

ОЦЕНКА КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ В БИОПТАХ ВАРИКОЗНО ДЕФОРМИРОВАННЫХ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

А.В. Минаев

преподаватель, кафедра биологической химии,
Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия)
E-mail: minaev-msmsu@mail.ru

Т.П. Вавилова

д.м.н., профессор, кафедра биологической химии,
Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия)
E-mail: tpvavilova@rambler.ru

Г.И. Алекберова

к.м.н., ст. преподаватель, кафедра биологической химии,
Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия)
E-mail: oliwka1987@mail.ru

Г.Ф. Ямалетдинова

к.б.н., ст. преподаватель, кафедра биологической химии,
Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия)
E-mail: yamaletdinova.g@yandex.ru

Х.А. Абдувосидов

к.м.н., доцент, кафедра морфологии человека,
Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова (Москва, Россия)
E-mail: sogdiana99@gmail.com

Актуальность. Варикозная болезнь нижних конечностей признана одной из самых распространенных патологий венозной системы нижних конечностей. Наряду с различными инволютивными и морфологическими изменениями, происходящими в венозной стенке, ключевую роль в патогенезе играют изменения на молекулярном уровне. Содержание различных биологически активных веществ непосредственно в варикозно измененной стенке вен, отражающих скорость биохимических процессов, практически не изучено.

Цель работы – изучить каталитическую активность лактатдегидрогеназы и креатинкиназы в биоптатах стенки вен у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей разных классов хронической венозной недостаточности по классификации CEAP.

Материал и методы. В эксперименте исследована ткань венозной стенки, взятая у 141 пациента с варикозной болезнью нижних конечностей классов C2-C6 (по классификации CEAP). Все обследованные пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от тяжести заболевания. Определение активности ферментов выполняли спектрофотометрическим методом.

Результаты. Выявлено повышение активности лактатдегидрогеназы и снижение активности креатинкиназы по мере прогрессирования заболевания. Выявлена положительная корреляция между активностью лактатдегидрогеназы и классом хронической венозной недостаточности и отрицательная корреляция между активностью креатинкиназы и классом хронической венозной недостаточности.

Выводы. Повышение каталитической активности лактатдегидрогеназы и понижение активности креатинкиназы в биоптатах варикозно измененных вен нижних конечностей напрямую связано с прогрессированием заболевания, что объясняется преобладанием анаэробных процессов над аэробными в варикозно деформированной венозной стенке, нарастанием гипоксии тканей и снижением энергообеспечения.

Ключевые слова: варикозная болезнь, лактатдегидрогеназа, креатинкиназа, хроническая венозная недостаточность.

Для цитирования: Минаев А.В., Вавилова Т.П., Алекберова Г.И., Ямалетдинова Г.Ф., Абдувосидов Х.А. Оценка каталитической активности ферментов в биоптатах варикозно деформированных вен нижних конечностей в зависимости от тяжести хронической венозной недостаточности. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(2):42–48. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-02-07>

Варикозная болезнь нижних конечностей (ВБНК) признана одной из самых распространенных патологий венозной системы нижних конечностей. На сегодняшний день отмечается резкое омоложение контингента лиц, страдающих варикозной болезнью, вместе с тем общее число пациентов с данной патологией ежегодно возрастает [1, 2]. Обращает на себя внимание тот факт, что хроническая венозная недостаточность (ХВН) – самостоятельное патологическое состояние. Наряду с различными инволютивными и морфологическими изменениями, происходящими в венозной стенке, ключевую роль в патогенезе ВБНК играют изменения на клеточном уровне. В последнее время особое внимание исследователи уделяют изучению молекулярных механизмов патогенеза ВБНК. В разное время учёные достаточно подробно изучали различные биохимические показатели в плазме крови у данной группы пациентов, такие как оксипролин, сиаловые кислоты, фибронектин, васкулоэндотелиальный фактор роста, матриксные металлопротеиназы и др. [3–6]. Но невзирая на это, содержание различных биологически активных веществ непосредственно в варикозно измененной стенке вен, отражающих скорость биохимических процессов, практически не изучено.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – изучить каталитическую активность лактатдегидрогеназы и креатинкиназы в биоптатах стенки вен у пациентов с ВБНК разных классов хронической венозной недостаточности по классификации CEAP.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперименте исследована ткань венозной стенки, взятая у 141 пациента с ВБНК классов C2–C6 (по классификации CEAP). Все обследованные пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от тяжести заболевания: 1-ю группу составили 55 пациентов класса C2, во 2-ю группу вошли пациенты класса C3 (30 человек), в 3-ю группу – 30 человек класса C4, в 4-ю группу отнесены лица классов C5–C6 (26 человек). Всем пациентам в плановом порядке в условиях стационара была выполнена флебэктомия, во время проведения которой были получены варикозно деформированные участки большой подкожной вены. Биоптаты венозной стенки получали по следующей схеме: до проведения исследования образцы ткани хранили при $t = -25\text{ }^{\circ}\text{C}$, затем отмывали на холоду физиологическим раствором NaCl, до гомогенного

