

УДК 577.1+612-083+616.14

Ю.Т. Цуканов, А.Ю. Цуканов, Т.В. Притыкина

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ ВЕН НИЖНЕЙ ПОЛОВИНЫ ТУЛОВИЩА

Омская государственная медицинская академия, Центр последиplomного образования

Распространенность варикоза вен различных локализаций, прежде всего нижних конечностей, среди населения настолько велика [1], что не оставляет сомнений в существовании некоторых системных факторов, ведущих к этому заболеванию. На основании имеющихся данных складываются общие представления о таких факторах, в частности об особенностях соединительной ткани.

Достижения последних десятилетий — представления о соединительнотканной недостаточности [2-4] и эндотелий-обусловленных процессах, определяющих проницаемость сосудов и их тонус, ангиогенез, внутрисосудистую активацию тромбоцитов и лейкоцитов [5], с одной стороны, и об ортостазозависимой флебопатии как результирующем биофизическом эффекте этих процессов [6], с другой стороны, определяет необходимость исследовать варикозные превращения в венозных сосудах с позиций биохимических и иммунологических нарушений. В связи с этим представляет интерес выявление возможных нарушений метаболизма соединительной ткани и баланса медиаторов, влияющих на адекватное течение эндотелий зависимых процессов при различных локализациях варикоза.

Детализация такого важного звена дает возможность уточнить имеющиеся представления о происходящих при варикозном поражении вен изменениях, определяющих патогенез заболевания и обосновывать применение с лечебной целью препаратов, влияющих на синтез в эндотелии тромбoreгуляторов, адгезию, апоптоз эндотелиоцитов, а также на состояние соединительной ткани.

Цель исследования: определить содержание метаболитов соединительной ткани и факторов роста, ответственных за формирование сосудистой стенки у больных при различных локализациях варикозного поражения в сосудах системы нижней полой вены: нижних конечностях, яичках, вульве и промежности.

Материал и методы исследования. Для изучения содержания в крови метаболитов соединительной ткани и тканевых факторов роста, регулирующих ангиогенез у больных с варикозом вен промежности и вульвы, проведено сравнительное исследование пациентов в четырех группах. Верификацию варикозного поражения выполняли комплексным клинико-лучевым способом с применением для всех пациентов ультразвукового дуплексного сканирования в соответствии с принятыми в современной флебологии положениями [1, 7, 8]. Критериями исключения были: ОРВИ и другие острые воспалительные заболевания, обострение хронических воспалительных

© Ю.Т. Цуканов, А.Ю. Цуканов, Т.В. Притыкина, 2006
заболеваний, «большие коллагенозы», аллергические заболевания, прием гормональных препаратов. Три основные группы составили:

- 1) пациенты с варикозом подкожных вен нижних конечностей — 23 человека;
- 2) пациентки с варикозом вен вульвы и промежности — 25 человек;
- 3) пациенты с варикоцеле — 27 человек.

В группу сравнения включены лица, не имеющие варикозного процесса и геморроя — 13 человек.

Определено содержание следующих метаболитов: мукопротеин ($n = 0-125$ мг/дл), сиаловых кислот ($n = 1,8-2,7$ ммоль/л), оксипролинов ($n = 1-8$ мг/сут), фибронектина ($n = 70-148$ мкг/мл), а также тканевых гормонов роста: васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) (нормальное содержание не установлено), трансформирующего фактора роста бета (TGF β 2) (нормальное содержание не установлено) и фактора роста фибробластов (FGF) ($n = 0-135$ нг/мл). Уровень мукопротеидов исследовали на автоматическом биохимическом анализаторе «Mars» с использованием тест-системы компании «Hospitex»; сиаловых кислот — с помощью набора реактивов «Сиалотес,т-80» («РeаХим», г. Ижевск) [9]; свободного оксипролина — по реакции с парадиметиламинобензальдегидом. Содержание фибриноектина, васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF), трансформирующего фактора роста бета 2 (TGF- β 2) и фактора роста фибробластов (FGF) исследовали тест-системами фирмы «БиоХимМаг», г. Москва.

