

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕХНОЛОГИИ

УДК 617.586-002.4-02:616.379-008.64[616.137.83/93-004.6]-07:616.153.915

ЛИПИДВЫСВОБОЖДАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ – ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ АТЕРОСКЛЕРОЗА И МАРКЕР АКТИВНОСТИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ С ОБЛИТЕРИРУЮЩИМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ И СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

О. В. Харузина^{2}, П. Я. Сандаков¹, В. Ю. Мишланов¹,
Н. Н. Середенко¹, В. Е. Владимирский¹*

¹Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера,

²Городская клиническая больница № 4, г. Пермь, Россия

LIPID-RELEASING LEUKOCYTE ABILITY IS A RISK FACTOR FOR DEVELOPING ATHEROSCLEROSIS AND ATHEROSCLEROTIC PROCESS ACTIVITY MARKER IN PATIENTS WITH OBLITERATING ARTERIAL LOWER EXTREMITIES ATHEROSCLEROSIS AND DIABETIC FOOT SYNDROME

O. V. Kharuzina^{2}, P. Ya. Sandakov¹, V. Yu. Misblanov¹, N. N. Seredenko¹, V. E. Vladimirsky¹*

¹Perm State Academy of Medicine named after Academician E. A. Wagner,

²City Clinical Hospital № 4, Perm, Russian Federation

Цель. Определить патогенетическое значение факторов неспецифического воспаления в атерогенезе и липидвысвобождающей способности лейкоцитов у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей, при сочетанном течении атеросклероза различных сосудистых бассейнов (коронарные, брахиоцефальные артерии) и синдромом диабетической стопы.

Материалы и методы. В исследование включено 83 пациента, из них 72 человека с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей, 11 – с синдромом диабетической стопы. Контрольная группа состояла из 20 практически здоровых людей. У всех пациентов проводились инструментальные и лабораторные методы исследования. Липидвысвобождающую способность лейкоцитов (ЛВСЛ) определяли по методике проф. А. В. Туева, проф. В. Ю. Мишланова. Пациентам в зависимости от течения

© Харузина О. В., Сандаков П. Я., Мишланов В. Ю., Середенко Н. Н., Владимирский В. Е., 2013

e-mail: olga.haruzina@mail.ru

тел. 8 (342) 260 42 93

[Харузина О. В. (*контактное лицо) – аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней; Сандаков П. Я. – доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии лечебного факультета; Мишланов В. Ю. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней; Середенко Н. Н. – аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней; Владимирский В. Е. – доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней].

заболевания, уровня поражения артериального русла, степени ишемии конечности, сопутствующей патологии осуществлялось оперативное лечение: протезирование, шунтирование, эндалтерэктомия, тромбэктомия, симпатэктомия, стентирование, баллонная дилатация.

Результаты. Проведен сравнительный анализ результатов лабораторных значений липидвысвобождающей способности лейкоцитов (ЛВСЛ) у больных с изолированным, сочетанным поражением артерий нижних конечностей и синдромом диабетической стопы. В группах пациентов с изолированным и сочетанным атеросклерозом имеются достоверные различия. После оперативного лечения ЛВСЛ уменьшается, что приводит к снижению риска атерогенеза. При сочетании с синдромом диабетической стопы различий не выявлено. Амбулаторное лечение в послеоперационном периоде включало: ангиопротекторы, дезагреганты, статины (симвастатин – 20–40 мг или аторвастатин – 10 мг постоянно).

Выводы. ЛВСЛ является фактором риска развития облитерирующего атеросклероза нижних конечностей и сочетанного поражения артериального русла. Максимальные значения ЛВСЛ выявлены в группе больных синдромом диабетической стопы и сочетанным поражением различных артериальных бассейнов. Эффективное оперативное лечение больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей сопровождается достоверным снижением величины ЛВСЛ. У пациентов с синдромом диабетической стопы динамика ЛВСЛ в послеоперационном периоде не выявлено. Применение статинов уменьшает среднюю величину ЛВСЛ у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей и синдромом диабетической стопы.

Ключевые слова. Атеросклероз, ишемия нижних конечностей, синдром диабетической стопы, липидвысвобождающая способность лейкоцитов.

Aim. To determine the pathogenetic significance of nonspecific inflammation factors in atherogenesis and lipid-releasing leukocyte ability (LRLA) in patients with obliterating arterial lower extremities atherosclerosis in combined course of atherosclerosis of different vascular pools (coronary, branchiocephalic arteries) and diabetic foot syndrome.