состояния гомогенизировали в фарфоровой ступке с кварцевым песком, добавляя по 3 мл 0,9%-ного раствора NaCl. Полученные гомогенаты центрифугировали при 3000 об/мин в течение десяти минут. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинкиназы (КК) (в ммоль/ мин·г ткани) определяли в супернатанте полученных образцов стенки вен методом спектрофотометрии.

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0. Характер распределения определяли методом Шапиро–Уилка: при $p < 0,05$ распределение признака считалось ненормальным. Для описания признаков использовали медианы с указанием интерквартильного размаха. С целью исключения проблем множественных сравнений применяли однофакторный дисперсионный анализ. В связи с тем, что данные были получены для несвязанных (независимых) выборок и распределение в них отличалось от нормального, использовали критерий Краскела–Уоллиса. Впоследствии проводили апостериорные исследования с учетом поправки Бонферрони (статистически значимыми считались результаты при $p < 0,017$) по критерию Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С изменением класса ХВН статистически значимо менялось значение активности лактатдегидрогеназы в биоптатах ткани ($p < 0,001$) (табл. 1). Оценивая полученные результаты, видим, что по мере прогрессирования заболевания активность данного фермента возрастает. У пациентов 4-й группы активность ЛДГ практически в 6 раз выше по сравнению с 1-й группой.

Выявлена положительная корреляция между активностью ЛДГ и классом ХВН ($r = 0,94$, $p < 0,001$) (рис. 1).

Возможно, активность ЛДГ отражает степень венозного застоя крови и уровень тканевой гипоксии в области варикозного расширения.

В ранее проведенных исследованиях авторами был выявлен подъем уровня D-димера, аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатамино-трансферазы (АСТ) в биоптатах варикозно деформированной стенки вен по мере прогрессирования заболевания [7–9]. Проведенный корреляционный анализ позволил выявить положительную корреляцию между уровнями ЛДГ и D-димера в биоптатах ткани ($r = 0,9$, $p < 0,001$) (рис. 2).

Таблица 1. Активность ферментов в биоптатах венозной стенки в зависимости от стадии ХВН ($M \pm m$)

Группа	ЛДГ, ммоль/ мин·г ткани	КК, ммоль/ мин·г ткани
1-я	156,5±17,14	117,5±13,86
2-я	401,2±28,08 $p_1 < 0,001$	43,22±9,78 $p_1 < 0,001$
3-я	597±21,63 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	10,16±2,43 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
4-я	923,4±18,23 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	7,22±2,3 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$

Примечание: p_1 – статистическая значимость различий с показателями 1-й группы; p_2 – статистическая значимость различий с показателями 2-й группы; p_3 – статистическая значимость различий с показателями 3-й группы