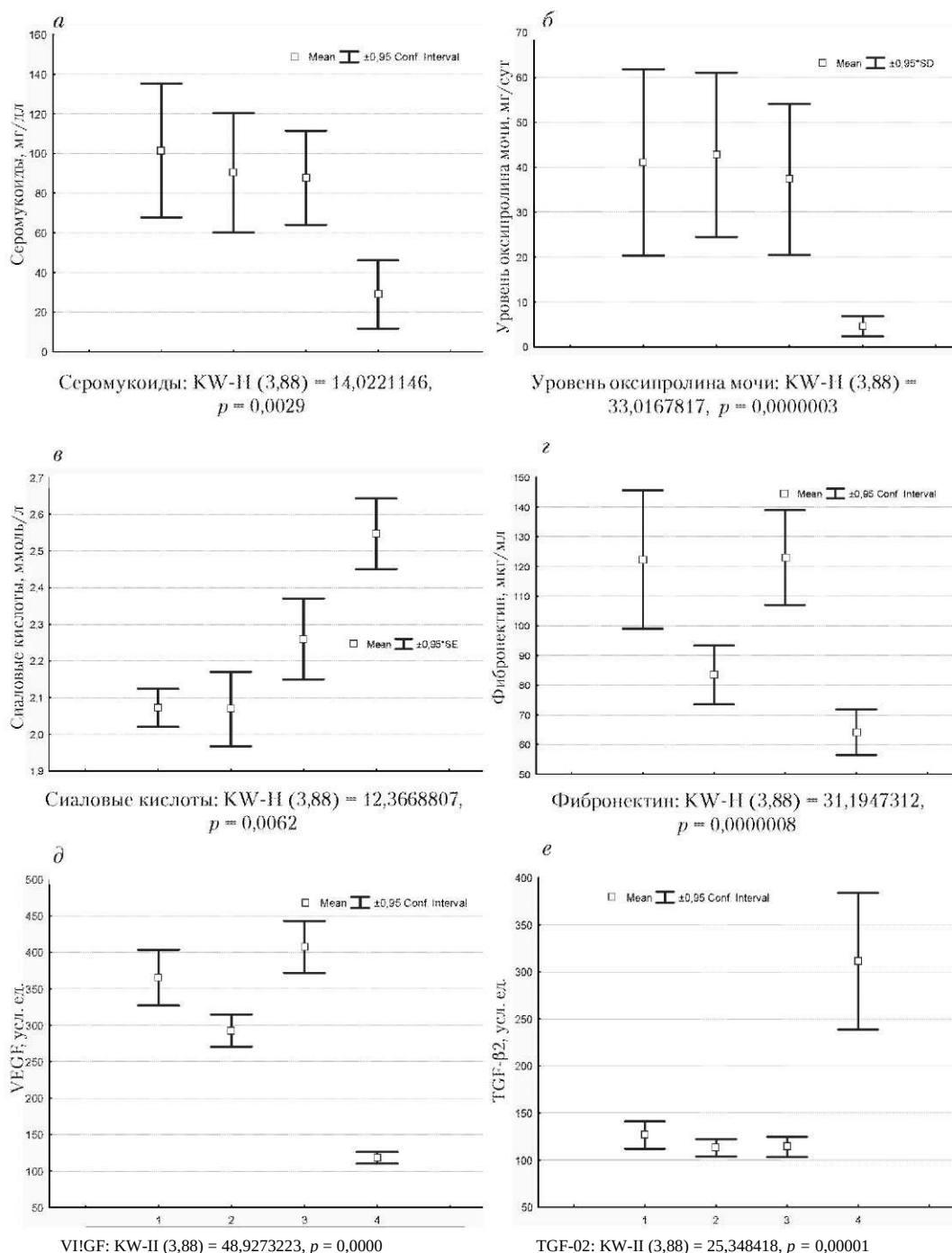
Результаты исследования. При изучении содержания метаболитов, непосредственно участвующих в обменных процессах в соединительной ткани, у больных с исследуемыми локализациями варикоза получены следующие данные.

Серомукоиды (мукопротеины). Группа углеводсодержащих белков — важный по- казатель обмена гликопротеинов, свидетельствующий об интенсивности их распада. Установлено, что содержание серомукоидов в крови больных варикозом вен в три раза больше, чем у лиц без варикоза вен (рисунок, а). При проведении теста Kruskal-Wallis для сравнения множественных независимых групп отмечены статистически значимые отличия в сформированных четырех группах ($ff = 13,97974$; $p = 0,0029$). При проведении теста Mann-Whitney также выявлено достоверное различие между основными группами и группой сравнения ($Q_j < 0,001$). Между группами 1, 2, 3 не обнаружено различий по содержанию данного метаболита, что свидетельствует об однотипности и универсальности нарушения обмена гликопротеинов при варикозном поражении вен независимо от локализации.

