

# ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В СТЕНКЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННОЙ ВЕНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ КЛИНИЧЕСКИХ КЛАССОВ С4 — С6

## FEATURES OF THE CONTENT OF SOME MICROELEMENTS IN THE WALL OF A PATHOLOGICALLY CHANGED VEIN IN PATIENTS WITH VARICOSE VEINS OF THE LOWER LIMB OF CLINICAL CLASS C4 — C6

**O. Gerbali**

*Summary.* The aim of the study was to study changes in the content of trace elements selenium, selenium, zinc, copper and iron in the wall of a pathologically altered vein in patients with varicose veins of the lower extremities (VV LV) of clinical classes C4-C6. Results. In patients with VV LV of classes C4-C6, a statistically significant decrease in the content of selenium ( $p < 0.001$ ), zinc ( $p = 0.003$ ) and an increase in the content of copper ( $p = 0.046$ ) was found in the wall of the pathologically altered vein. According to multivariate regression analysis, a lower concentration of selenium in the vein wall is associated with the risk of development and progression of VV LV.

*Keywords:* varicose disease of the lower extremities, trace elements, optical emission spectrometry with inductively coupled plasma.

**Гербали Оксана Юрьевна**

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского  
(структурное подразделение ФГАОУ ВО «КФУ им.  
В.И. Вернадского»), г. Симферополь

*Аннотация.* Цель исследования — изучение изменения содержания микроэлементов селена, селена, цинка, меди и железа в стенке патологически измененной вены у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей (ВБ НК) клинических классов С4 — С6.

*Результаты.* У больных ВБ НК классов С4 — С6 в стенке патологически измененной вены обнаружено статистически значимое снижение содержания селена ( $p < 0,001$ ), цинка ( $p = 0,003$ ) и повышение содержания меди ( $p = 0,046$ ). По данным многофакторного регрессионного анализа, более низкая концентрация в стенке вены селена ассоциирована с риском развития и прогрессирования ВБ НК.

*Ключевые слова:* варикозная болезнь нижних конечностей, микроэлементы, метод оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой.

## Введение

**В**арикозная болезнь нижних конечностей (ВБ НК) регистрируется у 80% общей популяции населения, является ведущей причиной хронической венозной недостаточности (ХВН) и резкого снижения качества жизни. Среди общего количества больных с данным заболеванием пациенты с ВБ НК клинических классов С4 — С6 представляют особую категорию. Согласно данным Dhakal P. Et al [1], распространенность ВБ НК клинических классов С4 — С6 достигает 27,5%. Важно подчеркнуть, что именно клинические классы С4 — С6 в большинстве случаев сопряжены с высоким уровнем развития осложнений, утраты трудоспособности, инвалидности, существенным снижением качества жизни [2].

Патогенез заболевания сложный, недостаточно изучен. В последние годы в литературе появляются ука-

зания на важную роль дисэлементозов в развитии ВБ НК: селена (Se), цинка (Zn), меди (Cu) и железа (Fe). Эти микроэлементы, являясь структурными компонентами ферментов, гормонов и белков, обеспечивают функционирование всей сосудистой системы. В данном аспекте особый интерес представляют работы Kamuran K. et al. и Rusak et al. [3,4], в которых показано, что у пациентов с ВБ НК содержание микроэлементов Zn, Cu и Fe в патологически измененной вене отличается от здоровой вены. При этом представленные выше данные преимущественно относятся к ВБ НК клинических классов С1–С3. Вопрос о содержании Se, Zn, Cu и Fe в стенке патологически измененной вены у пациентов с ВБ НК клинических классов С4 — С6 остается открытым.

Цель исследования — изучить изменения содержания микроэлементов Se, Zn, Cu и Fe в стенке патологически измененной вены у пациентов с ВБ НК клинических классов С4 — С6.

Таблица 1. Характеристика пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей клинических классов С4 — С6 и пациентов контрольной группы

Показатель	Основная группа (n= 56)	Контрольная группа (n=50)	p
Мужчины/женщины, n (%)	20 (35,7)/ 36 (64,3)	20(40,0%)/30(60,0%),	0,893
Средний возраст, годы [25%; 75%]	46,6 [31,7;;51,9]	48,0[36,8;54,2]	0,907
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	25,1±4,5	25,4±4,1	0,936
Курение в настоящее время, да/нет, n (%)	17 (30,4)/39 (69,6)	17 (34,0) / 33 (66,0)	0,804
Артериальная гипертензия, n (%)	9(16,1)	8 (16,0)	1,000
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	8 (14,3)	7 (14,0)	0,985
Сахарный диабет, n (%)	3 (5,4)	2 (4,0)	0,876
ХОБЛ, астма, n (%)	3 (5,4)	3 (6,0)	0,964