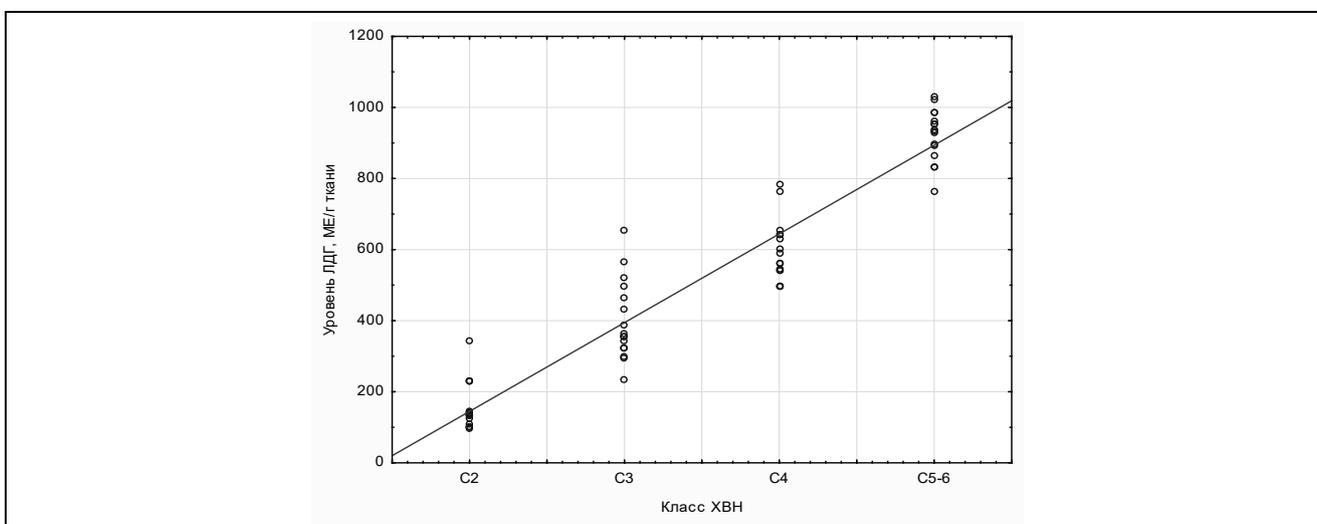


Рис. 1. Корреляционные связи между активностью ЛДГ и классом ХВН

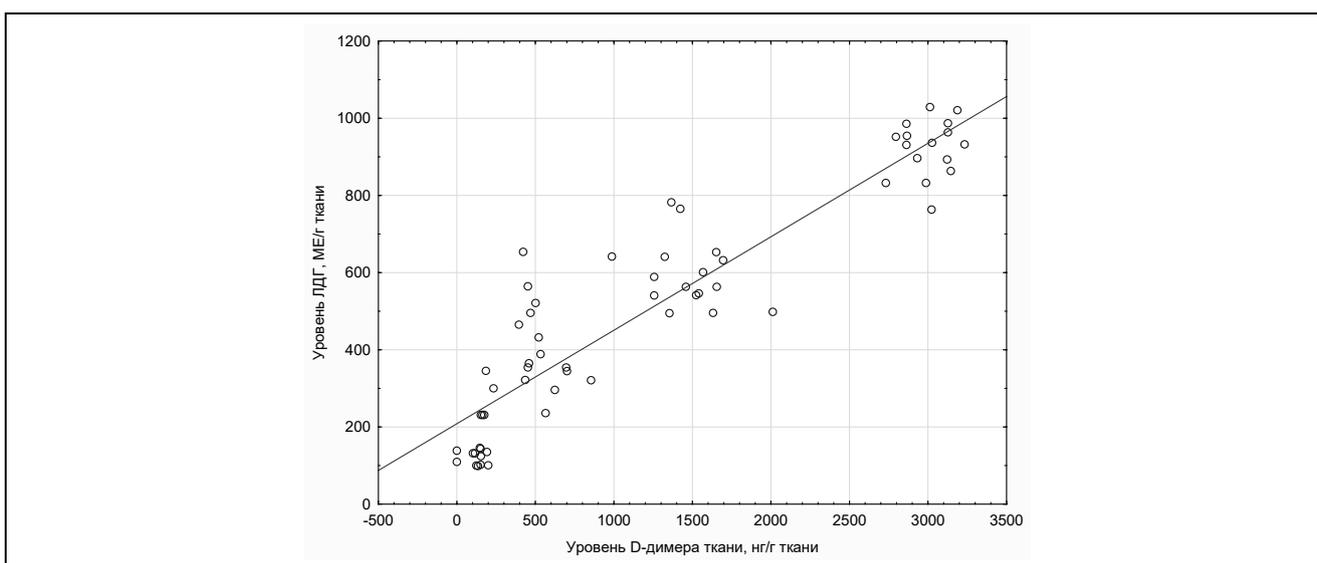


Рис. 2. Корреляционные связи между активностью ЛДГ и D-димера ткани

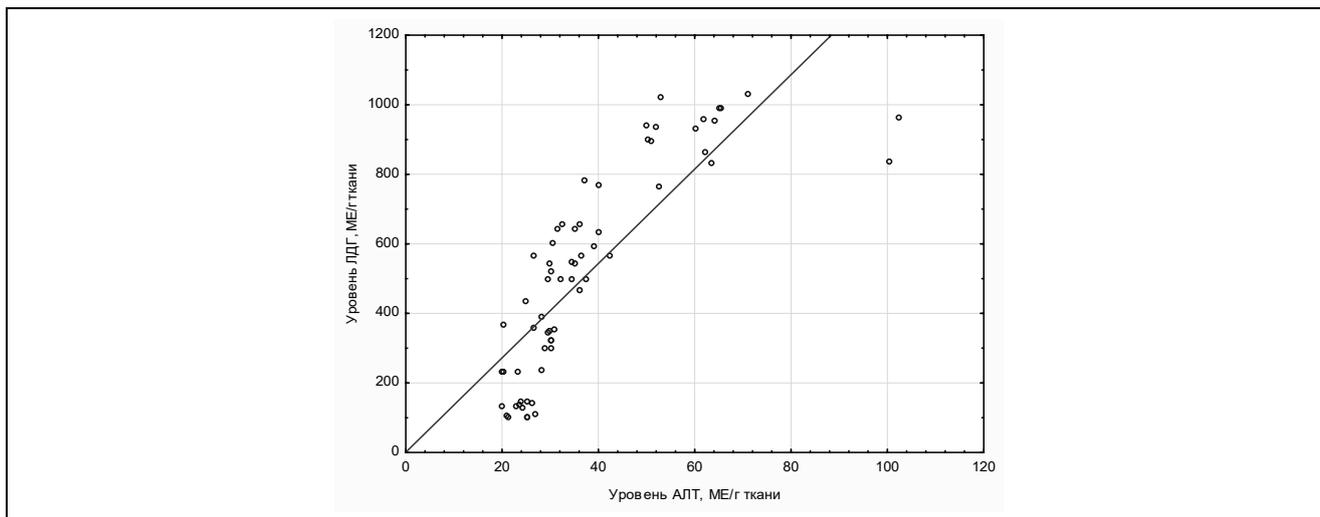