Materials and methods. The study included 83 patients: 72 patients with obliterating atherosclerosis of lower extremities vessels, 11 – with diabetic foot syndrome. The control group consisted of 20 practically healthy persons. All patients were investigated with instrumental and laboratory methods. Lipid-releasing leukocyte ability was assessed using Professor A.V. Tuev, Professor V.Yu. Mishlanov method. Patients underwent operative treatment including prosthetics, shunting, endarterectomy, thrombectomy, sympathectomy, stenting, balloon dilatation depending on the course of disease, level of arterial bed lesion, degree of extremities ischemia and associated pathology.

Results. Comparative analysis of the results of laboratory LRLA values was carried out in patients with isolated associated lesion of lower extremities arteries and diabetic foot syndrome. In the groups of patients with isolated and associated atherosclerosis there are reliable differences. After operative treatment, LRLA is decreased that causes reduction of atherogenesis risk. No differences were detected in case of association with diabetic foot syndrome. Ambulatory treatment in the postoperative period included angioprotectors, disaggregants, statins (simvastatin – 20–40 mg or atorvastatin – 10 mg, constantly).

Conclusion. LRLA is a risk factor for developing obliterating atherosclerosis of lower extremities and associated lesion of arterial bed. Maximum LRLA values were revealed in the group of patients with diabetic foot syndrome and associated lesion of different arterial pools. Effective operative treatment of patients with OLEA is accompanied by significant decrease in LRLA value. No LRLA dynamics in the postoperative period among patients with DF syndrome was detected. Use of statins lowers a mean value of LRLA in patients with obliterating arterial lower extremities atherosclerosis and diabetic foot syndrome.

Key words. Atherosclerosis, lower extremities ischemia, diabetic foot syndrome, lipid-releasing leukocyte ability.

ВВЕДЕНИЕ

Облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей страдают около 7,5% мужского населения в целом и до 15%

в старшей возрастной группе. Общее число таких пациентов в России составляет 4–5 млн человек [1, 2]. У 20–30% больных через 5–7 лет после начала заболевания развивается критическая ишемия нижних конечностей, прогноз при которой в течение

года после установления диагноза неблагоприятен: 40% заболевших грозит ампутация, 20% – смерть и только у 40% удается сохранить конечность. В стране производят 30–40 тыс. ампутаций в год. При высоких ампутациях летальность составляет 8,8–20,4%, а пятилетняя выживаемость – 40% [4]. Реконструктивные операции на артериях нижних конечностей выполнимы лишь у 60–70% пациентов, что обусловлено поражением дистального сосудистого русла [3, 6]. При этом у 30% больных выполняются повторные реконструктивные вмешательства [4]. Социальная значимость облитерирующего атеросклероза и сахарного диабета определяется большой распространенностью, тяжестью их течения с прогрессивным нарастанием ишемии, приводящей к ранней инвалидизации лиц работоспособного возраста.

Изучение иммунопатогенеза сердечно-сосудистых заболеваний является актуальной проблемой. Теория изучения атерогенеза пытается найти ответы на вопросы: как регулируется синтез холестерина, как проникает в стенку сосуда, почему нарушается его элиминация, почему процесс атероматоза сопровождается угрозой внутрисосудистого тромбоза. В последние годы появились новые данные о связи маркеров воспалительного процесса с риском развития осложнений атеросклероза [5]. Полученные клинические исследования показали, что повышенное содержание в плазме крови молекул адгезии (sVCAM-1, sICAM-1), провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α и др.), белков острой фазы (фибриногена, С-реактивного белка (СРБ) и др.), неоптерина, а также увеличение общего количества лейкоцитов и ряда субстанций (гомоцистеина, липопротеина(а) (ЛП(а)), аполипопротеина В, окисленных липидов и др.) свидетельствуют о более высоком риске и неблагоприятном прогнозе сердечно-сосудистых заболеваний. Опубликованные данные о повышенной способности лейкоцитов венозной крови таких больных

отражают результат изучения индивидуальной модели атеросклероза в эксперименте *in vitro*, имеют прямую зависимость от белоксинтезирующей способности нейтрофилов. Данный показатель рассматривается авторами как независимый фактор риска развития атеросклероза и маркер активности атеросклеротического процесса [7].

Липидвысвобождающая способность лейкоцитов (ЛВСЛ) – новый, недостаточно изученный фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Основное положение теории показывает, что в условиях метаболического стресса *in vitro* нейтрофилы способны высвобождать холестерин. Избыточное накопление нейтрофилов в интиме сосуда в результате воспалительной реакции приводит к высвобождению из них белково-липидных комплексов, которые содержат холестерин.

