



В.В. Бойко<sup>1</sup>, В.А. Прасол<sup>2</sup>,  
О.А. Зарудный<sup>2</sup>, К.В. Мясоєдов<sup>1</sup>

## ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ, ТЕЧЕНИЯ И КОРРЕКЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

<sup>1</sup> Харьковський національний медичинський університет

<sup>2</sup> ГУ «Інститут загальної та неотложної хірургії НАМН України», Харків

**Цель работы** — оценить значение эндотелиальной дисфункции в определении характера течения и диагностике критической ишемии нижних конечностей.

**Материалы и методы.** Исследование проведено у 40 пациентов с критической ишемией нижних конечностей. Функциональное состояние эндотелия оценивали по уровню эндоглина (CD105) в сыворотке крови. Для определения референтных значений уровня эндоглина исследовали этот показатель в сыворотке крови здоровых лиц и больных хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей с ишемией 1–2-й степени по Фонтейну — Покровскому. Для оценки метаболических нарушений при хронической ишемии определяли уровни пировиноградной и молочной кислоты и их соотношение.

**Результаты и обсуждение.** В основной группе и группе сравнения исходный уровень CD105 был снижен ( $11,17 \pm 1,52$ ) и ( $11,31 \pm 1,91$ ) нг/л соответственно по сравнению со здоровыми лицами ( $14,45 \pm 1,84$ ) нг/л). Исходные показатели лактата и пирувата свидетельствовали о смещении кислотно-основного равновесия в сторону ацидоза, то есть о наличии метаболического состояния, характерного для тканевой ишемии. В ходе комплексной коррекции эндотелиальной дисфункции у больных основной группы отмечены: изменения биохимических показателей, свидетельствующие об улучшении энергетического обеспечения тканей, а значит, о компенсации ишемического состояния.

**Выводы.** У больных с критической ишемией нижних конечностей (3–4-й степени по Фонтейну — Покровскому) изначально низкий уровень CD105 ( $< 8$  нг/л,  $p < 0,05$ ) свидетельствует о тяжелом нарушении функции эндотелия, что делает прогноз лечения неблагоприятным и требует коррекции в до- и послеоперационный период. Коррекция эндотелиальной дисфункции по предложенной схеме позволяет компенсировать показатели функциональной активности эндотелия в значительной степени, о чем свидетельствует более высокая и стабильная концентрация CD105 в периоперационный период, а также компенсировать метаболический гомеостаз и улучшить результаты лечения данной категории больных.

**Ключевые слова:** критическая ишемия, эндотелиальная дисфункция, эндоглин, CD105, сулодексид, лактат, пируват.

Хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей (ХОЗАНК) страдает 2–3 % населения. Эти заболевания больше распространены среди мужчин среднего и пожилого возраста (у 5 %). В эпидемиологических исследованиях учитывают количество больных с выраженными клиническими проявлениями за-

болевания, такими как перемежающаяся хромота, боль в состоянии покоя, трофические расстройства. Частота развития тяжелой ишемии при ХОЗАНК составляет от 20 до 70 % [1, 11].

Критическая ишемия (КИ) конечностей является конечным проявлением ХОЗАНК. Ее диагностируют у больных с типичными хроническими

ишемическими болями в состоянии покоя и ишемическими трофическими расстройствами (язва, гангрена). У больных с КИ конечностей выявляют различные гемодинамические, биохимические и гематологические нарушения. Ведущую роль в развитии КИ конечности играют расстройства микроциркуляции. Изменения сосудистого мышечного тонуса и функции эндотелия обеспечивают стабильный микрососудистый кровоток и относительно постоянное внутрисосудистое давление в новых гемодинамических условиях. Этот феномен называется «ауторегуляция». При КИ имеет место недостаточность ауторегуляторной функции [7].

Эндотелиальная дисфункция (ЭД) играет определенную роль в развитии тромбоза, неоангиогенеза, ремоделирования сосудов, внутрисосудистой активации тромбоцитов и лейкоцитов. Эндотелиальная выстилка сосудов регулирует местные процессы гемостаза, пролиферации, миграции клеток крови в сосудистую стенку и сосудистый тонус. При ЭД наблюдают дисбаланс между факторами, обеспечивающими эти процессы. ЭД может быть самостоятельной причиной нарушения кровообращения в органе, поскольку нередко провоцирует ангиоспазм или тромбоз сосудов, что, в частности, наблюдается при некоторых формах ишемической болезни сердца. С другой стороны, нарушения регионарного кровообращения (ишемия, венозный застой) также могут приводить к ЭД [2].

