

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

На правах рукописи

ХИЗРИЕВ СЕЙФЕДИН МАГОМЕДОВИЧ

КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА И КЛЕТОЧНОГО
МЕТАБОЛОМНОГО ПРОФИЛЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ
С ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
КЛИНИЧЕСКИХ КЛАССОВ С4 – С6

3.1.9. – Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Михайличенко Вячеслав Юрьевич

доктор медицинских наук, профессор

Симферополь - 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1. Роль оксидантного стресса в патофизиологии варикозной болезни вен нижних конечностей: актуальное состояние вопроса	17
1.2. Возможности метаболомного профилирования.....	29
1.3. Современная концепция комплексного лечения пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей: возможности и перспективы.....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ.....	48
2.1. Организация и материал исследования.....	48
2.2. Общая характеристика пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 –С6.....	52
2.3. Методы исследования	53
2.3.1. Методология стандартного клинического обследования.....	53
2.3.2. Методология ультразвукового дуплексного ангиосканирования... ..	54
2.3.3. Методология изучения системного и локального оксидантно-антиоксидантного статуса.....	56
2.3.4. Методология изучения ростовых медиаторов	58
2.3.5. Методология изучения матриксных металлопротеиназ	58
2.3.6. Методология метаболомного профилирования.....	61
2.3.7. Методология оценки качества жизни.....	64
2.3.8. Статистическая обработка полученных результатов.....	65
2.4. Методы хирургического лечения пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.....	66
2.4.1. Методология оперативных вмешательств	66
2.4.2. Послеоперационное ведение пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.....	68

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПЕРВОГО ЭТАПА ИССЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ КЛИНИЧЕСКИХ КЛАССОВ С4 – С6 (2018-2019 Г.)	71
3.1. Клиническая характеристика пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 на первом этапе исследования (2018 – 2019 г.)	71
3.2. Особенности оксидантно-антиоксидантного статуса на системном и локальном уровнях у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6	73
3.3. Особенности экспрессии ростовых медиаторов (VEGF, PDGF) и матриксных металлопротеиназ (ММР-2, ММР-9 и пролидазы) на локальном уровне у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6	84
3.4. Особенности клеточного метаболомного профиля на локальном уровне у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей классов С4 – С6...	88
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ КЛИНИЧЕСКИХ КЛАССОВ С4 – С6 (2020 –2023 ГГ.)	101
4.1. Анализ влияния предложенного комплексного лечения на послеоперационную динамику плазменных биомаркеров окислительного гомеостаза и метаболомного профиля у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6	102
4.2. Анализ отдаленных результатов применения предложенного комплексного лечения у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей классов С4 – С6	109
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	124
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	150
ВЫВОДЫ	151

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	154
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	155
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	157

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Варикозная болезнь нижних конечностей является основной формой хронических венозных заболеваний [1, 2] и до настоящего времени остается одной из актуальных медико-социальных проблем современной хирургии [3 – 6]. По совокупности данных, предполагаемая распространенность этого заболевания варьирует от 60 до 80% [7]. В Российской Федерации варикозной болезнью вен нижних конечностей (ВБВ НК) страдает около 69,9% взрослого населения [8]. В общей кагорте больных особую категорию представляют пациенты с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Согласно данным наиболее масштабного эпидемиологического исследования (программа Vein Concult) [9], с участием 91 545 человек из 20 стран мира, частота ВБВ НК клинических классов С4 – С6 составила 9,6%, [3]. Однако в более позднем исследовании Dhakal P. Et al, [10] была выявлена достаточно высокая распространенность ВБВ НК клинических классов С4 – С6 – 27,5%. Сходная распространенность ВБВ НК клинических классов С4 – С6 (32,4%) установлена в работе Maly S.J. [11]. Важно отметить, что именно клинические классы С4 – С6 чаще всего ассоциируются с высоким уровнем развития осложнений – 25% [12], временной утраты трудоспособности – 10 – 12% [13, 14], инвалидизации – 3% [15], значительным ухудшением психосоматического статуса и качества жизни [9,16,17], что в свою очередь несет дополнительный рост социально-экономических потерь для здравоохранения [18] и государства в целом [9]. На сегодня основой лечения этой категории пациентов является оперативное вмешательство [19 – 22]. Тем не менее, несмотря на широкое внедрение инновационных методов хирургического лечения, в отдаленном послеоперационном периоде частота возврата к исходному клиническому классу [23] и рецидива остается высокой [24]. Потенциальным объяснением неблагоприятных исходов служит хронический прогрессирующий характер

заболевания [25] и недостаточное понимание его молекулярных и клеточных механизмов. Эти данные указывают на высокую актуальность проведения исследований, направленных на раскрытие или уточнение патофизиологических звеньев формирования и прогрессирования ВБВ НК клинических классов С4 – С6 с целью разработки дополнительных подходов современного комплексного лечения.

В последние годы в фокусе научного интереса находится изучение оксидантного стресса как клеточно-молекулярной основы в каскаде патологических реакций, обуславливающих формирование и прогрессирование ВБВ НК благодаря его важной роли в активации процессов эндотелиальной дисфункции [26 – 29]. Правомочность данного утверждения подтверждена существенным пулом работ, свидетельствующих о значительном повышении уровня маркеров оксидантного стресса в плазме крови и стенке патологически-измененных вен (ПИВ) у пациентов с ВБВ НК [27]. Есть данные, что оксидантный стресс, приводя к активации сигнальных путей, дефективности экспрессии генов, модификационной трансформации ДНК, белков и липидов [27] вызывает ускоренное структурное ремоделирование венозной стенки и нарушение целостности гладкомышечных клеток. В некоторых исследованиях было показано, что интенсификация оксидантного стресса служит предиктором прогрессирования клапанной недостаточности и осложнений ВБВ НК [67]. Более того, на молекулярном уровне происходит инверсия индуцированной активными формами кислорода экспрессии ключевых генов фактора роста эндотелия сосудов, тромбоцитарного фактора роста и матриксных металлопротеиназ, негативная клинико-прогностическая значимость изменений уровня которых при ВБВ НК не вызывает сомнений [31].

Следует отметить значимую роль аномального клеточного метаболизма в возникновении и прогрессировании ВБВ НК. Так, обнаруженное в исследовании Tanaka H. et al. [33] в среднем слое венозной стенки в артериовенозной фистуле у пациентов с ВБВ НК повышенное содержание лиофосфотидилхолина и фосфотидилхолина позволило сделать авторам вывод о значимой роли этих групп

липидов в развитии воспалительных реакций, играющих ведущую роль в патофизиологии прогрессировании заболевания, обуславливая развитие эндотелиальной дисфункции [31,93, 192.]. Anwar M. [32] в ходе изучения метаболомного профиля в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК продемонстрировали, что в основе патофизиологии и прогрессирования заболевания лежит увеличение содержания таких метаболитов, как инозитол, креатин и снижение содержания триглицеридов, играющих важную роль в регуляции пролиферации эндотелиальных клеток сосудов, координировании внутриклеточных сигнальных каскадов PI3K/Akt -пути [375]. В свою очередь, интенсификация активности PI3K/Akt -пути характерна для пациентов с венозным рефлюксом, в том числе ассоциирована с прогрессированием заболевания [47]. Фундаментальные экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения клеточных метаболитов как потенциально целевых молекул – терапевтических мишеней при ВБВ НК [32].

Необходимо констатировать, что до сих пор не разработаны надежные способы превенции развития рецидива ВБВ НК. Учитывая эвентуальную роль изменений оксидантно-антиоксидантного статуса (ОАС) и клеточного метаболизма в патофизиологии и прогрессировании ВБВ НК, целесообразным является разработка и научное обоснование способа комплексного лечения, направленного на коррекцию окислительного гомеостаза и клеточного метаболомного профиля, что, на наш взгляд, будет способствовать потенцированию эффективности хирургического вмешательства у данной категории пациентов.

Степень разработанности темы исследования. Существенный вклад в понимание патофизиологической роли оксидантного стресса при ВБВ НК внесли Condezo-Hoyos, L, Rubio, M, Arribas, SM., Akar İ, İnce İ, Aslan C, et al., Saribal D, Kanber EM, Носаoglu-Emre FS, Akyolcu MC. Их работы в существенной мере способствовали пониманию характера изменений маркеров ОАС при ВБВ НК С1-С3. Однако особенности инверсии маркеров оксидантного стресса и активности

факторов антиоксидантной защиты у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 мало изучены, а характер их взаимосвязи с выраженностью хронической венозной недостаточности и длительностью заболевания все еще остается предметом дискуссий. Изучению особенностей экспрессии ключевых стимуляторов ангиогенеза (фактора роста эндотелия и тромбоцитарного фактором роста), а также регуляторов протеолиза компонентов внеклеточного матрикса (металлопротеиназ-2,9 и пролидазы) были посвящены работы Horecka, A., Nordyjewska, A., Biernacka, J. et al., Nabil A. Al-Zoubi, Rami J. Yaghan et al., Калинина Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С., Камаев А.А., Шевела А.И., Новак Е.В., Серепятина Ю.В. с соавт. (2014 г.), Akar İ, İnce İ, Aslan C, et al. Вместе с тем, данные о характере этих изменений неоднозначны.

Основополагающая роль клеточного метаболизма в этиологии заболеваний получает все большее признание, что делает метаболомное профилирование оптимальной исследовательской платформой в медицинской практике для поиска новых биомаркеров патологического процесса, а также понимания патофизиологических основ его развития в целях ранней диагностики и определения мишеней для молекулярно-таргетной терапии. Вместе с тем, данные о вкладе клеточных метаболомных изменений в развитие и прогрессирование ВБВ НК были рассмотрены лишь в единичных работах Anwar M., Tanaka H. et al.. В современной отечественной литературе этот аспект не рассматривался. Сохраняет свою актуальность вопрос, касающийся межсистемных взаимосвязей между изменениями ОАС и клеточного метаболомного профиля, а также их влияние на ключевые стимуляторы ангиогенеза и регуляторы протеолиза компонентов внеклеточного матрикса, негативная клинико-прогностическая значимость инверсии экспрессии которых при ВБВ НК не вызывает сомнений.

Одним из блокаторов оксидантного стресса является метод системной озонотерапии, эффективность которого подтверждена в работах отечественных и зарубежных авторов, в частности Чекман И.С., Сырвая А.О., Макаров В.А. и соавт., Guarnieri, G., Izadi, M.; Bozorgi, M.; Hosseine, M.S. et al. Метаболомный эффект сулодексида продемонстрирован в работах Martínez-García G.G., Pérez R.F.,

Fernández Á.F. et al., Eelen G., de Zeeuw P., Treppe L. et al. Перспективным направлением потенцирования эффективности хирургического лечения при ВВВ НК клинических классов С4 – С6 является применение озонотерапии в сочетании с препаратом сулодексид, что за счет интермодальной синергии взаимодействия позволит параллельно влиять на несколько целевых мишеней.

Все вышеуказанное явилось базисом к проведению настоящего исследования.

Цель исследования – повышение эффективности хирургического лечения варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6, основанной на изучении и коррекции окислительного гомеостаза и клеточного метаболомного профиля, как факторов формирования и прогрессирования заболевания.

Задачи исследования:

1. Провести комплексную оценку показателей оксидантно-антиоксидантного статуса (общей антиоксидантной способности, тотального окислительного статуса, индекса окислительного стресса, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы) на системном (в плазме крови) и локальном (в стенке патологически-измененной вены) уровнях и уточнить характер их взаимосвязи с выраженностью хронической венозной недостаточности и длительностью заболевания у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.

2. Изучить экспрессию ангиогенных ростовых медиаторов (фактора роста эндотелия, тромбоцитарного фактора роста) и матриксных металлопротеиназ-2,9, пролидазы на локальном уровне (в стенке патологически-измененной вены) у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.

3. Изучить изменения клеточного метаболомного профиля на локальном уровне (в стенке патологически-измененной вены) и уточнить характер их взаимосвязи с выраженностью хронической венозной недостаточности у

пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.

4. Выявить влияние изменений оксидантно-антиоксидантного статуса и клеточного метаболомного профиля на экспрессию ангиогенных факторов и матриксных металлопротеиназ, а также проанализировать межсистемные взаимодействия между изучаемыми параметрами, определить основные маркеры формирования и прогрессирования варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 и оценить их прогностическую значимость.

5. Оценить эффективность предложенного способа комплексного лечения, включающего хирургическое вмешательство, потенцированное озонотерапией и применением препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид) в коррекции окислительного гомеостаза и метаболомного профиля у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.

6. На основании оценки отдаленных результатов предложенного способа комплексного лечения с использованием озонотерапии и препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид) подтвердить необходимость потенцирования хирургического вмешательства при варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.

Научная новизна исследования. Установлено, что при варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 имеет место высокий уровень оксидативного стресса на локальном и системном уровнях, сопровождающийся дефицитом активности факторов антиоксидантной защиты. Доказана сопряженность изменений показателей в системе антиоксидантной системы (общей антиоксидантной способности, супероксиддисмутазы) с тяжестью хронической венозной недостаточности и индекса окислительного стресса с длительностью заболевания.

Уточнены особенности экспрессии на локальном уровне тромбоцитарного фактора роста, матриксных металлопротеиназ-2,9 и пролидазы при варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6. Получены новые данные о состоянии локального клеточного метаболомного профиля у пациентов с

варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6. Показано, что снижение содержания таурина и повышение содержания сфингомиелина в стенке вены сопряжено с тяжестью ХВН.

Получило дальнейшее развитие понимание патофизиологических механизмов развития и прогрессирования варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 на основании установления межсистемных взаимосвязей между изменениями оксидантно-антиоксидантного стресса и клеточного метаболомного профиля и их влияния на экспрессию фактора роста эндотелия, тромбоцитарного фактора роста, матриксной металлопротеиназы-9 и пролидазы. Определены основные маркеры развития и прогрессирования варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 (независимо от половозрастного профиля), а именно, общая антиоксидантная способность, супероксиддисмутаза, фактор роста эндотелия, матриксная металлопротеиназа-9 таурин и сфингомиелин.

Дано научное обоснование необходимости коррекции дисбаланса окислительного гомеостаза и изменений клеточного метаболомного профиля у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 с целью превенции или ослабления прогрессирования заболевания.

Предложен и патогенетически обоснован способ комплексного лечения варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 (патент на изобретение № 2793061 опубликован 28 марта 2023 года), направленный на потенцирование эффективности хирургического лечения, снижение риска развития рецидива и доказана его клиническая эффективность.

Теоретическая и практическая значимость работы. В работе дано теоретическое обоснование целесообразности потенцирования эффективности хирургического вмешательства с целью улучшения отдаленных результатов и снижения частоты развития рецидива у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6. Полученные данные о патофизиологической роли изменений ОАС и клеточного метаболомного профиля в развитии и прогрессировании варикозной болезни вен нижних конечностей

клинических классов С4 – С6 обусловили определение основных направлений потенцирования эффективности хирургического вмешательства с приоритетным использованием в послеоперационном периоде озонотерапии и препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид).

Внедрение в хирургическую практику предложенного способа комплексного лечения, в основе которого лежит системный подход с активным влиянием на окислительный гомеостаз и клеточный метаболомный профиль посредством сочетанного применения минимально инвазивного оперативного вмешательства, озонотерапии и препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид) позволяет повысить эффективность хирургического вмешательства, : снизить частоту развития рецидива и улучшить КЖ пациентов в отдаленном послеоперационном периоде.

Методология и методы исследования. Диссертационное исследование осуществлено (проведено, реализовано) в категориальном континиуме хирургии в соответствии с этическими принципами проведения медицинских исследований Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации, международными стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice), базисными принципами и методологией доказательной медицины. Включались пациенты в исследование после добровольного подписания информированного письменного согласия. Методологической основой диссертационного исследования являлись базовые принципы организации и проведения исследований «случай – контроль», рандомизированных контролируемых клинических испытаний, а также современные принципы клинической фармакотерапии у пациентов хирургического профиля, основные принципы применения озона у пациентов хирургического профиля, концептуальные основы изучения качества жизни пациента. Анализ данных, полученных в настоящем исследовании, осуществляли с использованием интегративного подхода.

В ходе выполнения диссертационного исследования использовали следующие методы исследования: стандартное клиническое обследование, ультразвуковое дуплексное ангиосканирование, колориметрический анализ,

иммуноферментный анализ, ветерн-блоттинг, зимографический анализ, метаболомное профилирование, анкетирование и статистический анализ.

Положения, выносимые на защиту.

1. У пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 имеет место на локальном и системном уровнях статистически значимое повышение показателей оксидантного стресса и статистически значимое снижение активности факторов ферментативной антиоксидантной системы, сопряженное с тяжестью хронической венозной недостаточности и длительностью заболевания.

2. При варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 на локальном уровне регистрируется статистически значимое повышение экспрессии фактора роста эндотелия, тромбоцитарного фактора роста и матриксных металлопротеиназ-2,9, пролидазы.

3. Для пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 характерны изменения локального клеточного метаболомного профиля, свидетельствующие о нарушении белково-липидного обмена, и ассоциированные с тяжестью хронической венозной недостаточности.

4. При варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 имеют место межсистемные взаимодействия между изменениями оксидантно-антиоксидантного статуса и клеточного метаболомного профиля, влияющие на экспрессию ангиогенных медиаторов и матриксных металлопротеиназ. Мониторинг на системном уровне общей оксидантной способности, супероксиддисмутазы, таурина и сфингомиелина и на локальном уровне фактора роста эндотелия, матриксной металлопротеиназы-9, – прогностические маркеры развития и прогрессирования варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6; мониторинг плазменных показателей общей оксидантной способности, супероксиддисмутазы, таурина и сфингомиелина – прогностические маркеры эффективности комплексного лечения и исходов в отдаленном послеоперационном периоде.

5. Показана целесообразность потенцирования эффективности хирургического вмешательства сочетанным применением озонотерапии и препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид) с позиции влияния их на окислительный гомеостаз и метаболомный профиль при варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6.

6. Доказана клиническая эффективность предложенного способа комплексного лечения варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6, что подтверждалось снижением баллов по шкале Venous Clinical Severity Score, частоты рецидива и улучшением качества жизни пациентов.

Степень достоверности и апробация результатов. Аутентичность результатов настоящего исследования подтверждается методологически аподиктической концепцией исследования, достаточным объемом и репрезентативностью выборки пациентов, рандомизированным формированием групп обследованных, применением совокупности высокоинформативных и комплементарных методов исследования, базисных принципов и методологии доказательной медицины, использованием сертифицированной аппаратуры. Статистическая оценка полученных в диссертационном исследовании данных, применявшиеся для этого параметры и методы предоставляют неоспоримые доказательства правомерности представленных положений. Полученные в настоящем исследовании результаты представлены в научных изданиях, критические комментарии отсутствуют.

Результаты диссертационного исследования, а именно предложенный способ комплексного лечения пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей клинических классов С4 – С6 внедрен и активно применяется в практической работе Многопрофильной клинической больнице Святителя Луки, г. Симферополь; Больница скорой медицинской помощи № 7, г. Казань; Клиника «Примус мед», г. Казань.

Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на съезде Ассоциации Флебологов России (Ярославль, 2021); съезде Ассоциации

Флебологов России (Казань, 2022); съезде флебологов Южного Федерального Округа Российской Федерации (Ростов на Дону, 2023).

Публикации по теме диссертационного исследования. По теме диссертационного исследования опубликовано 6 научные работы в отечественных изданиях, из которых 2 статьи в ведущих специализированных журналах, рекомендованных Перечнем ВАК науки и высшего образования Российской Федерации, 1 – индексирована в международной базе Scopus, 2 - индексированы в международной базе Web of science, 3 – в материалах съездов, конгрессов, конференций, тезисах докладов. Подготовлен и получен 1 патент Российской Федерации на изобретение.

Личный вклад соискателя. Автором самостоятельно выполнен информационно-патентный поиск, отобраны и проанализированы литературные источники по изучаемой проблематике, что позволило сформулировать тему, актуальность и исследовательскую структуру работы. Автором непосредственно проведен подбор пациентов, соответствующих критериям включения в исследование, клиническое обследование, забор и подготовка биологического материала для проведения дальнейших исследований с использованием колориметрического метода, иммуноферментного анализа, ветерн-блоттинга, зимографического анализа и метаболомного профилирования, выполнено анкетирование с целью изучения особенностей качества жизни пациентов (опросник «The Chronic Venous Insuficiency quality of life Questionnaire-2»). Автором также проведено лечение пациентов, включая выполнение оперативных вмешательств и послеоперационное ведение пациентов. Самостоятельно выполнена статистическая обработка и последующий анализ полученных в ходе настоящего исследования данных, дано их научное обоснование и обобщение, сформулированы выводы и практические рекомендации, подготовлен патент на изобретение.

Структура и объем диссертации. Материалы диссертационного исследования изложены на 199 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, 2 главы собственных исследований, обсуждение

полученных результатов, выводы, практические рекомендации. Список использованных литературных источников содержит 408 источников (83 – отечественных и 325 – зарубежных). Работа иллюстрирована 17 таблицами и 34 рисунками.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Роль оксидантного стресса в патофизиологии варикозной болезни вен нижних конечностей: актуальное состояние вопроса

ВБВ НК является одной из актуальных проблем современной хирургии и остается предметом активного изучения на протяжении многих десятилетий. Широкая распространенность этого заболевания [19, 34, 37] и сцепленные с ним серьезные медико-социальные и экономические последствия [10, 18, 38, 39] объясняют не снижающийся интерес к исследованиям, рассматривающим основы патофизиологии ВБВ НК, результаты которых могут способствовать повышению эффективности хирургического лечения. Особую значимость в данном аспекте представляет ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Получены данные о том, что пациенты с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 являются наиболее уязвимой категорией для развития осложнений, временной и стойкой утраты трудоспособности, инвалидизации [18]. Необходимо также отметить, что лечение этой категории пациентов является достаточно сложной задачей, особенно ХВН клинического класса С6 [40 – 43]. Анализ более 1800 случаев ВБВ НК показал, что послеоперационный рецидив заболевания среди пациентов с клиническими классами С4 – С6 составляет 29% [44], что контрастирует с общим показателем. В целом, средние годовые затраты на лечение пациентов с ВБВ НК клинических классов С4–С6 в Соединенных Штатах Америки оцениваются в 3 миллиарда долларов [45].

В настоящее время общепризнанным стандартом для классификации хронических заболеваний вен (ХЗВ) является классификация Clinical Etiological Anatomical Pathophysiological (CEAP) [46], учитывающая клинические проявления, этиологию, анатомическую локализацию и патогенез заболевания. Эта

классификация соответствует запросам повседневной практики и нуждам исследовательской работы [19]. В данном контексте наиболее часто используется клинический раздел (C) [47], позволяющий описать особенности клинического статуса пациента и отнести его к тому или иному классу (C0 – C6) на основании наиболее выраженных объективных симптомов ХЗВ [19]. В отечественной хирургии целесообразным считается нозологический подход к формулировке диагноза в сочетании с классификацией CEAP [19]. С целью динамического мониторинга изменений клинического статуса пациента и оценки эффективности лечебных мероприятий рекомендовано использование клинической шкалы оценки тяжести хронических заболеваний вен (Venous Clinical Severity Score, VCSS) [19].

В свете современных представлений первичная ВБВ НК – это мультифакториальный прогрессирующий процесс, в основе которого лежит инициированный венозным стазом каскад патологических инверсий на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях [47]. Преимущественно первичное расширение вен происходит в системе большой подкожной вены (БПВ), реже – в системе малой подкожной вены [48], а манифестирует с притоков ствола вены на голени [49]. Исследования *in vivo* на моделях лабораторных животных позволили пролить свет на патогенез первичной ВБВ НК, признав, что устойчивая индукция амбулаторной венозной гипертензии приводит к повреждению стенки вены и венозных клапанов, следовательно, способствует развитию и прогрессированию ВБВ НК [50]. Однако в отличие от экспериментальных моделей, в которых повышенное венозное давление инициируется исследователем, этиологические агенты венозной гипертензии у людей гораздо сложнее [47]. Несомненная роль в патофизиологии первичной ВБВ НК принадлежит взаимодействию между генетически детерминированными дефектами и широким спектром провоцирующих эндогенно-экзогенных факторов [47]. Генетический базис заболевания подтверждают данные о значительно более высокой частоте развития ВБВ НК среди родственников пациентов, превышающий средний популяционный [6, 51–53]. Bharat V. et al. [54], обобщив данные различных научных работ, подтвердили генетически детерминированную склонность к развитию ВБВ НК

вследствие полиморфизма генов, сцепленных преимущественно с инверсией структуры и ремоделирования стенок вен. Доказано, что дефектные гены, кодирующие экспрессию матриксных металлопротеиназ (MMPs), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и синтез различных типов коллагена сопряжены с повышенным риском развития ВБВ НК [54]. Аналогичные данные о роли генетических факторов в развитии ВБВ НК среди представителей славянского этноса были представлены в исследовании Shadrina A. et al. [55]: у всех 709 пациентов с ВБВ НК наблюдался полиморфизм нуклеотидной последовательности в генах, кодирующих ангиогенез, процессы ремоделирования и регуляцию воспалительного ответа. Признано, что риск развития ВБВ НК и ХВН у женщин выше, чем у мужчин. Например, по данным Фрамингемского исследования, заболеваемость ВБВ НК составила около 2,6% у лиц женского пола и 1,9% у лиц мужского пола [56]. Кроме пола, в качестве факторов риска развития ВБВ НК выделяют состояния, обуславливающие снижение оттока венозной крови либо воздействующие на структуру соединительной ткани – пожилой возраст [57, 58], избыточный вес и ожирение, беременность [59], малоподвижный образ жизни [60], длительные статические нагрузки [61], регулярное курение [62,63]. Необходимо констатировать, что до настоящего времени остается много неясного в этиологии ВБВ НК, который практически представлен определенным блоком факторов риска, приоритет и важность которых может быть различна. Отсутствует универсальная теория патофизиологии заболевания.

В настоящее время предложена гипотеза, согласно которой оксидантный стресс является значимой патофизиологической клеточно-молекулярной основой развития и прогрессирования ВБВ НК [26, 64, 65]. Правомочность данного утверждения подтверждена значительным пулом работ, свидетельствующих о значительном повышении уровня маркеров оксидатного стресса в плазме крови и стенке патологически-измененных вен (ПИВ) у пациентов с ВБВ НК, включая показатели малонового диальдегида (MDA), карбонильных белков, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [66], тотального окислительного статуса (TOS), индекса окислительного стресса (OSI) [27]. Все это приводит к активации

сигнальных путей, дефективности экспрессии генов, модификационной трансформации ДНК, белков, липидов [27], что вызывает ускоренное структурное ремоделирование венозной стенки и нарушение целостности гладкомышечных клеток (ГМК). Следствием этого является прогрессирование клапанной недостаточности и осложнений ВБВ НК [67]. Тем не менее остается ряд нерешенных вопросов [64.]. В ранее опубликованных исследованиях преимущественно обсуждалась потенциальная роль оксидантного стресса в развитии и прогрессировании ВБВ НК клинических классов С1 – С3.

Согласно современной концепции оксидантный стресс определяют как статус, при котором спорадически или хронически повышенный укрепившийся уровень активных форм кислорода (АФК) препятствует функционированию клеточного метаболизма и его стабилизации, а в последующем приводит к деградации клеточных структур [68]. Базовыми продуцентами АФК в клетке признаны митохондрии, пероксисомы, ферменты которых окисляют жирные кислоты, и эндоплазматический ретикулум, в котором протекает окислительное сворачивание белка [69 – 71]. В физиологических условиях АФК, являясь экспонентами множества метаболических процессов, участвуют в ряде фундаментальных реакций, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность организма [72, 73]. В свою очередь усиление окислительных процессов при участии АФК обуславливает необходимость в потреблении энергетических субстанций и структурных белковых молекул с целью синхронизации оксидантно-антиоксидантного статуса (ОАС), и, как следствие, индуцирует ослабление репарационно-адаптационного ресурса организма с последующей инверсией аутофагического потенциала и интенсификацией воспалительных реакций [74, 75], что еще более усугубляет оксидантный стресс при ВБВ НК.