Отложение белково-липидных комплексов в сосудистой стенке является пусковым механизмом формирования атеросклеротической бляшки [7].

Изучение ЛВСЛ у пациентов с различными локализациями атеросклеротического поражения сосудов представляет актуальную научную задачу.

Цель исследования – с помощью экспериментальных и клинико-лабораторных данных определить патогенетическое значение факторов неспецифического воспаления в атерогенезе и ЛВСЛ у больных с изолированным течением облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей, при сочетанном течении атеросклероза различных сосудистых бассейнов (коронарные, брахиоцефальные артерии) и синдроме диабетической стопы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 83 пациента, из них 72 – с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей, 11 – с синдромом

диабетической стопы. Среди обследованных и оперированных было 7 женщин, 76 мужчин. Возраст больных при облитерирующем атеросклерозе варьировался от 44 лет до 81 года ($61,8 \pm 8,26$ г.), при синдроме диабетической стопы от 57 до 77 лет ($65,7 \pm 6,05$ г.).

Возраст обследованных с изолированным течением облитерирующего атеросклероза нижних конечностей колебался от 44 до 76 лет ($59,1 \pm 7,80$ г.), а при сочетанном поражении артерий – от 52 до 81 года ($63,9 \pm 7,80$ г.).

Контрольная группа состояла из 20 практически здоровых людей в возрасте от 49 до 65 лет ($57,0 \pm 6,63$ г.), из них 7 женщин и 11 мужчин.

В соответствии с поставленной задачей сформированы 3 группы наблюдения:

1-я – 47 пациентов с изолированным течением облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей;

2-я – 25 больных с сочетанным течением облитерирующего атеросклероза артерий (поражение артерий нижних конечностей, коронарных, брахиоцефальных артерий);

3-я – 11 человек с синдромом диабетической стопы.

У всех пациентов проводились инструментальные и лабораторные методы исследования. Инструментальные методы: ультразвуковая доплерография (УЗДГ) артерий нижних конечностей, также оценивались жалобы на боли в ногах при ходьбе, данные физического осмотра. Диагностика облитерирующего атеросклероза (ОА) артерий нижних конечностей подтверждалась данными УЗДГ артерий нижних конечностей, а именно снижением уровня ЛПИ $< 0,9$. Лабораторные методы: ЛВСЛ определяли в иммунологической лаборатории ЦНИЛ ГБОУ ВПО ПГМА им. ак. Е. А. Вагнера по методике проф. А. В. Туева, проф. В. Ю. Мишланова (патент РФ № 2194995 от 20.12.2002 г.). Из венозной крови больного в стерильных условиях выделяли лейкоцитарную взвесь, используя метод отстаивания в центрифужных пробирках смеси

венозной крови и раствора полиглобулина в соотношении 5:3. Суспензию лейкоцитов тщательно отмывали от полиглобулина путем ресуспендирования в физиологическом растворе хлорида натрия 1 раз с последующим центрифугированием для осаждения клеток, 2-й раз отмывку производили в питательной среде Игла. После отмывки лейкоциты ресуспендировали в питательной среде. Производили количественный подсчет выделенных клеток и готовили взвесь, содержащую 50 000 лейкоцитов в 1 мкл среды. Соотношение лейкоцитов в выделенной суспензии приближалось к таковому в цельной крови, т.е. значительно преобладали нейтрофилы (60–80%). После строгого количественного учета 400 мкл суспензии лейкоцитов культивировали при 37°C в течение 3 суток в неполной питательной среде в пенициллиновых флаконах. Питательная среда была неполноценной по содержанию *L*-глутамину и холестерину. Через 3 суток определяли в культуральной среде холестерин холестериноксидазным методом с помощью коммерческого набора фирмы Human [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены сравнительные данные результатов лабораторных значений ЛВСЛ больных с изолированным, сочетанным поражением артерий нижних конечностей и синдромом диабетической стопы. В группах пациентов с изолированным и сочетанным атеросклерозом имеются достоверные различия. После оперативного лечения ЛВСЛ уменьшается, что приводит к снижению риска атерогенеза. При сочетании с синдромом диабетической стопы различий нет.

В табл. 2 представлены сравнительные данные результатов лабораторных значений ЛВСЛ больных в зависимости от приема статинов. Различия достоверны. Во всех трех группах отмечено снижение ЛВСЛ при приеме статинов.

В динамике до 6 мес. в группе пациентов, принимающих статины, перемежающаяся хромота рецидивировала у 2 человек, повторная операция по поводу ОА другой локализации проведена у 1 пациента, 73% чувствовали себя удовлетворительно или без динамики.