## Материал и методы исследования

Проведено контролируемое рандомизированное одномоментное исследование. В исследовании приняли участие 56 пациентов (мужчины — 20 (35,7%), женщины — 36 (64,3%), средний возраст — 46,6 [31,7;51,9] лет) с диагнозом ВБ НК клинических классов С4 — С6 согласно классификации Clinical Etiological Anatomical Pathophysiological (CEAP), которым выполнена плановая эндоваскулярная лазерная коагуляция. Материалом исследования были биоптаты удаленных варикозно расширенных больших подкожных вен. Кроме того, в исследование была включена контрольная группа (КГ), сопоставимая по полу и возрасту: 50 пациентов (мужчины — 20 (40,0%), женщины — 30 (60,0%), средний возраст — 48,0[36,8;54,2] лет, которым выполнено аортокоронарное шунтирование. Материалом исследования были биоптаты, полученные при иссечении большой подкожной вены (БПВ). Исследование было выполнено согласно стандартам надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и требованиям Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации. Проводимые исследования были одобрены Этическим комитетом Института «Крымская медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». Все пациенты перед включением в исследование подписали письменное информированное согласие.

Критерии включения пациентов в основную группу: возраст 18–80 лет; установленный диагноз ВБ НК классов С4–С6 продолжительностью не менее 12 месяцев; первичное варикозное расширение вен НК; письменное информированное согласие пациента на участие в исследовании.

Критерии невключения пациентов в основную группу: возраст старше 80 лет; притоковый варикоз,

не связанный с патологическим рефлюксом по стволам подкожных вен; ранее выполненные операции на венах нижних конечностей по поводу ВБ, острого варикотромбофлебита и другие; рецидив ВБ после оперативного лечения; вторичное варикозное расширение вен нижних конечностей; острый восходящий варикотромбофлебит; тяжелые или декомпенсированные сопутствующие соматические заболевания; обострение хронических соматических заболеваний; аутоиммунные, гематологические и онкологические заболевания; курение, алкоголизм или наркомания в анамнезе; хирургические вмешательства в предшествующий месяц до начала исследования; беременность и лактация; отказ пациента от участия в исследовании.

В работе использовались следующие методы исследования: клинический класс хронической венозной недостаточности определяли согласно классификации CEAP [12–5]. Оценку содержания микроэлементов: Se, Zn, Cu и Fe в образцах ткани БПВ проводили методом оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ОЭС-ИСП) на настольном оптико-эмиссионном спектрометре модели 720 (Agilent, США). ОЭС-ИСП-исследование осуществляли в стандартных условиях, рекомендованных производителем для растворов, содержащих высокие уровни твердых веществ: мощность РЧ-излучения 1200 Вт, расход плазменного газа 15,0 л в минуту, расход вспомогательного газа 1,5 л в минуту, расход газа в распылителе 0,75 л в минуту, расход образца 0,75 мл/мин., задержка стабилизации 15 сек., задержка поглощенного образца 30 сек., время промывки 10 сек., время считывания реплики 1 сек., 3 реплики. Для коррекции фона применялся режим с 7-ю точками на профиль линии. Корректированные по фону интенсивности аналитических линий использовались для построения калибровочных графиков. В работе были использованы концентрированные растворы HNO<sub>3</sub> (65%), HCl (36%) и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%) (Merck KGaA, Германия).

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей клинических классов С4 — С6

Длительность заболевания, годы:	
1–5 лет, n (%)	6 (10,7)
5–10 лет, n (%)	14 (25,0)
10–20 лет, n (%)	22 (39,3)
>20 лет, n (%)	14 (25,0)
Классы хронической венозной недостаточности по классификации CEAP:	
Класс С4, n (%)	34 (60,8)
Класс С5, n (%)	11 (19,6)
Класс С6, n (%)	11 (19,6)

Таблица 3. Изменения содержания микроэлементов в стенке патологически измененной вены у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей клинических классов С4 — С6

Показатель	Основная группа (n = 56)	Контрольная группа (n=50)	p
Селен,%	0,023 ± 0,018	0,072 ± 0,028	0,028
Цинк,%	0,020 ± 0,011	0,060 ± 0,026	0,044
Медь,%	0,040 ± 0,017	0,020 ± 0,011	0,042
Железо,%	0,141±0,08	0,150±0,067	0,683

Таблица 4. Результаты логистического регрессионного анализа связи изученных микроэлементов с риском развития варикозной болезни нижних конечностей клинических классов С4 — С6

