

всегда соответствует точке Зудека. Если 4 сигмовидная артерия не имеет анастомозов, тогда точка Зудека переносится на порядок выше, если две последние артерии не имеют анастомозов, тогда точка Зудека переносится на 2 порядка выше. В связи с этим хирург не должен ориентироваться на последнюю сигмовидную артерию по порядковому номеру при операциях на прямой и сигмовидной кишке. Единственным критерием в процессе операций должна быть артерия в точке Зудека, с наличием анастомоза с вышележащей сигмовидной артерией.

#### **Выводы**

1. Прерванные и резко суженные анастомозы между сигмовидными артериями выявлены в нижней трети сигмовидной кишки.
2. Пересечение сигмовидных артерий ниже первой сигмовидной артерии, а также ветвей первой сигмовидной артерии может привести сигмовидную кишку к некрозу в связи с

перерывом и сужением анастомозов ниже первой сигмовидной артерии и ветвями первой сигмовидной артерий.

3. В 22 % дуга Риолана истончена до 1–1,3 мм. Лигирование и пересечение нижней брыжеечной артерии опасно при низведении левого фланга толстой кишки.

#### **БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Низкая брюшно-анальная резекция в лечении больных раком прямой кишки / Г. В. Бондарь [и др.] // Онкология. — 2002. — № 1. — С. 59–61.
2. Башеев, В. Х. Оптимизация тактики лечения рака нижнеампулярного отдела прямой кишки: автореф. дис. ... канд. мед. наук / В. Х. Башеев. — Донецк, 2003.
3. Surtees, P. High versus low ligation of the inferior mesenteric artery in rectal cancer / P. Surtees, J. Ritchie, R. K. S. Phillips // Br. J. Surg. — 1990. — Vol. 77. — P. 618–621.
4. Pezim, M. F. Survival after high and low ligation of the inferior mesenteric artery during curative surgery for rectal cancer / M. F. Pezim, R. J. Nicholls // Ann. Surg. — 1984. — Vol. 200. — P. 729–733.
5. Randomized comparison of straight and colonic J pouch anastomosis after low rectal excision / O. Hallbooc [et al.] // Ann. Surg. — 1996. — Vol. 224. — P. 58–65.

Поступила 10.06.2011

УДК 616.14-008.64:612.014

### **ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КАК МАРКЕР ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**С. А. Сушков**

**Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет**

Проведено изучение содержания циркулирующих эндотелиоцитов в крови, взятой из локтевой вены у 127 пациентов, страдающих варикозной болезнью нижних конечностей, относящихся к разным классам хронической венозной недостаточности. Для оценки состояния глубоких вен пациентам проводилось инструментальное обследование.

В результате проведенного исследования установлено, что у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей отмечается повышение в крови уровня циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК). При прогрессировании хронической венозной недостаточности их содержание увеличивается, что может свидетельствовать о более выраженном повреждении эндотелиального слоя венозной стенки. Содержание циркулирующих эндотелиальных клеток в крови также зависит от типа гемодинамических нарушений, развивающихся в венах нижних конечностей. Установлено, что определение уровня ЦЭК может служить дополнительным диагностическим критерием степени тяжести хронической венозной недостаточности, а также использоваться для прогнозирования характера течения заболевания.

**Ключевые слова:** варикозная болезнь, хроническая венозная недостаточность, дисфункции эндотелия, циркулирующие эндотелиальные клетки.

### **CIRCULATING ENDOTHELIAL CELLS AS AN ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKER IN CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY**

**S. A. Sushkov**

**Vitebsk State Order of Peoples` Friendship Medical University**

The content of circulating endothelial cells in the blood, taken from the ulnar vein in 127 patients suffering from chronic varicosity of lower limbs, referring to different classes of chronic venous insufficiency, has been studied. To evaluate the state of deep veins, the patients underwent an instrumental examination.

As a result of the performed investigation it has been established that the patients with varicosity of lower limbs have an increased level of the circulating endothelial cells level in the blood. Their content increases in chronic venous insufficiency progression, which may testify to a more marked lesion of the endothelial layer of the venous wall. The content of the circulating endothelial cells in the blood also depends on the type of hemodynamic disturbances developing in the lower limbs veins. It has been found out that the determination of the CEC level can be an additional diagnostic criterion for the severity of chronic venous insufficiency and it can be used to predict the nature of the disease course.