Считается, что чрезмерная продукция АФК, сопровождающаяся их накоплением, запуская каскад биохимических процессов – интенсификацию окислительной модификации липидов, белков и нуклеиновых кислот, вызывает нарушение функций и может спровоцировать запрограммированную клеточную гибель [76 – 78]. В свою очередь активация ПОЛ, формирование

модифицированных липопротеидов и аугментация их уровня в макрофагах играют значимую роль в прогрессировании эндотелиальной [79, 80]. Эндотелиальная дисфункция, в свою очередь, играя инспирирующую роль в каскаде последовательных реакций, протекающих в венозной стенке, приводит к ее морфологической инверсии и является ключевым патофизиологическим звеном развития и прогрессирования ВБВ НК [81]. Соответственно, было показано, что степень эндотелиальной дисфункции связана с клинической тяжестью заболевания [82]. Более того, по мнению Ortega, M.A. et al. [47], эндотелиальная дисфункция является ключевым связующим патофизиологическим звеном между чрезмерной продукцией АТФ и ВБВ НК, что подтверждает ее значимость в прогрессировании воспаления и развитии заболевания. На молекулярном уровне происходит активация индуцированной АФК экспрессии ключевых генов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и прогрессирование ВБВ НК [83]. В ряде исследований была продемонстрирована повышенная экспрессия VEGF в стенках ПИВ у пациентов с ВБВ НК по сравнению с контролем [28, 84]. Традиционно этот ростовой медиатор считают ключевым стимулятором ангиогенеза [85] и клеточной пролиферации [86], что позволяет рассматривать его в качестве потенциального маркера ВБВ НК. Продуцентами VEGF являются макрофаги, фибробласты, лимфоциты, полиморфноядерные клетки, остеобласты, эндотелиальные клетки, ГМК, мезенгиальные клетки клубочков почек, тромбоциты и кератиноциты [87, 88]. Хорошо известно, что VEGF играет важную роль в формировании *vasa vasorum* [89]. Среди молекулярных эффектов VEGF описаны интенсификация деградации внеклеточного матрикса (ВКМ), процессов миграции, пролиферации и адгезии эндотелиальных клеток, формирование сосудистых структур, координирование проницаемости сосудистой стенки, инициация продуцирования сериновых протеаз и ингибирование экспрессии MMPs [90]. Повышенная экспрессия VEGF приводит к интенсификации иммунной адгезии, рекрутированию в ПИВ [91] и указывает на высокий риск прогрессирования ВБВ НК [92, 93]. В экспериментальном исследовании Fernández-Robredo P. et al. [94] была продемонстрирована потенциальная роль дисбаланса ОАС в интенсификации экспрессии этого

ростового медиатора, возможно, подобная ситуация имеет место у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Открытым и интересным остается вопрос об изменении экспрессии тромбоцитарного фактора роста (PDGF) в стенке ПИВ и его связи с показателями ОАС при ВБВ НК клинических классов С4 – С6. PDGF признан одним из наиболее функционально высокоактивных и распространенных митогенов для ряда клеток соединительной ткани, включая дермальные фибробласты и ГМК [95]. Основными продуцентами PDGF являются тромбоциты, макрофаги, эндотелиальные клетки и фибробласты. Проведенные ранее исследования продемонстрировали, что PDGF посредством активизации внутриклеточных сигнальных путей индуцирует митоз, тем самым оказывая антиапоптотическое действие [96.]. Также была показана значимая роль PDGF в ангиогенезе [97]. В частности, в исследовании Lindahl P.V. et al. [98] сообщалось, что введение PDGF вызывало развитие функциональных анастомозов *in vivo*. Более того, этот ростовой медиатор действует как мощный сосудосуживающий фактор и является хемотактантом для фибробластов, ГМК, моноцитов и нейтрофилов [99]. Другим эффектом PDGF, который имеет существенное значение для функционирования сосудистой системы, является его способность выступать в роли модулятора агрегации тромбоцитов посредством аутокринной регуляции по принципу обратной связи [100]. В трех направлениях исследований (*in vitro*, *in vivo* и клинических) продемонстрирована значимая роль PDGF в процессах репарации поврежденных тканей. Так, PDGF вызывает стимуляцию макрофагов, экспрессирующих целый ряд других медиаторов роста, трансформация которых от про- к противовоспалительному фенотипу в значительной мере детерминирует эффективность репарационных процессов [101]. С дефективностью перепрограммирования макрофагов в противовоспалительный регуляторный M2-фенотип связывают развитие хронических ран [102 – 104], которые «замораживаются» на воспалительной фазе ранозаживления. Кроме того, было показано, что PDGF инициирует выработку основных молекул ВКМ, включая фибриноектин, коллаген, протеогликаны и гиалуроновую кислоту, инициирует

сокращение матриц коллагена *in vitro* [105]. И наконец, PDGF стимулирует выработку и секрецию фибробластами коллагеназы, оказывая влияние в фазе ремоделирования заживления раны [106]. В настоящее время имеются доказательные данные о повышении экспрессии PDGF в плазме крови пациентов с ВБВ НК [107]. Однако информация относительно особенностей экспрессии этого ростового медиатора в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК немногочисленна и противоречива. Вместе с тем в ранее выполненных экспериментальных и клинических исследованиях была продемонстрирована связь между повышением уровня PDGF в стенке ПИВ и патологическим старением сосудов при ВБВ НК [108, 109], которое рассматривается в качестве значимого фактора, ответственного за морфологические изменения венозной стенки [109].

В результате инверсии эндотелиальной механотрансдукции, обусловленной нарушением функций гликокаликса эндотелиальных клеток, мигрирующие сквозь стенку сосуда лейкоциты и другие клетки иммунной системы [110] приводят к неконтролируемому высвобождению цитокинов, что обуславливает патологический сосудистый ответ [111] и эскалацию генерации АФК. Последние, в свою очередь, стимулируют высвобождение MMPs и интенсифицируют коллагеновую активность, следствием которой является ремоделирование компонентов ВКМ и изменения эластичности сосудов [112]. MMPs секретируются фибробластами и при активации разрушают коллаген и эластин, что может влиять на другие элементы в структуре сосудов, включая миграцию ГМК [113, 114] и активность ростовых медиаторов: VEGF, рецептора фактора роста фибробластов, эпителиального фактора роста [115]. Образующиеся вследствие разрушения коллагена белки, связываясь с интегриновыми рецепторами ГМК, вызывают активацию калиевых каналов [116]. Инверсия в секреции коллагена, фибриноектина, эластина и кальция приводят к повышению жесткости сосудов [117]. Отложение некоторых подтипов коллагена приводят к утолщению интимы и среднего слоя, и, в целом, происходит снижение соотношения эластина к коллагену и изменение общей ориентации ГМК [118]. Например, наблюдается повышенный синтез коллагена типа I и снижение экспрессии коллагена типа III по сравнению со

здоровыми ГМК [119]. Как известно, коллаген типа I придает жесткость ткани, а коллаген типа III участвует в поддержании ее эластичности [50]. Следовательно, высокое соотношение коллагена I:III может объяснять низкую растяжимость варикозной [120]. В то же время происходит снижение количества ГМК и белковых молекул [48], которое в совокупности приводит к снижению эффективности сокращения сосудистой стенки вследствие фрагментации мышечного слоя вены [46, 121]. Более того, деградация эластина, критическое событие, связанное с ускоренным старением, приводит к образованию продуктов с цитокиноподобной активностью, проявляющих хемотаксическую активность в отношении лейкоцитов, особенно поляризованных по отношению к подтипам Th1 ГМК [122]. Также отмечается превалирование процесса деградации фибронектина над его синтезом и отложением. Поскольку фибронектин синтезируется фибробластами кожи, этот факт может объяснять длительный период заживления трофических язв нижних конечностей при ВБВ НК [123]. Необходимо отметить, что MMPs реализуют свои критические эффекты не только в пределах стенки вен, но и в створках клапанов, способствуя их дисфункции и несостоятельности [124]. Среди MMPs при ВБВ НК наиболее существенный интерес представляют MMP-2 и MMP-9. В исследовании *in vitro* показано, что MMP-2 и MMP-9 интенсивно гидролизуют желатину, производимые в результате распада различных типов коллагенов [125]. В тканях MMP-2 и MMP-9 ответственны за заключительную фазу деградации фрагментов коллагена, вышедших из структуры фибриллярных белков. Важно отметить, что эти желатиназы вносят существенный вклад в длительную пролонгацию гиперактивности системы MMPs посредством депрессии их тканевых ингибиторов [126]. Считается, что именно высота экспрессии MMP-9 является стержневым маркером верификации варикозной трансформации различной локализации, поскольку она отражает степень деградации ВКМ и факт наличия распространенной дезорганизации соединительной ткани [127–129]. Результаты исследований преимущественно свидетельствуют о повышении уровней MMP-2 и MMP-9 в ПИВ при ВБВ НК [130,131]. При этом в одной из работ зафиксировано снижение экспрессии MMP-2 и MMP-9 в ПИВ при ВБВ НК [132].

А в некоторых исследованиях указывалось на повышение экспрессии MMP-2 и снижение MMP-9 [133]. Однако интерпретация полученных результатов и оценка возможностей их использования встретили у авторов затруднения. Вероятное объяснение этих противоречивых данных может быть связано с различиями клинических классов ВБВ НК в выборке пациентов [134] и локализации изучаемых сегментов вен [135]. Необходимо проведение дальнейших исследований для уточнения особенностей экспрессии MMP в стенке ПИВ и характера их взаимосвязи с изменениями ОАС у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

Отдельного внимания, на наш взгляд, заслуживает пролидаза – это марганец-зависимый цитозольный фермент, который является членом семейства MMP и основным регулятором метаболизма ВКМ, поскольку играют важную роль в рециркуляции пролинсодержащих белков для синтеза коллагена [136 – 138]. По мнению Phang, J.M. et al. [139], изменение активности пролидазы может указывать на нарушение метаболизма коллагена и прогрессирование заболевания. Более того, было высказано предположение, что активность пролидазы сопряжена с лимитированием активности факторов, регулирующих биосинтез коллагена [140]. В некоторых работах зафиксировано значительное повышение активности пролидазы в сыворотке крови и стенке вены у пациентов с ВБВ НК по сравнению с КГ [27,134]. Повышенная экспрессия пролидазы может отвечать за усиление продукции фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа (HIF-1 α), что приводит к усилению ангиогенного сигналинга: повышаются уровни медиаторов воспалительного ответа, таких как VEGF и глюкозного транспортера 1 типа [140]. Целый ряд исследований подтверждает наличие тесной взаимосвязи между активностью пролидазы и оксидантным стрессом, например, у пациентов с диабетической невропатией [141], хроническим гепатитом С [142], раком мочевого пузыря [143], болезнью Бехчета [144], ожирением [145]. Для пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 такой информации найдено не было.

Повреждение стенки и клапанов вен, вызванное оксидативным стрессом, в конечном итоге приводит к рефлюксу и усугубляет гемодинамические нарушения

[146]. Хроническое воспаление лежит в основе прогрессирования ВБВ НК и возникновения трофических изменений.

Механизмы избыточной генерации АФК при ВБВ НК продолжают изучаться, однако уже сегодня многие мировые ученые сходятся во мнении, что важную роль в этом процессе играет снижение эффективности антиоксидантной системы [28, 147, 148]. Эта концепция подтверждена различными экспериментальными и клиническими исследованиями [149, 150]. Так, на модели экспериментальной гипоксии показана избыточная генерация АФК, снижение тиолов, окислительных модификаций белков и повышение содержания гидропероксидов белков и MDA [29]. В работе Норецка А. et al. [28] сообщалось о снижении у пациентов с ВБВ НК показателя общей антиоксидантной способности (ТАС) в крови и стенке ПИВ по сравнению с контролем. Аналогичные сведения представлены в исследовании Krzyściak W. et al. [30]. Наконец, в работе Gwozdziński, L. et al. [151] сообщалось о снижении активности каталазы в гемолизате эритроцитов ПИВ у пациентов с ВБВ НК по сравнению с контролем. Следует также отметить, что в настоящее время в научных работах все чаще упоминается об изменении активности имманентных компонентов ферментативного звена антиоксидантной системы супероксиддисмутазы (SOD) и глутатионпероксидазы (GPx) как на локальном, так и на системном уровнях при ВБВ НК [151]. Вместе с тем, данные о характере этих изменений единичны и неоднозначны. Известно, что SOD является одним из базовых ферментативных компонентов антиоксидантной защиты, механизм функционирования которой заключается в планомерном восстановлении и окислении ионов переменной валентности в активном центре фермента. Идентифицировано две изоформы SOD – Mn^{2+} -SOD (SOD2) и $Cu^{2+}Zn^{2+}$ -SOD, при этом последняя обладает более выраженной активностью. $Cu^{2+}Zn^{2+}$ -SOD обнаруживается практически во всех аэробных клетках, с преимущественной локализацией в цитоплазме эритроцитов и межмембранном митохондриальном пространстве. Сообщается, что SOD увеличивает скорость дисмутации $O_2^{\bullet-}$ радикала в 3 – 4 раза [152]. Генетический дефицит SOD сопряжен с повышенным риском развития сердечно-сосудистой

патологии (ССП) [153]. Активность SOD в стенке ПИВ и крови при ВБВ НК по данным отдельных авторов, различается. В исследовании Saribal D. et al. [26] продемонстрировано отсутствие значимых различий активности SOD в стенке ПИВ и контрольной вены. С другой стороны, в ряде работ у пациентов ВБВ НК показатели активности SOD в стенке ПИВ были снижены [27, 133] и ассоциировались с длительностью оксидантного стресса [154, 155]. Низкие уровни SOD в стенке ПИВ также были подтверждены в исследовании Modaghegh M.H. et al. [133]. Авторы этого исследования предположили, что обнаруженные ими низкие уровни SOD значительно сопряжены с интенсификацией активности MMP-2 и ингибированием активности MMP-9, следствием этого является утолщение и деформация стенки вены. Напротив, в работе Krzyściak et al. [30] указывалось на 35% повышение активности SOD в стенке ПИВ. Norecka A. et al. [28] показали повышение активности SOD в стенке ПИВ, сопровождающееся снижением активности SOD в эритроцитах крови у пациентов с ВБВ НК, что, по мнению исследователей, подтверждает нарушение механизма антиоксидантной защиты на системном уровне и ее компенсаторный характер на локальном уровне. Krzyściak et al. [30] выявленный факт объясняют локальной гидростатической гипертензией, возникающей в результате ВБВ НК, которая, вероятно, способна активировать многие молекулы клеточной адгезии (например, селектины, интегрины $\beta 1$ и $\beta 2$) и межклеточной адгезии (ICAM-1 и VCAM-1), а также интенсифицировать экспрессию их рецепторов. Это приводит к фиксации лейкоцитов на поверхности эндотелия и их последующей миграции из ПИВ в ткани. Значительное увеличение содержания лейкоцитов, как ранее было доказано, приводит к избыточной генерации АФК. В исследовании Колобова О.И. с соавт. [156] показано 40% снижение активности SOD в эритроцитах крови у пациентов с ВБВ НК, что позволило авторам констатировать недостаточную эффективность системной антиоксидантной защиты у данного контингента.

GPx представляет собой семейство гемсодержащих ферментов с пероксидантной активностью, основным биологическим эффектом которого является инактивация АФК посредством катализации дезорганизации молекул

пероксида водорода и органических пероксолов до воды и соответствующих спиртов [157]. В физиологических условиях GPx поддерживает 98% восстановленного глутатиона [158.]. По данным экспериментального исследования Yoshida et al. [159], у мышей с отсутствием генов, кодирующих GPx, наблюдалась более выраженная реакция на состояние ишемии/реперфузии по сравнению с контрольной группой без генетических трансформаций. На состояние сосудов влияют преимущественно три изоформы селен-содержащих GPx: цитозольная (GPx1), внеклеточная (GPx3) и фосфолипидная (GPx4). Изоформа GPx1 сосредоточена фактически во всех тканевых структурах и систематизирована как фермент защиты от оксидантного стресса. Способность GPx1 взаимодействовать с перекисью водорода и низкомолекулярными пероксидами [157] указывает на ее заинтересованность в модуляции сигнальных процессов [157]. В исследовании Weiss N. et al. [160] была показана сопряженность трансгенной сверхэкспрессии GPx1 с улучшением эндотелиального статуса. Изоформа GPx3 – исключительный фермент семейства GPx, представляющий собой секреторный белок с 20% содержанием селена плазмы крови [161]. Основными продуцентами фермента являются тубулярные эпителиальные клетки проксимальных канальцев и париетальные клетки капсулы Боумена-Шумлянского [162]. Имеются исследования, в которых показана ассоциация сниженной активности GPx3 со снижением биодоступности оксида азота (NO), гиперактивностью тромбоцитов и повышенным риском тромбообразования [163]. Изоформа GPx4, содержащая редокс-активный селеноцистеин, является стержневым ферментом, координирующим внеклеточный гомеостаз. По определению, GPx4 участвует в предотвращении апоптоза и тканевого повреждения посредством ингибирования ПОЛ в цитоплазматических мембранах [164,165]. Мыши, нокаутированные по GPx4, характеризовались низкой жизнеспособностью и умирали на этапе раннего эмбриогенеза [76]. В работе Karamalakova, Y. et al. [166] сообщалось о снижении активности GPx в плазме крови у пациентов с ВБВ НК по сравнению с контролем, возможным механизмом которого, по мнению исследователей, может быть низкое содержание глутатиона, а также инактивация антиоксидантных ферментативных

систем в условиях интенсивного оксидантного стресса на системном уровне. Аналогичные результаты представлены и в исследовании Steiling H. et al. [167], в которой указывалось на 15% снижение активности GPx в плазме крови у пациентов с ВБВ НК. В противовес вышеуказанным результатам в исследовании Saribal D. et al. [26] продемонстрировано отсутствие статистически значимых различий активности GPx в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК и лицами контроля. Возможно, это связано с прямой связью активности GPx со степенью тяжести ХВН. Фрагментарность и противоречивость полученных данных указывает на необходимость выполнения дальнейших исследований в этом направлении.

В последние годы появляются сведения в пользу представления о существенной роли дисбаланса показателей ОАС в потенцировании тяжести клинических проявлений ХВН [30]. Однако, насколько нам известно, исследования, изучающие характер взаимосвязи между изменениями показателей ОАС и выраженностью ХВН у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 отсутствуют. Кроме того, остается открытым вопрос о сопряженности длительности заболевания и интенсивности оксидантного стресса. Необходимо также отметить, что преимущественное число ранее выполненных работ посвящены лишь сравнению изменений показателей ОАС среди пациентов с ВБВ НК и здоровых лиц, в то время как до конца не ясна роль оксидантного стресса в изменении экспрессии ключевых стимуляторов ангиогенеза, в частности, VEGF и PDGF, а также регуляторов протеолиза компонентов ВКМ (MMP-2, 9 и пролидазы), негативная клинико-прогностическая значимость инверсии уровня которых при ВБВ НК не вызывает сомнений [31].

1.2. Возможности метаболомного профилирования

Еще одним перспективным направлением исследовательского поиска, открывающего новые аспекты к пониманию патофизиологических механизмов и подходов к стратегии комплексного лечения ВБВ НК клинических классов С4–С6, является изучение молекулярно-клеточных aberrаций, а именно, изменений

клеточного метаболомного профиля в стенках ПИВ. К метаболитам относят широкий спектр соединений, включая низкомолекулярные полярные летучие соединения и классы высокомолекулярных полярных гликозидов, неполярных липидов и неорганических веществ [168, 169].

Метаболомика определяется как наука, изучающая систему низкомолекулярных промежуточных соединений (метаболитов) размером менее 1кДа [170, 171], являющихся конечными продуктами ферментативных метаболических реакций биологического объекта, в котором парирован «реализованный» геном [172]. Ведущим методом метабомики на современном этапе признано метаболомное профилирование, представляющее собой количественный анализ метаболитов, принадлежащих к конкретному химическому классу соединений либо к определенному молекулярному пути [173, 174]. Основополагающая роль клеточного метаболизма в этиологии заболеваний получает все большее признание, что делает метаболомное профилирование оптимальной исследовательской платформой в медицинской практике для поиска новых биомаркеров патологического процесса, а также понимания патофизиологических основ его развития в целях ранней диагностики и определения мишеней для терапевтического воздействия [175, 176]. Преимуществом метаболомного профилирования признана возможность за один анализ получить сведения о специфике десятков, а то и тысяч метаболитов биологического образца [177]. Подобные показатели являются результатом применения современных аналитических платформ, большей частью, базирующихся на масс-спектрометрии (МС) [178, 179]. В процессе формирования и пролификации методологических подходов метабомики появились неопровержимые доказательства о том, что наиболее целесообразными методами анализа метаболомного профиля биологического образца, в том числе и ткани вены, является сочетание использования спектрометрии ядерного магнитного резонанса (ЯМР ^1H) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) [180]. ЯМР ^1H -спектрометрия является широко используемым аналитическим методом в метаболомном

профилировании и позволяет одновременно получить информацию о молекулярной структуре, концентрации и динамике нескольких десятков метаболитов без расхода биологического материала. Результаты многочисленных клинических исследований доказали эффективность метаболомного профилирования с использованием ЯМР ^1H -спектроскопии [181, 182]. МС позволяет осуществлять фрагментацию метаболитов в целях их идентификации. Наряду с этим, действующие на масс-спектрометрах ионные улавливатели предоставляют возможность многократной компартиментации анализируемого вещества, что существенно расширяет диапазон извлекаемой о нем информации и значительно повышает вероятность идентификации. В свою очередь, ВЭЖХ кардинально лимитирует ионную супрессию и риск интерференции МС-пиков, элиминирует фоновый шум и интенсифицирует структурный диапазон детекции метаболитов в 1 – 2 раза и, в отдельных случаях, позволяет количественно определить уровень метаболита в образце [171, 180]. Доказательством эффективности этого подхода является исследование Hermansson et al. [183] с использованием ВЭЖХ-МС, результатом проведения которого было количественное определение более 100 фосфолипидов. С учетом того факта, что получаемые масс-спектры содержат тысячи пиков молекулярного разнообразия биологического образца, неотъемлемым этапом метаболомного профилирования является биоинформационная оценка МС-данных, качество которой обуславливает точность полученных результатов. На первом этапе осуществляется выравнивание и нормализация интенсивностей МС-пиков. Необходимость в выравнивании продиктована потребностью сопоставления между собой пиков одинаковых метаболитов в различных спектрах вследствие постоянно присутствующей неточности в измерении масс веществ [184]. Нормализацию МС-данных выполняют посредством деления интенсивности отдельного МС-пика на число интенсивностей всех детектируемых МС-пиков. На следующем этапе, для адекватного понимания и идентификации сигналов, ответственных за вариации между выборками, МС-данные анализируются с использованием многомерных биоинформационных статистических моделей, включая метод главных компонент

(PCA), метод наименьших квадратов (PLS) и формальное независимое моделирование аналогии классов (SIMCA) [185]. Каждой спектральной интенсивности присваивается значение в пространственной матрице, при этом отдельный спектр рассматривается как объект с многомерным набором метаболомных переменных [186]. Заключительным этапом метаболомного анализа является идентификация метаболитов, относящихся к определенным фенотипам. Для этого применяются различные ресурсы, включая такие базы данных метаболомов человека как Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), Human Metabolome Database (HMDB), Golm Metabolome Database (GMD), Protein Data Bank, Chemical Entities of Biological Interest и GenBank.

К настоящему времени накоплен достаточный пул метаболомных исследований в тканях с целью идентификации новых биологических маркеров, ассоциированных с социально значимыми заболеваниями, включая ССП и онкологические заболевания. В частности, метаболомное профилирование тканей выполнено при таких заболеваниях, как миокардиодистрофия, гипертрофия миокарда, аритмия, опухоли головного мозга, молочной железы, почек, кишечника, предстательной железы [187 – 191], метаболический синдром [175]. Вместе с тем, данные о вкладе клеточных метаболомных изменений в развитие и прогрессирование ВБВ НК носят единичный характер. Особый интерес представляет работа Tanaka H. et al. [33], посвященная изучению клеточного метаболомного профиля клапанов и стенок ПИВ и здоровых вен с использованием МС и прямой матрично-активированной лазерной десорбцией у пациентов с ВБВ НК клинических классов С1– С3. Авторами показано значимое повышение уровня липидов, включая лиофосфотидилхолин, фосфотидилхолин и сфингомиелин вокруг деформированного клапана у пациентов с ВБВ НК по сравнению с контролем. Роль этих липидов в сосудистом воспалении широко исследована [33]. Кроме того, Tanaka H. et al. [33] подчеркивают, что обнаруженное в среднем слое венозной стенки в артериовенозной фистуле у пациентов с ВБВ НК повышенное содержание лиофосфотидилхолина и фосфотидилхолина позволило сделать вывод о значимой роли этих групп липидов в развитии воспалительных реакций,

играющих значимую роль в патофизиологии прогрессировании заболевания, обуславливая развитие эндотелиальной дисфункции [31, 93, 192.]. Anwar M. [32] в ходе изучения метаболомного профиля в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК и здоровых вен лиц КГ с применением ЯМР ¹H-спектроскопии продемонстрировали, что в основе патофизиологии и прогрессирования заболевания лежит увеличение содержания таких метаболитов, как инозитол, креатин и снижение содержания триглицеридов. Следует отметить, что в доступной нам литературе мы не встретили работ, посвященных изучению особенностей изменений клеточных метаболитов в плазме крови у пациентов с ВБВ НК.

Учитывая тот факт, что знание особенностей метаболомного профиля позволяет более точно оценить и понять молекулярные процессы, протекающие в клетках, тканях и органах, становится очевидным, что дальнейшее научное исследование с целью уточнения метаболомного профиля на локальном и системном уровнях у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4–С6 с учетом степени тяжести ХВН, является актуальным. Понимание особенностей клеточного метаболомного профиля может открыть новые возможности для молекулярно-таргетной терапии этой сложной категории пациентов.

1.3. Современная концепция комплексного лечения пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей: возможности и перспективы

В настоящее время основой лечения пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 остается хирургическое вмешательство [19, 24, 193]. В целом, основные задачи хирургического лечения этой категории пациентов можно консолидировать в следующие: снижение выраженности либо нивелирование субъективных симптомов и объективных проявлений ХВН, превенция прогрессирования варикозной трансформации, кровотечения и варикотромбофлебита, ускорение заживления и предупреждение рецидива венозных трофических язв, нивелирование либо редуцирование косметического дефекта, повышение КЖ пациента [194 – 196]. В мировой практике приоритетным

способом хирургического лечения ВБВ НК признаны минимально инвазивные методы, такие как эндовазальная лазерная коагуляция (ЭВЛК) (уровень доказательности 1А) [197, 198] либо сочетание ЭВЛК несостоятельности стволов БПВ или малой подкожной вены с минифлебэктомией варикозно-измененных притоков, основная концепция которых – радикальное устранение проявлений ВБВ НК в сочетании с высокой степенью косметичности [199, 200]. Их эффективность и безопасность доказана в ряде крупных рандомизированных исследований [201–203]. По данным Луценко М.М. и соавт. [204], применение ЭВЛК в лечении ВБВ НК достигает 100% эффективности в ликвидации вертикального рефлюкса по БПВ и ее облитерации независимо от диаметра вены. Вместе с тем, несмотря на высокую эффективность ЭВЛК, частота послеоперационного рецидива сопоставима с открытыми хирургическими вмешательствами [25, 58, 205] и в течение двух лет после операции достигает 22% [25]. Согласно данным Игнатович И.Н. и соавт. [24], через 2 года после ЭВЛК с минифлебэктомией рецидив ВБВ НК развивается у 21,4% пациентов. Эти факты подтверждают, что даже адекватно выполненное хирургическое вмешательство не гарантирует достижения хороших клинических результатов в отдаленном периоде [24, 206]. Важно отметить, что среди зарегистрированных случаев послеоперационного рецидива ВБВ НК наибольшую долю составляют пациенты с ХВН клинических классов С4 – С6 [44].