В последнее время интерес исследователей привлекают биологически активные вещества, являющиеся продуцентами эндотелия или активно влияющие на его состояние. К таким веществам относится эндоглин.

Эндоглин (CD105) — гомодимерный гликопротеин с массой 180 кДа и специфической тканевой тропностью. Это подтверждается тем, что CD105 преимущественно экспрессируется на эндотелиальных клетках, а промоутер молекулы эндоглина строго специфичен и селективно активен в эндотелиальных клетках [3].

CD105 является компонентом рецепторного комплекса трансформирующего фактора роста (TGF)  $\beta$  [6], плейотропным цитокином, который принимает участие в клеточной пролиферации, дифференциации и миграции [8, 9]. CD105 связывает несколько компонентов суперсемейства TGF- $\beta$ . Интересен тот факт, что связывание TGF- $\beta_1$  цитокином CD105 снижает уровень фосфорилирования CD105, а уровни экспрессии CD105 модулируют эффекты TGF- $\beta_1$ . В связи с этим становится ясным, что ингибирование экспрессии CD105 усиливает способность TGF- $\beta_1$  подавлять рост, миграцию и возможность формировать капиллярные трубки культивированных эндотелиальных клеток [8].

При отсутствии TGF- $\beta_1$  CD105 проявляет антиапоптотный эффект в эндотелиальных клетках во

время гипоксического стресса, тем самым защищая от проапоптотных факторов [4].

Установлено, что уровень CD105 регулирует экспрессию различных компонентов внеклеточного матрикса, таких как фибронектин, коллаген, PAI-1 и люмикан [5], а также играет решающую роль в клеточной трансмиграции [10].

*Цель работы* — оценить значимость эндотелиальной дисфункции в определении характера течения и диагностике критической ишемии нижних конечностей, а также эффективность сулодексида в составе комплексной коррекции эндотелиальной дисфункции.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе отделения острых заболеваний сосудов Института общей и неотложной хирургии НАМН Украины. В исследование включено 40 пациентов в возрасте от 49 до 81 года (средний возраст — 67 лет). Из них женщин было 18 (45 %), мужчин — 22 (55 %). Обследованы 20 человек с критической ишемией нижних конечностей (3—4-я степень ишемии по Фонтейну—Покровскому или II—III степени 4—6 категории по Резерфорду). Из них 10 (средний возраст —  $(68,4 \pm 7,0)$  лет) проводили комплексную коррекцию ЭД, в состав которой входил сулодексид (650 ЛЕ внутримышечно 1 раз в сутки в течение 15 суток до операции и 5 суток после операции с последующим переходом на таблетированную форму в дозе 250 ЛЕ 2 раза в сутки) — основная группа. Остальным (средний возраст —  $(62,1 \pm 5,0)$  года) коррекцию ЭД не проводили — группа сравнения. В исследование также включены 10 здоровых лиц и 10 человек с ишемией нижних конечностей 1—2-й степени по Фонтейну—Покровскому (0—I степени, 0—5 категории по Резерфорду) (средний возраст —  $(32,0 \pm 7,0)$  и  $(67,7 \pm 7,0)$  года соответственно).

Диагноз «ишемия нижних конечностей» устанавливали на основании клинических данных, результатов УЗИ и аортоартериографии нижних конечностей. Больным также проводили стандартные общеклинические исследования, включавшие коагулограмму, биохимические исследования крови, общий анализ крови и мочи.

Сулодексид содержит 80 % гепариноида (быстро движущаяся фракция) и 20 % дерматана сульфата. Обладает способностью влиять на разные этапы свертываемости крови. Типичный антиромботический эффект сулодексида реализуется через одновременное взаимодействие препарата с антитромбином III и кофактором гепарина II. Сулодексид оказывает антипролиферативный эффект на клетки мезангия, снижает продукцию экстрацеллюлярного матрикса, защищает и восстанавливает структурную и функциональную целостность эндотелия, увеличивает продукцию простагландинов, усиливает выделение тканевого активатора плазминогена.