Микроэлемент	B	ОШ	95% ДИ	p
Селен,%	0,754	2,542	1,855–3,002	0,028
Цинк,%	0,644	0,835	0,613–1,138	0,255
Медь,%	1,538	2,242	1,965–2,635	0,003

Примечание — В — бета-коэффициент

Полученные данные проанализированы с использованием программы STATISTICA 8.0 (Stat Soft.Inc., США). При нормальном распределении показателей определяли среднее значение и стандартное отклонение, при распределении, отличном от нормального — медиану, 25-й и 75-й процентиля. Для качественных признаков определяли долю и абсолютное количество значений. Сравнительный анализ проводили с помощью параметрического t-критерия Стьюдента, U-критерия Манна-Уитни и критерия  $\chi^2$  (хи-квадрат). Проводили логистический регрессионный анализ с определением отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (ДИ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

#### Результаты исследования

Характеристика пациентов с ВБ НК клинических классов С4 — С6 и пациентов КГ представлена в табл. 1.

Клиническая характеристика пациентов с ВБ НК классов С4 — С6 представлена в табл. 2. Среди пациентов преобладали женщины в возрасте от 40 до 59 лет, с длительностью заболевания более 10 лет, преимущественно класса С4 по классификации CEAP. Большинство в качестве сопутствующей патологии имели сердечно-сосудистые заболевания.

У пациентов с ВБ НК клинических классов С4 — С6 в стенке патологически измененной вены содержание ионов Se и Zn было статистически значимо ниже — в 3,1 раза ( $p=0,028$ ) и в 3,0 раза ( $p=0,044$ ), а содержание ионов Cu статистически значимо выше — в 2,3 раза ( $p=0,042$ ) по сравнению с аналогичными показателями у лиц КГ. Содержание ионов Fe в стенке патологически измененной вены был выше в 1,1 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ1, однако межгрупповые различия не достигали уровня статистической значимости ( $p=0,683$ ) (табл. 3).

Результаты выполненного нами многофакторного логистического регрессионного анализа (РА) (стандартизация по половозрастному профилю) статистически значимых микроэлементов в стенке патологически измененной вены с риском развития ВБ НК клинических классов С4 — С6 представлены в табл. 4. По результатам многофакторного логистического РА, риск развития ВБ НК клинических классов С4 — С6 оказался сопряжен с более низким уровнем Se (ОШ 2,542 при 95% ДИ 1,855–3,002,  $p=0,028$ ).

## Обсуждение

Роль микроэлементного дисбаланса в патофизиологии ВБ НК неоднозначна и отражена лишь в единичных работах. При этом предполагается, что он играет далеко не последнюю роль, если учесть то, что изменение содержания микроэлементов снижает эффективность механизмов антиоксидантной защиты и вызывает интенсификацию негативного воздействия активных форм кислорода (АФК) на целостность клеточных структур. В данном аспекте особый интерес представляют ионы Cu, Se, Zn и Fe [5]. Настоящее исследование уточняет особенности содержания этих микроэлементов в стенке патологически измененной вены у пациентов с ВБ НК клинических классов С4–С6. Так, у пациентов с ВБ НК клинических классов С4–С6 в стенке патологически измененной вены регистрировалось статистически значимое снижение уровня ионов Se по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ. На сколько нам известно, в настоящее время в литературе нет других сообщений об уровне Se в аналогичных исследованиях. Вместе с тем, существует ряд исследований *in vivo* и *in vitro*, в которых представлены подтверждения роли сниженного содержания Se в эндотелиальной дисфункции [6], которой, без сомнения, принадлежит значимая роль в патогенезе ВБ НК. Так, в ряде работ [7,8] показано, что инкубация эндотелиальных клеток микрососудов легких с добавлением селена способствовала значительному снижению уровня эндотелина-1 по сравнению с клетками с дефицитом Se. В исследовании Jamaluddin M.S. et al. [9] указывалось, что в условиях сниженного содержания Se наблюдается нарушение биосинтеза эйкозаноидов, включая арахидоновую кислоту, которая участвует в ингибировании воспалительных реакций, процессах трансмиграции и апоптоза во многих типах клеток, включая эндотелиальные. В свою очередь, введение селена в эндотелиальные клетки показало изменение ее метаболизма, что связывают с повышением активности фермента глутатионпероксидазы. В исследовании Chen Y.C. et al. [10] была продемонстрирована роль Se в регуляции внеклеточного матрикса: сниженное содержание Se сопряжено с гистологическими изменениями стенок кровеносных сосудов и по-

вышением уровня антител к эластину. Xu C. et al. [11] подтвердили ингибирующее действие Se в отношении матриксных металлопротеиназ (ММП) –2 в аорте крыс, возможный патофизиологический механизм которого связывают с участием сигнального пути трансформирующего фактора роста бета-1 (TGF- $\beta$ 1). Последний является наиболее значимым цитокином в развитии, росте и пролиферации гладкомышечных клеток и фибробластов, приводящих к повреждению венозных сосудов.