Рис. 3. Корреляционные связи между активностью ЛДГ и АЛТ ткани

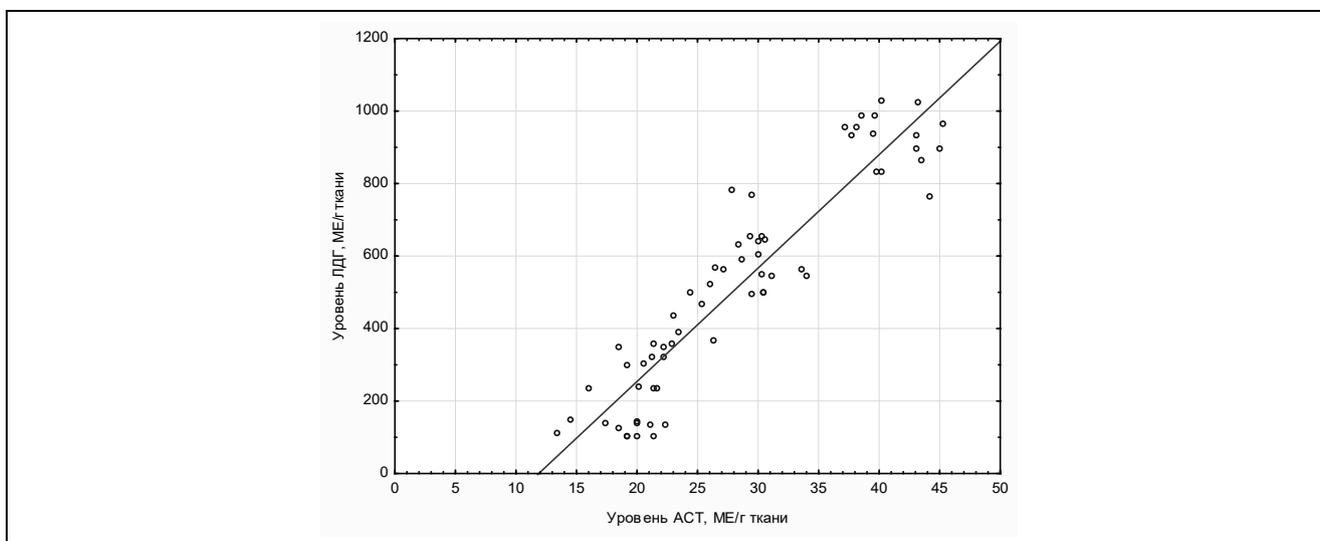


Рис. 4. Корреляционные связи между активностью ЛДГ и АСТ ткани

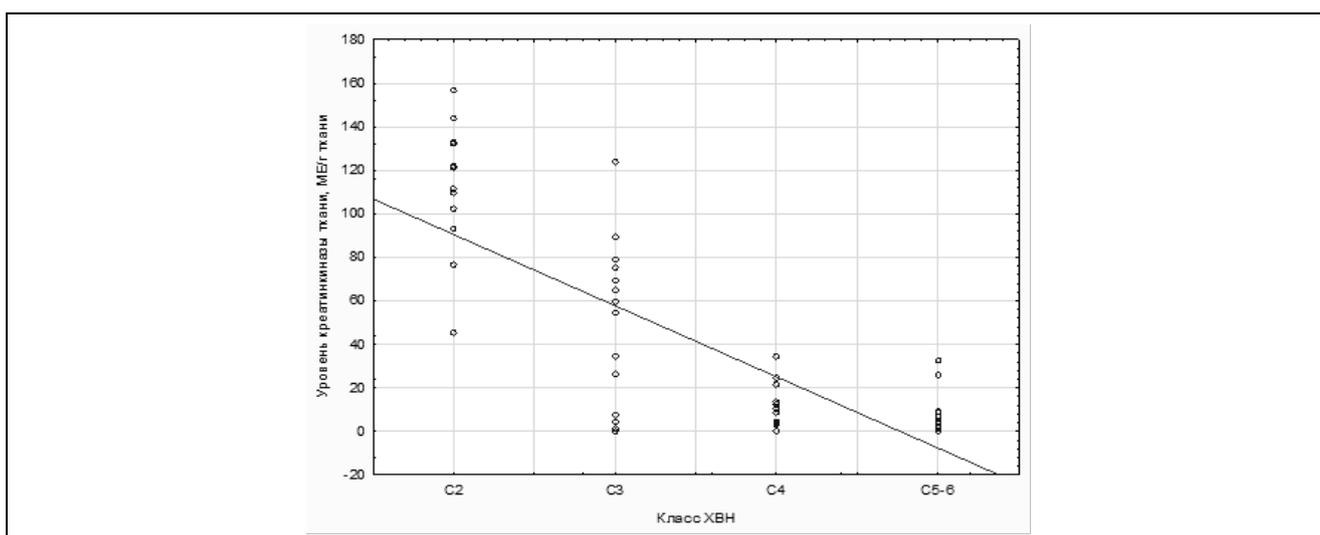


Рис. 5. Корреляционные связи между активностью КК и классом ХВН