Таблица 1

Результаты лабораторных значений ЛВСЛ до и после оперативного лечения

Группа пациентов	ЛВСЛ до операции	ЛВСЛ после операции	<i>p</i>
ИОАНК	0,15±0,05	0,13±0,05	0,004
СОАНК	0,16±0,06	0,14±0,05	0,030
СДС	0,18±0,06	0,18±0,04	0,006

Примечание: здесь и далее в таблицах: ИОАНК – изолированный атеросклероз нижних конечностей; СОАНК – сочетанный атеросклероз нижних конечностей; СДС – синдром диабетической стопы.

Таблица 2

Результаты лабораторных значений ЛВСЛ в зависимости от приема статинов

Группа пациентов	ЛВСЛ без приема статинов	ЛВСЛ при применении и статинов	<i>p</i>
ИОАНК	0,16±0,07	0,13±0,06	0,031
СОАНК	0,17±0,04	0,14±0,06	0,030
СДС	0,18±0,03	0,16±0,04	0,005

Среди тех, кто не получал симвастатин, перемежающаяся хромота рецидивировала у 8 человек, повторная операция по поводу ОА другой локализации проведена у 4, 61% чувствовали себя удовлетворительно или без изменений. Состояние кровообращения пораженной конечности оценивалось как хроническая артериальная недостаточность (ХАН) II А-Б; III А-Б, т.е. обследованные больные имели показания к хирургическим методам васкуляризации.

Пациентам в зависимости от течения заболевания, уровня поражения артериального русла, степени ишемии конечности, сопутствующей патологии проводилось оперативное лечение: протезирование, шунтирование, эн-

дартерэктомия, тромбэктомия, симпатэктомия, стентирование, баллонная дилатация. Прооперировано 72 человека, из них 67 мужчин, 5 женщин. Средний возраст мужчин – 60,8±8,30 г., женщин – 63,40±5,68 г.

Осуществлено следующее хирургическое лечение:

- аортобедренное шунтирование с применением синтетических протезов «Экофлон», «Север», «Intergard» – 11 (15%) человек с поражением аортоподвздошного сегмента;
- подвздошно-бедренное протезирование с применением синтетических протезов «Экофлон», «Север» – 3 (4%) человека с поражением подвздошно-бедренного сегмента;
- бедренно-подколенное протезирование с применением синтетических протезов «Экофлон», «BARD» – 18 (25%) больных с поражением бедренно-подколенного сегмента;
- аутовенозное бедренно-подколенное шунтирование – 33 (46%) пациента с поражением бедренно-подколенного сегмента;
- эндартерэктомия – 10 (13%) человек с поражением подвздошно-бедренного и бедренно-подколенного сегментов;
- тромбэктомия (ТЭ) – 3 (4%);
- пластика артерий с применением ксеноперикарда – 15 (21%) человек с поражением подвздошно-бедренного сегмента;
- аутовенозное бедренно-переднеберцовое шунтирование – 1 (1%) пациент с поражением подколенно-берцового сегмента при синдроме диабетической стопы;
- профундопластика по Вейблу как метод борьбы с критической ишемией – 4 (6%);
- поясничная симпатэктомия – 15 (21%) больных с поражением подколенно-берцового сегмента и артерий тыла стопы;
- стентирование – 1 (1%) человек с поражением бедренно-подколенного и подколенно-берцового сегментов;

- рентгенэндоваскулярная дилатация – 6 (8%) больных с поражением бедренно-подколенного и подколенно-берцового сегментов;

- ампутация конечности выполнена в 2 (3%) случаях при гангрене конечности (ХАН IVст.).

Больным с сочетанным поражением облитерирующего атеросклероза в период наблюдения были выполнены дополнительные оперативные вмешательства: каротидная эндартерэктомия – у 2 (3%) человек, редрессация сонных артерий – у 1 (1%).

В табл. 3 и на рисунке представлены сравнительные данные результатов хирургического лечения больных с изолированным, сочетанным поражением артерий нижних конечностей и синдромом диабетической стопы. В первых двух группах по методу хирургического лечения лидировало аутовенозное бедренно-подколенное шунтирование, в третьей группе – пластика артерий ксеноперикардом.

