

© Коллектив авторов, 2020

УДК 616-002-008.953-091

Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Фигурский С.А., Емельянов Р.С.

## Патогенетическое значение дисфункции эндотелия в формировании гипертонуса сосудистой стенки при местной холодовой травме

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 672000, Чита, Россия, ул. Горького, д. 39А

**Актуальность.** В структуре общего травматизма местная холодовая травма имеет большой удельный вес. Выявление новых маркеров криповреждения способствует более ранней диагностике глубины поражений тканей при обморожении, созданию новых подходов к хирургическому лечению и ускоренной реабилитации пострадавших.

**Цель исследования** — изучение в динамике содержания оксида азота, асимметричного диметиларгинина и циркулирующих эндотелиальных клеток в сыворотке крови у пациентов с местной холодовой травмой.

**Методика.** В исследование включено 80 пациентов с обморожениями нижних конечностей III–IV степени в позднем реактивном периоде и периоде гранулирования и эпителизации. Использован мультиплексный анализ сыворотки крови набором реагентов фирмы Biomedical (США), методом Hladovec (1978) и методом П.П. Голикова (2004) соответственно.

**Результаты.** У пациентов с криотравмой во всех исследуемых группах установлено снижение уровня оксида азота относительно контроля. У пострадавших с местной холодовой травмой на 5-е сут отмечено значительное снижение в крови уровня асимметричного диметиларгинина. на 30-е сут с момента криповреждения уровень асимметричного диметиларгинина не отличался от показателей контрольной группы. При обморожении дистальных сегментов стоп концентрация асимметричного диметиларгинина в крови не менялась относительно контроля. У пациентов с тяжелыми обморожениями нижних конечностей уровень асимметричного диметиларгинина в крови снижался в 3,6 раза. У пациентов с местной холодовой травмой на 5-е сут установлено увеличение в крови уровня циркулирующих эндотелиальных клеток в 5,2 раза, на 30-е сут с момента криповреждения уровень циркулирующих эндотелиальных клеток снижался, но, по-прежнему, превышал контрольные значения. У пострадавших с обморожением дистальных сегментов стоп содержание в крови циркулирующих эндотелиальных клеток увеличилось в 2,7 раза, с поражением проксимальных сегментов нижних конечностей – в 6,7 раза относительно здоровых добровольцев. У пациентов с наиболее тяжелыми обморожениями нижних конечностей уровень циркулирующих эндотелиальных клеток в крови повышался в 9 раз.

**Ключевые слова:** местная холодовая травма; дисфункция эндотелия; оксид азота; циркулирующие эндотелиоциты; асимметричный диметиларгинин.

**Для цитирования:** Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Фигурский С.А., Емельянов Р.С. Патогенетическое значение дисфункции эндотелия в формировании гипертонуса сосудистой стенки при местной холодовой травме.

*Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(4): 54-61.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.04.54-61

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста – М.И. Михайличенко; концепция и дизайн исследования – Р.С. Емельянов; сбор и обработка материала, подготовка иллюстративного материала – С.А. Фигурский; В.А. Мудров – статистическая обработка данных – В.А. Мудров; написание текста, редактирование – К.Г. Шаповалов..

**Для корреспонденции:** Михайличенко Максим Игоревич, e-mail: angelo999@yandex.ru

**Финансирование** Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

**Конфликт интересов** Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов.

Поступила 20.08.2019.

Принята к печати 16.10.2020

Опубликована 26.11.2020

Mikhaylichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A., Figsursky S.A., Emelianov R.S.

### Pathogenetic significance of endothelial dysfunction in formation of vascular wall hypertonia in local cold trauma

Chita State Medical Academy,  
Gorkogo Str. 39a, Chita 672000, Russian Federation

The relevance of local cold injury remains high. In the structure of general injury prevalence, proportion of freeze burns is great. Identification of new markers of cold injury will help earlier determination of tissue lesion depth, development of new approaches in the surgical treatment of deep freeze burns of extremities, and promote rehabilitation of patients.

**The aim** of this study was to elucidate the dynamics of the serum content of nitric oxide (NO), asymmetric dimethylarginine (ADMA), and circulating endothelial cells (CEC) in patients with local cold injury.

**Methods.** The study included 80 patients with III-IV degree frostbite of the lower extremities in the late reactive period and the period of granulation and epithelization. Multiplex analyses of blood serum were performed with Biomedical (USA) reagent kits, according to methods by Hladovec (1978) and Golikov (2004).