**Key words:** varicosity, chronic venous insufficiency, endothelium dysfunction, circulating endothelium cells.

Несмотря на длительный период изучения патогенеза хронической венозной недостаточности нижних конечностей, к настоящему времени единого мнения о характере патологических изменений в венах нижних конечностей нет. Несомненно, что основным патогенетическим фактором являются гемодинамические нарушения венозного кровотока, которые и запускают каскад патологических нарушений, развивающихся как в стенке вены, так и в окружающих тканях.

В последнее десятилетие серьезное внимание уделяется исследованию молекулярно-клеточных механизмов развития хронической венозной недостаточности [1–4]. В соответствии со сложившимися к настоящему времени представлениями повреждения вен нижних конечностей происходит в результате инфильтрации их стенки и створок клапанов моноцитами и макрофагами. Причем клеточные инфильтраты формируются на участках венозной стенки, эндотелиоциты которой продуцируют молекулы клеточной адгезии [1, 2, 3]. Данный факт свидетельствует о существенной роли эндотелия в развитии варикозной трансформации вен и формировании недостаточности их клапанного аппарата. Необходимо отметить, что механизмы, вызывающие изменения венозной стенки и клапанов, точно не известны. Предполагается, что нарушения венозного оттока приводят к изменению давления сдвига жидкости на эндотелий. Это, в свою очередь, инициирует воспалительные реакции с участием лейкоцитов и эндотелиоцитов, приводящие к последующим патологическим структурным изменениям [1].

Как видно, в сложившейся концепции патогенеза венозной недостаточности существенная роль отводится эндотелиоцитам. В то же время эндотелиоциты нельзя воспринимать как просто клетки, обеспечивающие внутреннюю выстилку сосудов. Эндотелий — фактически «железа внутренней секреции», обеспечивающая нормальное протекание многих физиологических процессов. Он представляет собой метаболически активную систему клеток, которая поддерживает гомеостаз сосудистой стенки посредством регуляции транспорта веществ в клетки сосуда, их рост, защищает сосуд от потенциально агрессивных субстанций и клеток, циркулирующих в крови, принимает участие в регуляции процесса гемостаза, пролиферации, воспаления и восстановления при локальном повреждении.

Многочисленными исследованиями показано, что дисфункция эндотелия играет существенную роль в развитии артериальной патологии. Длительное время при венозной патологии эндотелиальной дисфункции не уделялось особого внимания. Однако в последнее время многие исследователи, понимая, что артериальная и венозные системы не могут существ-

ствовать изолированно, все же начали активно работать в этом направлении.

Проведенные исследования позволили выявить активацию эндотелия при острой и хронической венозной недостаточности [2, 5–8]. При остром и хроническом нарушении эндотелий вен подвергается действию многих факторов (гипоксия, влияние экзо- и эндотоксинов, антиэндотелиальных и антифосфолипидных антител, клеточных и плазменных протеаз и т. д.), это приводит к дисфункции и дисрегуляции эндотелия, а эндотелиальные клетки сами становятся источником патогенных факторов. В то же время следует отметить, что непосредственно механизмы развития эндотелиальной дисфункции при хронической венозной недостаточности нижних конечностей к настоящему времени изучены недостаточно, хотя уже предпринимаются попытки разработки способов корригирующей терапии, направленной на нормализацию функционирования эндотелиальных клеток [2, 9–12].

Повреждение эндотелиальной выстилки сосудов сопровождается десквамацией эндотелиальных клеток и попаданием их в кровоток. Поэтому количество циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) многими исследователями признается как маркер дисфункции эндотелия [12, 13, 14]. Представляется интересным изучение данных показателей и у пациентов с варикозной болезнью.

#### **Цель работы**

Оценка содержания циркулирующих эндотелиальных клеток в крови у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей и определение возможности использования их как маркера дисфункции эндотелия при хронической венозной недостаточности.