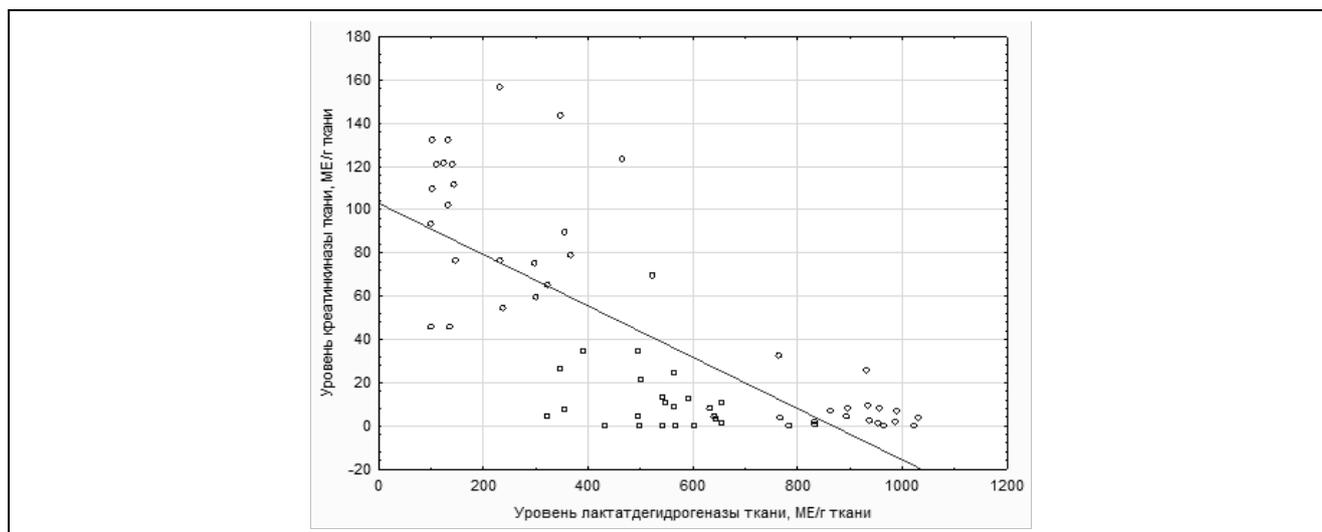


Рис. 6. Корреляционные связи между активностью КК и уровнем ЛДГ ткани

Также была выявлена положительная корреляция между уровнями ЛДГ и АЛТ ($r = 0,8, p < 0,001$), ЛДГ и АСТ ($r = 0,91, p < 0,001$) (рис. 3 и 4).