**Results.** In all groups of patients with frostbite, NO level was decreased compared to the control. Patients with local cold trauma displayed significant decreases in blood levels of ADMA on day 5; on day 30 after the cold trauma, the ADMA level did not differ from the control group. In patients with frostbite of the distal foot segments, the blood concentration of ADMA did not change from the control level. In patients with the most severe frostbite of the lower extremities, serum ADMA decreased 3.6 times. Patients with local cold trauma had a 5.2-fold increase in the blood level of CEC on day 5. On day 30 after the freeze burn, the amount of CEC was decreased but still remained above the control value. In patients with frostbite of the distal foot segments, the content of CEC increased 2.7 times compared to the control. In patients with lesions of more proximal segments of the lower extremities, the CEC index was increased 6.7 times compared to healthy volunteers. In patients with the most severe frostbite of the lower extremities, the blood content of CEC was 9 times increased.

**Keywords:** local cold injury; endothelial dysfunction; nitric oxide; circulating endothelial cells; asymmetric dimethylarginine.

**For citation:** Mikhaylichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A., Figurski S.A., Emelianov R.S. Pathogenetic significance of endothelial dysfunction in formation of vascular wall hypertonia in local cold trauma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(4): 54-61. In Russian. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.04.54-61

**Contribution.** M.I. Mikhailichenko – research concept and design, material collecting and processing; R.S. Emelyanov – research concept and design; S.A. Figurski – material collecting and processing, preparation of illustrative material; V.A. Mudrov – statistical processing; K.G. Shapovalov – writing text, text editing.

**For correspondence:** Maxim I. Mikhailichenko, candidate of medical science, assistant of the department of surgery, Chita state medical academy, Chita, Russia. E-mail: angelo999@yandex.ru.

**Financing:** The study was supported by the Chita state medical Academy, Chita, Russia.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest. The article has not been published anywhere before.

**Expression of gratitude:** The authors team expresses gratitude to the rectorate of the "Chita state medical Academy" and personally to the rector MD, Professor A. V. Govorin for the financial support and the realization scientific ideas.

#### Information about the authors:

Mikhailichenko M.I., <https://orcid.org/0000-0001-8660-2982>

Shapovalov K.G., <https://orcid.org/0000-0002-3485-5176>

Mudrov V.A., <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>

Figurski F.A., <https://orcid.org/0000-0002-3959-9503>

Emelyanov R.S., <https://orcid.org/0000-0001-7145-1624>

Resived 20.08.2019

Accepted 16.10.2020

Published 26.11.2020

## Введение

В первой половине XX века высказано предположение об основополагающей роли эндотелия и микроциркуляторного русла в развитии многих заболеваний [1]. Буквально за несколько лет учения об эндотелиальной дисфункции приобрели массовый характер, выявлены и установлены дисфункциональные эндотелиальные патогенетические маркеры, лежащие в основе практически всех эндогенных заболеваний. Этот эндокринный орган высочайшей дифференциации считается в настоящее время одним из основных регуляторов жизненных процессов в норме, и фактором провоцирующим тотальный сбой в работе большинства систем организма в условиях патологии [1–4].

В связи с тем, что в России с ее географическим положением низкие температуры не редкое явление, а в некоторых регионах преобладают большую часть года, актуальность изучения местной холодовой травмы остается на высоком уровне [3]. В структуре общего травматизма локальное криповреждение имеет большой удельный вес [1, 2, 4]. Возросший за последние годы интерес отечественных и зарубежных исследователей к изучению патогенетических основ развития, течения и отдаленных последствий местной холодовой травмы связан с высокой частотой инвалидизации, особенно у пациентов с III–IV степенью обморожения. Очень важными факторами являются утрата тру-

доспособности преимущественно лиц молодого возраста, сложности в диагностике, а также неудовлетворительные результаты лечения [2, 3, 5, 6].

Выявление новых маркеров криоповреждения способствует более ранней диагностике глубины поражений тканей, созданию новых подходов к хирургическому лечению глубоких отморожений конечностей и ускоренной реабилитации пострадавших [2–6].