Оксипролин. Изучалось содержание свободного оксипролина — показателя обмена коллагена, в моче. Во всех группах пациентов с варикозом вен был существенно нарушен обмен коллагена — основного структурного компонента экстрацеллюлярного матрикса, обеспечивающего эластичность и прочность тканей. Концентрация свободного оксипролина в моче при варикозе возрастала на порядок (рисунок, б). При проведении теста Kruskal-Wallis регистрируемые отличия в сформированных четырех группах оказались статистически значимыми ($ff = 35,5750$; $p = 0,00001$), а при проведении теста Mann-

Whitney выявлено достоверное различие между основной группой и группой сравнения $Q_j < 0,001$). Различия же между группами 1, 2, 3 были недостоверными, что указывает на системность поражения коллагенового обмена при варикозе вен независимо от его преимущественной локализации.

Сиаловые кислоты. Во всех основных группах зарегистрировано некоторое снижение уровня сиаловых кислот в крови пациентов с варикозом вен (рисунков, в). С помо-



Содержание серомукоидов (мукоиротенинов) в крови (а), оксипролина в моче (б), сиаловых кислот в крови (в), фибронектина в крови (г), васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) в крови (д), трансформирующего фактора роста бета (TGF- β 2) в крови (е):

1 — варикоз подкожных вен нижних конечностей, 2 — варикоз подкожных вен промежности вульвы, 3 - варикоцеле, 4 — контроль

стью теста Kruskal-Wallis выявлены статистически значимые отличия в сформированных четырех группах ($\chi^2 = 12,36688$; $p = 0,0062$), при использовании теста Mann-Whitney — достоверное различие между основными группами и группой сравнения $Q_j < 0,001$). Различий между группами 1, 2, 3 не обнаружено.

Фибронектин. Неколлагеновый высокомолекулярный гликопротеин, секретируемый в межклеточное пространство фибробластами и способный стимулировать их секреторную активность. Обнаружено, что у пациентов групп 1-3 наблюдается усиление синтеза фибронектина (рисунков, г), возникающее, как правило, при повышении напряженности процессов репарации в поврежденных тканях. И хотя, у больных сравниваемых групп содержание фибронектина находилось в пределах нормальных значений, достоверно более высокий его уровень зарегистрирован в основных группах относительно группы сравнения. При

проведении теста Kruskal-Wallis получены данные, свидетельствующие о статистически значимых отличиях ($\chi^2 = 31,19473$; $p < 0,000$).

Исследования процессов ангиогенеза и поиск факторов, влияющих на него, были начаты Folkman [10]. При изучении опухолевого роста и метастазирования им в 1984 г. выделены факторы, стимулирующие формирование кровеносных сосудов [11]. При гипоксии тканей выявлена роль прежде всего фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor — VEGF) и фактора роста фибробластов (fibroblast growth factor — FGF) [8,12,13]. В представленном исследовании изучено содержание следующих трех наиболее известных факторов.

Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF). Это цитокин, активно участвующий в процессах роста, поддержания стабильности и функционирования сосудистых структур. Обнаружено, что в случае варикозного процесса в венах содержание VEGF в крови повышено в 2-4 раза (рисунок, д). Максимальное содержание VEGF отмечено при варикозе поверхностных вен нижних конечностей. Несколько меньшее значение выявлено при варикозе вен промежности и вульвы. И еще меньшее значение, достоверно отличающееся от аналогичного в группе сравнения, установлено у пациентов с варикоцеле. При использовании статистического теста Kruskal-Wallis, получены данные, свидетельствующие о статистически значимых отличиях показателя в сформированных четырех группах с различной локализацией варикоза вен относительно группы сравнения ($H = 48,92732$; $p < 0,001$).

Трансформирующий фактор роста бета 2 (TGF- β 2). Принадлежит семейству димерных полипептидов массой 25 kDa, повсеместно представленных в тканях и синтезируемых клетками разных типов, играющими важную роль в регуляции роста и развития. Из полученных результатов следует, что при варикозе вен независимо от его локализации в крови больных выявляется достоверное в сравнении с контрольной группой снижение содержания TGF- β 2 (рисунок, е). При проведении теста Kruskal-Wallis выявлена высокая степень достоверности отличий в сформированных четырех группах сравнения ($H = 25,34842$; $p < 0,001$). С использованием теста Mann-Whitney выявлено достоверное различие между основными группами и группой сравнения $Q_j < 0,0001$).

