

РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В ПАТОГЕНЕЗЕ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ

Магомедов М.М.¹, Магомедов А.А.²

¹ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет», Махачкала, e-mail: muxuma@mail.ru;

²ГБУ РД «Республиканская межрайонная многопрофильная больница», Шамилкала

В статье приведены результаты изучения концентрации комплекса матриксной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора-1 во взаимосвязи с состоянием эндотелиальной дисфункции, прооксидантной и антиоксидантной активности у пациентов с варикозной болезнью, посттромбофлебитической болезнью без трофических язв и у пациентов с хронической лимфovenозной недостаточностью в стадии трофических язв. Обследованию были подвергнуты 88 пациентов. Все пациенты были разделены на 4 группы: 1-я группа - варикозное расширение вен с хронической лимфovenозной недостаточностью в стадии трофических язв (35 пациентов), 2-я группа - посттромбофлебитическая болезнь (20 пациентов), 3-я группа - с варикозным расширением вен без трофических изменений (33 пациента) и 4-я группа контрольная – доноры (10 человек). В стадии обследования обнаружено нарастание концентрации ММП-9/ТИМП-1 пропорционально прогрессированию трофических язв у пациентов с хронической лимфovenозной недостаточностью. При посттромбофлебитической болезни с трофическими язвами и варикозным расширением вен выявлены значимые средние и сильные корреляционные связи уровня ММП-9/ТИМП-1 и общей оксидантной активности, что характеризуется значимостью окислительного стресса в активации металлопротеиназ. Секреторная активность межклеточного матрикса и маркеры окислительного стресса могут являться важными критериями оценки прогноза развития трофических язв и их осложнений.

Ключевые слова: хроническая лимфovenозная недостаточность, трофическая язва, оксидантный статус, дисфункция эндотелия, матриксные металлопротеиназы.

THE ROLE OF OXIDATIVE STRESS AND MATRIX METALLOPROTEINASES IN THE PATHOGENESIS OF TROPHIC ULCERS

Magomedov M.M.¹, Magomedov A.A.²

¹FSBEI HE "Dagestan State Medical University" MH RF, Makhachkala, e-mail: muxuma@mail.ru;

²Republican Interdistrict Multidisciplinary Hospital, Shamilkala

The article presents the results of studying the concentration of the complex of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor-1 in relation to the state of endothelial function, prooxidant and antioxidant activity in patients with varicose veins, postthrombophlebitic disease without trophic ulcers in patients with chronic lymphovenous insufficiency in the stage of trophic ulcers. A total of 88 patients were examined. All patients were divided into 4 groups: the first group of varicose veins deficiency in the stage of trophic ulcers of 35 patients, group 2 with post thrombotic disease - 20 patients, group 4 with varicose veins without trophic changes and group 33 - control - donors of 10 people. At the examination stage, an increase in the concentration of MMP-9 / TIMP-1 was found in proportion to the progression of trophic ulcers in patients with chronic lymphovenous insufficiency. In post-thrombosis disease and varicose vein dilatation, significant medium and strong correlations were found between the level of MMP-9 / TIMP-1 and total oxidative activity, which is characterized by the importance of oxidative stress in the activation of metalloproteinases. Examination of the secretory activity of the extracellular matrix and oxidative stress can be important criteria for assessing the prognosis of trophic ulcers and their complications.

Keywords: chronic lymphatic insufficiency, trophic ulcer, oxidative stress, endothelial dysfunction, matrix metalloproteinases.

Проблема лечебно-диагностической тактики у больных с хронической венозной недостаточностью (ХВН) в стадии трофических изменений и язв остается до конца не решенной и дискуссионной, что обусловлено значительной распространенностью