Таблица 3

Результаты хирургического лечения (%)

Вид оперативного лечения	ИОАНК	СОАНК	СДС
АБШ	19	8	–
ПБП	4	4	–
БПП	23	28	–
АВБППШ	44	44	9
ЭАЭ	10	16	9
ТЭ	6	–	–
Пластика ксеноперикардом	21	8	27
Профундопластика по Вейблу	2	12	–
АВБППБШ	–	–	9
ПСЭ	21	12	–
Стентирование	–	–	9
РЭВД	6	4	18
Ампутация	2	4	–

Примечание: АБШ – аортобедренное шунтирование; ПБП – подвздошно-бедренное протезирование; БПП – бедренно-подколенное протезирование; АВБППШ – аутовенозное бедренно-подколенное шунтирование; ЭАЭ – эндартерэктомия; ТЭ – тромбэктомия; АВБППБШ – аутовенозное-переднебольшеберцовое шунтирование; ПСЭ – поясничная симпатэктомия; РЭВД – рентгенэндоваскулярная дилатация.

Амбулаторное лечение в послеоперационном периоде включало: ангиопротекторы (трентал – 1200 мг в сутки в течение 1 месяца 2 раза в год), дезагреганты (аспирин – 500 мг в сутки постоянно), статины (симва-статин – 20–40 мг или аторвастатин – 10 мг постоянно).

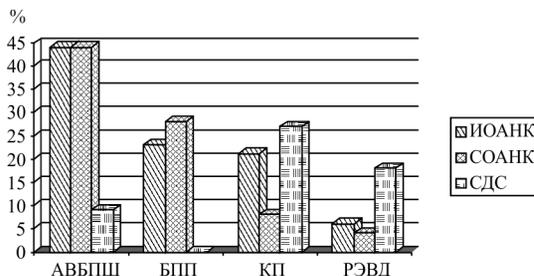


Рис. Виды оперативного лечения: АВБППШ – аутовенозное бедренно-подколенное шунтирование, БПП – бедренно-подколенное протезирование, КП – ксеноперикард, РЭВД – рентгенэндоваскулярная дилатация

Больные синдромом диабетической стопы получали терапию сахароснижающими препаратами (манинил – 5 мг 2 раза в сутки, сиофор – 500 мг 3 раза в сутки, диабетон – 80 мг 2 раза в сутки) и препаратами инсулина, предусматривающую двукратное введение пролонгированного инсулина в течение суток и простой инсулин подкожно 3 раза в день. Средняя суточная доза инсулина составила 21,9±7,2 ЕД. Дополнительно больные получали аспирин в дозе 125–300 мг в сутки.

Пациенты с АГ имели 2–3-ю степень повышения АД. Среди них у 33 человек установлен диагноз ГБ. Больные получали терапию эналаприлом – 10–20 мг 2 раза в сутки, амлодипином – 5 мг вечером, индапамидом – 2,5 мг утром.

Выводы

1. ЛВСЛ представляет фактор риска развития облитерирующего атеросклероза нижних конечностей и сочетанного поражения артериального русла. Максимальные значения

ЛВСЛ выявлены в группе больных синдромом диабетической стопы и сочетанным поражением различных артериальных бассейнов.

2. Эффективное оперативное лечение больных облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей сопровождается достоверным снижением величины ЛВСЛ. У пациентов с синдромом диабетической стопы динамика ЛВСЛ в послеоперационном периоде не выявлено.

3. Применение статинов уменьшает среднюю величину ЛВСЛ у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей и синдромом диабетической стопы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бокерия Л. А., Гудкова Р. Г. Сердечно-сосудистая хирургия 2000. М.: Изд-во НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН 2001; 68.
2. Гавриленко А. В., Омаржанов О. А., Абрамян А. В. Микроциркуляция у больных с хронической ишемией нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия* 2003; 9 (2): 130–135.
3. Гавриленко А. В., Кохан Е. П., Абрамян А. В. Применение поясничной симпатэктомии в лечении облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей – современный взгляд на проблему. *Ангиология и сосудистая хирургия* 2004; 3: 80.
4. Затевахин И. И., Юдин Р. Ю., Комраков В. Е. Облитерирующий тромбангиит. М. 2002; 320.
5. Покровский А. В., Дан В. Н., Чутин А. В., Харзаев А. Ф. Возможности сохранения нижней конечности при критической ишемии у больных сахарным диабетом. *Сахарный диабет* 2002; 4: 28–32.
6. Туев А. В., Мишланов В. Ю. Экспериментальные предпосылки новой теории атерогенеза. Болезни сердечно-сосудистой системы: теория и практика: материалы I съезда кардиологов Приволжского и Уральского федеральных округов РФ. Пермь 2003; 258–265.
7. Jackson M. R., Clagett G. P. Antithrombotic therapy in peripheral arterial occlusive disease. *Chest* 2001; 119: 283–299.

Материал поступил в редакцию 27.06.2013