Дисфункция эндотелия играет главную роль в запуске патогенетических механизмов МХТ. Под термином «эндотелиальная дисфункция» понимают неадекватное выделение эндотелием различных биологически активных веществ, в частности оксида азота, его ингибиторов [4]. Особый интерес представляет морфофункциональное состояние эндотелиальной выстилки, и наличие свободно циркулирующих в кровотоке десквамированных эндотелиальных клеток [6–8].

Первым доказательством роли эндотелия в регуляции тонуса сосудов явились данные о продуцировании им вазоактивных веществ, появившиеся в 1977 г. [8]. Позже, в 1980 г., было высказано предположение, что может существовать расслабляющий сосудистый фактор, связанный с эндотелием [9]. Впоследствии две независимых группы исследователей показали, что этот расслабляющий фактор представляет собой оксид азота (NO) [10, 11].

Позднее M. Mudau и соавт. выявлен еще один маркер, связанный с метаболизмом NO, а именно асимметричный диметиларгинин (ADMA) [10, 12, 13]. Изучение ADMA, как молекулы антагониста L-аргинина, основного субстрата NOS, — очень важный шаг в понимании процессов деградации сосудистой стенки на ранней, клинически немой стадии заболевания [11, 12, 14]. Дополнительные исследования в области фундаментальной науки и клинических испытаний необходимы для понимания роли этой молекулы в качестве перспективного маркера будущих коронарных событий и возможной терапевтической мишени в контексте атеросклеротического сосудистого заболевания и последствий любых повреждений.

Вы современной литературы мы не обнаружили комплексных работ, посвященных вазоактивной составляющей дисфункции эндотелия у пациентов с местной холодовой травмой. В связи этим, попытка сформировать новое звено патогенеза местной холодовой травмы легла в основу нашего труда.

**Цель исследования** — установить динамику содержания уровня оксида азота, асимметричного диметиларгинина и циркулирующих эндотелиальных клеток в сыворотке у пациентов с местной холодовой травмой.

## Методика

Все пациенты и добровольцы, участвовавшие в клиническом исследовании, давали письменное добровольное информированное согласие, в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.). Протокол исследования одобрен этической комиссией Читинской государственной медицинской академии.

Исследование включено 80 пациентов (60 мужчин и 20 женщин) с обморожениями III–IV степени пальцев стопы (1-я группа), поражением III–IV степени пальцев и среднего отдела стопы (2-я группа), либо всей стопы

(3-я группа) в позднем реактивном периоде и периоде гранулирования и эпителизации. Средний возраст пациентов составил  $43 \pm 7$  лет. Определение уровня асимметричного диметиларгинина (ADMA), оксида азота (NO), и циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в сыворотке крови выполнялось на 5-е и 30-е сут с момента получения травмы у одних и тех же пациентов. Уровень ADMA определяли с помощью мультиплексного анализа сыворотки крови набором реагентов фирмы Biomedical (США). Количество десквамированных эндотелиоцитов в крови выявляли методом Hladovec (1978). Метод основан на изоляции клеток вместе с тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов с помощью АДФ. Определение нитритов крови осуществляли непрямой метод П.П. Голикова (2004). Все пострадавшие находились на стационарном лечении в краевом центре термической травмы на базе городской больницы № 1 г. Читы с местной холодовой травмой нижних конечностей в период с 2018 по 2019 г. Контрольную группу составили сопоставимые по возрасту относительно здоровые лица ( $n=16$ ). Из исследования были исключены пациенты с тяжелой соматической патологией: неспецифическими воспалительными процессами различной локализации, облитерирующими заболеваниями сосудов, поражениями нервов конечностей, сахарным диабетом, гипертонической болезнью, алиментарным истощением, лица с физической алкогольной зависимостью.

**Статистический анализ.** Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0. Полученные данные представлены в виде медианы, средней величины и доверительного интервала. Для сравнения показателей, распределение которых отличалось от нормального, использован непараметрический критерий Краскела–Уол-

лиса. Оценка статистической значимости различий показателей проводилась за счет сравнения рассчитанного и критического значений критерия Краскела–Уоллиса с последующим определением уровня значимости  $p$ . Учитывая выявление различий при сравнении всех исследуемых групп с помощью критерия Краскела–Уоллиса для более точного описания наблюдаемых тенденций использован критерий Манна–Уитни, позволяющий оценить различия показателей при сравнении групп попарно, с применением поправки Бонферрони при оценке значения  $p$ . Учитывая отсутствие нормального распределения, для оценки связи между двумя показателями использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $\rho$ ). Исходя из полученного значения  $\rho$  определена теснота связи по шкале Чеддока и ее направление (прямая или обратная). Прогностическая модель построена путем нелинейного регрессионного анализа. В последующем рассчитывали скорректированный коэффициент детерминации, показывающий долю объясняемой зависимости.