заболевания и часто неадекватно проведенным лечением, во время которого не всегда учитываются патогенетические механизмы болезни [1]. Лечение трофических язв остается одной из наиболее актуальных проблем современной флебологии. Венозные трофические язвы обнаруживают у 1-3% взрослого населения России [1; 2]. По площади трофические язвы венозного генеза хронической венозной недостаточности разделяют на малые (<5 см²), средние (6-20 см²), обширные (50 см²). Изучение отдельных результатов лечения трофических язв нижних конечностей показывает, что заболевание склонно к рецидивам как при использовании оперативных методов, так и консервативной терапии [3; 4]. Наиболее неблагоприятные отдаленные результаты дает чисто консервативная терапия трофических язв нижних конечностей, при которой через 6-12 месяцев после лечения число рецидивов достигает 42,5-58,8% [3; 5; 6]. Механизмы, провоцирующие процесс формирования трофической язвы нижних конечностей и замедляющие процессы ее регенерации, до конца не ясны [5; 7; 8]. Заживление трофической язвы – это сложный последовательный процесс, который характеризуется воспалением, регенерацией, отложением межклеточного матрикса и ремоделированием ткани [3; 9; 10]. Постоянный рост заболеваемости хронической лимфовенозной недостаточностью обуславливает необходимость разработки организационных мероприятий, включающих раннее выявление и своевременное лечение.

Большая частота заболеваний хронической лимфовенозной недостаточностью (ХЛВН) и наличие трофических язв имеет социально-экономическое значение. Так, в европейских странах средства лечения ХЛВН достигают 1,5–2% всех расходов на лечебный процесс [11; 12]. Известные в настоящее время методы консервативного и оперативного лечения трофических язв нижних конечностей, особенно осложненными трофическими язвами, не позволяют добиться полного излечения [10; 13]. Даже после самых радикальных операций на венозной и лимфатической системе у некоторых пациентов остаются отеки, ощущение тяжести в конечности, наблюдаются рецидивы тромбофлебитов, рожистого воспаления, трофических язв [10; 12]. Ряд исследований указывают на то, что у больных в стадии трофических изменений наблюдаются повышение окиси азота (NO) и аргиназы, которая, по мнению авторов, может способствовать липодермосклерозу и образованию трофических язв [14]. Нарушение уровней (NO) является причиной нарушения свободных кислородных радикалов, которые свою очередь оказывают нарушению цитокинов. Эндотелиальная дисфункция является одним из патогенетических механизмов развития трофических изменений нижних конечностей [13]. Сохранение целостности и физиологической активности эндотелия лежит в основе профилактики трофических и язвенных изменений нижней конечности.

Основные процессы матрикса и ремоделирования регулируются матриксными

металлопротеиназами и тканевыми ингибиторами матричных металлопротеиназ [14]. Активируются металлопротеиназы и их ингибиторы в ответ на действие оксидантного стресса, цитокиновой активности и нарушения межклеточных контактов [15]. В отделяемом из трофических язв обнаружена более высокая концентрация металлопротеиназ ММР-2 [8; 10]. Однако результаты исследования биопсий трофических язв венозной этиологии противоречивы [8]. Исследования биопсии длительно незаживающих трофических язв показали повышенный уровень активной формы ММР-9 по сравнению с биоптатами свежей язвы [12; 14]. При обследовании дермы и периульцинозной зоны венозных язв также обнаружено повышение иммунной активности внеклеточного индуктора ММР, а также мембранных матричных металлопротеиназ 1-2 [6; 8].

Вопросы прогноза развития трофических расстройств при ХЛВН могут быть решены с внедрением современных методик с изучением содержания матричных металлопротеиназ (ММР) и их ингибиторов в крови.

Определение окислительного стресса, дисфункция эндотелия и секреторной активности межклеточного матрикса может быть критерием оценки тяжести хронической лимфовенозной недостаточности в стадии трофических язв.

Цель исследования: изучение взаимосвязей матричных металлопротеиназ и тканевого ингибитора, состояния оксидантного статуса в перспективном плане, оценка прогноза скорости прогрессирования трофических язв нижних конечностей.

Материалы и методы исследования. Обследованию были подвергнуты 88 пациентов.

1-я группа - варикозное расширение вен с хронической лимфовенозной недостаточностью в стадии трофических язв, 35 пациентов. 2-я группа - посттромбофлебитическая болезнь в стадии трофических язв, 20 пациентов, 3-я группа - с варикозным расширением вен без трофических изменений, 33 пациента, и 4-я группа контрольная – доноры, 10 человек.