Фактор роста фибробластов (FGF). Вовлечен во множество физиологических и патологических процессов, включая эмбриональное развитие, ангиогенез и неопластическую трансформацию [14,15]. Поданным проведенного исследования нормальный уровень содержания фактора роста фибробластов (FGF) в сыворотке крови составляет 0-135 пг/мл. Представляет интерес, что во всех исследуемых нами группах доля нулевого результата была достаточно высокой. Так, при варикозе поверхностных вен нижних конечностей она составила 87,0%, при варикозе вен промежности и вульвы — 84,0%, при варикоцеле — 74,1%. Важно отметить, что в контрольной группе (в отсутствие варикоза) доля нулевого результата FGF наблюдалась наиболее часто — в 92,3%. Различия недостоверны (при проведении теста Kruskal-Wallis $\chi^2 = 2,563853$; $p = 0,4639$).

Обсуждение результатов. Полученные данные меняют представление о варикозе подкожных вен, промежности и вульвы, варикоцеле как о не связанных друг с другом локальных процессах. Выявленные биохимические нарушения собственно соединительной ткани высвечивают системные масштабные процессы, происходящие в организме и лежащие в основе венозного варикоза. Об этом свидетельствует измененное содержание серомукоида, оксипролина, сиаловых кислот, что обусловлено распадом матрикса соединительной ткани и разнообразными воспалительными, в том числе хроническими, процессами в организме, а также фибронектина.

Нарушение содержания тканевых факторов роста у таких пациентов может отражать компенсаторные процессы по восстановлению сосудистой стенки, а также воспалительную альтерацию и катаболические процессы, дедифференцировку эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Фактор VEGF является одним из основных представителей факторов роста, регулирующих ангиогенез, который усиливает и ускоряет процессы образования и формирования эндотелиальных клеток и эндотелиального слоя в целом. Его регуляторное воздействие проявляется и в предотвращении десквамации эндотелия и развития склероза. В связи с этим можно предполагать у обследованных пациентов значительную напряженность компенсаторных механизмов, в которых участвует и VEGF, противодействующий склерогенезу венозной стенки.

Факторы TGF- β ингибируют пролиферацию большей части клеток, могут стимулировать рост некоторых мезенхимальных клеток; оказывают иммуносупрессивное влияние и усиливают формирование экстрацеллюлярного матрикса. Мембранные рецепторы двух видов, обладающие киназной активностью, участвуют в передаче сигнала мишеням [11]. Они вовлечены в процессы репарации раны и воспалительной реакции на начальных стадиях, а затем на стадии заживления через хемотаксическое привлечение клеток, участвующих в воспалительном ответе, и фибробластов. Установленные в работе данные свидетельствуют, что при клинически проявившемся варикозном заболевании вен TGF- β 2 не вырабатывается в организме в должной мере или системно угнетается ингибиторами.

Фактор роста фибробластов (FGF) необходим для развития и поддержания сосудистой системы. Это основной ангиогенный фактор при раннем восстановлении в случае сердечно-сосудистых заболеваний. Он вызывает клеточный ответ путем взаимодействия с высокоспецифичным трансмембранным рецептором [15, 16]. При варикозном поражении вен исследуемых локализаций доля нулевых результатов FGF — основного ангиогенного фактора при восстановлении поврежденной венозной стенки, уменьшилась.

Важно отметить, что наблюдаемые в организме нарушения оказались сходными независимо от локализации варикозного процесса у больных.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют, что в основе варикоза вен нижней половины туловища лежат единые биохимические и иммунологические нарушения в организме, затрагивающие прежде всего соединительную ткань и регуляцию на уровне тканевых гормонов. Это существенно дополняет высказанную ранее аргументацию целесообразности объединения относящихся к нижней полости вены варикозных поражений сосудов различной локализации как единой патологии [17]. Недостаточность матрикса соединительной ткани, а также напряженность восстановления сосудистой стенки и воспалительная реакция, катаболические процессы, дедифференцировка эндотелиальных и гладкомышечных клеток являются

неотъемлемыми особенностями варикоза вен различных локализаций: варикоцеле, поражения вен нижних конечностей и промежности.