### Результаты

Как показали результаты исследования у пациентов с местной холодовой травмой на 5-е сут установлено снижение уровня NO в крови в 1,5 раза. На 30-е сут с момента криоповреждения уровень NO в крови был еще ниже – в 2,5 раза относительно контрольной группы (табл. 1). У пострадавших с обморожением дистальных сегментов стоп содержание NO в крови уменьшилась в 1,7 раза, у больных с поражением более проксимальных сегментов нижних конечностей – в 2,3 раза, у пациентов с самыми тяжелыми обморожениями нижних конечностей уровень NO в крови снижался в 2,9 раза (табл. 2).

Значительное снижение уровня ADMA в системном кровотоке (в 4,5 раза) наблюдалось у пациентов с местной холодовой травмой на 5-е сут. При этом и на 30-е сут с момента криоповреждения уровень ADMA не изменялся относительно контрольной группы (табл. 1). У пострадавших с обморожением дистальных сегментов стоп и более проксимальных сегментов нижних конечностей уровень ADMA значимо не отклонялся от контроля. У пациентов с самыми тяжелыми обморожениями нижних конечностей уровень ADMA в крови снижался в 3,6 раза (табл. 2).

Содержание ЦЭК в крови пациентов с местной холодовой травмой на 5-е сут возрастал в 5,2 раза. При этом на 30-е сут с момента криоповреждения уровень ЦЭК снижался, но, по-прежнему, оставался значимо выше контроля (в 1,9 раза) (табл. 1). У пострадавших с обморожением дистальных сегментов стоп содержание ЦЭК в крови увеличилось в 2,7 раза, у больных с поражением более проксимальных сегментов нижних конечностей – в 6,7 раза, у пациентов с самыми тяжелыми обморожениями нижних конечностей уровень ЦЭК в крови повышался в 9 раз (табл. 2).

### Обсуждение

В настоящее время считается, что оксид азота имеет большое значение для поддержания целостности эндотелия, а его гипоинкреция провоцирует изначальную нестабильность клеточной мембраны эндотелиоцита [12, 15]. Механизм этого явления пока не установлен.

Известно, что уровень NO в крови при местной холодовой травме снижен практически на всех сроках наблюдения [5, 6]. По мнению ряда авторов [6], поврежденный холодом эндотелий утрачивает возможность инкретировать оксид азота. По своей сути эндотелиальный оксид азота является важнейшим перифери-

Таблица 1

Динамика концентрации вазоактивных молекул и уровня ЦЭК у пострадавших в разные периоды криотравмы

Показатель	Контроль, $n=16$	5-е сут с момента травмы, $n=50$	30-е сут с момента травмы, $n=50$
NO (мкмоль/л)	4,10±0,13 (95% CI 4,00-4,20)	2,15±0,23 (95% CI 2,00-2,30) $p<0,0001$	1,52±0,19 (95% CI 1,40-1,70) $p<0,0001$ $p_I=0,037276$
ADMA (ng/ml)	181,49±37,91 (95% CI 150,65-205,45)	40,94±18,32 (95% CI 30,02-48,46) $p=0,001420$	85,98±29,44 (95% CI 69,39-95,81) $p=0,050953$ $p_I=0,197047$
ЦЭК, ×10 <sup>4</sup> /л статистически значим	2,15±0,19 (95% CI 2,00-2,30)	13,10±1,41 (95% CI 12,30-14,00) $p<0,0001$	4,54±0,43 (95% CI 4,20-4,90) $p<0,0001$ $p_I<0,0001$

Примечание.  $p$  – статистическая значимость различий с показателями контроля;

$p_I$  – с показателями предыдущего срока наблюдения. CI – доверительный интервал.

ческим вазодилататором [4, 12, 16, 17]. Не исключено, что при снижении уровня эндогенного NO уменьшение уровня ADMA является компенсаторным механизмом защиты и попыткой купирования стойкого периферического вазоспазма путем стимуляции, либо снижение обеих вазоактивных молекул – есть следствие критической дисфункции эндотелиоцитов, что подтверждается резким повышением уровня десквамированных эндотелиальных клеток в кровотоке.