В обследование вошли 52 женщины и 36 мужчин, в возрасте от 28 до 78 лет. Длительность существования заболевания от 3 месяцев до 9 лет. Клиническая характеристика пациентов четырех групп, которые близкие по возрасту, полу и сопутствующей патологии, у больных с трофическими нарушениями и язвами в сравнении с пациентами без трофических изменений (контрольная группа) имеет картину частных жалоб и выраженной боли (38,1% пациентов против 2,1%), отеков (43,8% против 0%) и хромоты (8,5% против 0%). У 89,8% пациентов отеки 1 и 2 группы не поднимались выше верхней трети голени. У 30 (62,5%) человек с посттромбофлебитической болезнью, с рецидивирующим течением трофической язвы

отмечался отек всей конечности вследствие присоединившегося лимфостаза. Распространенность пигментации липодермосклероза была в основном локализованной (69,3%), тем не менее большинство пациентов 2 группы имели тромбоз глубоких вен более 2 см в диаметре (45,6%) длительностью свыше 4 месяцев (78,6%). Кроме того, у половины больных с тромбозом глубоких вен (45,5%) наблюдались многократные рецидивы, и в большинстве из них (89,6%) язвы были одиночными. У этих пациентов последний рецидив трофической язвы длился более 3 лет, в язвах были слабо выражены признаки эпителизации и регенерации. Вокруг язв развился обширный индуративный и рубцовый процесс. У 85,9% больных имелись открытые трофические язвы. У 62,8% больных размер наибольшей язвы был больше 58 см².

У 32 (36,4%) пациентов были сопутствующие заболевания. Среди них чаще всего встречались заболевания сердечно-сосудистой системы: кардиосклероз, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия. Реже встречались хронический бронхит, узловой зоб, хронический пиелонефрит у 6 (6,8%) больных. Критериями исключения для пациентов были облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей, сахарный диабет, а также прием нестероидных противовоспалительных препаратов, антикоагулянтов и диуретиков. После подписания информационного согласия каждому пациенту проводилось полное клиническое обследование.

Таким образом, маркеры эндотелиальной дисфункции и секреторной активности межклеточного матрикса могут явиться дополнительным критерием оценки тяжести ХЛВН. Изучение взаимосвязей этих маркеров с состоянием оксидантного статуса организма в перспективном плане оценивает скорость прогрессирования ХЛВН, выделяя группу риска пациентов с трофическими осложнениями и для контроля эффективности лечения хронической лимфовенозной недостаточности в стадии трофической язвы.

Содержание матриксных металлопротеиназ и их тканевого ингибитора определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора ММП-9/ТИМП-1 Bioscience (Австрия).

Общую оксидантную активность (ООА) и общую антиоксидантную активность (ОАА) вычисляли колориметрическим методом. Исследование функции эндотелия сосудов и определение стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке крови выполняли по протоколу формы Biogenesis (Англия). Протокол исследования был одобрен этическим комитетом Дагестанского государственного медицинского университета. Все пациенты были проинформированы о методе вмешательства, и было получено их письменное информированное согласие.

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью пакета стандартных компьютерных программ

(Microsoft Excel и Statistica Statsoft, США). Оценивали средние значения M, их стандартные отклонения (SD) и ошибки (m), а также коэффициент корреляционной зависимости (r). Уровень достоверности (p) устанавливали проверкой гипотез о равенстве центров распределения двух выборок (t-критерий Стьюдента). Результаты оценивали как достоверные, начиная со значений $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. У всех пациентов с хронической венозной недостаточностью в стадии трофических язв при поступлении в клинику имел место дисбаланс общего оксидантного стресса: общая оксидантная активность хронической венозной недостаточности в стадии трофических язв составляла 18.11 ± 0.28 ($P < 0.001$), ПТФБ в стадии трофических язв 19.68 ± 0.08 ($p < 0.05$), а варикозное расширение вен без трофических изменений 13.11 ± 0.01 ($p < 0.05$), больше, чем у доноров (табл. 1).

Снижение антиоксидантов усугублялось у пациентов с посттромбофлебитической болезнью в стадии трофических язв, уровень антиоксидантной активности у пациентов был ниже, чем в контроле у пациентов с хронической венозной недостаточностью и варикозным расширением вен. В динамике аналогичное различие во всех группах было выявлено и по уровню метаболитов оксида азота (NO) (табл. 1).