#### **Материал и методы**

В исследование включено 127 пациентов страдающих варикозной болезнью нижних конечностей, в возрасте от 17 до 70 лет, средний возраст —  $43 \pm 11,2$  года ( $M \pm \sigma$ ). Среди обследованных 72 (56,69 %) женщины, 55 (43,31 %) мужчин. Длительность заболевания варьировала от 1 до 40 лет и в среднем составила  $11,8 \pm 8,2$  года ( $M \pm \sigma$ ). На основании клинического обследования, в соответствии с международной классификацией СЕАР, пациенты были разделены на клинические классы следующим образом: С 2 — 26 (20,47 %), С 3 — 62 (48,82 %), С 4 — 29 (22,84 %), С 5–6 — 10 (7,87 %). Для оценки состояния глубоких вен пациентам проводилось инструментальное обследование (дуплексное ангиосканирование, флебография). На основании полученных данных делалось заключение о состоятельности клапанов глубоких вен.

Количество циркулирующих эндотелиоцитов в крови, взятой из локтевой вены, определяли по методу J. Hladovec [15, 16]. Он основан на изоляции клеток эндотелия вместе с

тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов с помощью аденозиндифосфата (АДФ). Количество клеток подсчитывали в камере Горяева методом фазоконтрастной микроскопии. Эндотелиальные клетки окрашивались метиленовым синим и выглядели как большие ( $35 \times 50$  мкм) полигональные клетки с овальным, расположенным в центре ядром, часто образующие кластеры из 2–3 и более клеток. От одного пациента обсчитывалось 10 проб по 10 мкл обогащенной клетками плазмы. Суммируя данные каждой из 10 проб, получали количество циркулирующих эндотелиальных клеток в 100 мкл обогащенной клетками плазмы. Количество циркулирующих эндотелиальных клеток выражалось в ед. на 100 мкл плазмы. В качестве контроля исследовалась кровь 33 здоровых лиц, взятая из локтевой вены.

Статистический анализ полученных данных производился с использованием прикладных программ Microsoft Excel for Windows и программного пакета «Statistica», 6.0 фирмы StatSoft Inc. (США). Учитывая характер сравниваемых выборок, применялись параметрические методы. Для описательной статистики использованы следующие характеристики: среднее арифметическое ( $M$ ), стандартное отклонение ( $\delta$ ), ошибка среднего ( $m$ ). Оценку достоверности различия средних величин для независимых переменных осуществляли по  $t$ -критерию Стьюдента. Для определения взаимосвязи между изучаемыми показателями использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $R$ ). Для оценки значимости различия по альтернативному признаку применяли расчет  $\chi^2$ -критерия Пирсона. Различия между сравниваемыми вариационными рядами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

В контрольной группе в венозной крови количество циркулирующих эндотелиоцитов составило  $22 \pm 1$  кл/100 мкл ( $M \pm m$ ). У паци-

ентов с варикозной болезнью отмечено увеличение количества циркулирующих эндотелиальных клеток до  $49 \pm 2$  кл/100 мкл ( $M \pm m$ ), что превышало показатели в контрольной группе на 123 % ( $t$ -критерий,  $p \leq 0,01$ ). Выявленное повышение содержания циркулирующих эндотелиоцитов более чем в 2,2 раза свидетельствует об интенсивной десквамации эндотелиальных клеток и, соответственно, о повреждении целостности эндотелиальной выстилки сосудов.

С целью выявления возможной зависимости содержания циркулирующих эндотелиоцитов в венозной крови от тяжести хронической венозной недостаточности пациенты были разделены на 3 группы.

В 1 группу вошли пациенты с варикозной болезнью без клинических проявлений ХВН (класс С 2 в соответствии с классификацией СЕАР) — 26 (20,47 %) человек. Во 2 группу включены пациенты, у которых выявлялся отек (класс С 3), но отсутствовали трофические нарушения — 62 (48,82%) человека. 3 группу составили пациенты, имеющие трофические нарушения (классы С 4, С 5, С 6) — 39 (30,71 %) человек.