Рецидив ВБВ НК значительно снижает КЖ пациента, угрожает развитием осложнений, а также требует сложного и дорогостоящего лечения [207]. К сожалению, в настоящее время отсутствуют надежные стратегии превенции послеоперационных рецидивов ВБВ НК. В связи с этим поиск новых рациональных путей повышения эффективности хирургического лечения пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 является одной из ключевых задач современной хирургии.

Опираясь на имеющиеся доказательные данные, распространенной причиной развития послеоперационного рецидива ВБВ НК является прогрессирующий характер заболевания [25]. Всего из 1450 пациентов с рецидивом ВБВ НК прогрессирование заболевания по результатам ультразвукового дуплексного

ангиосканирования (УЗДАГ) зарегистрировано у 73,3% [25]. Известно, что хирургическое вмешательство не позволяет устранить все значимые патофизиологические звенья ВБВ НК. Перспективным направлением потенцирования его эффективности считается комплексное лечение, базирующееся на применении в пред- и/или в послеоперационном периоде методов медикаментозного и немедикаментозного воздействия [208 – 213]. Компетентность этого утверждения доказана существенным пулом научных публикаций [209, 214, 215]. Установлено, что применение комплексного лечения при ВБВ НК способствует улучшению результатов хирургического лечения, снижает вероятность развития рецидива и способствует сокращению сроков реабилитации [216]. В основе одной из признанных концепций прогрессирования ВБВ НК и, как следствие, развития рецидива лежит представление о сохраняющемся хроническом оксидантном стрессе, поддерживаемом сниженной активностью антиоксидантной защиты как о важном патофизиологическом механизме неблагоприятного течения заболевания. Исходя из этого, блокада оксидантного стресса может ослабить прогрессирование заболевания. Одним из эффективных блокаторов оксидантного стресса является хорошо известный метод системной озонотерапии [217]. На сегодняшний день имеется значительный фактический материал, подтверждающий эффективность озонотерапии в качестве адъювантного терапевтического подхода для лечения алгического синдрома [218, 219], желудочно-кишечной патологии [220], заболеваний дыхательной системы [221, 222], сахарного диабета [223 –226], ишемии [227, 228], онкологических [229, 230] и инфекционных заболеваний [231– 233]. В основе молекулярных механизмов действия озона лежит его высокая биохимическая активность к соединениям, содержащим двойную С=С связь, в первую очередь к полиненасыщенным жирным кислотам (PUFA), входящих в структуру фосфолипидов клеточных мембран [234]. В результате биохимических реакций озона с PUFA и водой образуются промежуточные перекисные соединения, преимущественно перекись водорода (H₂O₂) – АФК и различные альдегиды, включая 4-гидроксиноненаль (4HNE), которые, по мнению ряда исследователей, и опосредуют клеточные биологические

и лечебные эффекты озона [235]. Известно, что молекулы H_2O_2 и 4HNE являются вторичными мессенджерами и модулируют активность иммуноцитов, гемопоэтических клеток, берут участие в координировании клеточных антиоксидантных систем [236]. Озонотерапия обладает целым рядом системных эффектов, но наиболее актуальным признан антиоксидантный [237 – 240]. Антиоксидантная система отвечает на введение озона весьма стремительно: спустя 60 минут после внутривенной инфузии ТАС возрастает на 32-46% [241]. Восстановление физиологических антиоксидантных реакций происходит благодаря способности озонотерапии модулировать активность целого ряда различных молекул, ключевое значение среди которых отводится активации транскрипционного фактора, опосредующего ядерный фактор-эритроид 2-сопутствующий фактор 2 (Nrf2) – важного трансдуктора внутриклеточного сигналинга [242 – 244]. Было обнаружено, что оксидантный стресс, обусловленный воздействием озона, а именно H_2O_2 и 4HNE [234], интенсифицируют белок Nrf2, контролирующей транскрипцию ряда генов, кодирующих антиоксидантные белки и детоксикационные молекулы, влияющие на выживаемость клетки. В свою очередь запуск последнего стимулирует экспрессию генов, участвующих в клеточной реакции на стресс (ген гемоксигеназы (Hmox 1); ген, кодирующий эндонуклеазу XPF (ERCC4); (ген-регулятор, циклин-зависимого ингибитора киназы 4A (P16INK4A) и механизме транскрипции С-терминального домена фосфатазы 1 (CTDSP1), а также вызывает повышение экспрессии множества антиоксидантных ферментов, включая глутатион, СО, билирубин [235], SOD [240, 245], пероксиддисмутазу, GPx [246], глутатион-S-трансферазу [240, 247], каталазу [248], гемоксигеназу-1, хинонаоксидоредуктазу [240], никотинамидадениндинуклеотид фосфат-хинон-оксидоредуктазу, белки теплового шока и ферменты II фазы клеточного ответа, таких как гемоксигеназа 1 и НАД (Ф)Н-хиноно-ксиредуктаза 1 [235]. В работе Воссі V. et al. [244] показано, что у пациентов с ВБВ НК после озонирования крови активность ТАС и плазменных тиоловых групп снижалась на 20% и 35% соответственно, в то время как активность тиобар-реакционноспособных веществ битуровой кислоты

увеличивалась в 5 раз. Кроме того, показано, что под воздействием озонотерапии за счет восстановления аэробных процессов происходит накопление никотинамиддинуклеотида и никотинамидадениндинуклеотид-фосфата [240], являющихся донаторами протонов для природных антиоксидантов, а также активация антиоксидантных путей.

Описаны свойства озона оказывать интенсифицирующее действие на кислородный транспорт в тканях и кислород-зависимые реакции в клетке [249], тем самым обеспечивая мощный антигипоксический эффект. Активизация оксигенации тканей реализуется посредством повышения содержания кислорода в артерио-венозной крови, изменением реологических свойств крови и ослаблением связи кислород-гемоглобин, что обусловлено активизацией в эритроцитах процессов гликолиза, итогом которых является рост образования 2,3-дифосфоглицерата, снижающего сродство гемоглобина с кислородом. В ряде экспериментальных и клинических исследований показано, что озонотерапия способствовала увеличению содержания свободного кислорода в крови [250 – 252]. В свою очередь интенсификация кислород-зависимых реакций в клетке, включая гликолиз, β -окисление жирных кислот и цикл Кребса, осуществляется посредством системы вторичных мессенджеров – циклических нуклеотидов, которые опосредуя спецификацию инверсии клеточного метаболизма приводят к росту синтеза макроэргических молекул. Это вызывает снижение уровня ряда недоокисленных продуктов обмена и парциального давления в плазме [249, 253 – 255]. Озонотерапия также оказывает противовоспалительное действие, основой которого является ее воздействие на протеасомный комплекс и каскад инфламационных реакций с последующей стимуляцией молекул Nrf2 и ингибированием ядерного фактора каппа-би (NF- κ B) [256, 257]. Системное введение оказывало плеiotропный эффект на клетки поджелудочной железы у крыс с токсическим панкреатитом, индуцированным стрептозотоцином посредством увеличения экспрессии локального эндогенного Nrf2 [247]. Аналогичные данные представлены на экспериментальной модели ишемической реперфузионной травмы в результате проведения аортокоронарного шунтирования

либо трансплантации сердца: системное введение озона способствовало снижению выраженности оксидантного стресса путем инактивации Nrf2, тем самым выполняя протекторную функцию в отношении паренхимы легких миокарда [258, 259]. Применение озонированного солевого раствора в эксперименте *in vitro*, моделирующем процесс заживления ран на культуре клеток человеческих кератиноцитов, было доказано, что активация пути Nrf2 приводит к увеличению экспрессии гена HMOX1 [237]. Общеизвестно, что H₂O₂ обладает способностью проникать в цитоплазму мононуклеарных клеток и модулировать активность пути NF-κB. Вопрос о возможных эффектах 4HNE на иммунную систему, опосредованных регуляционным воздействием на модуляцию NF-κB остается дискуссионным. Сигнальный путь Nrf2/KEAP1/ARE имеет ключевое значение в стабилизации клеточного гомеостаза при дистрессовых воздействиях. Генетический дефицит транскрипционной молекулы Nrf2 вызывает интенсификацию воспалительных процессов *in vivo*, что указывает на значимую иммуномодулирующую роль этого пути. Nrf2 снижает интенсивность воспалительной реакции, предотвращая рекрутинг РНК-полимеразы II, инициирующей транскрипцию генов провоспалительных интерлейкинов (IL)–6 и IL –1β [260]. При этом основной клеточной мишенью флоголитического эффекта Nrf2 правомерно считаются клетки системы мононуклеарных фагоцитов, в которых интенсификация Nrf2 приводила к угнетению «типичного» провоспалительного сигналинга, опосредованного NF-κB. Доказано наличие сильной обратной связи между транскрипционной активностью Nrf2 и NF-κB [261, 262]. В этом контексте интерес представляют данные Yu G. et al. [238], согласно которым системное введение озона у крыс с аденин-индуцированным хроническим заболеванием почек индуцировало активацию Nrf2 и ингибировало путь NF-κB, что приводило к снижению секреции провоспалительных цитокинов в почках, уменьшению проявлений почечной недостаточности и тубулоинтерстициальной травмы. Кроме этого известно, что сигнальный путь Nrf2/KEAP1/ARE активно функционирует в стабилизации внутриклеточного гомеостаза и жизнеспособности лимфоцитов [263]. В свою очередь путь NF-κB является индуцибельным фактором

транскрипции генов провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α), интерферон гамма (INF- γ), IL-1 β , IL-6, IL-8 и активацию провоспалительных молекул, таких как циклооксигеназа-2 (COX-2) и индуцируемая синтаза оксида азота (iNOS) [264]. Показано, что терапевтическая доза озона ингибирует сигнал NF- κ B, снижая выраженность воспаления. Необходимо отметить, что достижение горметической дозы озона играет решающую роль в управлении равновесными воспалительными/провоспалительными реакциями, что дает возможность его терапевтического применения при различных патологических состояниях.

Еще одним значимым эффектом озонотерапии признано активное влияние на свертывающую систему крови, что выражается в сдвиге системы коагуляционного гомеостаза в сторону ослабления свертывающей способности крови и интенсификации фибринолитической активности. Показано, что под воздействием озонотерапии отмечается ослабление вязкости крови, возможным объяснением которого является увеличение деформации эритроцитов за счет разрыва липидных цепей и ослабления молекулярной структуры их мембраны. Также отмечено влияние озонотерапии на изменение электрического заряда мембран эритроцитов, что обусловлено инициацией в них активности макроэргических соединений. В результате этого происходит восстановление фактора регуляции натрий-калий-зависимой аденозинтрифосфатазы, нормализация концентрации катионов и, как следствие, реконструирование потенциала покоя клетки, ее заряда и агрегационных свойств, определяющих реологические свойства крови [265 –267]. Многочисленные исследования доказали, что эффекты озонотерапии последовательны, безопасны и обладают высоким терапевтическим потенциалом [268]. Опубликованный систематический обзор Fitzpatrick E. et al. [269] основанный на данных 4 рандомизированных контролируемых исследований [270 – 273], в которые вошли 453 пациента с хроническими венозными и артериальными язвами, продемонстрировал, что применение озонотерапии способствовало значительному снижению уровня плазменных воспалительных маркеров – на 50% по сравнению с 7% в КГ. В работе Карапетян Г.Э. [217] с участием 48 пациентов с длительно

незаживающими ранами на фоне ХВН, оценивалось влияние курса комплексной озонотерапии, включающей внутривенное введение озонированной крови и местное воздействие на рану на морфофункциональные структурные изменения эритроцитов. По данным анатоми-силовой микроскопии комплексная озонотерапия восстанавливала форму эритроцита, его адгезивный состав и эластичность плазматической мембраны под воздействием комплексной озонотерапии [217]. В поперечном исследовании Izadi M. et al. [274], в котором приняли участие 86 пациентов с ВБВ НК клинического класса С6, продемонстрировано, что помимо позитивного влияния на процесс заживления трофических язв, комплексная озонотерапия значительно улучшала КЖ пациентов, что подтверждалось данными динамического мониторинга по опроснику SF-36. Кроме этого, проведенная экономическая оценка озонотерапии у пациентов с нейроинфекционной диабетической стопой показала, что ее применение способно на четверть снизить затраты на лечение по сравнению со стандартной терапией [275].

Известно, что изменения метаболического профиля связаны с метаболическим дерегулированием и являются молекулярной основой развития эндотелиальной дисфункцией [276]. Поэтому вторая идея связана с использованием хорошо известного препарата сулодексид, представляющего собой высокоочищенную смесь натуральных гликозаминогликанов, состоящую из 80% быстродействующего гепарина и 20% дерматансульфата [277], с потенциальным плейотропным действием при различной сосудистой патологии [278]. Сулодексид оказывает, прежде всего, выраженный антитромботический эффект, в основе которого лежит его антипротеазная активность к антитромбину III и кофактору II гепарина с итоговым ингибированием образования тромбина [279]. Считается, что антитромботическая активность сулодексида за счет синергизма воздействия быстродействующего гепарина и дерматансульфата выше, чем у разрозненных компонентов [279]. По сравнению с гепарином сулодексид характеризуется более длительным периодом полувыведения, менее выраженным влиянием на сосудистый гемостаз и минимизацией риска развития кровотечения [280]. Кроме

того, введенный внутривенно, сулодексид значительно стимулирует высвобождение ингибитора пути тканевого фактора TFP1 из эндотелиальных клеток [281,282]. Сулодексид также проявляет профибринолитическую активность: интенсифицирует активность тканевого фактора плазминогена и лимитирует активность его ингибитора, что приводит к снижению концентрации циркулирующего фибриногена в крови [283]. Более того, было замечено, что сулодексид связывается с фибрином и стимулирует локальный тромболизис [284]. С другой стороны, сулодексид снижает агрегацию тромбоцитов за счет снижения концентрации проагрегационных факторов, таких как тромбин, катепсин G или эластаза [285].

Существенное место в сосудистых благотворных эффектах сулодексида занимает ангиопротекторное действие, что связано с восстановлением структурной и функциональной целостности эндотелия сосудов [286]. Посредством ингибирования активности фермента, расщепляющего гликозаминогликаны, сулодексид поддерживает и возобновляет функционирование сосудистого эндотелиального гликокаликса. В экспериментах на крысах с сахарным диабетом, получавших сулодексид, было отмечено снижение числа циркулирующих десквамационных эндотелиальных клеток в системном кровотоке и стимуляция эндотелиезависимой вазодилатации артерий малого диаметра [287]. Показано, что сулодексид является ингибитором гепараназы-1 [288]. В то же время в группе больных сахарным диабетом II типа наблюдалось снижение уровня гиалуронидазы в плазме крови и увеличение толщины гликокаликса [289]. Кроме этого, сулодексид стимулирует восстановление поврежденной стенки сосуда за счет потенцирования митогенной активности [290], повышения активности факторов роста, участвующих в репарации, и, среди прочего, стабилизирует активность фактора роста гепатоцитов, факторов роста [290] и модулирует миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток [291]. Vorawski J. et al. провели серию интересных исследований на здоровых добровольцах по изучению влияния сулодексида на эндотелиальные клетки. В одном из них показано значительное увеличение уровня циркулирующего фактора роста гепатоцитов в крови после

внутривенного введения сулодексида и отсутствие подобного эффекта после перорального введения [292]. В другом исследовании те же авторы обнаружили, что пероральное введение сулодексида приводило к снижению уровня трансформирующего фактора роста бета-1 (TGF- β 1) в крови на 50% уже через 2 недели лечения, возможным механизмом которого является снижение экспрессии этого белка [293].

Сулодексид оказывает противовоспалительное действие. За счет восстановления гликокаликса и ингибирования ММЗ сулодексид ослабляет адгезию лейкоцитов и снижает их протеолитическую активность [294]. В исследовании *in vivo* было показано, что сулодексид снижал экспрессию ММР-9 в моноцитарных клетках, выделенных из раневого экссудата венозных трофических язв [295]. Считается, что сулодексид влияет на модуляцию ММР посредством нескольких механизмов, включая прямое взаимодействие с ММР, ингибирование их экспрессии либо вмешательство в сигнальный каскад, который активируется бактериальным липосахаридом [295]. Следует отметить, что сам быстродействующий гепарин не ингибирует экспрессию ММР, поэтому этот эффект связан с дерматансульфатом или взаимодействием быстродействующий гепарин – дерматансульфат [296]. Более того, сулодексид оказывает значительное влияние на профиль провоспалительных цитокинов, подавляя действие макрофагов. Показано дозозависимое снижение секреция ИЛ-1 β , ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-17, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, а также гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, MCP-1, макрофагального воспалительного белка -1 α и TNF- α [297]. Культивируемые пуповинные эндотелиальные клетки человека показали дозозависимое снижение секреции моноцитарного хемотаксического белка-1, ИЛ-6, а также снижение генерации внутриклеточных свободных радикалов [298]. Независимо от дозы сулодексид снижает секрецию ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13 [297]. В исследовании *in vivo* было подтверждено, что сулодексид снижал секрецию ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-12 и VEGF в раневом экссудате венозных трофических язв [295]. Важно отметить, что сулодексид снижает уровень провоспалительных цитокинов и

хемокинов без существенного влияния на уровень противовоспалительных молекул [297]. Кроме того, при исследовании раневого экссудата венозной трофической язвы наблюдалось повышение уровня растворимого эндоглина после воздействия сулодексида. В свою очередь растворимый эндоглин влияет на адгезию и трансмиграцию лейкоцитов через эндотелий. Сулодексид потенцирует высвобождение растворимого эндоглина из моноцитов, который оказывает выраженный противовоспалительный эффект при венозной язве [299].

Также отмечены антиоксидантный и антиапоптотический эффекты сулодексида [294]. На основе серии экспериментов, проведенных Gabryel B. et al. [300] на линии HUVEC было показано, что сулодексид интенсифицирует экспрессию SOD1 и GPx1 в условиях кислородно-глюкозной депривации, которые модулируют ишемию. В исследовании, проведенном на ишемизированных HUVEC, сулодексид ингибировал [300]. По мнению Antalík M. et al. [301.], основную роль в антиапоптотическом эффекте могут играть низкомолекулярные гепарины, которые, будучи мощным полианионом, обладают тропизмом к положительно заряженному цитохрому. Gabryel B. et al. [300] наблюдали, что сулодексид лимитирует высвобождение цитохрома в цитоплазму и ингибирует митохондриальный путь запрограммированной гибели. Также было продемонстрировано, что сулодексид ингибирует активность индуцированного ишемией NF-κB. Возможный механизм, которого Spratte J. et al. [302] объяснил тем фактом, что полианионный низкомолекулярный гепарин конкурирует с NF-κB за связывание с соответствующими доменами в ДНК. Однако Jarzabek K. et al. [294] считают, что препараты, содержащие низкомолекулярный гепарин, препятствуют фосфорилированию NF-κB, тем самым предотвращая его связывание с ДНК [294]. Авторы заключили, что ингибирование NF-κB низкомолекулярным гепарином может быть значимым звеном между активацией антиоксидантных ферментов и ингибированием апоптоза при протекционном действии сулодексида на эндотелиальные клетки сосудов в условиях ишемии.

Кроме основных свойств, которые определяют показания к использованию сулодексида при ВБВ НК, можно надеяться на его метаболомный эффект.

Известно, что значительная роль в инверсии тканевого и плазменного метаболомного профиля принадлежит снижению аутофагического потенциала [303]. Степень дефицита аутофагии коррелирует с уровнем клеточных метаболитов, принадлежащих к классам веществ, связанных с аминокислотами, липидами и нуклеотидами [303]. В свою очередь, как уже указывалось выше, инверсия клеточного метаболизма приводит к эндотелиальной дисфункции и избыточному ангиогенезу [304]. Ранее был продемонстрирован потенциальный эффект сулодексида в регуляции аутофагии, патогенетической основой которого является увеличение секреции внутриклеточного убиквитинсвязывающего белка p62 [305]. В условиях оксидантного стресса p62 можно рассматривать как ключевое звено между двумя базовыми процессами: удалением поврежденных компонентов клетки и регуляцией клеточных метаболических процессов. Роль p62 в коррекции метаболомного профиля была показана в ряде экспериментальных исследований. Например, в работе *in vitro* установлено, что p62 играет ключевую роль в регуляции энергетического метаболизма [306]. Редукция экспрессии p62 приводит к снижению уровня АТФ и лактата за счет регуляции активности митохондриальной F1 Fo-АТФ-синтазы в стволовых клетках глиобластомы [307]. p62^{-/-} мыши демонстрируют значительно сниженную скорость метаболизма, о чем свидетельствует уменьшение потребления кислорода [308]. Кроме того, у адипоцит-специфических p62^{-/-}-мышей также наблюдается значительно сниженная скорость метаболизма, вызванная нарушением функции митохондрий [309]. Кроме того, в исследовании *in vivo* было обнаружено, что p62-нокаутные фибробласты демонстрируют снижение уровня глюкозы, уменьшение поглощения и выделения лактата [310]. Следует также отметить, что p62 может опосредованно влиять на липидный обмен. В экспериментальном исследовании, выполненном на клеточных культурах гепатоцитоподобных клеток, было показано, что аутофагические молекулы участвуют в регуляции активности ядерных рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами PPAR α посредством деградации корепрессора ядерных рецепторов NCoR1, и что подавление экспрессии p62 в печени сопровождается дефектами β -окисления и кетогенеза [311]. Помимо «селекции»

белков для деградации, р62 выполняет и другие обменно-регуляторные функции, включая эндосомальное/лизосомальное нацеливание, транслокацию белков и модификацию ферментов. В условиях высокого содержания аминокислот р62 повышал активность белкового комплекса mTOR 1 (mTORC1), регулирующего метаболизм и синтез белков для обеспечения роста и пролиферации клеток [312]. В исследовании *in vitro* было установлено, что р62 необходим для опосредованной аминокислотами активации нижележащих мишеней mTORC1, включая рибосомальный белок S6 киназу (S6K1) и эукариотический фактор инициации трансляции 4E-связывающий белок 1 (4EBP1). В ответ на высокое содержание аминокислот р62 также рекрутирует TRAF6 в комплекс mTORC1, где он катализирует K63-связанное полиубиквитилирование mTOR для дальнейшего усиления активации сигнализации mTORC1 [313]. Хотя представленные результаты были получены *in vitro*, они ясно показывают способность сулодексида предотвращать снижение аутофагического потенциала. Поэтому, с нашей точки зрения, учитывая свойства сулодексида, при его использовании в комплексном лечении пациентов с ВБВ НК клинических классов С4-С6 открываются новые возможности в коррекции клеточного метаболизма за счет регуляции экспрессии аутофагических внутриклеточных молекул.

Эффективность сулодексида в лечении ВБВ НК клинических классов С4 – С6 подтверждена многими клиническими исследованиями. Мы бы хотели остановиться на ключевых работах в данной области. Наблюдательное проспективное многоцентровое исследование ACVEDUET включало 2263 пациентов с ВБВ НК клинических классов С3 – С4, получавших сулодексид в виде раствора для инъекций и/или мягких капсул в соответствии с зарегистрированной в Российской Федерации инструкцией по применению [314]. Наблюдалось уменьшение числа симптомов у 42,8%, снижение их выраженности у 56,4% пациентов, (в целом позитивная динамика зарегистрирована у 99,2%), при этом проявления эффекта от приема препарата зарегистрированы уже к 15 – 20 дню терапии. В исследовании Saviano M. et al. [315] с участием 476 пациентов с ВБВ НК, а затем и в других клинических регистрах [316] также была подтверждена

эффективность сулодексида в отношении снижения выраженности симптомов и повышенного венозного давления. В последующем был опубликован систематический обзор и мета-анализ 64 исследований с участием 71153 пациентов, посвященный оценке эффективности сулодексида при ВБВ НК клинических классов С1 – С6 [317]. Было подтверждено, что сулодексид значительно снижает частоту и интенсивность основных симптомов ВБВ НК, включая боль, судороги, отек без увеличения риска НЯ. Риск развития НЯ в группе сулодексида не отличался от группы плацебо и сульфата гепарина (ОШ 1,31, 95% ДИ 0,74 – 2,32; неоднородность 0%; 270 пациентов). Развитие НЯ регистрировались в 3% случаев (95% ДИ 1– 4%) по оценкам 3656 пациентов. Опубликованы четыре рандомизированных исследования, в которых сравнивалась эффективность стратегии назначения сулодексида по сравнению со стандартной терапией у пациентов с ВБВ НК клинического класса С6 [318 – 321]. Среди них итальянское исследование SUAVIS (Артерио-венозное исследование сулодексида) [319, 322] представляло собой единственное двойное слепое исследование, а также было наиболее крупным, включавшим 235 рандомизированных пациентов с венозной язвой диаметром > 2см. Были представлены доказательства, что показатели заживления язв в группе сулодексида статистически значимо превышали значения в группе плацебо: через 2 месяца лечения 35% против 20,9% ($p=0,018$), через 3 месяца 52,5% против 32,7% ($p=0,004$) соответственно [319]. Заживление венозной трофической язвы в группе сулодексида происходило в более короткие сроки. Схожие результаты были продемонстрированы и в других клинических испытаниях [318, 321, 322]. Еще одно исследование было посвящено оценке результатов 7-недельного назначения сулодексида пациентам с большими венозными трофическими язвами (средняя площадь поражения 12,4 см²). Показано, что через 7 недель терапии в группе сулодексида эпителизация венозных трофических язв наблюдалась у 70% пациентов, в то время как в группе контроля лишь у 35% ($p < 0,05$) [320]. Представленные доказательства клинической эффективности озонотерапии и сулодексида позволяют предположить, что их сочетанное использование в комплексном лечении пациентов с ВБВ НК

клинических классов С4 – С6 за счет аддиктивности взаимодействия позволит потенцировать эффективность хирургического вмешательства и будет способствовать снижению риска развития рецидива и повышению уровня КЖ пациентов.

Таким образом, результаты проведенного нами анализа литературы свидетельствует, что изменения ОАС играют весьма значительную роль в развитии и прогрессировании ВБВ НК, воздействуя и усугубляя ее ключевые патофизиологические звенья. Вместе с тем, несмотря на потенциальную значимость ОАС в патофизиологии ВБВ НК клинических классов С4 – С6, эта проблема остается малоизученной. Имеются лишь ограниченные и противоречивые данные об уровне маркеров оксидантного стресса и активности ферментативного звена антиоксидантной системы. Подобная картина наблюдается и в отношении результатов по исследованию межсистемных взаимосвязей между показателями ОАС, экспрессией ключевых стимуляторов ангиогенеза (VEGF и PDGF) и регуляторами протеолиза компонентов ВКМ (ММР-2, ММР-9 и пролидазы). Некоторое понимание и практический интерес представляют данные исследования клеточного метаболомного профиля при ВБВ НК, указывающие на связь его изменений с развитием и прогрессированием заболевания. Однако это требует еще уточнения при ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Все эти факты не только нацеливают на изучение патофизиологии заболевания и расширение знаний в этом аспекте, но и составляет перспективы для совершенствования диагностики и молекулярно-таргетного воздействия в плане коррекции нарушений окислительного гомеостаза и клеточного метаболизма.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ

2.1. Организация и материал исследования

Всего в исследовании приняли участие 300 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, которым выполнено оперативное вмешательство (ОВ) с использованием минимально инвазивных технологий, 98 пациентов, которым выполнено аортокоронарное шунтирование и 94 здоровых добровольца. Протокол диссертационного исследования прошел экспертизу локального этического комитета. От всех участников было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями включения пациентов с ВКБ ВБ в исследование были: возраст от 18 до 80 лет; верифицированный согласно МКБ –10 диагноз ВБВ НК; ХВН клинических классов С4 – С6 (согласно классификации СЕАР); продолжительность заболевания не менее 12 месяцев; первичная ВБВ НК; плановый характер ОВ; ОВ с использованием минимально инвазивных технологий.