Оксид азота не только участвует в регуляции тонуса сосудов, но и тормозит агрегацию тромбоцитов, их адгезию к стенкам сосудов, обладает цитотоксическим и рядом других эффектов [4, 6]. Следовательно, снижение уровня NO влечет за собой повышение уровня агрегационной активности тромбоцитов и увеличение количества лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов, которые мигрируя в межтучное пространство, усиливают интерстициальный отек и провоцируют эндотелиальную дисфункцию как в очаге альтерации, так и перифокально [1, 5, 6].

Помимо этого, NO имеет прямое влияние на поддержание кровотока путем регуляции мышечного тонуса [13-17]. Сосудистый гипертонус у пациентов с местной холодовой травмой подтвержден ранее проведенными исследованиями с помощью лазерной доплеровской флоуметрии [5, 6]. В работах указывается на выраженный дефицит кровенаполнения микроциркуляторного русла, что пагубно влияет на трофику тканей и усугубляет гипоксию тканей. В последнее время важную роль в нарушении высвобождения оксида азо-

та отводят ингибированию синтазы оксида азота действием асимметричного диметиларгинина, который блокируется естественным субстратом данного фермента – L-аргинином [4].

Но как показано сравнительно недавно, ADMA имеет гораздо больше клинических эффектов, помимо его влияния на L-аргинин. Резкое повышение уровня ADMA вызывает временное падение частоты сердечных сокращений с уменьшением сердечного выброса и повышением артериального давления [8]. Мало известно и о потенциальных долгосрочных эффектах повышенного уровня ADMA. Zoccali et al. сообщают, что повышение уровня ADMA в 1,5 раза повышает риск сердечно-сосудистой смертности в 7 раз, а его повышение в 2 раза – в 15 раз [16]. Интересно, что недавно был предложен NOS-независимый активирующий эффект ADMA на ангиотензинпревращающий фермент, который, как известно, является доминирующим в ренин-ангиотензиновой системе, оказывающей прямое действие на метаболизм в сосудистой стенке [18, 19].

Ранее показано, что увеличение концентрации ADMA приводит к значительному снижению выработки NO [11,14]. Формирующаяся эндотелийзависимая вазоконстрикция лежит в основе патогенеза многих заболеваний, в частности сахарного диабета, артериальной гипертензии, почечной недостаточности, осложненного акушерства. [11, 17, 20]. В когорте пациентов с гемодиализом обнаружили, что ADMA может быть сильным и независимым фактором риска общей

Таблица 2

**Динамика концентрации вазоактивных молекул и уровня ЦЭК у пострадавших в зависимости от уровня поражения**

Показатель	Контроль, n=16	1-я группа, n= 34	2-я группа, n= 34	3-я группа, n= 32
NO (мкмоль/л)	4,10±0,13 (95% CI 4,00-4,20)	2,21±0,18 (95% CI 2,10-2,33) $p<0,0001$	1,83±0,14 (95% CI 1,80-1,90) $p<0,0001$ $p_1=0,100444$	1,47±0,10 (95% CI 1,40-1,50) $p<0,0001$ $p_1=0,000640$ $p_2=0,040432$
ADMA (ng/ml)	181,49±37,91 (95% CI 150,65-205,45)	169,63±18,77 (95% CI 165,05-178,28) $p=0,780429$	109,76±13,50 (95% CI 100,36-114,48) $p=0,081133$ $p_1=0,011851$	50,10±16,17 (95% CI 37,90-56,59) $p=0,002607$ $p_1<0,0001$ $p_2=0,006199$
ЦЭК, ×10 <sup>4</sup> /л	2,15±0,19 (95% CI 2,00-2,30)	6,35±0,47 (95% CI 6,00-6,73) $p<0,0001$	14,69±1,40 (95% CI 14,00-15,00) $p<0,0001$ $p_1<0,0001$	19,88±2,40 (95% CI 18,40-20,60) $p<0,0001$ $p_1<0,0001$ $p_2=0,066425$

**Примечание.**  $p$  – статистическая значимость различий с показателями контроля;  $p_1$  – с показателями 1-й группы;  $p_2$  – с показателями 2-й группы. CI – доверительный интервал

смертности и сердечно-сосудистых катастроф [19, 21]. В настоящее время взгляды на метаболизм асимметричного диметиларгинина претерпевают значительные изменения.