В результате проведенного анализа установлено, что содержание ЦЭК в крови составило: 1 группа —  $44 \pm 3$  кл/100 мкл; 2 группа —  $49 \pm 2$  кл/100 мкл; 3 группа —  $52 \pm 3$  кл/100 мкл ( $M \pm m$ ). Полученные данные свидетельствуют, что по мере нарастания ХВН отмечается увеличение содержания ЦЭК в венозной крови (рисунок 1). Так, у пациентов, имеющих трофические нарушения, количество ЦЭК на 18,2 % превышало их уровень у пациентов с варикозной болезнью без признаков ХВН ( $t$ -критерий,  $p \leq 0,05$ ). Корреляционный анализ позволил выявить, что имеется прямая слабая достоверная корреляционная связь между тяжестью заболевания и изменением содержания ЦЭК в венозной крови ( $R = 0,19$ ,  $p = 0,031$ ).

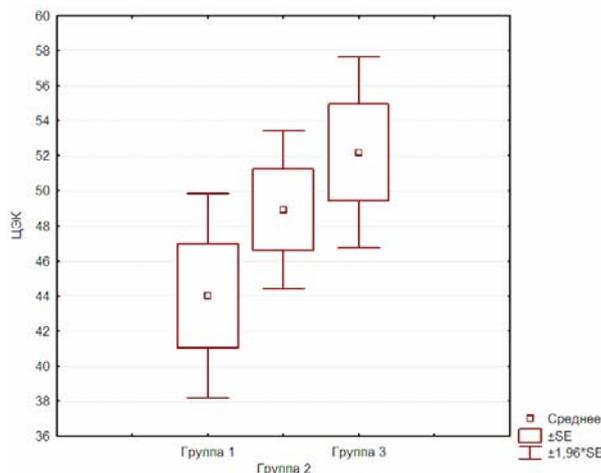


Рисунок 1 — Содержание циркулирующих эндотелиальных клеток в венозной крови у больных варикозной болезнью с разной тяжестью ХВН

Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов [5, 10], которые также выявили увеличение ЦЭК по мере усугубления тяжести заболевания. В то же время следует отметить, что несколько неожиданным оказалось то, что мы не выявили достоверной корреляционной связи между длительностью заболевания и изменением содержания ЦЭК ( $R = 0,05$ ,  $p = 0,567$ ). Логично предположить, что если тяжесть патологического процесса усугубляется по мере увеличения длительности заболевания, то и количество ЦЭК при увеличении продолжительности болезни должно увеличиваться. Однако, как указано выше, такую очевидную, на первый взгляд, закономерность нам подтвердить не удалось. По-видимому, существуют другие значимые факторы, которые могут влиять на состояние эндотелия, предопределять степень его повреждения и соответственно содержание в крови десквамированных клеток. Наиболее вероятно, что одним из таких факторов может быть вид гемодинамических нарушений, развивающихся в венозном русле нижних конечностей. Это побудило провести дополнительный анализ полученных данных.

Из обследованных пациентов с наиболее часто встречаемым классом ХВН — С3 мы сформировали 2 группы. Первая группа (26 человек) — пациенты с варикозным расширением поверхностных вен, с функционально полноценным клапанном аппаратом глубоких

вен. Вторая группа (36 человек) — пациенты, у которых, кроме варикозной трансформации поверхностных вен выявлена клапанная недостаточность глубоких вен. Известно, что у этих двух категорий больных гемодинамические нарушения в венах нижних конечностей различны. Наиболее важной отличительной чертой является то, что при клапанной недостаточности глубоких вен к нарушениям венозного оттока в поверхностных венах добавляются нарушения в глубоких венозных сосудах. Учитывая, что по глубоким венам нижних конечностей осуществляется до 80 % венозного оттока, это обстоятельство нельзя игнорировать. Кроме того, известно, что при несостоятельности клапанов глубоких вен заболевание протекает более тяжело и приводит к более быстрому появлению трофических нарушений.

Обе сформированные группы не отличались друг от друга по возрастному и половому составу (возраст —  $t$ -критерий, пол —  $\chi^2$ -критерий,  $p > 0,05$ ). Следует отметить, что имелось достоверное отличие ( $p \leq 0,05$ ) по средней длительности заболевания. Так, в первой группе длительность заболевания составила  $14,2 \pm 1,4$ , во второй —  $8,2 \pm 1$  год ( $M \pm m$ ). Этот факт был учтен при проведении последующего анализа.

В первой группе количество циркулирующих эндотелиоцитов в венозной крови составило  $43 \pm 3$  кл/100 мкл, во второй оно оказалось  $53 \pm 3$  кл/100 мкл ( $M \pm m$ ), что было на 23 % выше, чем в первой группе ( $p \leq 0,05$ ) (рисунок 2).