Критериями невключения пациентов с ВКБ ВБ в исследование были: возраст старше 80 лет; ХВН клинических классов С0–С3 согласно СЕАР; варикоз притоковых вен, не сцепленный с патологическим рефлюксом ствола большой (малой) подкожных вен; врожденные заболевания, ассоциированные с ВРВ: синдром Клиппеля-Треноне, артериовенозная мальформация; оперативные вмешательства (ОВ) на венах нижних конечностей по поводу ВБВ и другой сосудистой патологии в анамнезе; рецидив ВБВ НК после перенесенного ОВ; вторичное варикозное расширение вен нижних конечностей; восходящий варикотромбофлебит; перенесенное ОВ в предшествующие 3 месяца до начала исследования; тяжелая или декомпенсированная коморбидная соматическая

патология, которая может затруднять участие пациента в исследовании и инспирировать его результаты; обострение хронической соматической патологии; аутоиммунные, гематологические и онкологические заболевания; алкоголизм и/или наркомания в анамнезе; беременность и лактация; отказ пациента от участия в исследовании.

Исследование включало два этапа: 1-й этап (2018 – 2019 гг.) представлял собой проспективное исследование «случай–контроль». На этом этапе методом сплошной выборки в исследовании были включены 102 пациента (мужчины – 34 (33,3%), женщины – 68 (66,7%), средний возраст – 47,1 [38,4;52,3] лет), страдающих ВБВ НК клинических классов С4 – С6, которые поступили в плановом порядке для проведения хирургического лечения и соответствовали критериям включения/невключения. Кроме того, в исследование были включены две контрольные группы (КГ), паритетные по половозрастным показателям. Контрольную группу 1 составили 98 пациентов (мужчины – 39 (39,8%), женщины – 59 (60,2%), средний возраст – 48,4 [37,2;54,9] лет, которым выполнено аортокоронарное шунтирование. В контрольную группу 2 вошли 94 здоровых добровольца (мужчины – 34 (36,2%), женщины – 60 (63,8%), средний возраст – 45,9 [33,0;53,2] лет, проходивших ежегодный профилактический медицинский осмотр.

Критерии включения в КГ1: возраст от 18 до 80 лет; отсутствие в анамнезе ВБВ НК.

Критерии включения в КГ2: возраст от 18 до 80 лет; принадлежность к 1-й группе здоровья, отсутствие инфекционных и острых заболеваний в предшествующие 2 месяца до начала исследования.

Характеристика пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и обследованных КГ представлена в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Характеристика пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей клинических классов С4 – С6 и обследованных контрольных групп на первом этапе исследования (2018 – 2019 г.)

Показатель	Основная группа n= 102	Контрольная группа 1 n=98	Контрольная группа 2 n=94	p
Мужчины/женщины, n (%)	34 (33,3)/ 68 (66,7)	39 (39,8)/59 (60,2)	34 (36,2)/60 (63,8)	0,085
Средний возраст, годы, Медиана [25%;75%]	47,1 [38,4;52,3]	48,4[37,2;54,9]	45,9 [33,0;53,2]	0,824
Индекс массы тела, кг/м ² , Медиана [25%;75%]	23,2 [20,1; 27,5]	24,2 [20,3; 28,1]	23,8 [19,7;27,9]	0,911
Курение в н.в. да/нет, n (%)	30 (29,4)/72 (70,6)	31 (31,6) / 67 (68,4)	30 (31,9)/64 (68,1)	0,897
Артериальная гипертония, n (%)	24 (23,5)	22 (22,4)	–	0,788
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	13 (12,7)	13 (13,2)	–	0,824
ХОБЛ, астма, n (%)	6 (5,9)	6 (6,1)	–	0,924
Сахарный диабет, n (%)	6 (5,9)	4 (4,1)	–	0,899
Хронический гастрит, n (%)	14 (13,7)	14 (14,6)	–	0,764
Мочекаменная болезнь, n (%)	5 (4,9)	5 (5,1)	–	0,924

Примечание – Н.В. – настоящее время; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

Набор пациентов и здоровых добровольцев на 1-м этапе исследования осуществляли на базах ГАУ МЗ «Городская клиническая больница № 7» г. Казани, ООО Примус мед «Медицинский центр ФЛЕБО+» г. Казани, «Клинический медицинский многопрофильный центр Святителя Луки», медицинского центра «Гемокод» г. Симферополя.

2-й этап исследования (2020 – 2023 гг.) представлял собой проспективное сравнительное рандомизированное контролируемое, с одинаковым соотношением распределения, в параллельных группах клиническое исследование, целью которого являлась интегративная оценка эффективности влияния различных стратегий, используемых для лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6. На этом этапе методом сплошной выборки в исследовании были включены 198 пациентов (мужчины – 67 (33,8%), женщины – 131(66,2%), средний возраст – 48,4 [47,2;56,6] лет), перенесших минимально инвазивные ОВ по поводу ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Все пациенты методом независимой рандомизации были распределены в две группы в зависимости от особенностей послеоперационного ведения. В 1-ю группу (группу сравнения, ГС) включены 102 пациента, у которых применяли стандартный протокол ведения послеоперационного периода согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ХЗВ от 2018 г. [323]. Во 2-ю группу (основная группа, ОГ) включены 96 пациентов, у которых стандартным протокол ведения послеоперационного периода был дополнен применением озонотерапии и препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид). Продолжительность проспективного исследования составила 2 года. Все пациенты завершили фазу лечения. Фазу последующего наблюдения (через 2 года после выполненного ОВ) завершили 157 пациентов: 76 из ГС и 81 из ОГ.

Обследование и лечение пациентов на 2-м этапе исследования осуществляли на базах ГАУ МЗ «Городская клиническая больница № 7» г. Казани, ООО Примус мед «Медицинский центр ФЛЕБО+» г. Казани, «Клинический медицинский многопрофильный центр Святителя Луки» г. Симферополя в период с 2020 по 2023 гг.

2.2. Общая характеристика пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Общая характеристика всех 300 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 (102 – 1-ого этапа и 198 – 2-ого этапа) представлена в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Общая характеристика пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Характеристики	Пациенты с ВБВ НК n=300
Средний возраст, годы	48,4 [39,2;54,0]
Мужчины/женщины, n (%)	109(36,3)/191(63,7)
Индекс массы тела, кг/м ² , (m±CD)	22,6±4,4
Средняя длительность заболевания, лет, Медиана [25%;75%]	13,4 [8,1;15,2]
Клинический класс ХВН по СЕАР – 4, n (%)	201 (67,0)
Клинический класс ХВН по СЕАР – 5, n (%)	65 (21,6)
Клинический класс ХВН по СЕАР – 6, n (%)	34 (11,4)
СИП по шкале VCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	17,4 [14,2; 19,8]
Артериальная гипертензия, n (%)	72 (24,0)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	41 (13,7)
ХОБЛ, астма, n (%)	17 (5,7)
Сахарный диабет, n (%)	18 (6,0)
Хронический гастрит, n (%)	42 (14,0)
Мочекаменная болезнь, n (%)	14 (4,7)
ЭВЛК БПВ	59 (19,7)
ЭВЛК БПВ и перфорантных вен	70 (23,3)
ЭВЛК БПВ, перфорантных вен + минифлебэктомия варикозно-измененных притоков БПВ	171 (57,0)

Примечание – СИП – средний итоговый показатель, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ЭВЛК – эндовазальная лазерная коагуляция, БПВ – большая подкожная вена

Средний возраст пациентов 48,4 [39,2;54,0] лет. В выборке преобладали пациенты в возрасте от 41 до 50 лет – 112 (37,3%). Женщины составили 191 (63,7%), мужчины – 109 (36,3%). Средняя длительность ВБВ НК на момент включения пациентов в исследование 13,4 [8,1;15,2] лет. У большинства пациентов длительность заболевания составила более 10 лет – 172 (57,3%). Распределение пациентов по клиническим классам ХВН было следующим: С4 –201 (67,0%), С5 – 65 (21,6%) и С6 –34 (11,4%). Средний итоговый показатель (СИП) по шкале VCSS составил 17,4 [14,2; 19,8] баллов. Коморбидная соматическая патология выявлена у 173 (57,7%) пациентов, в структуре которой преобладала артериальная гипертензия – 72 (24,0%). В структуре ОВ преобладала ЭВЛК БПВ, перфорантных вен в сочетании с минифлебэктомией варикозно-измененных притоков БПВ – 171 (57,0%).

2.3. Методы исследования

2.3.1. Методология стандартного клинического обследования

В рамках предоперационной подготовки всем пациентам с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 проведен стандартный клинико-инструментальный и лабораторный мониторинг. Диагноз устанавливали согласно критериям Международной статистической классификации болезней и проблем, сцепленных со здоровьем (МКБ-10) [324] и действующим на момент проведения исследования клиническим рекомендациям [323]. Для целенаправленного выявления и последующего клинико-статистического анализа специфичных для ВБВ НК и неспецифичных жалоб пациентов применяли специально разработанный опросник. Для объективизации тяжести ХВН и адекватной оценки эффективности проводимого лечения использовали базовую Международную классификацию CEAP [325] и клиническую шкалу оценки тяжести венозных заболеваний VCSS (2010 г. пересмотра). Физикальное обследование пациентов осуществляли в положении ортостаза.

На протяжении всего исследования проводили активное выявление и регистрацию нежелательных явлений (НЯ).

2.3.2. Методология ультразвукового дуплексного ангиосканирования

В рамках предоперационной подготовки всем 300 пациентам с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 проводили ультразвуковое дуплексное ангиосканирование (УЗДАГ) поверхностных и глубоких вен НК. УЗДАГ выполнялось согласно стандартизованному протоколу [326] на ультразвуковом (УЗ) сканере Acuson X150 (Siemens Healthineers, Германия) с применением линейного датчика 7,5-10 МГц. Необходимо отметить, что все исследования проведены одним специалистом. Изучение поверхностной венозной системы нижних конечностей выполняли в положении пациента стоя, глубокой венозной системы – в положении стоя и лежа. В процессе УЗДАГ анализировали проходимость, состоятельность и диаметр ствола большой подкожной вены (БПВ) (Рис. 2.1, 2.2), базовых ее притоков и коммуникационных вен. Калибр БПВ определяли при сканировании в поперечной проекции.



Рисунок 2.1 – УЗДАГ -картина ствола большой подкожной вены.

Определение объемной скорости кровотока с применением пробы Вальсавы

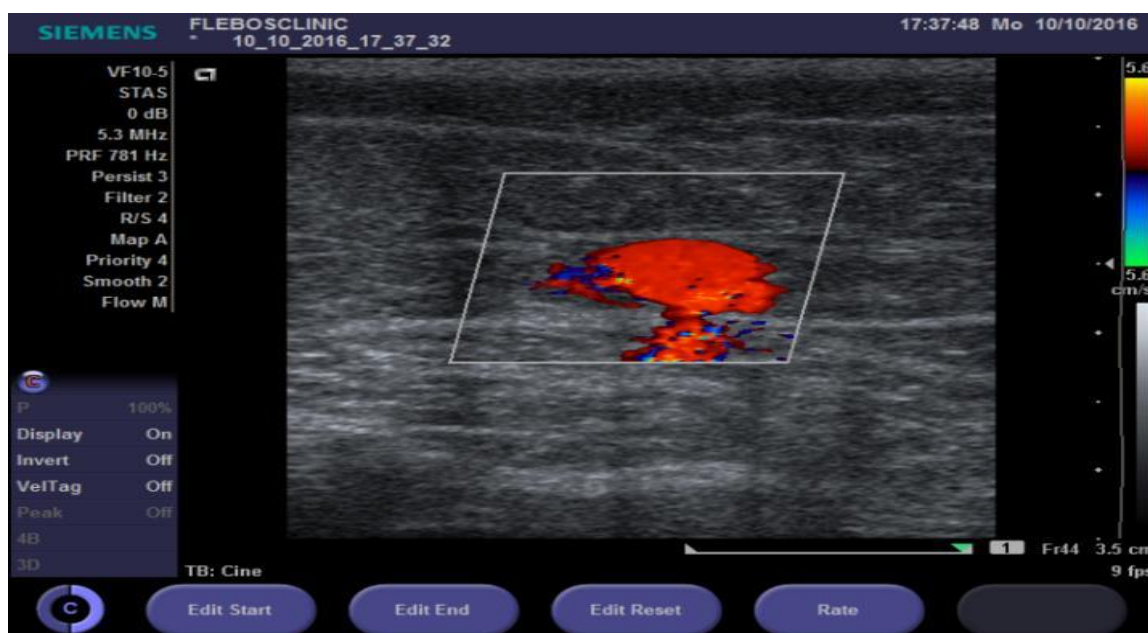


Рисунок 2.2 – УЗДАГ-картина ствола большой подкожной вены. Определение объемной скорости кровотока с применением дистальной компрессионной пробы

Регистрировали диаметр приустьевой области (на расстоянии 2 см от сафено-фemorального соустья, СФС) (Рисунок 2.3), максимальный и средний диаметры несостоятельного сегмента основного ствола БПВ. В качестве показателя максимального диаметра выступал размер наиболее значительного ВРВ.

Средний диаметр определяли на основании данных трех измерений несостоятельного сегмента БПВ на бедре и голени, включая зоны варикозной трансформации вен. Мониторинг функциональной способности клапанного аппарата и ретроградного кровотока являлся результатом комплексной визуализации в В-режиме при цветовой и спектральной доплерографии в поперечной и продольной плоскостях с использованием теста Вальсальвы, дистальных и проксимальных компрессионных проб. несостоятельности СФС и сегментов БПВ являлась продолжительность рефлюкса $>0,5$ сек (Рисунок 2.2).

Критериями несостоятельности патологических перфорантных вен считали: диаметр $>3,5$ мм, сопряженность с варикозно расширенными притоками, рефлюкс $>0,35$ сек. Длину несостоятельности сегмента БПВ определяли в процентном соотношении к длине ее ствола.

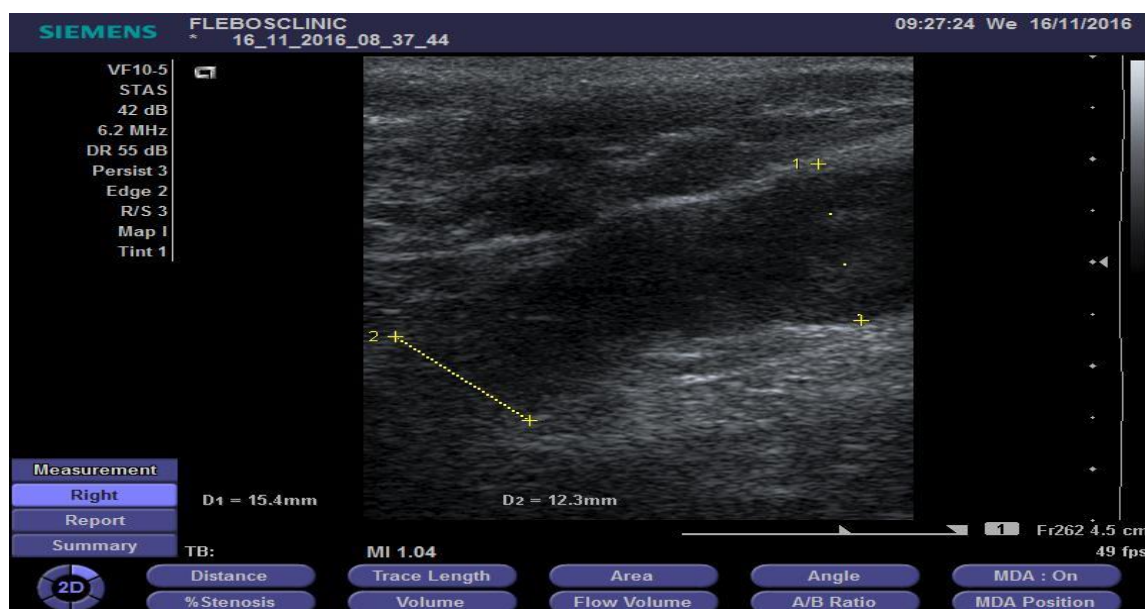


Рисунок 2.3 – УЗДАГ-картина ствола большой подкожной вены. Определение максимального диаметра в области сафенофemorального соустья

С целью типологизации патологического рефлюкса крови по стволу БПВ с учетом его локализации и протяженности использовали классификационные критерии Куликова В.П. [326], согласно которым выделяли проксимальный – наличие рефлюкса на участке впадения притока в БПВ, распространенный – генерализация рефлюкса от паховой области до коленного сустава, субтотальный – генерализация рефлюкса до нижней трети бедра, тотальный – генерализация рефлюкса по стволу БПВ до лодыжки, локальный – генерализация рефлюкса лимитирована проксимальным участком ствола БПВ, изолированный – генерализация рефлюкса лимитирована притоками. Ультразвуковую навигацию в интраоперационном периоде проводили на УЗ-сканере Logiq Book XP (General Electric, США).

2.3.3. Методология изучения системного и локального оксидантно-антиоксидантного статуса

Состояние ОАС изучали на системном и локальном уровнях на основании определения показателей ТАС, ТOS, OSI, активности ферментов SOD и GPx. Оценка состояния ОАС на системном уровне (в плазме крови) проведена у 300

пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и 94 лиц КГ2. Показатели TAC, TOS и OSI в плазме крови изучали посредством колориметрического анализа с использованием наборов реагентов «ImAnJx Kit» и «PerOx Kit» («Immundiagnostik», Германия), активность фермента GPx посредством спектрофотометрии на аппарате DU-640 с использованием коммерческих наборов (Beckman Instruments, Калифорния, США). Активность фермента SOD в эритроцитах определяли по методу Костюк В.А., основанного на реакции окисления кварцетина [327] с использованием тест-наборов «Randox Laboratories» (Великобритания). Спектрофотометрический анализ проводили при длине волны 406 нм путем записи кинетической кривой реакции ингибирования окисления кварцетина. Активность фермента рассчитывали с помощью уравнения, полученного на основании калибровочного графика.

Кровь у пациентов ВБВ НК и лиц КГ2 набирали из локтевой вены в гепаринизированные пробирки объемом 9 мл, натошак, в утренние часы (7.00-9.00) в состоянии покоя. Отделение плазмы производили посредством центрифугирования образцов цельной крови при 3000 оборотов в минуту в течение 10 минут. Плазму помещали в стерильные пробирки и хранили при температуре -20°C. Выделение эритроцитов производили посредством центрифугирования 5 мл образцов цельной крови. Полученные клетки трижды отмывали в фосфатно-солевом буфере (5 ммоль/л, pH 7,4). Все процедуры проводились при температуре 4°C.

Оценка ОАС на локальном уровне проведена у 102 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и 98 лиц КГ1. В качестве биологического материала исследования были использованы образцы удаленных во время операции варикозно расширенных БПВ и образцы иссеченных БПВ во время выполнения аортокоронарного шунтирования. Все образцы трижды промывали холодным изотоническим солевым раствором (0,9%) и определяли вес влажных тканей. Затем образцы тканей гомогенизировали при 13000 об/мин в течение 2 минут на гомогенизаторе (IKA Ultra-TurraX t 25 Basic, Stanfen, Германия) в буферном растворе Трис-HCl (50 мМ, pH 7,4), содержащем 0,05% Triton X-100. Супернатант

получали путем центрифугирования гомогенатов при 3500 об/мин в течение 60 мин. Все процессы проводились при температуре +4°C. Измерение белка гомогената для каждого образца проводилось в соответствии с методом, разработанным Lowry et al. [328].

2.3.4. Методология изучения ростовых медиаторов

Оценка экспрессии ростовых медиаторов (VEGF, PDGF) на локальном уровне изучена у 102 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и 98 лиц КГ1 посредством иммуноферментного анализа «сэндвич»-варианта с использованием готовых коммерческих комплектов реагентов.

В качестве биологического материала исследования были использованы образцы удаленных во время операции варикозно расширенных БПВ и образцы иссеченных БПВ во время выполнения аортокоронарного шунтирования. Все образцы массой 0,5 г гомогенизировали в 5 мл буферного раствора (0,1 М Трис-НСl рН 7,4) и центрифугировали в течение 15 минут при 3000 об/мин. Приготовленный материал хранили при температуре – 70 °С. Оценка экспрессии VEGF проводилась с использованием диагностического комплекта Human VEGF Quantikine Immunoassay (R&D System, Абингтон, Великобритания), PDGF – с использованием коммерческих диагностических комплектов Human PDGF Quantikine Immunoassay (R&D System, Абингтон, Великобритания). Уровень белка в образцах ткани стенки БПВ изучали посредством коммерческого доступного реактива Брэдфорда (BIO-RAD Protein Assay, Геркулес, США). Анализ проведен с использованием термошейкера DTS-4 (ELMI, Калабасас, Северная Америка) и микропланшетного ридера модели 680 (BIO-RAD, Геркулес, США) с программным обеспечением Microplate Manager версии 5.2.1 (BIO-RAD, Геркулес, США). Все измерения выполнены согласно рекомендациям производителей.

2.3.5. Методология изучения металлопротеиназ

Концентрация матриксных металлопротеиназ (MMP-1, MMP-9) на локальном уровне изучена у 102 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 –

С6 и 98 лиц КГ1 посредством ветерн-блоттинга и зимографического анализа оценки желатинолитической активности.

В качестве биологического материала исследования были использованы образцы удаленных во время операции варикозно расширенных БПВ и образцы иссеченных БПВ во время выполнения аортокоронарного шунтирования. Все образцы были немедленно помещены в 10% формалин с фосфатным буфером или были подвергнуты быстрой заморозке для экстракции белка. После предварительного взвешивания образцов ткани БПВ, производили выделение белковых молекул с использованием буфера для радиоиммунопреципитации (50 ммоль/л гидрохлорида Триса, 150 ммоль/л хлорида натрия, 1% нонилфеноксиполиэтоксилэтанол (NP40), 0,5% дезоксихолата натрия, 0,1% додецилсульфата натрия (SDS), 100 ммоль/л фенилметилсульфонилфторида и коктейля ингибиторов протеаз (GRS Protease Inhibitor Cocktail)). Концентрацию белка определяли с помощью набора для анализа белка (Bio-Rad, Hercules, Calif), в котором поглощение белка измеряется с помощью спектрофотометрии при 595 нм.

Вестерн-блоттинг MMP-2 и MMP-9 из образцов ткани БПВ проводили следующим образом: выделенный белок подвергали гель-электрофорезу в 10% полиакриламидном геле и переносили на нитроцель-люлозную мембрану (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния) в течение 1 часа при комнатной температуре. Нитроцеллюлозную мембрану блокировали 2% обезжиренным сухим молоком в Трис-буферном солевом растворе (50 mM Трис-HCl, 100 mM NaCl, pH 8, 0) с 0,1% Твин 20 (TBST) в течение 1 часа при комнатной температуре. Полученные блоты помещали на 24 часа при температуре 4°C в раствор первичных антител (разведение 1:100-1:500; Oncogene Research Products, США). Далее блоты трижды отмывали в растворе TBST и инкубировали со вторичными антителами (разведение 1:200; Chemicon, США) в блокировочном растворе при комнатной температуре в течение 1 часа. Иммунореактивность была визуализирована с помощью хемилюминесцентного субстрата SuperSignal West Pico (Termo Scientific, США).

Зимографический анализ (оценка желатинолитической активности) MMP-2 и

ММР-9 проводилась следующим образом: белки смешивали с трис-глицериново-натриевым додецилсульфатным буфером Novex (Invitrogen) (1:1) и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Далее образцы загружали в 10%-й желатиновый гель Novex Zymogram (Invitrogen, США) и подвергали электрофорезу. После вхождения образцов в гель, напряжение увеличивали до 150 В (20–25 мА) и разделяли белки в нижнем полиакриламидном геле (7,5%), содержащем желатин (1 мг/мл), при температуре 4°C в течение 70 минут. Для замены додецилсульфата натрия, гель после электрофореза инкубировали с неионным детергентом Тритоном X-100 (2,5%) при комнатной температуре в течение 80 минут. Затем гель промывали в буфере, содержащем 20 мМ Трис-НСl, 5 мМ CaCl₂, pH 7,5, и инкубировали в этом же буфере в течение 18 часов при температуре 37°C. Для выявления областей, свободных от желатина, гель сначала инкубировали 1–2 часа при комнатной температуре в растворе (25% этанол, 10% уксусная кислота), содержащем белковый краситель кумасси бриллиантовый синий R-250 (0,1%). Затем гель открашивали этим же раствором, только без красителя. Молекулярную массу белков, обладающих желатиназной активностью, определяли посредством сканирования окрашенного геля на денситометре GS-900 с программным обеспечением Image Lab («Bio-Rad», США). В качестве стандартов для определения молекулярной массы белков применялся набор рекомбинантных белков («Bio-Rad», США).

Активность пролидазы на локальном уровне (в образцах удаленных во время операции варикозно расширенных БПВ и образцах иссеченных БПВ во время выполнения аортокоронарное шунтирование) изучена у 102 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и 98 лиц КГ1 посредством иммуноферментного анализа «сэндвич»-варианта с использованием готовых наборов реагентов («Cusabio Biotech», США) в соответствии с инструкциями производителя. Оптическую плотность в каждой лунке измеряли при 450 нм на микропланшетном спектрофотометре Sunrise (160-39-400, «Tecan», Австрия). На основании анализа калибровочных стандартов с помощью программного обеспечения Megellan 5 (для Sunrise Tecan) строили калибровочные кривые. Рассчитывали концентрацию

пролидазы и отклонение от заданных значений в калибровочных стандартах и контролях качества.

2.3.6. Методология метаболомного профилирования

Метаболомное профилирование на локальном уровне выполнено у 102 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и 98 лиц КГ1. В качестве биологического материала исследования были использованы образцы тканей варикозно расширенных БПВ, удаленных во время ОВ и образцы тканей БПВ, иссеченных во время выполнения аортокоронарного шунтирования. Сразу после взятия образцов их предварительно охлажденные на сухом льду, сушили в вакуумном шкафу класса II. Затем собранные образцы тканей вен разрезали по окружности и в дальнейшем использовали образец со средним весом 140+/- 5 мг. Образцы тканей замораживали в жидком азоте и хранили при температуре -80°C. Целью метаболомного профилирования было обнаружение и идентификация водных и органических метаболитов. Метаболомное профилирование водных метаболитов выполняли с использованием метода спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР ^1H) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) в сочетании с методом жидкостной хроматографии гидрофильного взаимодействия (HILIC-профилирования). Метаболомное профилирование органических метаболитов выполняли с использованием ВЭЖХ-МС.

