR and fibrinolytic activity in these patients significantly reduced in the regional blood flow, which creates conditions for the occurrence of thrombotic complications. It is proved that in the area of pathological sources in the venous wall and surrounding tissue takes a place autoimmune aggression, which lead to appearing of favorable conditions for tissue induration with a subsequent breach of microcirculation and trophic. It was established that the increase of von Willebrand's factor can be not only a marker of endothelial dysfunction, but also a marker of acute varicothrombophlebitis in patients with open trophic ulcers.

Key words: chronic venous insufficiency, venous trophic ulcers, rheological changes, immunological changes, indicators of inflammation, endothelial dysfunction indicators

Стаття надійшла до редакції: 25.11.2016 р.