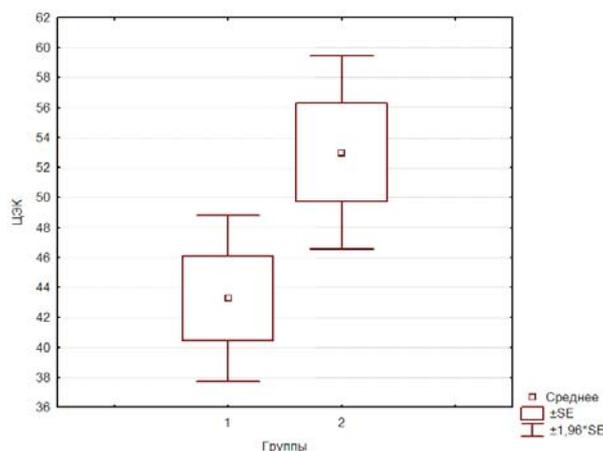


Рисунок 2 — Содержание циркулирующих эндотелиальных клеток у пациентов с варикозной болезнью

Представленные данные свидетельствуют о том, что интенсивность десквамации эндотелия при вовлечении в патологический процесс глубоких вен более выражена. Это позволяет предположить, что при недостаточности клапанов глубоких вен развиваются более существенные гемодинамические и микроциркуляторные нарушения, которые и могут быть одной из основных причин, приводящих к повреждению эндотелиальной выстилки сосудов.

Обращает на себя внимание и тот факт, что средняя длительность заболевания во второй группе на 6 лет была меньше, чем у пациентов первой группы. С одной стороны, это объясняет, почему при ранее проведенном анализе у пациентов с варикозной болезнью мы не смогли выявить корреляционной связи между длительностью заболевания и уровнем содержания циркулирующих эндотелиальных клеток. В частности, как оказалось, одним из факторов, кото-

рый может предопределять степень десквамации эндотелия, является характер гемодинамических нарушений в венах нижних конечностях. С другой стороны, выявленный факт может еще очередной раз свидетельствовать о том, что при вовлечении при варикозной болезни в патологический процесс глубоких вен циркуляторные нарушения развиваются быстрее.

Проведенные исследования показали, что при варикозной болезни нижних конечностей наблюдается избыточная десквамация эндотелиальных клеток, что выражается в увеличении количества циркулирующих эндотелиальных клеток в крови. Наши данные согласуются с результатами других исследователей [5, 10], которые также выявили увеличение ЦЭК при данной патологии. В то же время следует отметить, что авторы этих работ считают, что по степени выраженности эндотелиемии можно судить об активности процессов варикозной трансформации вен. По их данным, отмечаются различия по содержанию циркулирующих эндотелиоцитов при сегментарном и распространенном варикозе. Не оспариваем эту позицию, но нам кажется, что нельзя вопрос дисфункции эндотелия рассматривать только с такой упрощенной позиции, увязывая характер изменения уровня эндотелиоцитов с объемом пораженных поверхностных вен. Дисфункцию эндотелия все же следует рассматривать как системную реакцию на венозный застой в конечности, развивающийся при варикозной болезни. Эта точка зрения подтверждается и нашими результатами. Как было продемонстрировано, у пациентов с более высокими классами хронической венозной недостаточности и гемодинамическими нарушениями в глубоких венах наблюдаются более высокие уровни содержания ЦЭК в периферической крови.

Этими же авторами [5, 10] высказывается мнение о возможности использования ЦЭК в качестве маркера активности процессов варикозной трансформации вен. Они предлагают, в частности, использовать определение уровня эндотелиемии для раннего выявления рецидива варикозной болезни вен нижних конечностей, то есть появления новых варикозно-измененных вен. Мы согласны, что данный показатель можно использовать в качестве маркера активности патологического процесса. Однако он будет отражать все же не появление и увеличение варикозно-расширенных вен, а прогрессирование хронической венозной недостаточности. Если у пациента без трофических нарушений отмечается увеличение количества ЦЭК, то это может свидетельствовать о нарастании нарушений венозного оттока и появлении в ближайшее время трофических нарушений. Соответственно, такой прогноз нацелит врача на более активную тактику лечения заболевания.