Из полученных результатов видно, что на фоне нарастающей тканевой гипоксии по мере прогрессирования ВБНК происходит активация процессов тромбообразования, увеличивается скорость тканевого протеолиза и внутриклеточного распада аминокислот. Данные изменения также могут свидетельствовать об увеличении скорости воспалительных процессов.

Значения активности креатинкиназы у пациентов с разными классами заболевания, наоборот, имели тенденцию к уменьшению по мере прогрессирования заболевания (см. табл. 1). Так, у пациентов 1-й группы была определена максимальная активность данного фермента – 116,4 [85; 132,6] ммоль/ мин·г ткани ($p < 0,001$). Во 2-й группе активность КК снижалась практически в 3 раза по сравнению с первой группой. У пациентов 3-й группы полученные значения были еще более низкими – 8,77 [3,64; 13,05] ммоль/ мин·г ткани ($p < 0,001$). У пациентов классов С5-С6 активность КК в 15 раз ниже по сравнению с пациентами 1-й группы.

Отмечена отрицательная корреляция между активностью КК и классом ХВН ($r = -0,66, p < 0,001$) (рис. 5).

Изменения активности КК согласуются с повышением активности анаэробного фермента ЛДГ. Установлена умеренная отрицательная корреляционная зависимость между активностью КК и активностью ЛДГ ($r = -0,74, p < 0,001$) (рис. 6).

Выявленные нами изменения активности ЛДГ и КК можно связать с разрушением митохондрий и уменьшением количества АТФ.

ВЫВОДЫ

1. По мере прогрессирования ВБНК отмечается повышение активности лактатдегидрогеназы в биоптатах варикозно измененных вен нижних конечностей.

2. Понижение каталитической активности креатинкиназы в биоптатах вен при ВБНК напрямую связано с прогрессированием заболевания.

3. Прогрессирование ВБНК характеризуется преобладанием анаэробных процессов над аэробными в варикозно деформированной венозной стенке, нарастанием гипоксии тканей и снижением энергообеспечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Конева М.И., Ватолина А.А., Стяжкина С.Н., Киришин А.А. Анатомо-физиологические особенности варикозной болезни вен нижних конечностей. Классификация. Диагностика. Лечение. StudNet. 2021; 4(5): 65–85.
2. Кунанбаева К.О., Мендекина А.Е. Варикозная болезнь нижних конечностей. Актуальные научные исследования в современном мире. 2021; 1–5(69): 92–96.
3. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пучкова Г.А., Пащенко В.М., Шанаев И.Н. Биохимические маркеры тяжести варикозной болезни вен нижних конечностей. Флебология. 2018; 12 (2–2): 8–9.
4. Ушаков Я.А. Значение полиморфных вариантов генов mmp-12, vegf, fgf-p в возникновении рецидива варикозной болезни нижних конечностей. Сб. материалов «Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты». 2017; 367.

5. Peschen M., Grenz H., Brand-Saberi B., Bunaes M., Simon J.C., Schopf E., Vanscheidt W. Increased expression of platelet-derived growth factor receptor alpha and beta and vascular endothelial growth factor in the skin of patients with chronic venous insufficiency. *Arch. Dermatol. Res.* 1998; 290: 291–297.
6. Saharav M., Shields D.A., Porter J.B., Scurr J.H., Smith P.D. Coleridge Leukocyte activity in the microcirculation of the leg in patients with chronic venous disease. *J. Vase. Surg.* 1997; 26(2): 265–273.
7. Дибиров М.Д., Вавилова Т.П., Минаев А.В. Исследование биохимических показателей в биоптатах стенок вен нижних конечностей при варикозной болезни. *Флебология.* 2019; 13(2): 141–145. DOI: 10.17116/flebo201913021141.
8. Вавилова Т.П., Магомедов М.Д., Минаев А.В. Определение активности аминотрансфераз и содержания провоспалительных цитокинов в сосудистой стенке при варикозном расширении подкожных вен нижних конечностей. *Казанский медицинский журнал.* 2017; 98(6): 968–970. DOI: 10.17750/КМЖ2017-968.
9. Вавилова Т.П., Минаев А.В., Островский Ю.А. Исследование активности ферментов в биоптатах подкожных вен нижних конечностей с варикозным расширением. Сб. науч. статей IX-й Росс. науч.-практич. конф. «Здоровье человека в XXI веке» (г. Казань, 30–31 марта 2017 г.). Казань: ООО «Издательско-полиграфическая компания «Бриг». 2017; 273–275.