Zn играет важнейшую роль в поддержании жизнедеятельности организма и преимущественно в аспекте антиоксидантного и противовоспалительного эффектов. Этот микроэлемент входит в структуру 7200 ферментов и, по определению, участвует в процессах апоптоза, нарушение регуляции которого связано с изменением структуры стенки вены [12]. Имеются данные, согласно которым дефицит ионов Zn сопряжен с активацией воспалительных реакций и поддержанием хронического воспаления посредством индукции экспрессии генов циклооксигеназы и адгезии моноцитов, что, как известно, ведет к реструктуризации стенки вены с последующей венозной дилатацией и лежит в основе прогрессирования ВБ НК и развития трофических изменений [13]. В ранее выполненном проспективном исследовании показано сниженное содержание ионов Zn в стенке патологически измененной вены у пациентов с ВБ НК [3]. Полученные нами данные также не противоречат результатам проведенного исследования.

Известно, что Cu, являясь каталитическим центром супероксиддисмутазы (SOD) и входя в структуру церулоплазмينا, выполняет значимую роль в антиоксидантной защите [14]. В свою очередь повышенное содержание Cu приводит к ингибированию активности SOD, что вызывает интенсификацию экспрессии MMP-2 и MMP-9. Следствием этого является утолщение и деформация стенки вены, прогрессирование клапанной недостаточности и осложнений ВБ НК [15]. Известны данные о прямой сопряженности повышенного содержания Cu с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов IL-1 $\alpha$ , IL-6 и IL-12 с последующим индуцированием митохондриального апоптоза [16]. В отличие от результатов работы Rusak A. et al. [4], согласно которой у пациентов с ВБ НК в стенке патологически измененной вены наблюдалась статистически незначимая тенденция к более высокому уровню ионов Cu, по нашим данным для этих пациентов характерно статистически значимое повышение уровня ионов Cu по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ. Возможно, это связано с более тяжелым клиническим классом ХВН пациентов (С4–С6) в нашем исследовании. В работе Rusak A. et al. [4] приведены

данные по уровню ионов Cu у пациентов клинического класса С2.

Fe — функционально необходимый метаболический модулятор, ценность которого определена многогранностью его функций и эссенциальностью в сложных биохимических процессах, включая иммунобиологические и окислительно-восстановительные реакции. Fe является незаменимой составляющей структуры более 100 ферментов, координирующих синтез ДНК, метаболизм холестерина, качество иммунных реакций, клеточный метаболизм, нейтрализацию АФК и поддержание окислительно-восстановительного организменного баланса (пероксидазы, каталазы, цитохромы). Несмотря на то, что роль изменения содержания ионов Fe в развитии ВБ НК является наиболее изученной, данные об их уровне в стенке патологически измененной вены неоднозначны. Так, в ряде исследований продемонстрировано, что у пациентов с ВБ НК в стенке патологически измененной вены наблюдается более высокое содержание ионов Fe [17,18]. По мнению Zamboni P. Et al. [18], чрезмерное отложение ионов Fe в тканях, индуцирующее и поддерживающее высокий уровень оксидативного стресса и воспаления, ассоциируется с серьезными последствиями для пациентов с ВБ НК, а именно, с прогрессированием хронической венозной недостаточности и трофических язв. В противовес вышеуказанным результатам в ряде исследований продемонстрировано отсутствие значи-

мых различий между содержанием ионов Fe в стенке патологически измененной вены у пациентов с ВБ НК по сравнению со здоровыми лицами [4]. В нашем исследовании у пациентов с ВБ НК клинических классов С4–С6 в стенке патологически измененной вены также отмечалась статистически незначимая тенденция к более высокому уровню ионов Fe.

Кроме того, каждый из статистически значимых изученных нами микроэлементов был проанализирован с точки зрения влияния на вероятность развития и прогрессирования ВБ НК клинических классов С4 — С6 посредством многофакторного РА. В настоящем исследовании обнаружено, что наиболее значимым независимым предиктором развития и прогрессирования ВБ НК клинических классов С4 — С6 является более низкое в стенке вены содержание ионов Se (ОШ 2,542 при 95% ДИ 1,855–3,002,  $p=0,028$ ).