Функциональное состояние эндотелия оценивали по уровню эндоглина в сыворотке крови. Использовали иммуноферментный анализ и реактивы R&D Quantikine ELISA Human Endoglin/CD105. Для определения референтных значений уровня эндоглина исследовали этот показатель в сыворотке крови здоровых людей и больных ХОЗАНК с ишемией 1—2-й степени по Фонтейну—Покровскому. Критерием исключения больных было наличие неопластического процесса.

Для определения метаболических нарушений при хронической ишемии определяли уровень пирувиноградной и молочной кислоты и соотношение лактат-пируват с помощью реактивов L-Lactate (Randox) и «Пирувиноградная кислота» («Абрис+») для колориметрического определения. Венозную кровь забирали утром натощак у больного, лежащего в постели, без наложения жгута. В основной группе кровь забирали в день госпитализации, за день до операции, на 1-е—3-и и 5—7-е сутки послеоперационного периода, в группе — в день госпитализации, на 1-е—3-и и 5—7-е сутки послеоперационного периода.

Больным выполняли операции по поводу КИ нижних конечностей открытым способом (аортобифеморальное шунтирование/протезирование, бедренно-подколенное шунтирование) и рентгенхирургические эндоваскулярные вмешательства (чрескожная баллонная ангиопластика артерий нижних конечностей и стентирование артерий). В основной группе выполнено 5 операций открытым способом и 5 эндоваскулярных вмешательств, в группе сравнения — 4 и 6 соответственно.

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Данные представлены в виде средней арифметической с указанием ошибки средней. Нормальность их распределения проверяли с помощью критерия Шапиро—Вилка (уровень

значимости 0,05). Внутригрупповые связи вычисляли с помощью корреляционного и регрессионного анализа, скаттер-диаграмм. Межгрупповые связи определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У больных обеих групп имело место многоэтажное поражение сосудистого русла, в том числе поражение атеросклеротическим процессом инфра-ренального отдела аорты, подвздошных артерий, артерий нижних конечностей. В состав обеих групп входили больные с сахарным диабетом с множественным поражением атеросклеротическим процессом артерий голени.

Уровень эндоглина у здоровых лиц и больных ХОЗАНК с ишемией 1—2-й степени по Фонтейну—Покровскому составлял ( $14,45 \pm 1,84$ ) и ( $10,71 \pm 1,03$ ) нг/л соответственно. Содержание пирувата, лактата и их соотношение в этих группах было принято как нормальное по умолчанию.

При исследовании данных показателей у больных основной группы и группы сравнения (таблица) отмечено повышение исходных уровней пирувата и лактата в крови, а также величины соотношения лактат/пируват, что свидетельствовало о смещении кислотно-основного равновесия в сторону ацидоза, то есть о наличии метаболического состояния, характерного для тканевой ишемии.

Исходный уровень эндоглина в обеих группах был снижен по сравнению с группой здоровых лиц и приближался к аналогичному показателю больных с ишемией 1-й степени, что может свидетельствовать о нарушении эндотелиальной функции, а значит, о нарушении регенераторной способности эндотелия, снижении толерантности эндотелия к гипоксии, нарушении процессов, ответственных за ремоделирование сосудистого русла, изменении эндотелийзависимых реологических свойств крови.

Т а б л и ц а  
Содержание эндоглина, лактата, пирувата у больных с критической ишемией 3—4-й степени

Показатель	Без коррекции ЭД	С коррекцией ЭД
CD105, нг/л	Исходное	$11,31 \pm 1,91$
	За день до операции	—
	1-е—3-и сут после операции	$8,64 \pm 1,20$
	5—7-е сут после операции	$9,18 \pm 1,34$
Лактат, ммоль/л	Исходное	$2,60 \pm 0,27$
	Конечное	$2,81 \pm 0,34$
Пируват, мкмоль/л	Исходное	$72,72 \pm 3,50$
	Конечное	$73,44 \pm 6,71$
Соотношение лактат/пируват	Исходное	$37,31 \pm 3,10$
	Конечное	$38,34 \pm 2,16$

\* Различия между группами статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

При определении уровня CD105 на 1-е—3-и сутки послеоперационного периода установлено, что независимо от вида и объема проведенного вмешательства данный показатель заметно снизился по сравнению с исходным значением ( $p < 0,05$ ) в обеих исследуемых группах. Это можно расценивать как системную ответную реакцию эндотелия на травму и стресс после операции. При этом в основной группе снижение уровня CD105 было менее значимым, чем в группе сравнения, что свидетельствует в пользу необходимости проведения предложенной схемы коррекции ЭД.