Поступила после доработки 21 декабря 2021 г.

ESTIMATION OF ENZYME CATALYTIC ACTIVITY IN BIOPSTATES OF LOWER LIMB VARICOSE DEFORMED VEINS DEPENDING ON THE SEVERITY OF CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY

© Authors, 2022

A.V. Minaev

Lecturer, Department of Biological Chemistry,
Moscow State University of Medicine and Dentistry. A.I. Evdokimova (Moscow, Russia)
E-mail: minaev-msmsu@mail.ru

T.P. Vavilova

Dr. Sc. (Med.), Professor, Department of Biological Chemistry,
Moscow State University of Medicine and Dentistry. A.I. Evdokimova (Moscow, Russia)
E-mail: tpvavilova@rambler.ru

G.I. Alekberova

Ph.D. (Med.), Senior Lecturer, Department of Biological Chemistry,
Moscow State University of Medicine and Dentistry. A.I. Evdokimova (Moscow, Russia)
E-mail: oliwka1987@mail.ru

G.F. Yamaletdinova

Ph.D. (Biol.), Senior Lecturer, Department of Biological Chemistry,
Moscow State University of Medicine and Dentistry. A.I. Evdokimova (Moscow, Russia)
E-mail: yamaletdinova.g@yandex.ru

Kh.A. Abduvosidov

Ph.D. (Med.), Associate Professor, Department of Human Morphology,
Moscow State University of Medicine and Dentistry. A.I. Evdokimova (Moscow, Russia)
E-mail: sogdiana99@gmail.com

Relevance. Varicose veins of the lower extremities are recognized as one of the most common pathologies of the venous system of the lower extremities. Along with various involutive and morphological changes occurring in the venous wall, changes at the molecular level play a key role in pathogenesis. The content of various biologically active substances directly in the varicose vein wall, reflecting the speed of biochemical processes, has not been practically studied.

Aim. To study the catalytic activity of lactate dehydrogenase and creatine kinase in biopsy specimens of the vein wall in patients with varicose disease of the lower extremities of different classes of chronic venous insufficiency according to the CEAP classification.

Materials and Methods. In the experiment, tissue of the venous wall taken from 141 patients with varicose disease of the lower extremities of classes C2-C6 (according to the CEAP classification) was studied. All examined patients were divided into 4 groups depending on the severity of the disease. Determination of enzyme activity was performed by spectrophotometric method.

Results. An increase in the activity of lactate dehydrogenase and a decrease in the activity of creatine kinase were revealed as the disease progressed. A positive correlation was found between lactate dehydrogenase activity and the class of chronic venous insufficiency and a negative correlation between creatine kinase activity and the class of chronic venous insufficiency.

Conclusions. An increase in the catalytic activity of lactate dehydrogenase and a decrease in the activity of creatine kinase in biopsies of varicose veins of the lower extremities are directly related to the progression of the disease, which is explained by the predominance of anaerobic processes over aerobic ones in the varicose deformed venous wall, an increase in tissue hypoxia and a decrease in energy supply.

Key words: varicose veins, lactate dehydrogenase, creatine kinase, chronic venous insufficiency.

For citation: Minaev A.V., Vavilova T.P., Alekberova G.I., Yamaletdinova G.F., Abduvosidov Kh.A. Estimation of enzyme catalytic activity in biotates of lower limb varicose deformed veins depending on the severity of chronic venous insufficiency. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(2):42–48. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-02-07>