При анализе полученных результатов отмечается значительное снижение ADMA в сыворотке крови у пациентов с местной холодовой травмой в раннем реактивном периоде по сравнению с контрольной группой. При этом содержание ADMA в сыворотке снижено и на 30-е сут с момента криоповреждения. Подобный феномен, вероятно, связан со стойким периферическим вазоспазмом, дефицитом NO-зависимых механизмов вазодилатации и вероятной гибелью эндотелиальной выстилки в очаге альтерации и перифокально. Факт выраженной деструкции эндотелиоцитов подтверждают и выполненные ранее работы, установившие значительное повышение содержания цитокинов в периферической крови [5]. Последние, как известно, в значительных концентрациях имеют выраженный опосредованный цитотоксический эффект [1, 20].

Отмечено статистически значимое снижение уровня асимметричного диметиларгинина в крови у пациентов с тяжелой местной холодовой травмой, а именно у пострадавших с обморожениями всей стопы и дистальных сегментов голени. У пациентов с обморожениями пальцев уровень ADMA не изменился.

После восстановления кровотока в поврежденных сегментах конечностей десквамированные эндотелиальные клетки в большом количестве выбрасывались в системный кровоток. Кроме того, неравномерное повышение температуры сопровождалось гипоксией и дегрануляцией новых порций тромбоцитов. Помимо этого, патологическая болевая импульсация провоцирует инкрецию значительного количества катехоламинов и прочих стресс-гормонов. Указанные процессы также должны сопровождаться десквамацией клеток эндотелия. В более поздние сроки криотравмы, а именно на 30-е сут, происходило отграничение очага альтерации, а также выполнялись некрэктомии, экзартикуляции и ампутации сегментов конечностей, при этом

снижался объем поврежденных тканей, что нашло свое подтверждение и в уменьшении количества ЦЭК.

Вероятно, увеличение объема поврежденных тканей провоцирует значительное повреждение сосудистой стенки, гибель эндотелиоцитов и обнажение субэндотелиального матрикса. В ответ на это активируется все большее количество тромбоцитов, которые реализуют процессы воспаления и привлекают в очаг альтерации иммунокомпетентные клетки. Тромбоциты выделяют тромбоксан A<sub>2</sub>, являющийся мощнейшим вазоконстриктором. Процессы периферического вазоспазма еще больше усугубляются. Снижение уровня ADMA у пациентов с выраженной площадью альтерации, вероятно, опять-таки является механизмом стабилизации периферического вазоспазма и усугубляющейся ишемии путем попытки косвенной провокации синтеза оксида азота, хотя его уровень снижен во все периоды криоповреждения. Однако некоторые авторы предполагают, что существуют механизмы, с помощью которых низкие концентрации NO и ADMA оказывают неблагоприятное воздействие на сосудистую систему [21-24]. Не исключено, что влияние ADMA на ангиотензинконвертирующий фермент провоцирует аккумуляцию бета-амилоидных бляшек в субэндотелиальном матриксе, что ведет к дезорганизации клеточной мембраны и хронизации процессов воспаления.

Таким образом, судить об объеме криоповреждения возможно по значению одного из показателей дисфункции эндотелия (ADMA, NO или ЦЭК) (табл. 3).

Между тем, гипотетически существует вероятность увеличения эффективности диагностики уровня криоповреждения при одновременном учете нескольких показателей.

Вторым этапом исследования явилось создание и оценка эффективности прогностической модели. С целью прогнозирования объема криоповреждения разработан коэффициент К, расчет которого основан на нелинейном регрессионном анализе и выражается формулой:  $K = 100 \times \text{ЦЭК} / (\text{ADMA} \times \text{NO})$ , где ЦЭК – циркулирующие эндотелиальные клетки, ADMA –

Таблица 3

**Фактическая степень параллелизма между объемом криоповреждения и уровнем показателей дисфункции эндотелия**

Показатели дисфункции эндотелия	Коэффициент корреляции Спирмена	Сила связи по шкале Чеддока	Направление связи
ADMA	- 0,898	высокая	обратная
NO	- 0,945	высокая	обратная
ЦЭК	0,955	высокая	прямая

## Сводка для полученной модели

Модель	R	R <sup>2</sup>	Скорректированный R <sup>2</sup>	Стандартная ошибка оценки
$K = 100 \times \text{ЦЭК} / (\text{ADMA} \times \text{NO})$	0,988	0,975	0,975	0,165

**Примечание.** R – коэффициент множественной корреляции; R<sup>2</sup> – коэффициент детерминации или для дисперсии в зависимой переменной.