Водные экстракты метаболитов в образцах тканей венозной стенки после соответствующей подготовки анализировали посредством спектроскопии ЯМР ^1H при напряженности поля 14,1 Тл (^1H 600,29 МГц) с широкополосным 5 мм-преобразователем обратной конфигурации с ресурсом фиксации градиента магнитного поля по оси аз. Спектрометр был оснащен системой Bruker Sample Jet с охлаждающей стойкой, управляемой консолью Bruker Avance III (Bruker, Rheinstetten, Германия). Для получения результатов из каждого образца ЯМР ^1H -спектроскопия выполнялась в условиях стандартной градации одномерных импульсов: задержка цикла (RD) – 90°, время продольной релаксации воды (T_1) –

90°, время поперечной релаксации воды (T_m) – 90°, приобретение распада свободной индукции (FID) с подавлением воды во время RD 2 с и T_m . Всего было получено 514 сканирований по 64 000 точек данных. Водные спектры, полученные посредством ЯМР ^1H -спектроскопии, фазировали и калибровали с использованием химического сдвига тетрадейтерированного пропионата натрия при химическом сдвиге сигналов (δ) H 0,00. Обработку интенсивности пиков, их времени удержания и масс-спектральных характеристик осуществляли посредством программного обеспечения TOPSPIN 3.2 (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Германия). Отнесение сигналов в спектрах выполняли посредством программы MestReNova. Идентификация веществ проводилась по библиотекам масс-спектральных данных с использованием стандартизированной базы человеческих метаболитов (Human Metabolome Database, HMDB) и корреляционной спектроскопии (STOCSY) [329]. HILIC-профилирование [330 – 332] водных экстрактов проводили с использованием системы Acquity UPLC System (Waters, Ltd. Elstree, США), оснащенной масс-спектрометром LCT Premier. (Waters MS Technologies, Ltd., Великобритания). Применялась колонка Acquity UPLC BEH HILIC (1,7 мкм, 2,1 × 100 мм, Waters, США) при T 35 °C.

ВЭЖХ-МС-анализ аликвот, содержащих водные и органические экстракты выполняли согласно методике Анвара [330]. Органические экстракты определяли с использованием системы Acquity UPLC (Waters Ltd. Elstree, Великобритания), оснащенной масс-спектрометром Q-TOF Premier (Waters Technologies, Ltd., Великобритания). Хроматографию органических экстрактов осуществляли с использованием колонки Acquity UPLC CSH (1,7 мкм, 2,1 × 100 мм, Waters, США). Статистическая обработка полученных данных ВЭЖХ-МС-исследования выполнена с помощью программы XCMS 1.46.0 [333]. После выделения пиков, коррекции времени удерживания и группировки хроматографических пиков использовали алгоритм заполнения нулевыми значениями с применением ближайшей фоновой интенсивности. Полученная трехмерная таблица состояла из признаков, характеризующих их отношение массы иона к его заряду в электрическом или магнитном поле (m/z), время удерживания и интенсивность

сигнала. Имеющийся массив данных был подвергнут общей нормализации площади. Идентификация структуры метаболита для ВЭЖХ-МС проводилась посредством сопоставления точных измерений массы и стандартных значений имеющихся баз данных METLIN (<http://metlin.scripps.edu/metabolites>), HMDB (<http://www.hmdb.ca>) и LIPID MAPS, (<http://www.lipidmaps.org>).

Уровни таурина и сфингомиелина на системном уровне (в плазме крови) изучены у 300 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и 94 лиц КГ2 посредством методов хромато-масс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Кровь у пациентов ВБВ НК и лиц КГ2 набирали из локтевой вены в стерильные вакуумные пробирки «BD Vacutainer», натошак (после 12-часового голодания) в утренние часы (7.00-9.00) в состоянии покоя. Для получения сыворотки цельные образцы крови центрифугировали в течение 20 минут со скоростью 3000 оборотов/минуту. Полученную сыворотку помещали в стерильные пробирки и хранили при температуре -20°C .

Уровень таурина в сыворотке крови оценивали с использованием стандартного комплекта, содержащего калибровальные композиции лиофилизированных аминокислот, внутренних эталонов, контрольную лиофилизированную композицию, активные фазы А и В, «Реагент 1» (кат. No JSM-CL-503), используемый при приготовлении образцов плазмы, а также колонку для ВЭЖХ аминокислот (кат. No JSM-CL-575). Подготовка образцов последующий анализ уровня таурина выполнялись согласно модифицированному протоколу по приготовлению и последующей оценке анализа аминокислот в физиологических жидкостях (JASEM; Турция): 50 мкл сыворотки крови соединяли с 50 мкл раствора внутренних эталонов, взбалтывали на протяжении 5 секунд, вводили 700 мкл Реагента-1, вторично взбалтывали 15 секунд центрифугировали 3 минуты при 3000 оборотов./минуту, затем переносили надосадочную жидкость в хроматографическую виалу. Анализ образцов выполнен посредством ВЭЖХ на хроматографе 1260 Infinity II (Agilent; США) с детектированием на масс-спектрометре 6460 Triple Quad (Agilent; США).

Уровень молекулы сфингомиелина в сыворотке крови оценивали по методу Блайя– Дайера [334] посредством масс-спектрометрического детектирования с использованием аппарата TSQ Endura (Thermo Fisher Scientific; Германия) в режиме мониторинга множественных реакций при давлении в ячейке соударений 1,5 мТорр. Фрагментирование стартовых протонированных молекул осуществляли до иона с отношением его массы к заряду в магнитном поле 184,1 Да при энергии 25 эВ, время удержания – 25 миллисекунд; характеристики источника ионизации: температура нагревателя 300 °С, капилляра – 340 °С, поток завесы газа – 45 приборных единиц (п.е.), вспомогательного газа – 13 п.е., продувочного газа – 1 п.е. Хроматографическое разделение проведено с применением системы Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific; Германия) на колонке Eclipse Plus C8 3.0 × 150 мм (Agilent; США), величина частиц 3,5 мкм. Относительный уровень сфингомиелинов оценивали по внешней калибровке (стандартный метод).

2.3.7. Методология оценки качества жизни

Оценка КЖ в предоперационном периоде выполнена у 198 пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, в отдаленном послеоперационном периоде (через с 2 года после ОВ) – у 157 пациента с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. С этой целью использовали специфический опросник для оценки КЖ пациента с ХЗВ 2-й версии («The Chronic Venous Insuficiency quality of life Questionnaire-2», CIVIQ-2) [335]. Опросник CIVIQ-2 включает 20 вопросов, каждый из которых содержит 5 вариантов ответа и оцениваются по пятибалльной системе от 1 до 5, формируя четыре параметра КЖ: болевой фактор (БФ), физический фактор (ФФ), психологический фактор (ПФ) и социальный фактор (СФ). Каждому параметру соответствуют от 1 до 8 пунктов-индикаторов. Суммарный показатель по каждому параметру КЖ рассчитывался посредством суммирования значений по каждому пункту. Диапазон значений обобщенного индекса КЖ (ОИ КЖ) от 20 до 100 баллов (более высокие значения паритетны более низкому уровню КЖ).

Обобщенный индекс КЖ вычисляли по формуле 2.1:

$$(S - mM - m) / \times 100, \quad (2.1)$$

где S – сумма набранных баллов;

m – min. возможная сумма баллов;

M – max. возможная сумма баллов.

2.3.8. Статистическая обработка полученных результатов

Статистический анализ полученных данных проведен с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft. Inc., USA). Проверка соответствия значений показателей нормальности распределения проводилась посредством метода Колмогорова-Смирнова. Количественные показатели представляли в виде медианы и интерквартильного размаха – Me [25-й перцентиль; 75-й перцентиль] при непараметрическом распределении и в виде среднего значения и стандартного отклонения – $m \pm \sigma$ при нормальном распределении. Сравнительный анализ различий количественных показателей между группами был проведен с помощью U-критерия Манна-Уитни при непараметрическом распределении и с помощью критерия Стьюдента при нормальном распределении. Качественные показатели описывали посредством абсолютных и относительных (в %) величин. Сравнительный анализ различий качественных показателей между группами был проведен с помощью критерия χ^2 (хи-квадрат) и двустороннего точного критерия Фишера. Для сравнительного анализа динамики показателей внутри каждой из групп применяли критерий Уилкоксона при непараметрическом распределении и критерий Стьюдента для зависимых выборок при нормальном распределении. Для оценки возможных статистически значимых взаимосвязей между исследуемыми показателями использовали корреляционный анализ Пирсона (r). Для оценки влияния исследуемых показателей на риск развития и прогрессирования ВБВ НК клинических классов С4 – С6 применяли логистический многофакторный регрессионный анализ с вычислением отношения шансов (ОШ) и

95% доверительного интервала (ДИ), при этом использовали процедуру последовательного отбора переменных. Для количественной интерпретации исследуемых показателей применяли ROC-анализ. Для оценки прогностического значения исследуемых показателей в развитии и прогрессировании ВБВ НК клинических классов С4 – С6 определяли площадь под ROC-кривой (AUS), значения специфичности (Sp) и чувствительности (Sen) при критерии отсечения по вероятности 0,5. Критический уровень статистической значимости (p) при проверке гипотез считали значение $<0,05$.

2.4. Методы хирургического лечения пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

2.4.1. Методология оперативных вмешательств

В обеих группах пациентов выполнены ОВ с использованием минимально инвазивных технологий. Непосредственно перед проведением ОВ независимо от способа его выполнения в вертикальном положении пациента под УЗ-навигацией на коже производили разметку: маркировали все варикозно-расширенные притоки и перфорантные вены. ЭВЛК БПВ выполнена всем 198 (100,0%) пациентам: 96 из ГС и 102 из ОГ, ЭВЛК перфорантных вен – у 155 (78,3%) пациентов: 74 (77,1%) и 81(79,3%) соответственно.

Методология выполнения ЭВЛК (Рисунок 2.4).

1. Под строгой УЗ-навигацией выполняли пункцию магистральной подкожной вены интродьюсером с диаметром 5 F с последующим проведением и позиционированием радиального световода «Biolitec ELVeS Radial 2 ring» к соустью предполагаемой подкожной вены;

2. Создавали туменесцентную анестезию (0,1% раствор лидокаина с натрия гидрокарбонатом без адреналина) посредством инфльтрационного диспенсера «Nouvag DP 30» (Швейцария). Аккумулирующийся вокруг вены раствор анестетика обеспечивал не только анальгезирующий эффект, но и способствовал

сдавлению сосуда, что приводило к сокращению его диаметра и позволяло предотвратить перегрев окружающих тканей;

3. Выполняли лазерную коагуляцию вены на диодном лазерном аппарате ЛАХТА-МИЛОН 1– 15 Вт (Россия) под строгой УЗ-навигацией. Преимущественно использовалась мощность излучателя от 6,5 до 9 Вт при тракции световода 0,75 сантиметра/секунду электромеханическим экстрактором волоконно-оптического световода «Лахта-Милон» (Россия). По окончании процедуры ЭВЛО мы прекращали подачу лазерного излучения на расстоянии 1,5 – 2 сантиметра от области протокола кожи с целью избежания ожога. Затем извлекали световод из вены и осуществляли контроль выполненной процедуры.

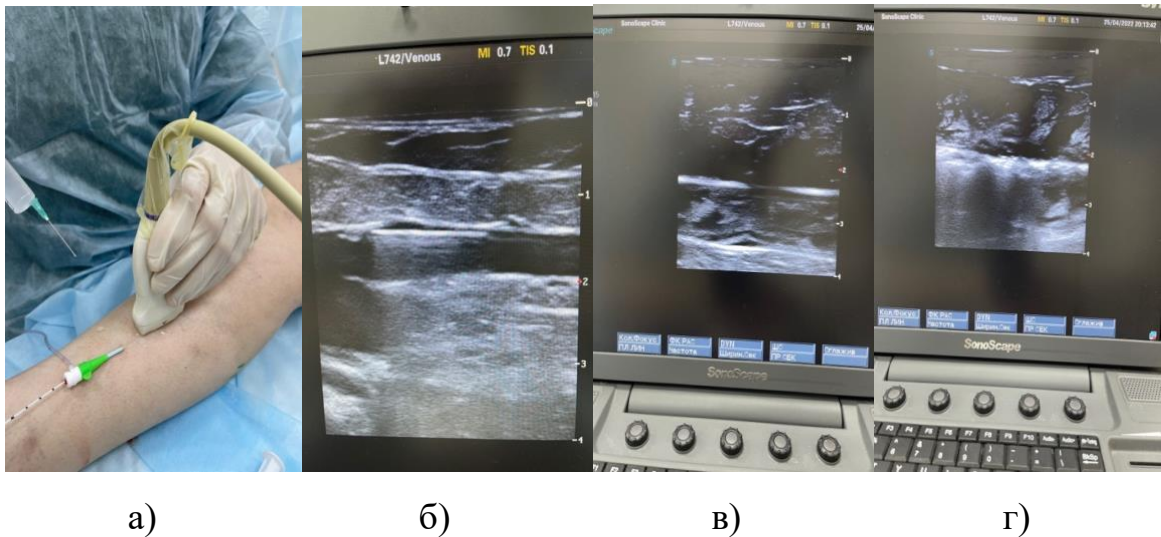


Рисунок 2.4 – Методология проведения эндовазальной лазерной коагуляции большой подкожной вены (а – г)

Минифлебэктомии по Вареди выполнена у 111 (56,0%) пациентов: 52 (54,2%) из ГС и 59 (57,8%) из ОГ. Через минимальные проколы кожи варикозно-измененные притоки БПВ удалялись посредством вращательных движений с помощью крючков «Варади» различных модификаций (Рисунок 2.5).

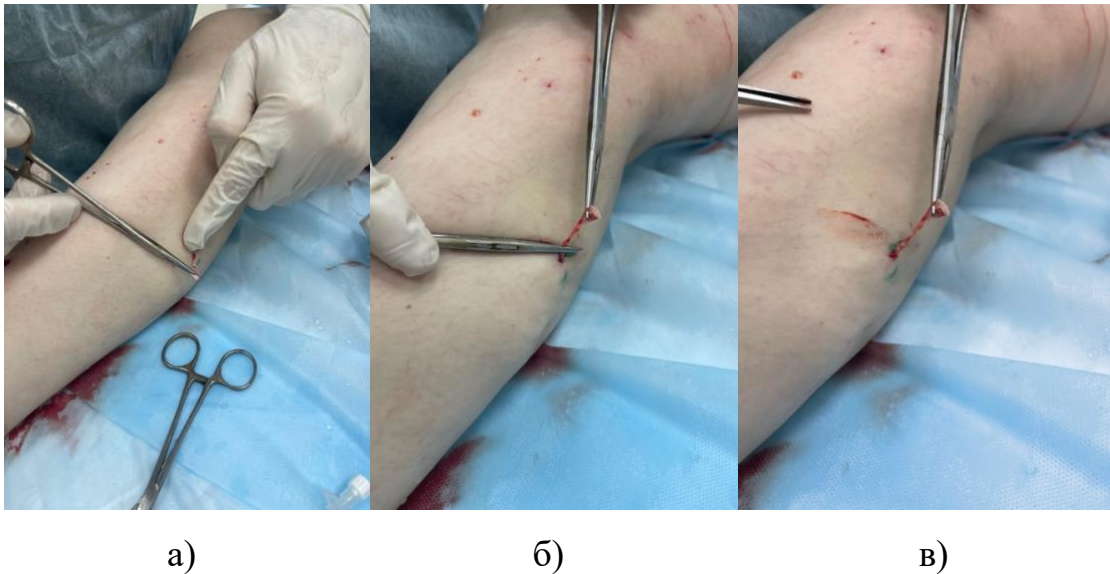


Рисунок 2.5 – Методология проведения минифлебэктомии по Варди варикозно-измененных притоков большой подкожной вены (а – в)

2.4.2. Послеоперационное ведение пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Послеоперационное ведение в ГС и ОГ осуществляли в соответствии с действующими на момент госпитализации пациентов «Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению хронических заболеваний вен» от 2022 г. и включало в себя следующие компоненты:

1. Компрессионная терапия – сразу после выполнения ОВ на ногу пациента накладывали стерильные абсорбирующие биндажи или компрессионный трикотаж 2-го класса компрессии RAL-OZ 387, обеспечивающий давление в области лодыжки 23 – 32 мм. рт. ст. Пациенту рекомендовалось круглосуточное использование компрессионного трикотажа в течение первых двух послеоперационных суток и в последующем ежедневное ношение в течение двух недель после ОВ;

2. Ранняя мобилизация – сразу после ОВ активная ходьба на протяжении 30 минут;

Для потенцирования эффективности хирургического вмешательства пациентам ОГ в дополнение к описанным выше мероприятиям проводили озонотерапию и назначали препарат Вессел Дуэ Ф (сулодексид) (патент на

изобретение № 2793061 опубликован 28 марта 2023)). Выбор этих средств патогенетически обоснован и, на наш взгляд, является оптимальным в силу следующих обстоятельств: полученные нами результаты подтверждают значимую роль оксидантного стресса и изменений клеточного метаболизма в развитии и прогрессировании ВБВ НК; данные научных работ свидетельствуют о том, что ОВ не оказывает влияния на все патофизиологические звенья заболевания; многочисленные экспериментальные и клинические данные продемонстрировали антиоксидантный эффект озонотерапии и положительное влияние Вессел Дуэ Ф на клеточный метаболомный профиль.

Озонотерапию проводили с 1-ых послеоперационных суток в течение 10 дней в режиме 1 сеанс в день посредством внутривенного капельного введения 400 мл озонированного 0,9% раствора натрия хлорида с концентрацией озона 2500 мкг/л. Для получения озонированной смеси нами использовалась автоматизированная установка для получения озонированных растворов с заранее заданной концентрацией УОТА-60-01 (ООО «Медозон», г. Москва) (регистрационное удостоверение медицинских технологий 29/06050796/1561-01). В основе антиоксидантного эффекта озонотерапии лежит модуляция активности целого ряда молекул, включая интенсификацию Nrf2 – важного трансдуктора внутриклеточного сигналинга, запуск которого стимулирует экспрессию генов, участвующих в клеточной реакции на стресс (ген гемоксигеназы (Hmox 1); ген, кодирующий эндонуклеазу XPF (ERCC4); (ген-регулятор, циклин-зависимого ингибитора киназы 4A (P16INK4A) и механизме транскрипции С-терминального домена фосфатазы 1 (CTDSP1), а также вызывает повышение экспрессии множества антиоксидантных ферментов, включая глутатион, СО, билирубин [235], SOD [240, 245], пероксиддисмутазу, GPx [246], глутатион-S-трансферазу [240, 247], каталазу [248], гемоксигеназу-1, хинонаоксидоредуктазу [240], никотинамидадениндинуклеотид фосфат-хинон-оксидоредуктазу, белки теплового шока и ферменты II фазы клеточного ответа, таких как гемоксигеназа 1 и НАД (Ф)Н-хиноно-ксиредуктаза 1 [235].

Препарат Вессел Дуэ Ф (сулодексид) (производитель «Каталент Италия С.П.А.», Италия, регистрационное удостоверение П №12490/01 от 04.04.2008 г.) назначался с 1-ых послеоперационных суток внутримышечно в дозе 2мл (300 ЛЕ/мл) с интервалом 24 часа в течение 15 дней с последующим переходом на пероральный прием 500 ЛЕ 2 раза в день в течение 30 дней. Вессел Дуэ Ф относится к антикоагулянтам прямого действия и представляет собой высокоочищенную смесь натуральных гликозаминогликанов, состоящую из 80% быстродействующего гепарина и 20% дерматансульфата [280], с потенциальным плеiotропным действием при различной сосудистой патологии [314]. В основе молекулярных механизмов действия Вессел Дуэ Ф на клеточный метаболомный профиль лежит способность препарата через увеличение секреции р62 восстанавливать аутофагический потенциал [305], снижение которого играет значимую роль в изменении клеточных метаболитов, принадлежащих к классам веществ, связанных с аминокислотами, липидами и нуклеотидами [303].

ГЛАВА 3

**РЕЗУЛЬТАТЫ ПЕРВОГО ЭТАПА ИССЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ С
ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
КЛИНИЧЕСКИХ КЛАССОВ С4 – С6 (2018 – 2019 г.)**

3.1. Клиническая характеристика пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 на первом этапе исследования (2018 – 2019 г.)

Демографические характеристики пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 представлены в таблице 3.1. Средний возраст пациентов – 47,1 [38,4;52,3] лет при большей представленности лиц в возрасте от 41 до 50 лет – 36 (35,3%). В выборке преобладали женщины – 68 (66,7%).

Таблица 3.1 – Демографические характеристики пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 на первом этапе исследования

Характеристики	Пациенты с ВБВ НК (n=102)
Средний возраст, лет, медиана [25%;75%]	47,1 [38,4;52,3]
18–30 лет, n (%)	3 (2,9)
31– 40 лет, n (%)	17 (16,8)
41–50 лет, n (%)	36 (35,3)
51– 60 лет, n (%)	24 (23,5)
61– 70 лет, n (%)	13 (12,7)
71– 80 лет, n (%)	9 (8,8)
Мужчины/женщины, n (%)	34 (33,3)/68 (66,7)
Индекс массы тела, кг/м ² , медиана [25%;75%]	23,2 [20,1;27,5]
Курение в н.в. да/нет, n (%)	30 (29,4)/72 (70,6)

Примечание – Н.В. – настоящее время

Клинические характеристики пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Клинические и анамнестические характеристики пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 на первом этапе исследования

Характеристики	Пациенты с ВБВ НК n=102
Длительность заболевания, лет, медиана [25%;75%]	13,8 [9,4;16,7]
1–5 лет, n (%)	15 (14,7)
6–10 лет, n (%)	29 (28,4)
>10 лет, n (%)	58 (56,9)
Класс ХВН по классификации СЕАР – 4, n (%)	66 (64,7)
Класс ХВН по классификации СЕАР – 5, n (%)	21 (20,6)
Класс ХВН по классификации СЕАР – 6, n (%)	15 (14,7)
СИП по шкале VCSS, баллы, медиана [25%;75%]	17,9 [14,4;20,0]
Артериальная гипертензия, n (%)	26 (25,2)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	13 (13,1)
ХОБЛ, астма, n (%)	6 (6,1)
Сахарный диабет, n (%)	6 (6,1)
Хронический гастрит, n (%)	14 (13,6)
Мочекаменная болезнь, n (%)	5 (5,2)
ЭВЛК БПВ 102	17 (16,8)
ЭВЛК БПВ и перфорантных вен	26 (25,4)
ЭВЛК БПВ, перфорантных вен + минифлебэктомия варикозно-измененных притоков БПВ	59 (57,8)

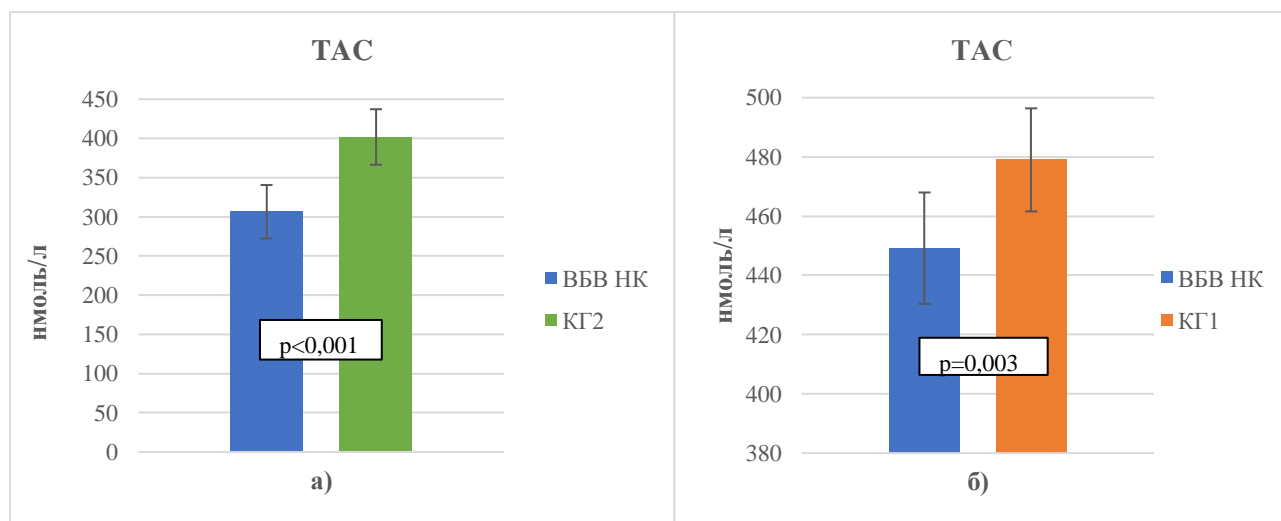
Примечание – ХВН – хроническая венозная недостаточность, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, ЭВЛК – эндовазальная лазерная коагуляция, БПВ – большая подкожная вена

Средняя длительность заболевания на момент включения пациентов в исследование составила 13,8 [9,4;16,7] лет. У большинства (56,9%) – более 10 лет.

Преобладали пациенты с ХВН клинического класса С4 – 66 (64,7%). СИП по шкале VCSS составил 17,9 [14,4; 20,0] баллов. В структуре коморбидной соматической патологии доминировала артериальная гипертензия – 26 (25,2%).

3.2. Особенности оксидантно-антиоксидантного статуса на системном и локальном уровнях у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

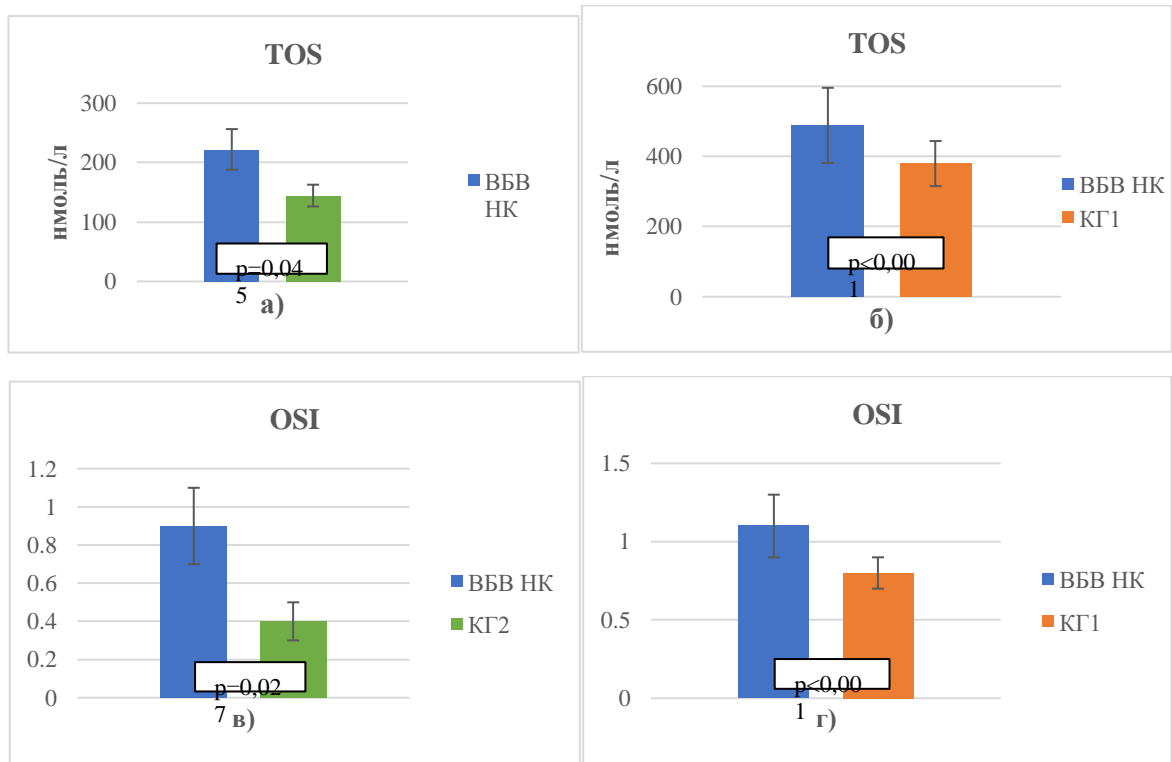
Нами выявлены изменения показателей системного и локального ОАС у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 по сравнению с лицами КГ. У пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 средний показатель ТАС в плазме крови составил $306,4 \pm 18,8$ нмоль/мл, в образцах стенки ПИВ $449,2 \pm 34,1$ нмоль/мг белка и был статистически значимо ниже – в 1,3 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 2 ($401,8 \pm 17,4$ нмоль/мл, $p < 0,001$) и в 1,1 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ1 ($479,0 \pm 35,4$ нмоль/мг белка, $p = 0,003$) (Рисунок 3.1).



ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, КГ1 – контрольная группа 1, КГ2 – контрольная группа 2, ТАС – общая антиоксидантная способность

Рисунок 3.1 – Статистически значимые изменения показателя общей антиоксидантной способности в плазме крови (а) и образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены(б) у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6

Средний показатель TOS в плазме крови составил $222,2 \pm 34,1$ нмоль/мл, в образцах стенки ПИВ $488,6 \pm 107,1$ нмоль/мг белка и был статистически значимо выше – в 1,5 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 2 ($144,5 \pm 18,3$ нмоль/мл, $p=0,046$) и в 1,3 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ1 ($379,6 \pm 64,3$ нмоль/мг белка, $p<0,001$) (Рисунок 3.2.2 а, б). Средний показатель OSI в плазме крови составил $0,9 \pm 0,2$, в образцах стенки ПИВ $1,1 \pm 0,2$ и также был статистически значимо выше – в 2,3 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 2 ($0,4 \pm 0,1$, $p=0,027$) и в 1,4 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ1 ($0,8 \pm 0,1$, $p<0,001$) (Рисунок 3.2).

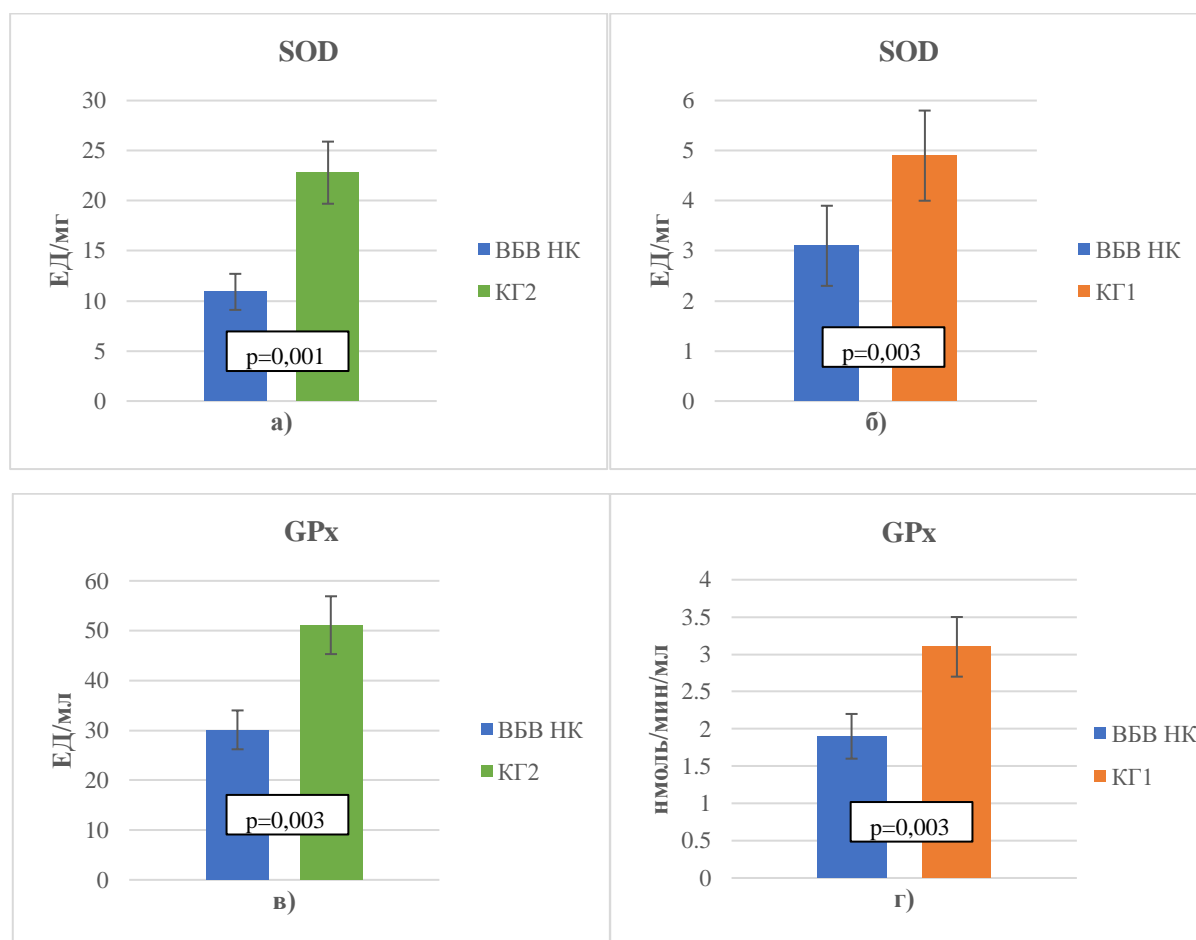


ВВВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, КГ 1 – контрольная группа 1, КГ 2 – контрольная группа 2, TOS – тотальный окислительный статус,

OSI – индекс окислительного стресса

Рисунок 3.2 – Статистически значимые изменения показателей тотального окислительного статуса, индекса окислительного стресса в плазме крови (а, в) и образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены (б, г) у пациентов с ВВВ НК клинических классов С4 – С6.

Кроме того, у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 отмечено значимое снижение активности SOD и GPx (Рисунок 3.3).



ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, КГ1 – контрольная группа 1, КГ2 – контрольная группа 2, SOD – супероксиддисмутаза, GPx – глутатионпероксидаза

Рисунок 3.3 – Статистически значимые изменения активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в плазме крови (а,в) и образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены (б, г) у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6

Показатель SOD в эритроцитах составил $10,9 \pm 1,8$ ЕД/мл, в образцах стенки ПИВ $3,1 \pm 0,8$ ЕД/мл и был статистически значимо ниже – в 2,1 раза по сравнению с аналогичным показателем в КГ2 ($22,8 \pm 3,1$ ЕД/мл, $p=0,001$) и в 1,6 раза по сравнению с аналогичным показателем в КГ1 ($4,9 \pm 0,9$ ЕД/мл, $p=0,042$). Показатель

GPx в плазме крови также был статистически значимо ниже – в 1,7 раза по сравнению с аналогичными показателями у лиц КГ2 ($30,1 \pm 3,9$ ЕД/мл против $51,1 \pm 5,8$ ЕД/мл соответственно, $p=0,003$) и в образцах стенки ПИВ в 1,6 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ1 ($1,9 \pm 0,3$ нмоль/мин/мл против $3,1 \pm 0,4$ нмоль/мин/мл соответственно, $p=0,002$).

Установлено, что у всех пациентов с ВБВ НК независимо от класса ХВН показатели ОАС в плазме крови существенно отличались от значений лиц КГ2 (Таблица 3.3). При этом по сравнению с лицами КГ2 у пациентов с ВБВ НК клинического класса С4 показатель ТАС был ниже в 1,2 раза, но статистически значимо не отличался ($p=0,059$), TOS выше в 1,5 раза ($p=0,003$), OSI выше в 1,5 раза ($p=0,044$), активность SOD ниже в 1,6 раза ($p=0,022$) и GPx ниже в 1,2 раза ($p=0,038$). У пациентов с ВБВ НК клинического класса С5 показатель ТАС был ниже в 1,3 раза ($p=0,002$), TOS выше в 1,6 раза ($p=0,026$), OSI выше в 2,3 раза ($p=0,038$), активность SOD ниже в 2,2 раза ($p=0,001$) и GPx ниже в 1,4 раза ($p=0,033$). У пациентов с ВБВ НК клинического класса С6 показатель ТАС был ниже в 1,5 раза ($p < 0,001$), TOS выше в 1,7 раза ($p=0,001$), OSI выше в 3,5 раза ($p < 0,001$), активность SOD ниже в 3,2 раза ($p < 0,001$) и GPx ниже в 2,5 раза ($p=0,001$). Кроме того, у пациентов с ВБВ НК клинического класса С6 по сравнению с пациентами с ВБВ НК клинического класса С4 наблюдали статистически значимое повышение показателя OSI (в 2,3 раза, $p=0,001$) и статистически значимое снижение показателей ТАС (в 1,3 раза, $p=0,026$), SOD (в 2,0 раза, $p=0,012$) и GPx (в 2,0 раза, $p=0,018$), а по сравнению с пациентами с ВБВ НК клинического класса С5 статистически значимые более низкие показатели ТАС (в 1,2 раза, $p=0,036$), SOD (в 1,5 раза, $p=0,012$) и GPx (в 1,8 раза, $p=0,033$). Установлены статистически значимые корреляционные связи между классом ХВН по классификации СЕАР и СИП по шкале VCSS и показателями ТАС ($r=-0,57$; $p=0,002$, $r=-0,62$; $p=0,011$ соответственно) и SOD ($r=-0,59$; $p=0,001$, $r=-0,64$; $p=0,011$ соответственно).

Аналогичные изменения показателей ОАС наблюдались и в образцах стенки ПИВ (Таблица 3.4). По сравнению с лицами КГ1 у пациентов с ВБВ НК клинического класса С4 показатель ТАС был ниже в 1,1 раза, но статистически

значимо не отличался ($p=0,067$), TOS выше в 1,1 раза ($p=0,036$), OSI выше в 1,6 раз ($p=0,011$), активность SOD ниже в 1,3 раза ($p=0,026$) и GPx ниже в 1,3 раза ($p=0,013$). У пациентов с ВБВ НК клинического класса С5 показатель TAC был ниже в 1,2 раза ($p=0,042$), TOS выше в 1,2 раза ($p=0,012$), OSI выше в 1,6 раза ($p=0,011$), активность SOD ниже в 1,5 раза ($p=0,012$) и GPx ниже в 1,7 раза ($p=0,001$). У пациентов с ВБВ НК клинического класса С6 показатель TAC был ниже в 1,3 раза ($p=0,001$), TOS выше в 1,2 раза ($p=0,022$), OSI выше в 2,0 раза ($p=0,001$), активность SOD ниже в 2,0 раза ($p=0,001$) и GPx ниже в 2,1 раза ($p<0,001$). Кроме того, у пациентов с ВБВ НК клинического класса С6 по сравнению с пациентами с ВБВ НК клинического класса С4 наблюдали статистически значимое повышение показателя OSI (в 1,5 раза, $p=0,022$) и статистически значимое снижение показателей TAC (в 1,2 раза, $p=0,001$), SOD (в 1,6 раза, $p=0,012$) и GPx (в 1,6 раза, $p=0,014$), а по сравнению с пациентами с ВБВ НК клинического класса С5 статистически значимые более низкие показатели TAC (в 1,1 раза, $p=0,002$), SOD (в 1,3 раза, $p=0,032$) и GPx (в 1,2 раза, $p=0,0046$).

Класс ХВН и СИП по шкале VCSS коррелировали с показателями TAC ($r=-0,62$; $p=0,011$) и SOD на системном и локальном уровнях ($r=-0,64$; $p=0,011$ соответственно).

Характеристика показателей ОАС в плазме крови у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 в зависимости от длительности заболевания представлена в таблице 3.5. Видно, что у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 независимо от длительности заболевания все показатели ОАС в плазме крови статистически значимо отличались от значений лиц КГ2: при длительности заболевания 1–5 лет показатель TAC был ниже в 1,2 раза ($p=0,003$), TOS выше в 1,1 раза ($p=0,036$), OSI выше в 1,8 раз ($p=0,036$), активность SOD ниже в 1,8 раза ($p=0,016$) и GPx ниже в 1,4 раза ($p=0,044$). У пациентов с длительностью заболевания 6–10 лет показатель TAC был ниже в 1,3 раза ($p=0,001$), TOS выше в 1,6 раза ($p=0,002$), OSI выше в 2,5 раза ($p=0,003$), активность SOD ниже в 2,3 раза ($p=0,001$) и GPx ниже в 1,6 раза ($p=0,036$).

Таблица 3.3 – Характеристика показателей оксидантно-антиоксидантного статуса в плазме крови у пациентов с ВБВ НК в зависимости от клинического класса хронической венозной недостаточности и контрольной группе ($m \pm CD$)

Показатель	Контрольная группа 2 n=94	Пациенты с ВБВ НК			p между группами				
		Клинический класс ХВН по CEAP							
		C4 n=66	C5 n=21	C6 n=15	КГ2/C4	КГ2/C5	КГ2/C6	C6/C4	C6/C5
ТАС, нмоль/мл	401,8±17,4	348,2±18,8	316,4±18,8	264,1±16,6	0,059	0,002	<0,001	0,026	0,036
TOS, нмоль/мл	144,5±18,3	216,7±34,1	231,2±34,1	241,3±34,1	0,003	0,026	0,001	0,056	0,061
OSI	0,4±0,1	0,6±0,2	0,9±0,2	1,4±0,2	0,044	0,038	<0,001	0,001	0,053
SOD ЕД/мл	22,8±3,1	13,9±1,8	10,5±1,8	7,1±1,8	0,022	0,001	<0,001	0,012	0,032
GPx, ЕД/мл	51,1±5,8	41,0±3,9	35,4±3,9	20,1±3,9	0,038	0,033	0,001	0,018	0,033

Примечание – ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, ХВН – хроническая венозная недостаточность, ТАС – общая антиоксидантная способность, TOS – тотальный окислительный статус, OSI – индекс окислительного стресса, SOD – супероксиддисмутаза, GPx – глутатионпероксидаза

Таблица 3.4 – Характеристика показателей оксидантно-антиоксидантного статуса в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК в зависимости от клинического класса хронической венозной недостаточности и контрольной группе ($m \pm CD$)

Показатель	Контрольная группа 1 n=98	Пациенты с ВБВ НК			p между группами				
		Клинический класс ХВН по CEAP							
		C4 n=66	C5 n=21	C6 n=15	КГ1/C4	КГ1/C5	КГ1/C6	C6/C4	C6/C5
ТАС, нмоль/мг белка	479,0±35,4	447,2±18,8	416,1±18,8	367,4±18,8	0,067	0,042	0,001	0,001	0,002
TOS, нмоль/мг белка	379,6±64,3	418,8±34,1	436,6±34,1	462,9±34,1	0,036	0,012	0,022	0,062	0,059
OSI	0,8±0,1	1,1±0,2	1,3±0,2	1,6±0,2	0,018	0,011	0,001	0,022	0,051
COD, ЕД/мг белка	4,9±0,9	3,9±1,8	3,2±1,8	2,4±1,8	0,026	0,012	0,001	0,012	0,032
GPx, нмоль/мин/мл	3,1±0,4	2,4±3,9	1,8±3,9	1,5±3,9	0,013	0,001	<0,001	0,014	0,046

Примечание – ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, ХВН – хроническая венозная недостаточность, ТАС – общая антиоксидантная способность, TOS – тотальный окислительный статус, OSI – индекс окислительного стресса, SOD – супероксиддисмутаза, GPx – глутатионпероксидаза

Таблица 3.5 – Характеристика показателей оксидантно-антиоксидантного статуса в плазме крови у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 в зависимости от длительности заболевания и контрольной группе (m ±CD)

Показатель	Контрольная группа 2 n=94	Пациенты с ВБВ НК			p между группами				
		Длительность заболевания, лет							
		1–5 n=15	6–10 n=29	>10 n=58	КГ2/С4	КГ2/С5	КГ2/С6	С6/С4	С6/С5
ТАС, нмоль/мл	401,8±17,4	327,7±18,8	309,1±18,8	282,4±16,6	0,003	0,001	<0,001	0,549	0,678
ТОС, нмоль/мл	144,5±18,3	214,2±34,1	230,1±34,1	235,2±34,1	0,024	0,002	0,001	0,586	0,624
OSI	0,4±0,1	0,7±0,2	1,0±0,2	1,2±0,2	0,036	0,003	0,011	0,011	0,038
SOD ЕД/мл	22,8±3,1	12,8±1,8	9,9±1,8	8,7±1,8	0,016	0,001	<0,001	0,581	0,712
GPx, ЕД/мл	51,1±5,8	37,3±3,9	32,1±3,9	29,6±3,9	0,044	0,036	0,003	0,716	0,824

Примечание – ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, ХВН – хроническая венозная недостаточность, ТАС – общая антиоксидантная способность, ТОС – тотальный окислительный статус, OSI – индекс окислительного стресса, SOD – супероксиддисмутаза, GPx – глутатионпероксидаза

У пациентов с длительностью заболевания более 10 лет показатель ТАС был ниже в 1,4 раза ($p < 0,001$), TOS выше в 1,6 раза ($p=0,001$), OSI выше в 3,0 раза ($p=0,011$), активность SOD ниже в 2,6 раза ($p < 0,001$) и GPx ниже в 1,7 раза ($p=0,003$).

Кроме того, у пациентов с длительностью заболевания более 10 лет по сравнению с пациентами с длительностью заболевания от 1 до 5 лет и от 6 до 10 лет наблюдали статистически значимое повышение показателя OSI (в 1,7 раза, $p=0,011$ и в 1,2 раза, $p=0,038$ соответственно). Различия по показателям ТАС, TOS, SOD и GPx не достигали статистической значимости, но имелась явная тенденция к нарастанию выраженности признаков оксидантного стресса у пациентов с более длительным течением ВБВ НК.

Аналогичные изменения показателей ОАС наблюдались и в образцах стенки ПИВ (Таблица 3.6).

По сравнению с лицами КГ1 у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 с длительностью заболевания 1–5 лет показатель ТАС был ниже в 1,0 раза ($p=0,046$), TOS выше в 1,3 раза ($p=0,015$), OSI выше в 1,3 раза ($p=0,036$), активность SOD ниже в 1,4 раза ($p=0,042$) и GPx ниже в 1,5 раза ($p=0,022$). У пациентов с длительностью заболевания 6 –10 лет показатель ТАС был ниже в 1,1 раза ($p=0,026$), TOS выше в 1,3 раза ($p=0,001$), OSI выше в 1,4 раза ($p=0,003$), активность SOD ниже в 1,6 раза ($p=0,026$) и GPx ниже в 1,7 раза ($p=0,013$). У пациентов с длительностью заболевания более 10 лет показатель ТАС был ниже в 1,3 раза ($p < 0,001$), TOS выше в 1,2 раза ($p=0,022$), OSI выше в 1,6 раза ($p=0,011$), активность SOD ниже в 1,7 раза ($p=0,001$) и GPx ниже в 1,9 раза ($p=0,001$). Кроме того, у пациентов с длительностью заболевания более 10 лет по сравнению с пациентами с длительностью заболевания от 1 до 5 лет и от 6 до 10 лет наблюдали статистически значимое повышение показателя OSI (в 1,3 раза, $p=0,028$ и в 1,2 раза, $p=0,041$, соответственно). Различия по показателям ТАС, TOS, SOD и GPx не достигали статистической значимости, но имелась явная тенденция к нарастанию выраженности признаков оксидантного стресса у пациентов с более длительным течением ВБВ НК.

Таблица 3.6 – Характеристика показателей оксидантно-антиоксидантного статуса в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 в зависимости от длительности заболевания и контрольной группе ($m \pm CD$)

Показатель	Контрольная группа 1 n=98	Пациенты с ВБВ НК			p между группами				
		Длительность заболевания, лет							
		1–5 n=15	6–10 n=29	>10 n=58	КГ2/С4	КГ2/С5	КГ2/С6	С6/С4	С6/С5
ТАС, нмоль/мл	479,0±35,4	457,6±18,8	441,2±18,8	407,7±18,8	0,046	0,039	0,026	0,502	0,567
ТОС, нмоль/мл	379,6±64,3	481,8±34,1	489,7±34,1	491,2±34,1	0,015	0,001	<0,001	0,789	0,871
OSI	0,8±0,1	1,0±0,2	1,1±0,2	1,3±0,2	0,036	0,003	0,011	0,028	0,041
SOD ЕД/мл	4,9±0,9	3,4±1,8	3,1±1,8	2,8±1,8	0,042	0,038	0,026	0,862	0,843
GPx, ЕД/мл	3,1±0,4	2,1±3,9	1,8±3,9	1,6±3,9	0,022	0,013	0,001	0,616	0,821

Примечание – ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, ТАС – общая антиоксидантная способность, ТОС – тотальный окислительный статус, OSI – индекс окислительного стресса, SOD – супероксиддисмутаза, GPx – глутатионпероксидаза

Нарастание выраженности оксидантного стресса по мере увеличения длительности заболевания подтверждено наличием статистически значимой корреляционной связи между длительностью ВБВ НК и показателями OSI в плазме крови и образцах стенки ВРВ ($r=0,52$; $p=0,001$ и $r=0,54$; $p=0,001$ соответственно). У пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 все исследованные показатели ОАС в плазме крови продемонстрировали положительные связи с аналогичными показателями в стенке ВРВ: ТАС ($r=0,46$; $p<0,001$), ТOS ($r=0,46$; $p=0,001$), OSI ($r=0,51$; $p=0,004$), SOD ($r=0,33$; $p=0,01$), GPx ($r=0,52$; $p=0,001$).

Результаты выполненного нами многофакторного логистического РА (стандартизация по половозрастному профилю) изученных показателей ОАС на системном и локальном уровнях с риском развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6 представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Результаты логистического регрессионного анализа связи изученных показателей оксидантно-антиоксидантного статуса с риском развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6

Показатель	В	Многофакторный анализ (системный уровень)		р
		ОШ	95% ДИ	
ТАС в крови	-0,012	2,644	1,866 – 3,001	0,021
ТOS в крови	0,029	0,997	0,996 – 1,001	0,633
OSI в крови	1,631	1,001	0,998 – 1,003	0,101
SOD в крови	-0,023	3,128	2,762 – 3,457	0,007
GPx в крови	-0,144	0,996	0,994 – 0,998	0,622
ТАС в стенке ВРВ	-0,111	2,755	2,221 – 3,455	0,005
ТOS в стенке ВРВ	0,730	0,999	0,997 – 1,000	0,221
OSI в стенке ВРВ	1,629	1,002	0,997 – 1,006	0,173
SOD в стенке ВРВ	-0,093	3,135	2,616 – 3,339	0,004
GPx в стенке ВРВ	-0,830	0,997	0,996 – 1,001	0,108

Примечание - ТАС – общая антиоксидантная способность, ТOS – тотальный окислительный статуса, OSI – индекс окислительного стресса, COS –

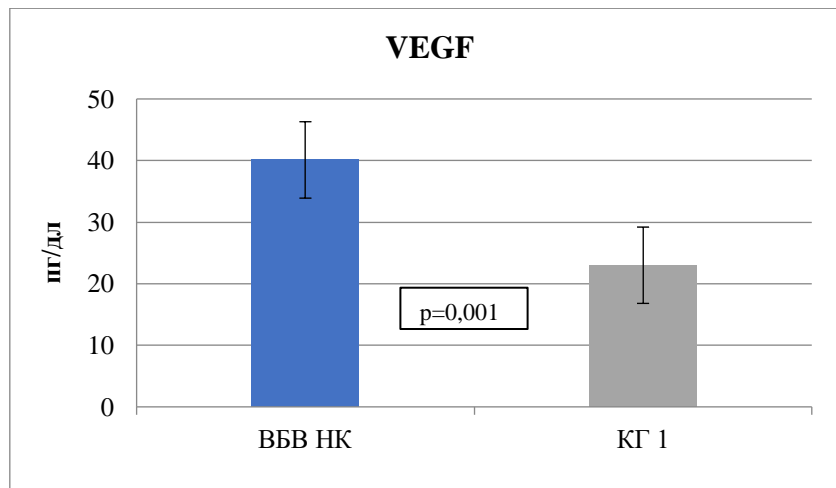
супероксиддисмутаза, GPx – глутатионпероксидаза, В – бета-коэффициент, p – уровень значимости

Согласно результатам многофакторного логистического РА, риск развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6 оказался ассоциирован с более низким уровнем ТАС на системном и локальном уровнях (ОШ 2,644 при 95% ДИ 1,866 – 3,001, $p=0,021$ и ОШ 0,995 при 95% ДИ 0,991 – 0,999, $p=0,005$, соответственно), более низкой активностью SOD на системном и локальном уровнях (ОШ 3,128 при 95% ДИ 2,762 – 3,457, $p=0,007$ и ОШ 3,135 95% ДИ 2,616– 3,339, $p=0,004$, соответственно).

3.3. Особенности экспрессии ростовых медиаторов (VEGF, PDGF) и матриксных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-9 и пролидазы) на локальном уровне у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

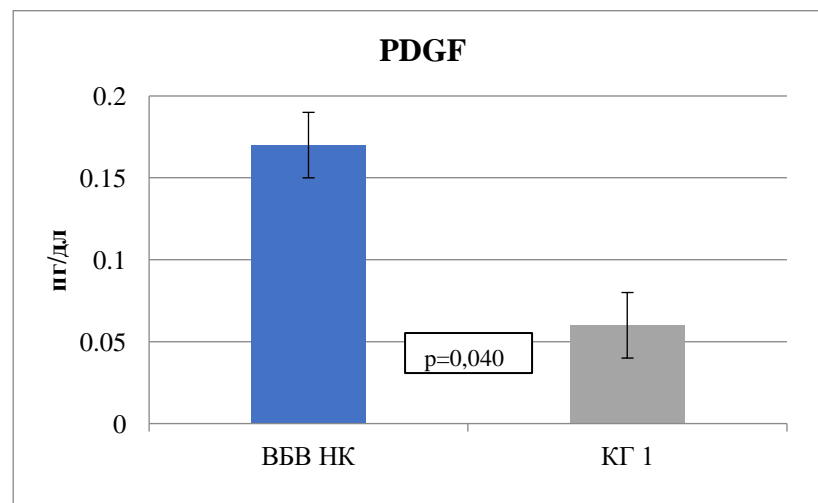
Нами выявлены изменения экспрессии ростовых медиаторов и MMPs у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 по сравнению с лицами КГ2. Средний показатель VEGF в образцах стенки ПИВ составил $40,1 \pm 6,2$ нг/г белка и был статистически значимо выше – в 1,7 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 2 ($23,0 \pm 5,9$ нг/г белка, $p=0,001$) (Рисунок 3.4). При этом у пациентов с ВБВ НК отмечена обратная корреляция между уровнем VEGF и активностью SOD в плазме крови и стенке ПИВ ($r=-0,52$; $p=0,002$ и $r=-0,59$; $p=0,001$ соответственно).

Средний показатель PDGF в образцах стенки ПИВ составил $0,17 \pm 0,03$ нг/мг и был статистически значимо выше – в 2,8 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ1 ($0,06 \pm 0,01$ нг/мг, $p=0,040$) (Рисунок 3.5). Повышение уровня PDGF коррелировало с нарастанием значения OSI в плазме крови и стенке ВРВ ($r=0,59$; $p=0,022$ и $r=0,61$; $p<0,001$).



ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, КГ1 – контрольная группа 1, VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

Рисунок 3.4 – Статистически значимые изменения экспрессии фактора роста эндотелия сосудов в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6

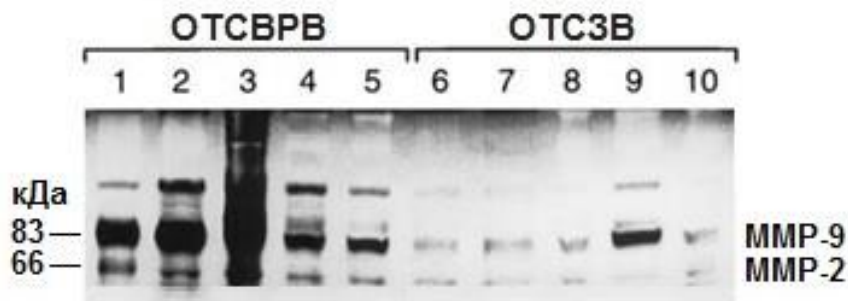


ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, КГ1 – контрольная группа 1, PDGF – тромбоцитарный фактор роста

Рисунок 3.5 – Статистически значимые изменения экспрессии тромбоцитарного фактора роста в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6

Активность MMP-2 и MMP-9 регистрировалась как в образцах стенки ПИВ, так и контрольных вен (Рисунок 3.6). При этом средний показатель MMP-2 в

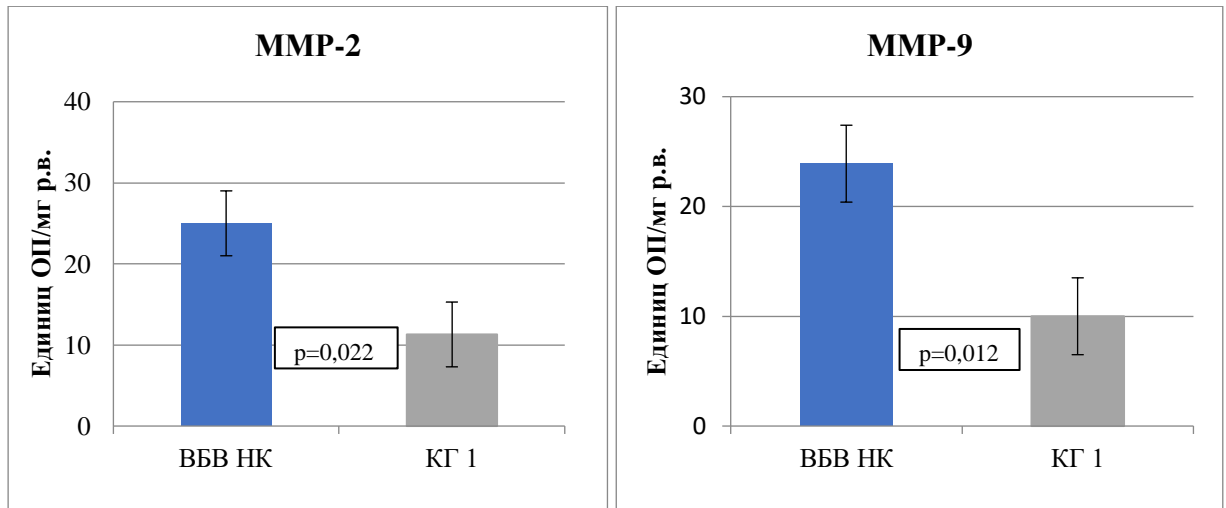
образцах стенки ПИВ составил $25,0 \pm 9,0$ единиц ОП/мг растворимого вещества и был статистически значимо выше – в 2,2 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 1 ($11,3 \pm 4,7$ единиц ОП/мг растворимого вещества, $p=0,022$). Средний показатель MMP-9 в образцах стенки ПИВ составил $23,9 \pm 10,6$ единиц ОП/мг растворимого вещества и был статистически значимо выше – в 2,4 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 1 ($10,0 \pm 3,5$ единиц ОП/мг растворимого вещества, $p=0,012$) (рис.3.7). У пациентов с ВБВ НК высокий уровень MMP-9 обратно коррелировал с показателем ТАС в плазме крови и стенке ВРВ ($r=-0,48$; $p<0,001$ и $r=-0,52$; $p=0,012$).



MMP – матриксная металлопротеиназа, OTСВРВ – образец ткани стенки варикозно расширенной вены, OTСЗВ – образец ткани стенки здоровой вены

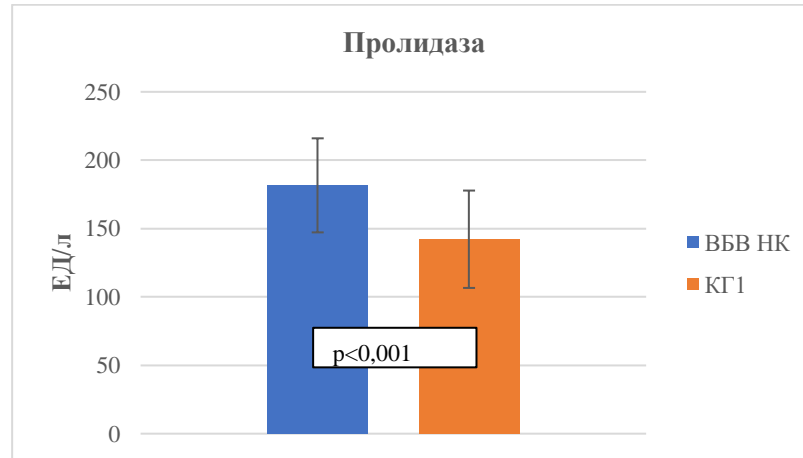
Рисунок 3.6 – Результаты вестерн-блоттинга активности матриксных металлопротеиназ 2 и 9 в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены и контрольной вены

Средний показатель активности пролидазы в образцах стенки ПИВ составил $181,6 \pm 34,4$ ЕД/л соответственно и был статистически значимо выше – в 1,3 раза по сравнению с аналогичными показателями у лиц КГ1 ($142,2 \pm 35,6$ ЕД/л, $p<0,001$) (Рисунок 3.8). У пациентов с ВБВ НК между активностью пролидазы и показателями OSI и ТАС в стенке ПИВ имели место статистически значимые связи ($r=0,62$; $p=0,003$ и $r=-0,59$; $p<0,001$).



ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, КГ 2 – контрольная группа 2, MMP – матриксная металлопротеиназа

Рисунок 3.7 – Статистические изменения содержания матриксной металлопротеиназы – 2 (а) и металлопротеиназы - 9 (б) в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6



ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей, КГ 1 – контрольная группа 1

Рисунок 3.8 – Статистические изменения активности пролидазы в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВРВ НК клинических классов С4 – С6

Результаты выполненного нами многофакторного логистического РА (стандартизация по половозрастному профилю) связи ростовых медиаторов и MMPs с риском развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6 представлены в таблице 3.8. По данным многофакторного РА установлено, что риск развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6 оказался ассоциирован с более высокой экспрессией VEGF (ОШ 2,776 при 95% ДИ 2,368 – 3,691, $p=0,003$), PDGF (ОШ 2,308 при 95% ДИ 1,772 – 2,689, $p=0,006$) и MMP-9 (ОШ 2,241 при 95% ДИ 1,964– 2,634, $p=0,002$).

Таблица 3.8 – Результаты логистического регрессионного анализа связи показателей ростовых медиаторов и металлопротеиназ с риском развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6

Показатель	В	Многофакторный анализ (системный уровень)		р
		ОШ	95% ДИ	
VEGF	0,752	2,776	2,368 – 3,691	0,003
PDGF	5,248	2,308	1,772 – 2,689	0,006
MMP-2	0,643	0,834	0,611 – 1,138	0,254
MMP-9	1,537	2,241	1,964 – 2,634	0,002
Пролидаза	0,833	0,873	0,671– 1,157	0,174

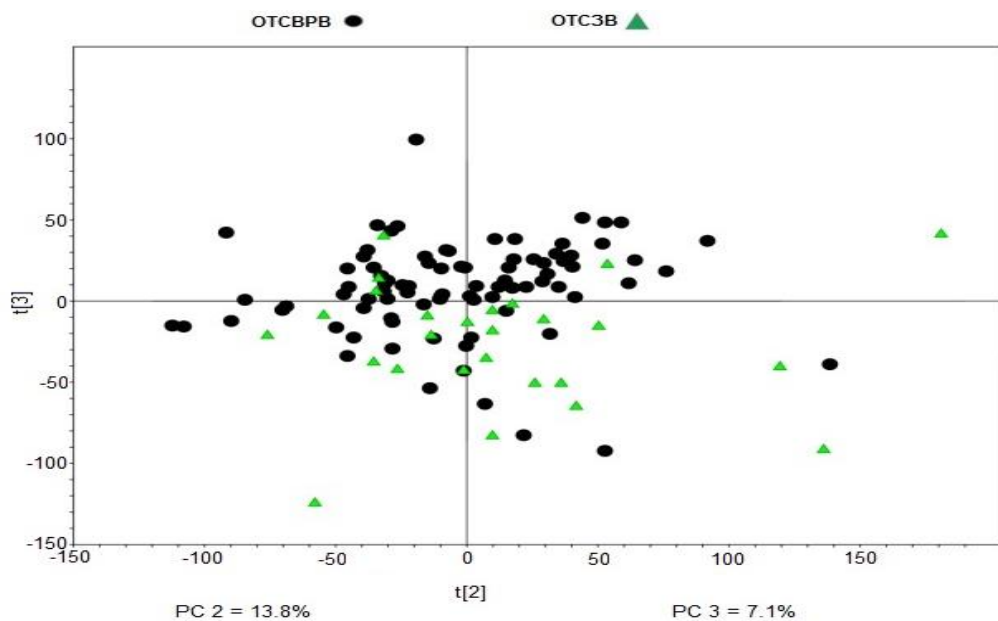
Примечание – VEGF – фактор роста эндотелия сосудов, PDGF – тромбоцитарный фактор роста, MMP – матриксная металлопротеиназа, В – бета-коэффициент, р – уровень значимости

3.4. Особенности клеточного метаболомного профиля на локальном уровне у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей классов С4 – С6

Метаболомный анализ включал изучение клеточных метаболитов, принадлежащих к классам веществ, связанных с аминокислотами, липидами, нуклеотидами и витаминами. На основании данных нецелевого метаболомного

профилирования образцов стенки ВРВ и здоровых вен идентифицировано 43 метаболита, включая 17 неизвестных химических соединений. Идентификацию метаболитов осуществляли с использованием баз данных МС-информации GMD и HMDB. Обработанные результаты были модулированы в \log_2 для нормализации ранжирования, отцентрированы по медиане и масштабированы, что позволило продолжить дальнейшую статистическую обработку данных, использовать метод ортогонального частичного наименьшего квадрат-дискриминантного анализа (OPLS-DA), метод главных компонент (PCA) и кластерного анализа.

Нами выявлены изменения клеточного метаболомного профиля у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 по сравнению с лицами КГ1. Так, по результатам PCA установлены некоторые различия данных ЯМР ^1H в образцах водных экстрактов (Рисунок 3.9).

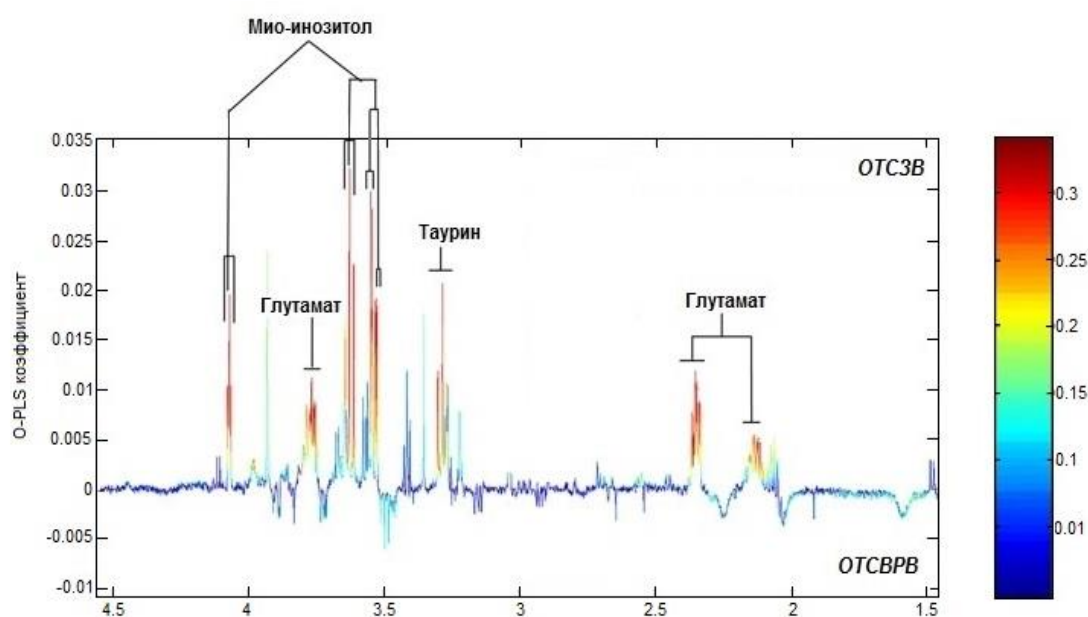


OTCBPB – образец ткани стенки варикозно расширенной вены,

OTCЗВ – образец ткани стенки здоровой вены

Рисунок 3.9 – OPLS-DA-данные на основе результатов ЯМР ^1H водных экстрактов в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и образцах здоровых вен у лиц контрольной группы 1

Дальнейшее применение модели OPLS-DA (Рисунок 3.10) и STOCSY (Рисунок 3.11) позволили подтвердить, что в образцах стенки ПИВ по сравнению с образцами здоровых вен наблюдались изменения содержания водных метаболитов: статистически значимое повышение уровня глутамата (при времени парализации, $\delta - 3,770$) и статистически значимое снижение уровней таурина (при $\delta - 3,269$) и мио-инозитола (при $\delta - 4,07$) (прогностическая ценность модели OPLS-DA составила 0,379, коэффициент регрессии 0,202, тест рандомизации $p < 0,05$). Результаты выполненного нами далее одномерного статистического анализа (Bonferroni коррекция $p < 0,0001$) подтвердили статистическую значимость для каждого идентифицированного метаболита. Также по результатам PCA между пациентами с ВБВ НК и лицами КГ1 установлены некоторые различия данных ВЭЖХ-МС в образцах органических экстрактов (Рисунок 3.12).



ОТСВРВ – образец ткани стенки варикозно расширенной вены,

ОТСЗВ – образец ткани стенки здоровой вены

Рисунок 3.10 – OPLS-DA-данные спектроскопического анализа ЯМР ^1H водных экстрактов в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и образцах здоровых вен у лиц КГ1

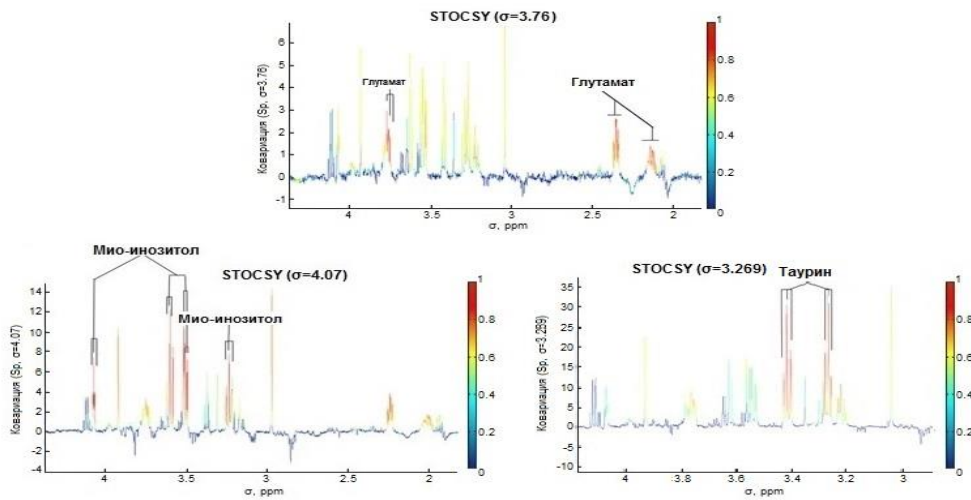
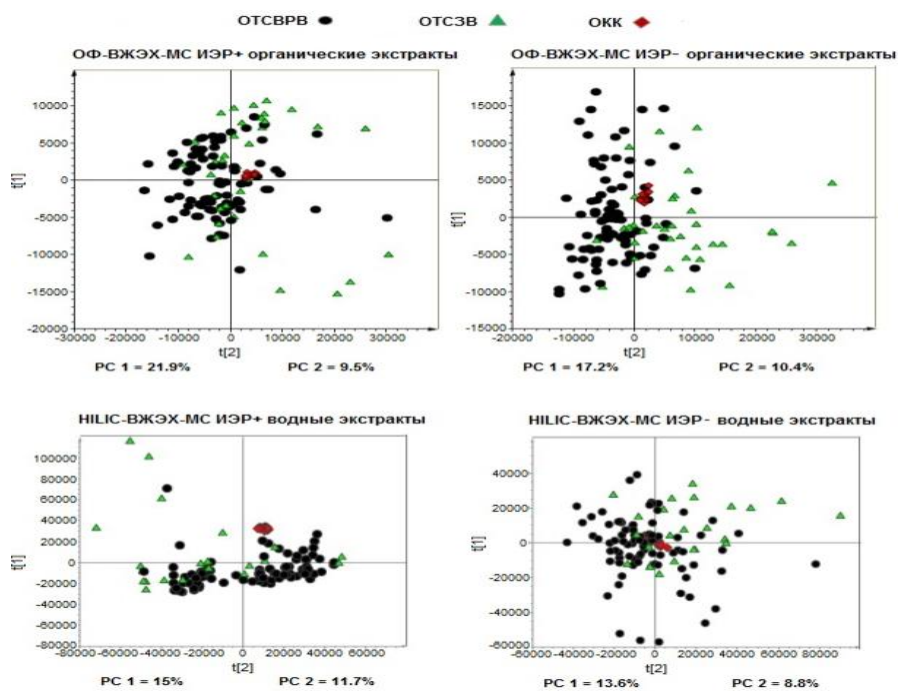


Рисунок 3.11 – STOCSY-данные спектроскопического анализа ЯМР ^1H водных экстрактов глутамата, мио-инозитола и таурина в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и образцах здоровых вен у лиц КГ1



OTСВРВ – образец ткани стенки варикозно расширенной вены, OTСЗВ – образец ткани стенки здоровой вены.

Рисунок 3.12 – PCA-данные на основе результатов ВЭЖХ-МС (электрораспылительная ионизация +/-) органических экстрактов в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и образцах здоровых вен у лиц КГ1

Дальнейшее применение модели OPLS-DA позволило подтвердить, что в образцах стенки ПИВ наблюдались изменения содержания органических метаболитов: статистически значимое повышение уровней сфингомиелинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламинами и статистически значимое снижение триглицеридов и церамидов. Прогностическая ценность модели OPLS-DA на первом этапе составила 0,486, коэффициент регрессии 0,693, на втором этапе 0,424 и 0,487 соответственно (Рисунок 3.13 а, г).

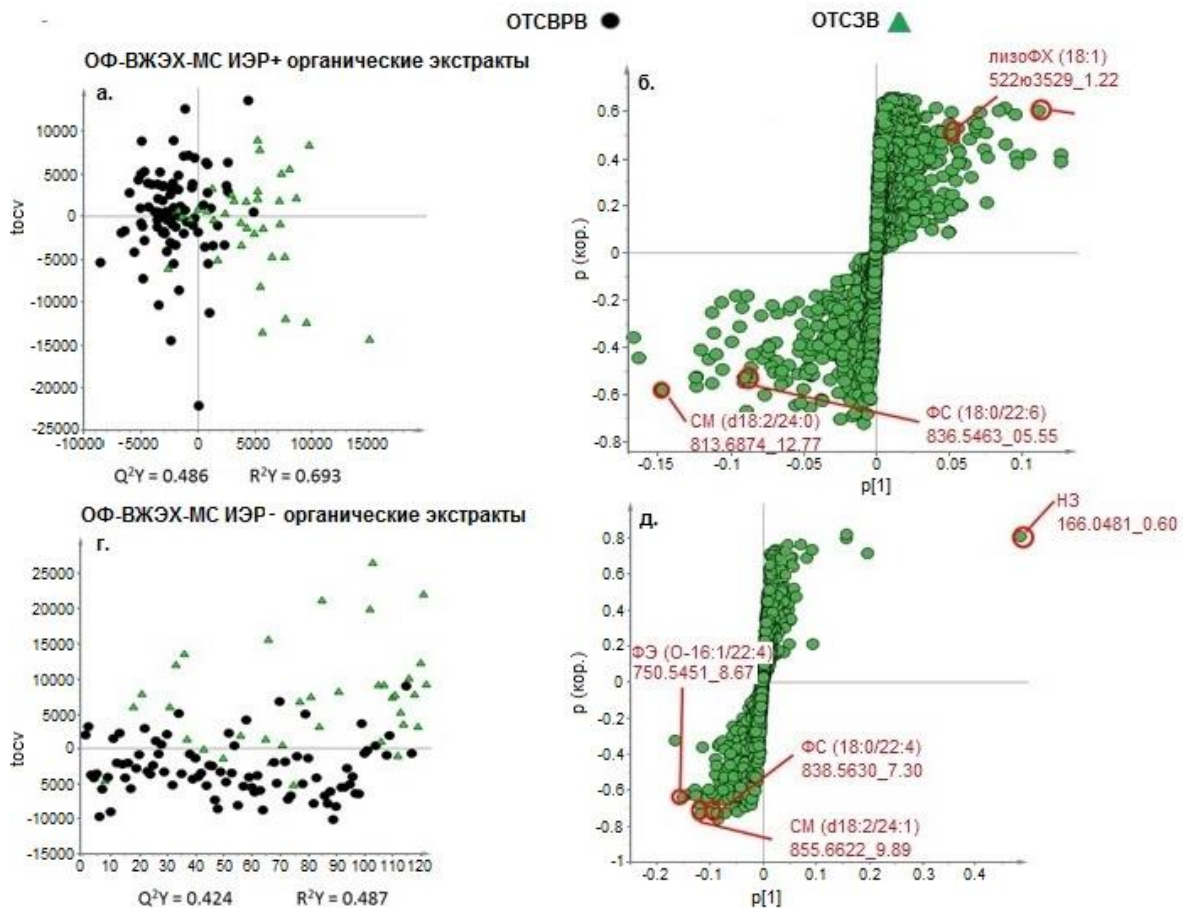


Рисунок 3.13 – OPLS-DA-данные (S-графики) на основе ВЭЖХ-МС (электрораспылительная ионизация +/-) органических экстрактов в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и образцах здоровых вен у лиц контрольной группы 1

Характеристика клеточного метаболомного профиля в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и стенке здоровых вен у лиц КГ1 представлена в табл. 3.9.

В ходе проведенного корреляционного анализа в группе пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 выявлены статистически значимые корреляционные связи сниженного содержания таурина в стенке ПИВ и повышенного содержания сфингомиелина с более высоким СИП по шкале VCSS ($r=-0,54$; $p=0,002$ и $r=0,52$; $p<0,001$ соответственно). Кроме того, установлена обратная корреляционная связь между содержанием таурина в стенке ПИВ и уровнями SOD в плазме крови и стенке ПИВ ($r=-0,51$; $p=0,012$ и $r=-0,52$; $p<0,001$ соответственно), MMP-9 ($r=-0,54$; $p=0,001$) и VEGF ($r=-0,61$; $p=0,001$). Содержание сфингомиелина в стенке ПИВ прямо коррелировало с уровнем PDGF в стенке ВРВ ($r=0,56$; $p<0,001$).

Результаты выполненного нами многофакторного логистического РА (стандартизация по половозрастному профилю) связи статистически значимых метаболитов с риском развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6 представлены в табл.3.10. По данным многофакторного РА установлено, что риск развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6 оказался ассоциирован с более низким содержанием таурина (ОШ 3,885 при 95% ДИ 2,881 – 4,251, $p=0,003$) и более высоким содержанием сфингомиелина (ОШ 2,129 при 95% ДИ 1,698– 2,603, $p=0,038$).

Учитывая полученные результаты, мы решили проанализировать, существует ли связь между содержанием этих метаболитов в стенке ПИВ и плазме крови и имеют ли последние прогностическую значимость у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

Таблица 3.5.1 – Характеристика метаболомного профиля в образцах стенки патологически-измененной большой подкожной вены у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и здоровой большой подкожной вены у лиц контрольной группы

1

Метаболит, МФ	Детектируемая МФ	ВУ (мин.)	ДЗ m/z	СЗ m/z	ОПМ ДИ	p	Δ ppm	ГП
ВЭЖХ-МС с электрораспылительной ионизацией +/- (органические экстракты)								
Церамиды (д18:0/22:0)	C40H80NO2+[M+H-H2O]+	13.49	606,6188	606,6189	-2,1	0,012	0	ЗВ
ЛФХ (18:1)	C26H53NO7P+[M+H]+	01.22	0522.3529	522.3554	-1,7	0,030	-5	ЗВ
ТГ(12:0/14:0/18:1) ТГ(12:0/16:0/16:1)	C47H92NO6+[M+NH4]+	14,77	0766.6937	766,6919	-2,1	0,030	2	ЗВ
ТГ(12:0/16:0/18:1) ТГ(14:0/16:1/16:0)	C49H96NO6+[M+NH4]+	15.10	0794.7231	794,7232	-1,8	0,007	0	ЗВ
ТГ (14:0/16:0/18:1)	C51H100NO6+[M+NH4]+	15.42	0822.7546	822,7545	-1,6	0,002	0	ЗВ
ТГ(15:0/16:0/18:1) ТГ(14:0/17:0/18:1) *	C52H102NO6+[M+NH4]+	15.55	0837.7767	837,7741	-1,5	0,020	3	ЗВ
ТГ (16:0/16:0/18:1) *	C53H104NO6+[M+NH4]+	15,71	0851.7901	851,7897	-1,5	0,012	0	ЗВ
ФХ (18:0/20:3) *	C46H87NO8P+[M+H]+	08.61	0813.6229	813.6203	1,5	0,007	3	ВБ
ФХ (38:4) *	C46H85NO8P+[M+H]+	07.06	0811.6074	811,6047	1,4	<0,0001	3	ВБ

Продолжение таблицы 3.5.1

Метаболит, МФ	Детектируемая МФ	ВУ (мин.)	ДЗ m/z	СЗ m/z	ОПМ ДИ	p	Δ ppm	ГП
ПЭ(О-16:1/22:6)	C43H75NO7P+[M+H] ⁺	06.49	0748.5290	748,5276	1,4	0,010	2	ВБ
ФС (16:0/22:6)	C44H75NO10P+[M+H] ⁺	04.29	0808.5168	808,5123	1,6	0,0002	6	ВБ
ФС (18:0/20:1)	C44H85NO10P+[M+H] ⁺	10.07	0818.5855	818,5906	1,5	0,0002	-6	ВБ
ФС (18:0/20:3)	C44H81NO10P+[M+H] ⁺	06.65	0814.5615	814,5593	1,4	0,010	3	ВБ
ФС (18:0/22:6)	C46H79NO10P+[M+H] ⁺	05.55	0836.5463	836,5436	1,7	0,003	3	ВБ
СФМ(д18:2/24:0)	C47H94N2O6P+[M+H] ⁺	12,77	0813.6874	813,6844	1,3	0,0007	4	ВБ
СФМ(d18:2/24:1)	C47H91N2O6PNa+[M+Na] ⁺	09.85	0833.6557	833.6507	1,3	0,0008	6	ВБ
Церамиды (d40:1)	C41H80NO5 [M+FA-H] ⁻	13.49	0666.6050	666,6042	-1,2	0,01	1	ЗВ
Аланин	C3H6NO2-[M-H] ⁻	00.54	0088.0398	88.0404	1,9	<0,0001	-7	ВБ
Креатин	C4H8N3O2-[M-H] ⁻	00.54	0130.0611	130.0622	1,6	0,003	0	ВБ
Глютамин	C5H8NO4-[M-H] ⁻	00.54	0146.0459	146.0459	1,8	0,0002	-1	ВБ
Гуанозин	C10H12N5O5-[M-H] ⁻	00.54	0282	282.0844 станд	1,4	0,005	-4	ВБ
Инозин	C10H11N4O5-[M-H] ⁻	00.54	0267.0724	267.0735	1,6	0,001	2	ВБ
ФХ (18:0/20:3)	C47H87NO10P- [M+FA-H] ⁻	08.62	0856.6094	856,6073	1,4	0,008	1	ВБ
ПЭ (О-16:1/22:4)	C43H77NO7P-[M-H] ⁻	08.67	0750.5451	750,5443	1,2	0,004	1	ВБ

Продолжение таблицы 3.5.1

Метаболит, МФ	Детектируемая МФ	ВУ (мин.)	ДЗ m/z	СЗ m/z	ОПМ ДИ	p	Δ ppm	ГП
ПЭ (О-16:1/22:6)	C43H73NO7P-[M-H]-	06.53	0746.5136	746,513	1,3	0,007	3	ВБ
ПИ(18:2/18:0)	C45H82O13P-[M-H]-	06.01	0861.5527	861,5499	1,4	<0,0001	3	ВБ
ПИ(36:1)	C45H84O13P-[M-H]-	07.40	0863.5676	863,5655	1,4	0,001	2	ВБ
ФС (16:0/22:6)	C44H73NO10P-[M-H]-	04.33	0806.4999	806.4978	1,6	0,0005	2	ВБ
ФС (18:0/20:1)	C44H83NO10P-[M-H]-	10.15	0816.5787	816,576	1,4	0,010	3	ВБ
ФС (18:0/20:3)	C44H79NO10P-[M-H]-	06.72	0812.5485	812,5447	1,4	0,004	5	ВБ
ФС (18:0/22:4)	C46H81NO10P-[M-H]-	07.30	0838.5630	838.5604	1,5	0,0006	3	ВБ
ФС (18:0/22:6)	C46H77NO10P-[M-H]-	05.60	0834.5309	834,529	1,4	0,0007	2	ВБ
СМ(д18:2/24:0)*	C47H93N2O6P-[M+FA-H]-	12,79	0858.6876	858,6781	1,3	0,0005	11	ВБ
СМ(d18:2/24:1)	C48H92N2O8P-[M+FA-H]-	09.89	0855.6622	855,6597	1,4	<0,0001	3	ВБ
Уридин	C9H11N2O6-[M-H]-	00.55	0243.0616	243.0623	1,4	0,006	-3	ВБ
ВЭЖХ-МС с профилированием HILIC +/- (водные экстракты)								
Креатин	C4H10N3O2+[M+H]+	6.623	132.0773	132.0767	1,3	<0,0001	4,5	ВБ
Инозин	C5H5N4O+[M+H]+	6.073	137.0463	137.0457	1,3	0,007	4,3	ВБ
ФХ (16:0/20:4)	C44H81NO8P+[M+H]+	4.737	782,5684	782,5694	1,4	0,009	-1,2	ВБ
Глутамат	C5H8NO4-[M-H]-	7.467	146.0455	146.0458	1,5	<0,0001	-2	ВБ

Продолжение таблицы 3.5.1

Метаболит, МФ	Детектируемая МФ	ВУ (мин.)	ДЗ m/z	СЗ m/z	ОПМ ДИ	p	Δ ppm	ГП
Мио-инозитол	C10H11N4O5-[M-H]-	3.167	267.0729	267.0734	1,24	0,011	-1,8	ВБ
Таурин	C2H6NO3S-[M-H]-	5.808	124.0071	124.0073	1,17	0,003	-1,6	ВБ

Примечание - МФ – молекулярная формула, ВУ – время удерживания, ДЗ – детектируемое значение, СЗ – стандартное значение, m/z – отношение массы иона к его заряду в электрическом или магнитном поле, ОПМ ДИ – ошибка определения масс (диапазон изменений), Δ ppm – погрешность измерения масс, ГП – группа, ТГ – триглицериды, ФХ – фосфатидилхол, ПЭ – фосфатидилэтаноламин, ФС – фосфатидилсерин, ЛФХ – лизофосфатидилхолин, СФМ – сфингомиелин, *-предварительные значения.