Таблица 1

Основные показатели общей оксидантной активности и общей антиоксидантной активности, концентрация комплекса ММП-9/ТИМП-1 и метаболитов NO у исследуемых групп (M \pm m)

Показатель	Контрольная группа, n=10	ХЛВН в стадии трофической язвы	ПТФБ в стадии трофической язвы	ВРВ без трофических язв
Общая оксидантная активность (ООА), %	11,15 \pm 0,31	18,11 \pm 0,28 P<0,001	19,68 \pm 0,18 P<0,001	13,11 \pm 0,61 P<0,001
Общая антиоксидантная активность (ОАА), %	126,81 \pm 1,08	99,8 \pm 0,27 P<0,001	80,18 \pm 0,49 P<0,001	113,91 \pm 0,91 P<0,001
ООА/ОАА	0,064 \pm 0,012	0,171 \pm 0,017 P<0,001	0,851 \pm 0,023 P<0,001	0,131 \pm 0,019 P<0,001
ММП-9/ТИМП-1, нг/мл	2,91 \pm 0,18	10,78 \pm 0,71 P<0,001	11,11 \pm 0,18 P<0,001	4,98 \pm 0,71 P<0,001
Оксид азота (NO), мкмоль/л	48,11 \pm 0,78	30,78 \pm 0,68 P<0,001	27,18 \pm 0,18 P<0,001	33,18 \pm 0,75 P<0,001

Примечание: использован t-критерий Стьюдента.

В динамике общая оксидантная активность при хронической венозной недостаточности в стадии трофических язв составляла 99.8 ± 0.27 ($p < 0.001$) ПТФС в стадии трофических язв 80.18 ± 0.49 ($p < 0.001$), а при варикозном расширении вен 113.91 ± 0.91 ($p < 0.05$), что показывает резкое снижение антиоксидантной активности по сравнению с контролем.

Увеличение общей оксидантной активности происходило на фоне снижения антиоксидантного потенциала.

Усугубление дисбаланса оксидантного статуса с максимальной выраженностью при посттромбофлебитической болезни в стадии трофических язв свидетельствовало об активном участии этой системы в патологическом процессе.

Исходя из этой позиции, увеличение оксидантного индекса более 0,15 можно рассматривать как фактор риска прогрессирования трофических язв у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей.

Динамика корреляционного анализа в контрольной группе связи между концентрациями ММП-9/ТИМП-1 и антиоксидантной активности, ММП-9/ТИМП-1 и NO оказались не выраженными.

При варикозном расширении вен и посттромбофлебитической болезни в стадии трофических язв с ХЛВН были зарегистрированы значимые средние и сильные прямые связи (табл. 2).

Таблица 2

Динамика корреляционной связи и изменения активности ММП-9/ТИМП-1 и общей оксидантной активности ОАА в группах исследования

Показатель	Контроль, n = 10	Группа исследования		
		ХЛВН в стадии трофической язвы	ПТФБ в стадии трофической язвы	ВРВ без трофических язв
ОАА/ОАА	- 0,16	- 0,89	- 0,98	- 0,78
ММП-9/ТИМП-1/ОАА	0,24	- 0,84	- 0,86	- 0,79
ММП-9/ТИМП-1/ОАА	0,12	0,86	0,96	- 0,71
ММП-9/ТИМП-1/NO	- 0,10	- 0,84	- 0,71	- 0,69

Уровень ММП-9/ТИМП-1 во всех группах исследования по отношению к контролю увеличился пропорционально тяжести посттромбофлебитической болезни в стадии трофических язв. У пациентов с посттромбофлебитической болезнью и варикозным расширением вен с ХЛВН в стадии трофических язв концентрация комплекса ММП-9/ТИМП-1 увеличилась в 2,8 и 3,6 раза соответственно и статистически значимо отличалась от варикозного расширения вен без проявлений трофических язв ($p < 0.001$). Наибольший уровень ММП-9/ТИМП-1 наблюдался у пациентов с посттромбофлебитической болезнью в стадии трофических язв. Эти изменения свидетельствовали о прогрессировании осложнений ХЛВН с риском развития рецидива и рожистого воспаления.

Анализ проведенных исследований показывает, что дисфункция эндотелия связана с оксидантным стрессом и нарушением строения экстрацеллюлярного матрикса лимфатической и венозной стенки сосудов.

Таким образом, дальнейшее изучение роли ООА и ОАА и системы матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов у больных ХЛВН представляется важным не только для прогнозирования осложнений и разработки новых методов лечения.