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с ВБ НК клинических классов С4 — С6 в стенке патологически измененной вены выявлены статистически значимые изменения содержания Se, Zn и Cu.
2. Низкая концентрация в стенке вены Se ассоциирована с риском развития и прогрессирования ВБ НК клинических классов С4 — С6.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Dhakal P. Influence of age, gender, duration of illness, and symptoms on pigmentation/ulceration in varicose veins of the great saphenous system /R.M. Karmacharta A.K., Singh P., Thapa S., Dahal N., Bhand S., Bade P. Shrestha // Phlebology. — 2020. — V. 27(3) — P. 106–112
2. Fukaya E. Clinical and genetic determinants of varicose veins prospective, communitybased study of 500 000 individuals/A.M. Flores, D. Lindholm// Circulation. — 2018. — V. 138— P. 2869–288
3. Kazimoglu K. The role of trace elements in the ethiologi of varicose vein / A. Caner, K. Bozkurt, A. Gurel Sayin, M. Ercan, C. Koksai, D. Konukoglu // Turk Gogus Kaip Dama. 2001. — V. 9 — P. 168–170
4. Rusak A. Venous insufficiency: Differences in the content of trace elements. A preliminary report / E. Karuga-Kuźniewska, B. Wiatrak, M. Szymonowicz, M. Stolarski, M. Radwan-Oczko, R.J. Wiglusz, P. Pohl, Z. Rybak // Adv Clin Exp Med. 2018. — V. 27(5) — P. 695–701
5. Wołonciej, M. Trace elements as an activator of antioxidant enzymes/ E. Milewska, W. Roszkowska-Jakimiec // Postępy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej. 2016. — V.70 — P. 1483–1498
6. Burk R.F. Regulation of selenium metabolism and transport/ K.E. Hill // Annu Rev Nutr. 2015. — V. 35 — P. 109–134
7. Bauer M. Selective upregulation of endothelin b receptor gene expression in severe pulmonary hypertension // Circulation. 2002. — V. 105— P. 1034–1036
8. Hamal K.R. Differential expression of vasoactive mediators in microparticle-challenged lungs of chickens that differ in susceptibility to pulmonary arterial hypertension / R.F. Wideman, N.B. Anthony, G.F., J. Erf Am // Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2010. — V. 298 — P. 235–242
9. Jamaluddin M.S. Hyperhomocysteinemia, DNA methylation and vascular disease / X. Yang, H. Wang // Clin Chem Lab Med. 2007. — V. 45— P. 1660–1666
10. Chen Y.C. Is selenium a potential treatment for cancer metastasis? / K.S. Prabhu, A.M. // Mastro Nutrients. 2013. — V. 5— P. 1149–1168
11. Xu C. Selenium modulates MMP2 expression through the TGFβ1/Smad signalling pathway in human umbilical vein endothelial cells and rabbits following lipid disturbance / G. Lu, Q. Li, J. Zhang, Z. Huang, X. Gao// J Trace Elem Med Biol. 2017. — V. 42— P. 59–67
12. Jurukova Z. Ultrastructural evidence for collagen degradation in the walls of varicose veins /C. Milenkov // Experimental and Molecular Pathology. 1982. — V. 37(1) — P. 37–47
13. Шадрина А.С. Молекулярные механизмы развития варикозной болезни нижних конечностей / И.А. Золотухин, М.Л. Филипенко // Флебология. 2017. — № 11(2) — С. 71–75
14. Skrzycki M. The role of superoxide dismutase in the arising of tumors/ H. Czeczot// Postępy Nauk Med. 2005. — V.4 — P. 7–15

15. Herrick S.E. Sequential changes in histologic pattern and extracellular matrix deposition during the healing of chronic venous ulcers, /P. Sloan, M. McGurk, L. Freak, C.N. McCollum, M.W. Ferguson // J. Pathol. 1992. — V. 141— P. 1085–1095
16. Squitti R. Copper dysfunction in Alzheimer's disease: From meta-analysis of biochemical studies to new insight into genetics // J. Trace Elem. Med. Biol. 2012. — V. 26, N2–3— P. 93–96
17. Ackermann Z. Overload of iron in skin of patients with varicose vein. Possible contributing role of iron accumulation in the progression of disease / M. Seidenbaum, E. Loewenthal, A. Rubinow // Arch Dermatol. 1988. — V. 124— P. 1376–78.
18. Zamboni P. Serum iron and MMP-9 variations in limbs affected by chronic venous disease and venous leg ulcers / G. Scapoli, V. Lanzara V// Dermatol Surg. 2005. — V.31— P. 644–49.

© Гербали Оксана Юрьевна.

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Крымский Федеральный Университет им. В.И. Вернадского