## Выводы

1. У пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей отмечается повышение в крови уровня циркулирующих эндотелиальных клеток.
2. При прогрессировании хронической венозной недостаточности отмечается нарастание в крови содержания циркулирующих эндотелиальных клеток, что может свидетельствовать о более выраженном повреждении эндотелиального слоя венозной стенки.
3. Содержание циркулирующих эндотелиальных клеток в крови зависит от типа гемодинамических нарушений, развивающихся в венах нижних конечностей.
4. Определение уровня ЦЭК может служить дополнительным диагностическим критерием степени тяжести хронической венозной недостаточности, а также использоваться для прогнозирования характера течения заболевания.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bergan, J. Molecular mechanisms in chronic venous insufficiency / J. Bergan // *Ann. Vasc. Surg.* — 2007. — Vol. 21. — P. 260–266.
2. Nicolaidis, A. N. Chronic venous disease and the leukocyte-endothelium interaction: from symptoms to ulceration / A. N. Nicolaidis // *Angiology.* — 2005. — Vol. 56, № 1. — P. 11–19.
3. Pistorius, M. A. Chronic venous insufficiency: the genetic influence / M. A. Pistorius // *Angiology.* — 2003. — Vol. 54, № 1. — P. 5–12.
4. The impact of differential expression of extracellular matrix metalloproteinase in ulcer, matrix metalloproteinase-2, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 and PDGF-AA on the chronically of venous leg ulcers / B. Mwaura [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2006. — Vol. 31, № 4. — P. 306–310.
5. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе венозной трансформации / Ю. Л. Шевченко [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия.* — 2008. — Т. 14, № 1. — С. 15–20.
6. Raffetto, J. D. Mechanisms of varicose vein formation: valve dysfunction and wall dilation / J. D. Raffetto, R. A. Khalil // *Phlebology.* — 2008. — Vol. 23, № 2. — P. 85–98.
7. In vivo and in vitro assessment of human saphenous vein wall changes / A. M. Asbeutah [et al.] // *Open Cardiovasc Med J.* — 2007. — Vol. 1. — P. 15–21.
8. Contrasting effects of varicose vein surgery on endothelial-dependent and -independent cutaneous vasodilation in the perimalleolar region / M. Klonizakis [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* — 2006. — Vol. 31, № 4. — P. 434–438.
9. Бредихин, Р. А. Эффективность препарата «Антистакс» в лечении хронической венозной недостаточности нижних конечностей / Р. А. Бредихин, Е. Е. Фомина, И. М. Игнатьев // *Хирургия сердца и сосудов.* — 2007. — № 1. — С. 40–42.
10. Дисфункция эндотелия у больных хронической венозной недостаточностью нижних конечностей и возможности ее коррекции / Ю. М. Стойко [и др.] // *Новости хирургии.* — 2010. — № 4. — С. 57–64.
11. Exercise training improves cutaneous microvascular endothelial function in post-surgical varicose vein patients / M. Klonizakis [et al.] // *Microvasc. Res.* — 2009. — Vol. 78, № 1. — P. 67–70.
12. Increase in circulating endothelial cells in patients with primary chronic venous insufficiency: protective effect of Ginkor Fort in a randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial / D. Janssens [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 33, № 1. — P. 7–11.
13. Michiels, C. Endothelial cell reponses to hypoxia: initiation of a cascade of cellular interactions / C. Michiels, T. Arnould, J. Remabe // *J. Biophys. Acta.* — 2000. — Vol. 1497, № 1. — P. 1–10.
14. Vanhoutte, P. M. How to assess endothelial function in human blood vessels / P. M. Vanhoutte // *J. Hypertens.* — 1999. — Vol. 17, № 8. — P. 1047–1058.
15. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // *Physiologia bohemoslovaca.* — 1978. — Vol. 27. — P. 140–144.
16. Определение количества циркулирующих эндотелиальных клеток в плазме крови: инструкция на метод / С. Н. Занько [и др.]; Витебск. гос. мед. ун-т: утв. МЗ РБ 21.06.05. — Витебск, 2005. — 4 с.

Поступила 15.06.2011