На этапе выписки содержание CD105 (рисунок) у пациентов с благоприятным исходом (достигнута мажоритаризация артериального кровотока, зажили некрозы, исчезли боли в состоянии покоя) имело тенденцию к увеличению ( $p < 0,05$ ).

У 2 больных отмечено дальнейшее снижение уровня эндоглина в послеоперационный период, при этом у 1 больного из основной группы выявлен тромбоз бедренно-подколенного шунта, у другого из группы сравнения — тромбоз артерий голени после транслюминальной баллонной ангиопластики. Исходом лечения данных больных была ампутация нижней конечности на уровне средней трети бедра. Исходный уровень CD105 у этих больных был ниже среднего уровня в соответствующей группах — ниже 8 нг/л.

В группе сравнения также зарегистрированы: 1 случай интраоперационной смерти, при этом исходный уровень CD105 составлял 7,63 нг; 1 случай отсутствия условий для реконструктивной операции (отсутствие дистального русла, окклюзия артерий голени), исходный уровень — 6,91 нг/л; 1 случай острого инфаркта миокарда, при этом исходный уровень CD105 составлял 11,1 нг/л, в острый период — 7,84 нг/л. Данные случаи не были включены в общую выборку и приведены для общего ознакомления.

Содержание лактата и пирувата в основной группе в послеоперационный период заметно снизилось, тогда как в группе сравнения эти показатели повысились. Таким образом, полученные данные свидетельствовали о восстановлении кислотно-основного состояния, уменьшении ацидоза, компенсации ЭД и разрешении ишемии в основной группе и об отсутствии изменений в группе сравнения. Величина соотношения лактат/пируват в обеих группах сравнения повысилась. Изменение этого показателя в основной группе обусловлено снижением уровня пирувата, а в группе сравнения содержание лактата и пирувата почти не изменилось. Таким образом, уровень CD105 у больных с КИ нижних конечностей позволяет выявить группу риска относительно тромботических осложнений в послеоперационный период.

Высокая экспрессия CD105 на эндотелиальных клетках и изменение его уровня у обследованных

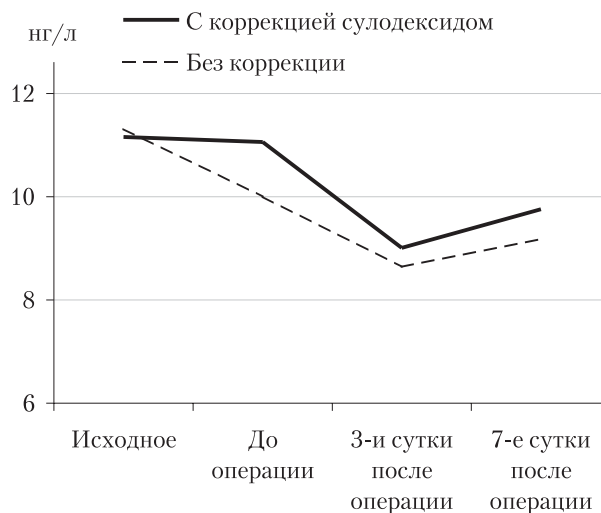


Рисунок. Динамика содержания эндоглина (CD105) у больных с критической ишемией в ходе лечения

больных позволяют судить о функциональном состоянии эндотелия, а значит, о функциях, опосредованных данным цитокином. Недостаточная экспрессия эндоглина и низкий его уровень в плазме крови обуславливают недостаточную пролиферативную активность эндотелия сосудов, регенераторную способность эндотелия, избыточную экспрессию молекул адгезии (фибронектина, люмикана), увеличение уровня прокоагулянтных, антифибринолитических агентов (ингибитор активатора тканевого плазминогена-1), недостаточную опосредованную выработку NO, накопление церамидов и снижение резистентности к ишемии, индуцированию апоптоза эндотелиальных клеток. Эти отрицательные эффекты низкого уровня эндоглина (CD105), а в нашем исследовании таким является уровень  $< 8$  нг/л ( $p < 0,05$ ), приводят к повышению риска тромботических событий в послеоперационный период у больных с КИ нижних конечностей, что обуславливает необходимость дополнительного контроля и коррекции как ЭД, так и состояний, опосредованных ею.