В трофической язве имеются нарушения процессов свободнорадикального окисления, сопровождающиеся снижением активности общей антиоксидантной системы защиты, повышением продукции свободных радикалов, а также накоплением первичных и конечных продуктов липопероксидации, провоцирующей необратимость изменения мембранных структур клеток при ВРВ и ПТФС. Как отмечалось выше, характерными изменениями хронической венозной недостаточности в стадии трофических язв являются мобилизация лейкоцитов, ремоделирование тканей, фиброз периульцерозной зоны. Эти изменения являются типичными для патологических состояний хронической венозной недостаточности в стадии трофических язв. У пациентов с хронической венозной недостаточностью был выявлен высокий уровень ММР-9 по сравнению с контролем, увеличивающейся пропорционально степени тяжести заболевания.

При сравнении больных одного и того же клинического класса С6 по СЕАР наблюдается повышенный уровень ММР-9 и относительное снижение TIMP-1. Эти данные свидетельствуют об активно протекающем процессе у больных хронической венозной недостаточностью в стадии трофических язв. Оксидантный стресс является провоцирующим фактором прогрессирования хронической венозной недостаточности с резким снижением антиоксидантного статуса.

Выводы

1. Изучение качественных, количественных характеристик металлопротеиназ и их ингибиторов представляет собой перспективные направления, которые позволят разработать новые подходы к диагностике и лечению хронической лимфовенозной недостаточности в стадии трофических язв.

2. Нарастание уровня ММР-9 и их ингибиторов у пациентов ПТФБ сопряжено с усугублением развития трофических язв.

3. Окислительный стресс приводит к активации матриксных металлопротеиназ с наличием значимых корреляционных связей.

Список литературы

1. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических

заболеваний вен // Флебология. 2013. № 2. С. 6-47.

2. Нимаев В.В., Шамсияв А.Ш., Шевченко А.В. Исследование содержания матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов у больных с лимфедемой конечностей // Трансляционная медицина. 2017. № 3 С. 32.

3. Магомедов М.М., Магомедов А.А. Эндолимфатическая лекарственная терапия в лечении пациентов с варикозными трофическими язвами // Флебология. 2013. Т.7. № 1. С.42-46.

4. Маркелова Е.В., Здор В.В., Романчук А.Л., Бирко О.Н. Матриксные металлопротеиназы и их связь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал // Иммунология, аллергология, инфектология. 2016. № 2. С.11-22.

5. Асамова Н.Р., Каримов З.З. Новые перспективы лечения варикозных трофических язв нижних конечностей // Ангиология и сосудистая хирургия 2009. № 3 С. 153-156.

6. Pavlovic M.D. Drug treatment of chronic venous disease. Wien Med. Wochenschr. 2016. Vol. 166. no 9-10. P. 312–319.

7. Yavuz C., Demirtas S., Guclu O., Karahan O., Yazici S., Caliskan A., Mavitas B. An alternative therapy for recurrent stasis ulcers in chronic venous insufficiency: venocuff. Case Rep. Vasc. Med. 2012. P. 315147.

8. Rabe E., Berboth G., Pannierfet F. Epidemiology of chronic venous diseases. Wien Med. Wochenschr. 2016. Vol. 166. no 9-10. P. 260–263.

9. Galis Z.S., Khatri J.J. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. Circ. Res. 2002. no 90. P. 251–262.

10. Schuller-Petrovic S. Endovenous ablation of saphenous vein varicosis. Wien Med. Wochenschr. 2016. Vol. 166. no 9-10. P. 297–301.

11. Herouy Y., May A.E., Pornschlegel G., Stetter C., Grenz H., Preissner K.T. et al. Lipodermatosclerosis is characterized by elevated expression and activation of matrix metalloproteinases : implications for venous ulcer formation. J. invest Dermatol. 1998. Vol. 111(5). P. 822-7.

12. Uthoff H., Spinedi L., Lattmann T. et al. Well-Tried and New Ones – update varicose vein treatment 2016. Praxis. 2016. Vol. 105. no 14. P. 813–819.

13. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции // Биоорганическая химия. 1998. № 24. С.245-255.

14. Piérard-Franchimont C., Hermanns-Lê T., Lesuisse M., Piérard G.E. Climatic impact on venous ulcers of the leg. Rev. Med. Liege. 2012. Vol. 67 (11). P. 573-5.

15. Учкин И.Г., Багдасарян А.Г. Современные подходы к лечению венозных трофических язв // Русский медицинский журнал. 2013. № 15 (21). С. 810 - 814.