асимметричный диметиларгинин, NO – оксид азота. При значениях коэффициента K от 1,0 до 5,0 прогнозируется отморожение на уровне пальцев, от 5,0 до 13,0 – на уровне дистального сегмента стопы, более 13,0 – на уровне нижней трети голени. Коэффициент корреляции между объемом поражения тканей нижних конечностей и значением коэффициента K составляет 0,963. Связь между исследуемыми признаками – прямая, теснота (сила) связи по шкале Чеддока – высокая. Учитывая результаты статистического анализа, можно считать разработанную модель близкой к функциональной (табл. 4).

Сформированная модель позволяет с высокой точностью прогнозировать уровень повреждения тканей при местной холодовой травме на основе исследуемых маркеров, что, вне всякого сомнения, имеет важное прикладное значение и способствует коррекции проводимого лечения.

### Выводы

У пациентов с местной холодовой травмой в крови снижается уровень NO и ADMA во все периоды криоповреждения.

Максимальное снижение уровня NO и ADMA в крови у пациентов с местной холодовой травмой отмечено на 5-е сутки с момента местной холодовой травмы.

Содержание NO и ADMA в кровотоке зависит от тяжести криоповреждения. Минимальный уровень зарегистрирован у пациентов с наибольшей тяжестью травмы.

Объем пораженных тканей прямо пропорционален уровню ЦЭК в сыворотке пострадавших. В поздние сроки с момента травмы уровень ЦЭК не отличается от показателей контроля ввиду снижения процессов воспаления и уменьшения площади поврежденной сосудистой стенки.

**Благодарность.** Коллектив авторов выражает благодарность ректорату ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» МЗ РФ и лично ректору доктору мед. наук, проф. А.В. Говорину за финансовую поддержку и возможность реализации научных идей сотрудников академии.

### Литература (8–24 см. References)

1. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. *Медицинская иммунология*. 2006; 8(5-6): 745-53.
2. Николаев В.М., Алексеев Р.З., Федорова С.А. Интенсивность свободнорадикального окисления липидов в организме больных холодовой травмой. *Якутский медицинский журнал*. 2018; 2(62): 34-8.
3. Целуйко С.С., Заболотских Т.В., Дудариков С.А., Красавина Н.П., Корнеева Л.С. Действие холода на организм. Криопротекторы и средства противоишемической защиты тканей. *Якутский медицинский журнал*. 2018; 2(62): 48-55.
4. Васина Л.В., Власов Т.Д., Петрищев Н.Н. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор). *Артериальная гипертензия*. 2017; 23(2): 88-102.
5. Шаповалов К.Г. Томина Е.А., Михайличенко М.И., Иванов В.А., Витковский Ю.А. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме. *Медицинская иммунология*. 2008; 10(1): 89-92.
6. Шаповалов К.Г. Сизоненко В.А., Томина Е.А., Витковский Ю.А. Эндотелиальная секреция вазоактивных молекул при холодовой травме конечностей. *Травматология и ортопедия России*. 2008; 2(48): 53-6.
7. Коннов Д.Ю., Малярчиков А.В., Шаповалов К.Г., Коннов В.А. Закономерности изменений параметров микроциркуляции и электрофизиологических показателей сердечного ритма при критической гипотермии. *Забайкальский медицинский вестник*. 2017; 4: 17-24.

### References

1. Vitkovskiy Y.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adhesion. *Medinskaya Immunologiya*. 2006; 8(5-6): 745-53. (In Russian)
2. Nikolaev V.M., Alekseev R.Z., Fedorova S.A. Intensity of free radical oxidation of lipids in the body of patients with cold injury. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 2(62): 34-8. (In Russian)
3. Tseluyko S.S., Zabolotskikh T.V., Dudarikov S.A., Krasavina N.P., Korneeva L.S. The Effect of cold on the body. Cryoprotectants and means of anti-ischemic protection of fabrics. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 2(62): 48-55. (In Russian)
4. Vasina L.V., Vlasov T.D., Petrishchev N.N. Functional heterogeneity of the endothelium (review). *Arterialnaya gipertenziya*. 2017; 23(2): 88-102. (In Russian)
5. Shapovalov K.G., Tomina E.A., Mikhailichenko M.I., Ivanov V.A., Vitkovskiy Y.A. The content of cytokines in the blood of patients with local cold injury. *Meditsinskaya Immunologiya*. 2008; 10(1): 89-92. (In Russian)