Сулодексид в используемой нами схеме лечения обладает ангиопротекторным действием. В основной группе больных отмечено смещение метаболического равновесия в сторону уменьшения ацидоза за счет снижения содержания лактата и величины соотношения лактат/пируват, что способствует улучшению энергетического обеспечения тканей и заживлению участков некроза.

#### ВЫВОДЫ

У больных с критической ишемией нижних конечностей (3—4 степени по Фонтейну — Покровскому) изначально низкий уровень CD105 ( $< 8$  нг/л;  $p < 0,05$ ) свидетельствует о тяжелом нарушении функции эндотелия, что делает прогноз лечения неблагоприятным и требует коррекции в

до- і післяопераційний період. Включення в склад комплексної терапії для корекції ендотеліальної дисфункції сулодексида по пропонуваній схемі дозволяє компенсувати показники функціональної активності ендотелію, о

чем свідчить в післяопераційний період більш висока і стабільна концентрація ендогліну (CD105), а також компенсувати метаболічний гомеостаз і покращити результати лікування даної категорії хворих.

## Література

1. Клиническая ангиология: Руководство / Под ред. А.В. Покровского: В 2 т. — М.: Медицина, 2004. — 808 с.
2. Коррекция эндотелиальной дисфункции в аспекте современной модели гомеостаза при критических состояниях: Метод. рекомендации. — К., 2005. — 56 с.
3. Barresi V., Grosso M., Vitarelli E. et al. Endoglin (CD105) expression in the human heart throughout gestation: an immunohistochemical study // *Reprod. Sci.*— 2008.— Vol. 15.— P. 1018—1026.
4. Belik J., Jerkic M., McIntyre B.A. et al. Age-dependent endothelial nitric oxide synthase uncoupling in pulmonary arteries of endoglin heterozygous mice // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.*— 2009.— Vol. 297.— P. L1170—L1178.
5. Botella L.M., Sanz-Rodriguez F. et al. Lumican is down-regulated in cells expressing endoglin. Evidence for an inverse relationship between Endoglin and Lumican expression // *Matrix Biol.*— 2004.— Vol. 22.— P. 561—572.
6. Gordon K.J., Blobel G.C. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease // *Biochim. Biophys. Acta.*— 2008.— Vol. 1782.— P. 197—228.
7. Inter-Society Consensus for the management of Peripheral Arterial Disease (TASC II), 2007.
8. Lopez-Novoa J.M., Carmelo Bernabeu: The physiological role of endoglin in the cardiovascular system // *Am. J. Heart Circ. Physiol.*— 2010.— Vol. 299.— P. H959—H974.
9. Mahmoud M., Allinson K.R., Zhai Z. et al. Pathogenesis of arteriovenous malformations in the absence of endoglin // *Circ. Res.*— 2010.— Vol. 106.— P. 1425—1433.
10. Mancini M.L., Terzic A., Conley B.A. et al. Endoglin plays distinct roles in vascular smooth muscle cell recruitment and regulation of arteriovenous identity during angiogenesis // *Dev. Dyn.*— 2009.— Vol. 238.— P. 2479—2493.
11. Rutherford's Vascular Surgery, 7th ed. 2010 — Saunders, 2010. — 2448 p.