На основе полученных данных можно объединить различные по локализации варианты варикоза вен в единую патологию соединительной ткани и, кроме того, уточнить механизмы прогрессирования варикозной болезни, прежде всего послеоперационного прогрессирования. С учетом существующего каскада биохимических и иммунологических нарушений открываются перспективы для медикаментозного лечения варикозной болезни и создается база для профилактики варикоза вен на всех этапах жизни человека.

Summary

Tsukanov Yu. T., Tsukanov A. Yu., Pritikina T. V. Biochemical and immunological aspects of the connecting tissue in varicose disease of lower half of the body.

Purpose. To study the level of metabolites of the connecting tissue and tissue growth factors regulating angiogenesis (vasculoendothelial factor, fibroblast growth factor, transforming growth factors α and β) in patients with varicocele, varicose disease of lower limbs and vulva. Study design: open prospective comparative study. Group 1 — patients with varicose disease of lower limbs — 23; group 2 — patients with varicose disease of vulva — 25; group 3 — patients with varicocele — 27; control group included patients without varicose process in vena cava system — 13. The level of seromyeoids, fibronectin in plasma serum and oxiprolin in urine of patients with varicose process is not dependant on localization of it is obviously higher then in control group. The level of cial acid has been obviously lower then in control group.

The level of vasculoendothelial factor in groups 1,2,3 has been obviously higher and transforming growth factors β obviously lower then in control group.

Keywords: metabolites of the connecting tissue, growth factors, varicose disease.

Литература

1. Савельев В.С. Флебология. М., 2001.
2. Алексеев А.Л. Новая медицина и биология. М., 1996.
3. Цуканов Ю.Т., Цуканов А.Ю. Варикозная болезнь вен нижних конечностей как следствие дисплазии соединительной ткани // Ангиология. 2004. № 2. С. 84-89.
4. Яковлев В.М., Нечаева Г.И. Кардио-респираторные синдромы при дисплазии соединительной ткани. Омск, 1994.
5. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Физиология и патофизиология эндотелия // Дисфункция эндотелия: причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб., 2003. С. 4-38.
6. Цуканов Ю.Т., Цуканов А.Ю. Флебопатия как нарушение вязко-упругих свойств стенки вен и факторы, влияющие на ее клиническое течение при варикозной болезни // Флебология. 2003. № 18. С. 8-13.
7. Степанов В.Н., Кадыров З.Л. Диагностика и лечение варикоцеле. М., 2001.
8. Labropoulos N. Гемодинамические изменения и классификация CEAP // Флебология. 2004. № 23. С. 2-6.
9. Шараев П.Н., Рябов В.И., Гумярова Т.Х. и др. Определение свободных и связанных сиаловых кислот в биологических объектах // Клин. лаб. диаг. 1993. № 4. С. 44-46.

10. Folkman J. Angiogenesis and its inhibitors // Hellman S., Rosenberg S. Important Advances in Oncology. Philadelphia, 1985. P. 42-62.
11. Dvorak H.F., Detmar M., Claffey K.P. et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: an important mediator of angiogenesis in malignancy and inflammation // Int. Arch. Allergy Immunol. 1995. Vol. 107. P. 233-235.
12. Ferrara N., Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor // Endocr. Rev. 1997. Vol. 18. P. 4-25.
13. Stegmann T.J. New approaches to coronary heart disease: induction of neovascularisation by growth factors // Bio Drugs. 1999. Vol. 11 (5). P. 301-308.
14. Tabata H., Silver M., Isner J. Arterial gene transfer of acidic fibroblast growth factor for therapeutic angiogenesis in vivo // Cardiovasc. Res. 1997. Vol. 35. P. 470-479.
15. Relf M., LeJeune S., Scott P.A. et al. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis // Cancer Res. 1997. Vol. 57. P. 963-969.
16. Cooper L.T., Hiatt W.R., Creager M.A. et al. Proteinuria in a placebo-controlled study of basic fibroblast growth factor for intermittent claudication // Vasc. Med. 2001. Vol. 4. P. 235-239.
17. Цуканов Ю.Т., Василевич В.В., Цуканов А.Ю. Венная болезнь нижней половины туловища // Эндоскоп, хирург. 2005. № 6. С. 8-17.

Статья поступила в редакцию 27 октября 2006 г.