6. Shapovalov K.G., Sizonenko V.A., Tomina E.A., Vitkovsky Y.A. Endothelial secretion of vasoactive molecules in cold extremity injury. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2008; 2(48): 53-6. (In Russian)
7. Konnov D.Yu., Malyarchikov A.V., Shapovalov K.G., Konnov V.A. Regularities of changes in microcirculation parameters and electrophysiological parameters of heart rate in critical hypothermia. *Zabalykalskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 4: 17-24. (In Russian)
8. Strijdom H. Endothelial dysfunction: are we ready to heed the vasculature's early-warning signal. *Cardiovasc Journal*. 2012; 23(4): 184-5.
9. Moncada S., Herman A.G., Higgs E.A., Vane J.R. Differential formation of prostacyclin (PGX or PG12) by layers of the arterial wall. An explanation for the antithrombotic properties of vascular endothelium. *Thrombosis Res*. 1977; 11: 323-44.
10. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980; 288: 373-6.
11. Ignarro L.J., Byrns R.E., Buga G.M., Wood K.S. Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circulation Resources*. 1987; 61: 866-79.
12. Landim M.B., Casella F.A., Chagas A.C. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009; 64(5): 471-8.
13. Mudau M., Genis A., Lochner A., Strijdom H. Endothelial dysfunction – the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc Journal*. 2012; 23(4): 222-31.
14. Napoli C., Ignarro L.J. Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric Oxide*. 2001; 5: 88-97.
15. Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Natural Immunology*. 2001; 2: 907-16.
16. Zoccali C., Bode-Böger S., Mallamaci F., Benedetto F., Tripepi G., Malatino L. et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet*. 2001; 358: 2113-7.
17. Savvidou M.D., Hingorani A.D., Tsikas D., Frolich J.C., Vallance P. et al. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet*. 2003; 361: 1511-7.
18. Suda O., Tsutsui M., Morishita T., Tasaki H., Ueno S. et al. Asymmetric dimethylarginine causes arteriosclerotic lesions in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice: Involvement of renin-angiotensin system and oxidative stress. *Vascular Biology*. 2014; 24: 1682-8.
19. Achan V., Broadhead M., Malaki M., Whitley G., Leiper J. et al. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Vascular Biology*. 2003; 23:1455-9.
20. Cooke J.P. Asymmetrical dimethylarginine: The Uber marker. *Circulation*. 2004; 17: 170-7.
21. Zoccali C., Bode-Boger S., Mallamaci F., Benedetto F., Tripepi G. et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: A prospective study. *Lancet*. 2001; 358: 2113-7.
22. Valkonen V.P., Paiva H., Salonen J.T., Lakka T.A., Lehtimäki T. et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*. 2001; 358: 2127-212.
23. Kingma C.F., Hofman I.I., Daanen H.A. Relation between finger cold-induced vasodilation and rewarming speed after cold exposure. *European Physiology*. 2019; 119(1): 171-80. DOI: 10.1007.
24. Dipak P.R., Thomas S. Davies Cytokines in atherosclerosis: Key players in all stages of disease and promising therapeutic targets. *Cytokines*. 2015; 26(6): 673-85. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2015.04.003.

#### Сведения об авторах:

**Михайличенко Максим Игоревич**, канд. мед. наук, ассистент каф. факультетской хирургии с курсом урологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: angelo999@yandex.ru, SPIN-код: 4975-6313;

**Шаповалов Константин Геннадьевич**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: shkg26@mail.ru, SPIN-код: 6086-5984;

**Мудров Виктор Андреевич**, канд. мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: mudrov\_viktor@mail.ru, SPIN-код: 5821-3203;

**Фигурский Сергей Александрович**, ассистент каф. лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: figura89@yandex.ru, SPIN-код: 9902-2915;

**Емельянов Руслан Сергеевич**, ассистент каф. анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: ruslan.emelyanov.91@mail.ru