В.В. Бойко, В.О. Прасол, О.О. Зарудний, К.В. М'ясоєдов

## ОСОБЛИВОСТІ ДІАГНОСТИКИ, ПЕРЕБІГУ ТА КОРЕКЦІЇ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ У ХВОРИХ З КРИТИЧНОЮ ІШЕМІЄЮ НИЖНІХ КІНЦІВОК

**Мета роботи** — оцінити значення ендотеліальної дисфункції у визначенні характеру плинності та в діагностиці критичної ішемії нижніх кінцівок.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведено у 40 пацієнтів з критичною ішемією нижніх кінцівок. Функціональний стан ендотелію оцінювали за рівнем ендогліну (CD105) у сироватці крові. Для встановлення референтних значень рівня ендогліну досліджували його концентрацію в сироватці крові здорових осіб і хворих на хронічні облітерувальні захворювання артерій нижніх кінцівок з ішемією I—2-го ступеня за Фонтейном—Покровським. Для оцінки метаболічних порушень при хронічній ішемії визначали рівні пірвіноградної та молочної кислоти і їх співвідношення.

**Результати та обговорення.** В основній групі та групі порівняння вихідні рівні CD105 були нижчими ( $(11,17 \pm 1,52)$  і  $(11,31 \pm 1,91)$  нг/л відповідно), ніж у здорових осіб ( $(14,45 \pm 1,84)$  нг/л). Вихідні показники лактату і пірвату свідчили про зсув кислотно-основної рівноваги в бік ацидозу, тобто про наявність метаболічного стану, характерного для тканинної ішемії. У ході комплексної корекції ендотеліальної дисфункції у хворих основної групи відзначено зміни біохімічних показників, які свідчили про поліпшення енергетичного забезпечення тканин, а отже, про компенсацію ішемічного стану.

**Висновки.** У хворих із критичною ішемією нижніх кінцівок (3—4-го ступеня за Фонтейном—Покровським) низький вихідний рівень CD105 ( $< 8$  нг/л  $p < 0,05$ ) свідчить про тяжке порушення функції ендотелію, що робить прогноз лікування несприятливим і потребує корекції у до- і післяопераційний період. Корекція ендотеліальної дисфункції за запропонованою схемою дає змогу компенсувати показники функціональної активності ендотелію, про що свідчить вища та стабільна концентрація CD105 в періопераційний період, компенсувати метаболічний гомеостаз і поліпшити результати лікування цієї категорії хворих.

**Ключові слова:** критична ішемія, ендотеліальна дисфункція, ендоглін, CD105, сулодексид, лактат, пірват.



V.V. Boiko, V.A. Prasol, O.A. Zarudnyi, K.V. Miasoyedov

## DIAGNOSIS, CLINICAL COURSE AND CORRECTION FEATURES OF THE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATIENTS WITH CRITICAL LIMB ISCHEMIA

**The aim** – to estimate the importance of the endothelial dysfunction in study of clinical course, diagnosis of critical limb ischemia.

**Materials and methods.** The study was conducted in 40 patients with critical limb ischemia. The functional state of the endothelium was assessed by means of endoglin serum level detection (CD105). To establish endoglin reference values level its concentration in the serum of healthy individuals and patients with peripheral arterial disease (PAD) of the lower limb 1st and 2nd degree for Fontaine–Pokrovsky were examined. To assess the metabolic abnormalities in chronic ischemia pyruvate and lactic acid and their relationship were measured.

**Results and discussion.** In the study group and the comparison group CD105 initial levels were reduced ( $(11.17 \pm 1.52)$  and  $(11.31 \pm 1.91)$  ng/l, respectively) compared with healthy individuals ( $(14.45 \pm 1.84)$  ng/l). Lactate and pyruvate initial indicators has showed a acid-base balance shift toward acidosis, i.e the metabolic state presence typical for tissue ischemia. During the comprehensive correction of endothelial dysfunction in patients of main group changes observed in biochemical indicators levels that indicated the improvement of tissue energetic supply, i.e. of compensation of ischemic state.

**Conclusions.** In patients with critical limb ischemia (3rd and 4th degree ischemia by Fontaine–Pokrovsky) CD105 low initial level ( $< 8$  ng/l;  $p < 0.05$ ) indicates fowl endothelial function, which makes the prediction of treatment unfavorable and requires correction in pre- and postoperative period. Correction of endothelial disorders with proposed scheme makes it possible to compensate the functional endothelial activity, as evidenced by higher and stable concentration of CD105 in the perioperative period, to compensate metabolic homeostasis and improve outcomes in this category of patients.

**Key words:** critical ischemia, endothelial dysfunction, endoglin, CD105, sulodexid, lactate, pyruvate.