REFERENCES

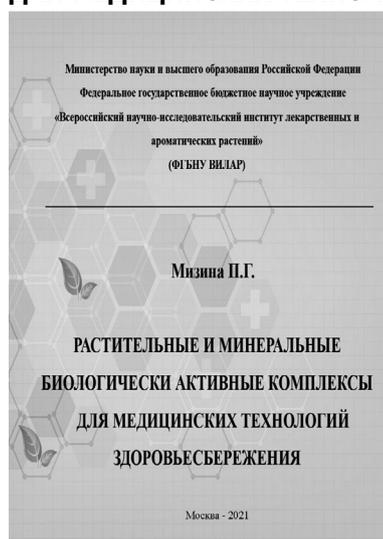
1. Koneva M.I., Vatolina A.A., Stjazhkina S.N., Kirshin A.A. Anatomico-fiziologicheskie osobennosti varikoznoj bolezni ven nizhnih konechnostej. Klassifikacija. Diagnostika. Lechenie. StudNet. 2021; 4(5): 65–85.
2. Kunanbaeva K.O., Mendekina A.E. Varikoznaja bolezni' nizhnih konechnostej. Aktual'nye nauchnye issledovanija v sovremennom mire. 2021; 1–5(69): 92–96.
3. Kalinin R.E., Suchkov I.A., Puchkova G.A., Pashhenko V.M., Shanaev I.N. Biohimicheskie markery tjazhesti varikoznoj bolezni ven nizhnih konechnostej. Flebologija. 2018; 12 (2–2): 8–9.
4. Ushakov Ja.A. Znachenie polimorfnyh variantov genov mmp-12, vegf, fgf-p v vozniknovenii recidiva varikoznoj bolezni nizhnih konechnostej. Sb. materialov «Studen-cheskaja nauka i medicina XXI veka: tradicii, innovacii i priority». 2017; 367.
5. Peschen M., Grenz H., Brand-Saberi B., Bunaes M., Simon J.C., Schopf E., Vanscheidt W. Increased expression of platelet-derived growth factor receptor alpha and beta and vascular endothelial growth factor in the skin of patients with chronic venous insufficiency. Arch. Dermatol. Res. 1998; 290: 291–297.
6. Saharay M., Shields D.A., Porter J.B., Scurr J.H., Smith P.D. Coleridge Leukocyte activity in the microcirculation of the leg in patients with chronic venous disease. J. Vase. Surg. 1997; 26(2): 265–273.
7. Dibirov M.D., Vavilova T.P., Minaev A.V. Issledovanie biohimicheskih pokazatelej v biotatah stenok ven nizhnih konechnostej pri varikoznoj bolezni. Flebologija. 2019; 13(2): 141–145. DOI: 10.17116/flebo201913021141.
8. Vavilova T.P., Magomedov M.D., Minaev A.V. Opredelenie aktivnosti aminotransferaz i sodержaniya provos-alitel'nyh citokinov v sosudistoj stenke pri varikoznom rasshirenii podkozhnyh ven nizhnih konechnostej. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2017; 98(6): 968–970. DOI: 10.17750/KMJ2017-968.
9. Vavilova T.P., Minaev A.V., Ostrovskij Ju.A. Issledovanie aktivnosti fermentov v biotatah podkozhnyh ven nizhnih konechnostej s varikoznym rasshireniem. Sb. nauch. statej IH-j Ross. nauch.-praktich. konf. «Zdorov'e cheloveka v XXI veke» (g. Kazan', 30–31 marta 2017 g.). Kazan': OOO «Izdatel'sko-poligraficheskaja kompanija «Brig». 2017; 273–275.



ИЗДАНИЯ ФГБНУ ВИЛАР

РАСТИТЕЛЬНЫЕ И МИНЕРАЛЬНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Автор: **Мизина П.Г.**



Монография содержит краткую информацию об использовании в нашей стране некоторых природных компонентов в оздоровлении человека. Обобщены материалы литературных данных и результаты собственных исследований по различным природным компонентам растительного и минерального происхождения, которые используются в медицинских технологиях здоровьесбережения. Материал данной монографии ни в коей мере не является справочником по терапии тех или иных патологий с применением природных биологически активных компонентов, поэтому в ней не содержатся конкретные рецепты и рекомендации по их использованию.

Целью краткого обобщения имеющейся информации по некоторым природным биологически активным комплексам является необходимость снова и снова обратить внимание специалистов и всех интересующихся вопросами здоровьесбережения на то, что в природе заложены огромные запасы оздоровительных компонентов, которые можно успешно использовать, но (!) при условии наличия глубоких знаний и профессиональных умений по их назначению и применению.

Монография рассчитана на специалистов в области медицинских технологий здоровьесбережения, научных работников, аспирантов, магистров, бакалавров, студентов и ни в коей мере не является рекламой тех или иных природных компонентов.

Материал данной работы может быть интересен и широкому кругу читателей.

По вопросам приобретения книг и монографий обращаться в ФГБНУ ВИЛАР:
117216, г. Москва, ул. Грина, д. 7; +7 (495) 338-11-09; e-mail: vilarnii@mail.ru
<http://vilarnii.ru/institute/our-publications/>