Таблица 3.10 – Результаты логистического регрессионного анализа связи метаболитов в стенке патологически-измененных вен с риском развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6

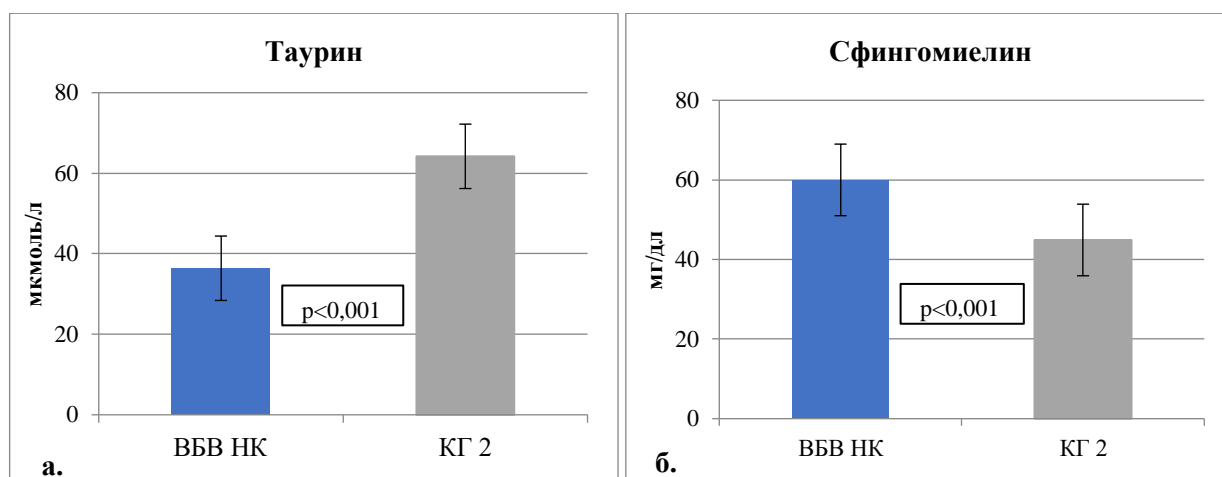
Показатель	В	Многофакторный анализ (системный уровень)		р
		ОШ	95% ДИ	
Глутамат	0,014	0,997	0,995 – 0,999	0,816
Мио-инозитол	-0,027	0,998	0,996 – 1,000	0,341
Таурин	-1,632	3,885	2,881 – 4,251	0,003
Сфингомиелин	0,022	2,129	1,698 – 2,603	0,038
Фосфатидилсерин	0,142	0,998	0,997 – 1,001	0,659
Фосфатидилхолин	0,112	0,995	0,991 – 0,999	0,865
Фосфатидилэтаноламин	0,731	0,886	0,885 – 0,889	0,626

Примечание – В – бета-коэффициент, р – уровень значимости

У пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 средний показатель таурина в плазме крови составил $36,4 \pm 6,6$ мкмоль/л и был статистически значимо ниже – в 1,8 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 2 ($64,2 \pm 10,2$ мкмоль/л, $p < 0,001$) (рис.3.14 а). Средний показатель сфингомиелина в плазме крови составил $60,0 \pm 8,1$ мг/дл и был статистически значимо выше – в 1,3 раза по сравнению с аналогичным показателем у лиц КГ 2 ($44,9 \pm 6,2$ мг/дл, $p < 0,001$) (Рисунок 3.14 б).

У пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 показатели таурина и сфингомиелина в плазме крови продемонстрировали положительные связи с аналогичными показателями в образцах стенки ВРВ ($r=0,62$; $p=0,00$ и $r=0,54$; $p=0,022$ соответственно).

РА продемонстрировал (Таблица 3.11), что низкий уровень таурина и высокий уровень сфингомиелина увеличивают риск развития ВБВ НК клинических классов С4 – С6 (ОШ 3,216 при 95% ДИ 2,684 – 3,427, $p=0,007$ и ОШ 2,294 при 95% ДИ 1,948 – 2,560, $p=0,038$ соответственно).



ВБВ НК – варикозная болезнь вен нижних конечностей,

КГ 1 – контрольная группа 1

Рисунок 3.14 – Статистические изменения содержания таурина (а) и сфингомиелина (б) в плазме крови у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Таблица 3.11 – Результаты логистического регрессионного анализа связи метаболитов в плазме крови с риском развития варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Показатель	В	Многофакторный анализ (системный уровень)		р
		ОШ	95% ДИ	
Таурин	-0,016	3,216	2,684 – 3,427	0,007
Сфингомиелин	-0,011	2,294	1,948 – 2,560	0,038

Обобщая полученные на текущем этапе исследования результаты можно заключить следующее:

1. При ВБВ НК клинических классов С4 – С6 имеет место высокий уровень оксидативного стресса на локальном и системном уровнях, что подтверждалось повышением в стенке ПИВ и плазме крови показателей TOS и OSI, сопровождающийся дефицитом активности факторов антиоксидантной защиты, а именно TAC, COD и GPx при статистически значимой тесной ассоциации

показателей TAC, SOD с тяжестью ХВН и OSI с длительностью заболевания.

2. Изменения экспрессии ростовых медиаторов и ММНs в ПИВ при ВБВ НК клинических классов С4 – С6 характеризуются статистически значимым повышением уровней VEGF, PDGF, MMP-2, MMP-9 и пролидазы.

3. Клеточный метаболомный профиль в ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 характеризуется нарушениями в белково-липидном обмене: статистически значимым снижением содержания таурина, мио-инозитола, триглицеридов, церамидов и статистически значимым повышением содержания глутамата, сфингомиелинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламинами. При этом сниженный уровень таурина и повышенный уровень сопряжены с повышением тяжести ХВН.

4. Низкие уровни TAC, SOD и таурина, а также высокие уровни VEGF, PDGF, MMP-9 и сфингомиелина являются основными независимыми предикторами развития и прогрессирования ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

5. Анализ межсистемных взаимосвязей свидетельствует о сопряженности изменений показателей ОАС и клеточного метаболомного профиля и их существенном влиянии на уровень VEGF, PDGF, MMP-9, что указывают на целесообразность коррекции окислительного гомеостаза и метаболомного профиля как патофизиологических звеньев развития и прогрессирования ВБВ, а также возможность использования динамику показателей TAC, SOD, таурина и сфингомиелина в качестве маркеров эффективности комплексного лечения.

ГЛАВА 4**РЕЗУЛЬТАТЫ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ
ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С
ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ВЕН НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ
КЛАССОВ С4 – С6 (2020 – 2023 гг.)**

Текущий этап исследования представлял собой проспективное сравнительное рандомизированное контролируемое, с равным соотношением распределения, в параллельных группах клиническое исследование, целью которого являлась интегративная оценка эффективности влияния разных вариантов лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6. В исследование было включено 198 пациентов, перенесших минимально инвазивные ОВ по поводу ВБВ НК клинических классов С4 – С6, удовлетворяющих критериям включения/невключения. Все пациенты методом независимой рандомизации были распределены в две группы в зависимости от особенностей послеоперационного ведения. В 1-ю группу (группу сравнения, ГС) включены 102 пациента, у которых применяли стандартный протокол ведения послеоперационного периода согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ХЗВ от 2018 г. [323]. Во 2-ю группу (основная группа, ОГ) включены 96 пациентов, у которых стандартным протокол ведения послеоперационного периода был дополнен применением озонотерапии и препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид). Продолжительность проспективного исследования составила 2 года. Все пациенты завершили фазу лечения. Фазу последующего наблюдения (через 2 года после выполненного ОВ) завершили 157 пациентов: 76 из ГС и 81 из ОГ.

4.1. Анализ влияния предложенного комплексного лечения на послеоперационную динамику плазменных биомаркеров окислительного гомеостаза и метаболомного профиля у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

В качестве критериев эффективности предложенного комплексного лечения пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 в позднем послеоперационном периоде рассматривали динамику изменений плазменных биомаркеров окислительного гомеостаза и метаболомного профиля, которые по результатам выполненного нами многофакторного логистического РА на 1-м этапе исследования показали ассоциацию с развитием и прогрессированием заболевания: TAC, SOD, таурин и сфингомиелин. Контрольными точками оценки эффективности были: исходно при поступлении, 20-ые и 45-ые послеоперационные сутки.

Демографический профиль и исходные клиничко-анамнестические характеристики всех 198 пациентов (96 из ГС и 102 из ОГ) представлены в таблице 4.1., 4.2.

Таблица 4.1 – Демографический профиль пациентов группы сравнения и основной группы

Характеристики	Группа сравнения n=96	Основная группа n=102	p
18–30 лет, n (%)	2 (2,1)	3 (2,9)	1,000
31– 40 лет, n (%)	18 (18,7)	16 (15,8)	0,870
41–50 лет, n (%)	35 (36,5)	39 (38,2)	0,886
51– 60 лет, n (%)	22 (22,9)	24 (23,5)	1,000
61– 70 лет, n (%)	12 (12,5)	14 (13,7)	0,982
71– 80 лет, n (%)	7 (7,3)	6 (5,9)	1,000
Мужчины, n (%)	32 (33,3)	35(34,3)	1,000
Женщины, n (%)	64 (66,7)	67 (65,7)	1,000

Средний возраст пациентов составил 48,4 [37,2;56,6] лет: в ГС – 49,7 [38,1;54,2] лет, в ОГ – 50,4 [36,7;55,0] лет ($p=0,840$) при большей представленности лиц в возрасте от 41 до 50 лет – 74 (37,4): 35 (36,5%) и 39 (38,2%) соответственно. В выборке преобладали женщины – 131(66,2%): в ОГ – 64 (66,7%), в ГС – 67 (65,7%).

Таблица 4.2 – Клинико-анамнестические характеристики пациентов группы сравнения и основной группы

Характеристики	Группа сравнения n=96	Основная группа n=102	p
Длительность заболевания 1–5 лет, n (%)	14 (14,6)	14 (13,7)	1,000
Длительность заболевания 6 –10 лет, n (%)	31 (32,3)	30 (29,4)	1,000
Длительность заболевания >10 лет, n (%)	51 (53,1)	58 (56,9)	0,886
Клинический класс ХВН по СЕАР – 4, n (%)	49 (64,5)	51 (63,0)	0,887
Клинический класс ХВН по СЕАР – 5, n (%)	16 (21,1)	18 (22,2)	0,924
Клинический класс ХВН по СЕАР – 6, n (%)	11 (14,4)	12 (14,8)	1,000
Артериальная гипертензия, n (%)	22 (22,9)	24 (23,5)	0,876
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	13 (13,5)	11 (10,7)	0,783
ХОБЛ, астма, n (%)	5 (5,2)	7 (6,9)	0,860
Сахарный диабет, n (%)	5 (5,2)	6 (5,9)	1,000
Хронический гастрит, n (%)	13 (13,5)	14 (13,7)	0,886
Мочекаменная болезнь, n (%)	4 (4,2)	5 (4,9)	1,000
ЭВЛК БПВ	22 (22,9)	21 (20,7)	0,832
ЭВЛК БПВ и перфорантных вен	22 (22,9)	22 (21,5)	1,000
ЭВЛК БПВ, перфорантных вен + минифлебэктомия варикозно-измененных притоков БПВ	52 (54,2)	59 (57,8)	0,812

Примечание – ХВН – хроническая венозная недостаточность, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, БПВ – большая подкожная вена, ЭВЛК – эндовазальная лазерная коагуляция

Средняя длительность ВВВ НК на момент включения пациентов в исследование 12,9 [8,8;14,8] лет: в ГС – 12,5 [8,4;14,3] лет, в ОГ – 13,3 [9,1;15,2] лет ($p=0,852$). У большинства пациентов длительность заболевания составила более 10 лет – 109 (55,1%): 51 (53,1%) и 58 (56,9%) соответственно. Преобладали пациенты с ХВН клинического класса С4 – 100 (50,5%): в ГС – 49 (64,5%) в ОГ – 51 (63,0%). Коморбидная соматическая патология выявлена у 110 (55,6%) пациентов: в ГС – 54 (56,2%), в ОГ – 56 (54,9%), в структуре которой преобладала артериальная гипертензия – 46 (23,2%): 22 (22,9%) и 24 (23,5%) соответственно.

Исходные биохимические характеристики всех 198 пациентов (96 из ГС и 102 из ОГ) представлены в таблице 4.3. У пациентов ГС и ОГ в сыворотке крови показатели ТАС, SOD и таурина были статистически значимо ниже, а показатель сфингомиелина статистически значимо выше по сравнению с нормативными показателями.

Таблица 4.3 – Исходные биохимические характеристики пациентов группы сравнения и основной группы ($m \pm CD$)

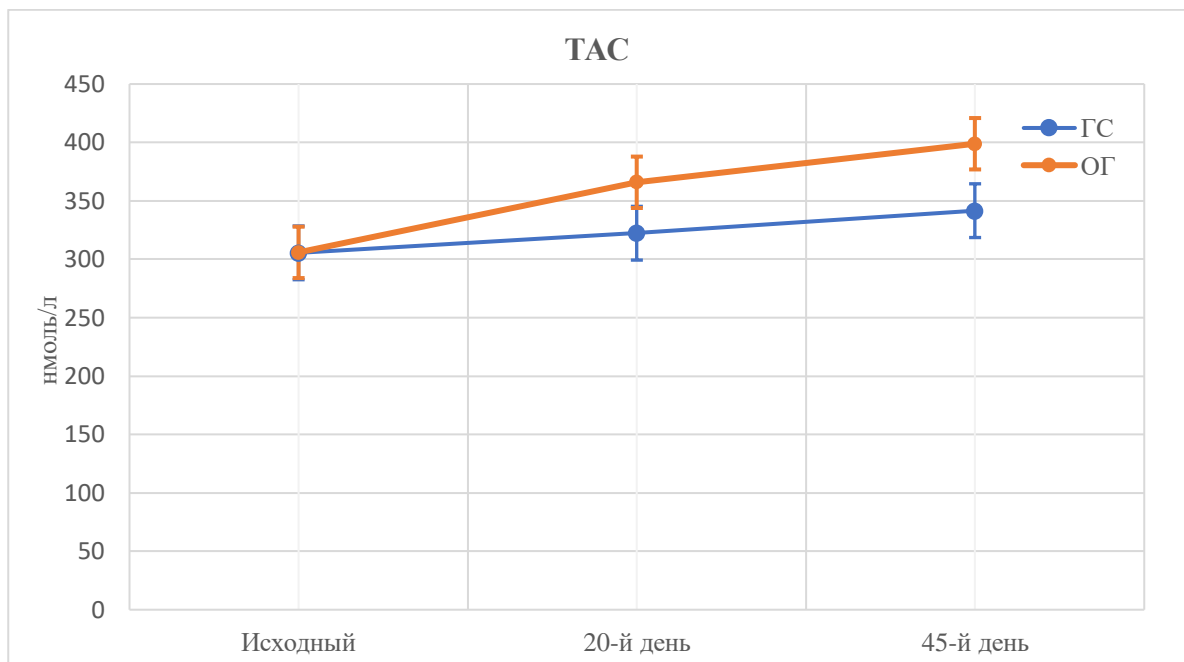
Биохимические характеристики	Нормативные показатели	Группа сравнения n=96	Основная группа n=102	p
ТАС, нмоль/мл	401,8 \pm 17,4	305,5 \pm 18,6	305,9 \pm 18,5	1,000
SOD ЕД/мл	22,8 \pm 3,1	10,8 \pm 1,8	10,6 \pm 1,7	1,000
Таурин, мкмоль/л	64,2 \pm 10,2	35,9 \pm 6,1	36,2 \pm 6,0	0,878
Сфингомиелин, мг/дл	44,9 \pm 6,2	61,0 \pm 8,3	61,4 \pm 8,2	0,886

Примечание – ТАС – общая антиоксидантная способность, SOD – супероксиддисмутаза

Как видно из таблиц 4.1 – 4.3 группы ГС и ОГ были сбалансированы.

Периоперационная динамика показателя ТАС в плазме крови у пациентов обеих групп представлена на рисунке 4.1. У пациентов ГС изменения показателя ТАС в плазме крови имели тенденцию к повышению, однако статистической

значимости за весь период исследования не установлено: исходно – $305,5 \pm 18,6$ нмоль/мл, на 20-й день после ОВ – $322,3 \pm 17,7$ нмоль/мл и на 45-й день после ОВ – $341,6 \pm 18,2$ нмоль/мл ($p=0,672$). Напротив, у пациентов ОГ к 20-у дню после ОВ наблюдалось статистически значимое повышение показателя ТАС с $305,5 \pm 18,6$ нмоль/мл до $365,9 \pm 18,1$ нмоль/мл (на 19,8% от исходного, $p=0,046$). Межгрупповые различия по динамике показателя ТАС были близки к уровню статистической значимости ($p=0,579$). К 45-у дню после ОВ у пациентов ОГ показатель ТАС в плазме крови возрос до $398,9 \pm 19,1$ нмоль/мл, статистически значимо превышал значение пациентов ГС на 16,8 % ($p=0,042$) и не имел статистически значимых различий с нормативным показателем ($p=0,867$).

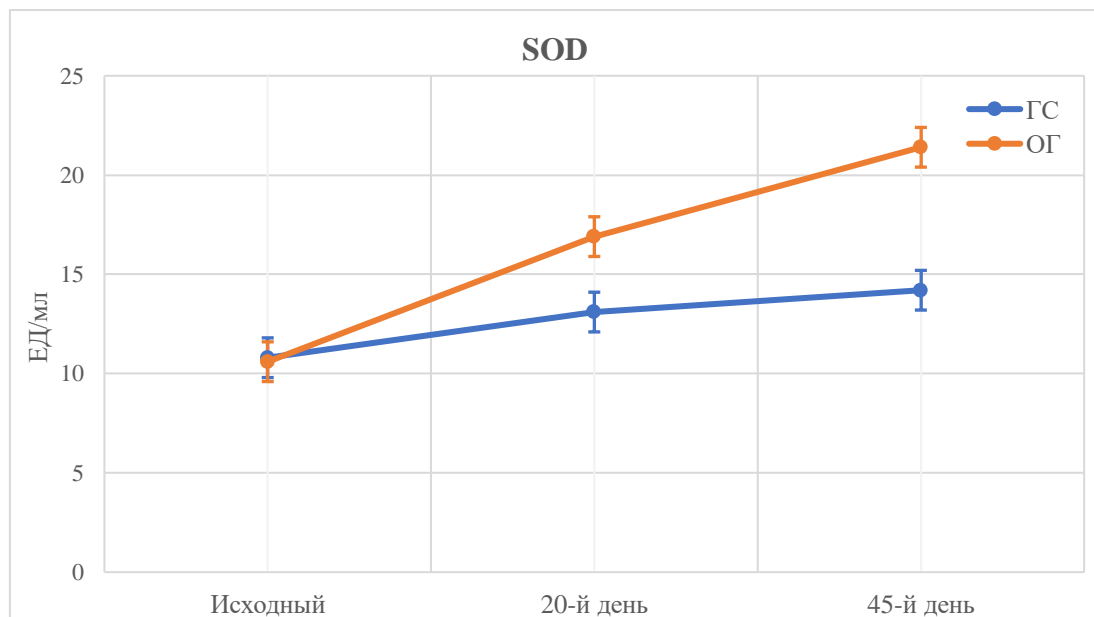


ТАС – общая антиоксидантная способность, ГС – группа сравнения,
ОГ – основная группа

Рисунок 4.1 – Periоперационная динамика показателя ТАС в плазме крови у пациентов группы сравнения и основной группы

Периоперационная динамика показателя активности SOD в плазме крови у пациентов обеих групп представлена на рисунке 4.2. К 20-у дню после ОВ у пациентов ГС показатель активности SOD в плазме крови имел тенденцию к

повышению с $10,8 \pm 1,8$ ЕД/мл до $13,1 \pm 1,5$ ЕД/мл (на 21,3% относительно исходного), однако статистической значимости не выявлено ($p=0,733$). У пациентов ОГ к 20-у дню после ОВ наблюдалось более выраженное статистически значимое повышение активности SOD в плазме крови с $10,6 \pm 1,7$ нмоль/мл до $16,9 \pm 1,6$ ЕД/мл (на 59,4%, $p=0,033$ относительно исходного). Межгрупповые различия по динамике активности SOD на 20-й день после ОВ оказались статистически значимыми ($p=0,046$). К 45-у дню после ОВ у пациентов обеих групп имело место дальнейшее повышение показателей активности SOD в плазме крови относительно значений, зафиксированных на 20-й день после ОВ. При этом у пациентов ОГ показатель активности SOD по-прежнему статистически значимо превосходил значение у пациентов ГС – $21,4 \pm 1,6$ ЕД/мл против $14,2 \pm 1,7$ ЕД/мл (на 26,4%, $p=0,038$) и не имел статистически значимых различий с нормативным показателем ($p=0,844$).

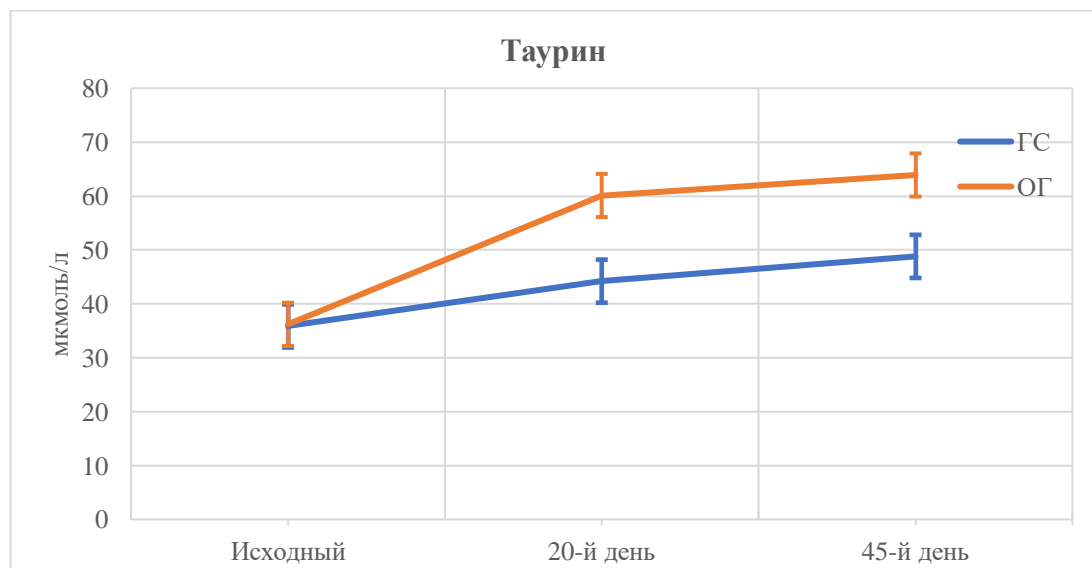


SOD – супероксиддисмутаза

Рисунок 4.2 – Periоперационная динамика активности SOD в плазме крови у пациентов группы сравнения и основной группы

Периоперационная динамика показателя таурина в плазме крови у пациентов обеих групп представлена на рисунке 4.3. К 20-у дню после ОВ у пациентов ГС

показатель таурина в плазме крови незначительно повысился с $35,9 \pm 6,1$ мкмоль/л до $44,2 \pm 8,9$ мкмоль/л (на 23,1% относительно исходного, $p=0,712$), в то время как у пациентов ОГ повышение было статистически значимым с $36,2 \pm 6,0$ мкмоль/л до $60,1 \pm 9,1$ мкмоль/л (на 39,8 % относительно исходного, $p=0,032$). Различия между ГС и ОГ по динамике показателя таурина достигали уровня статистической значимости ($p=0,036$). Кроме того, у пациентов ОГ показатель таурина в плазме крови не имел статистически значимых различий с нормативным показателем ($p=0,867$). К 45-у дню после ОВ у пациентов обеих групп имела место незначительная тенденция к повышению показателя таурина в плазме крови относительно значений, зафиксированных на 15-й день после ОВ. Межгрупповые различия оставались статистически значимыми ($48,8 \pm 9,1$ мкмоль/л против $63,9 \pm 9,4$ мкмоль/л, $p=0,038$).

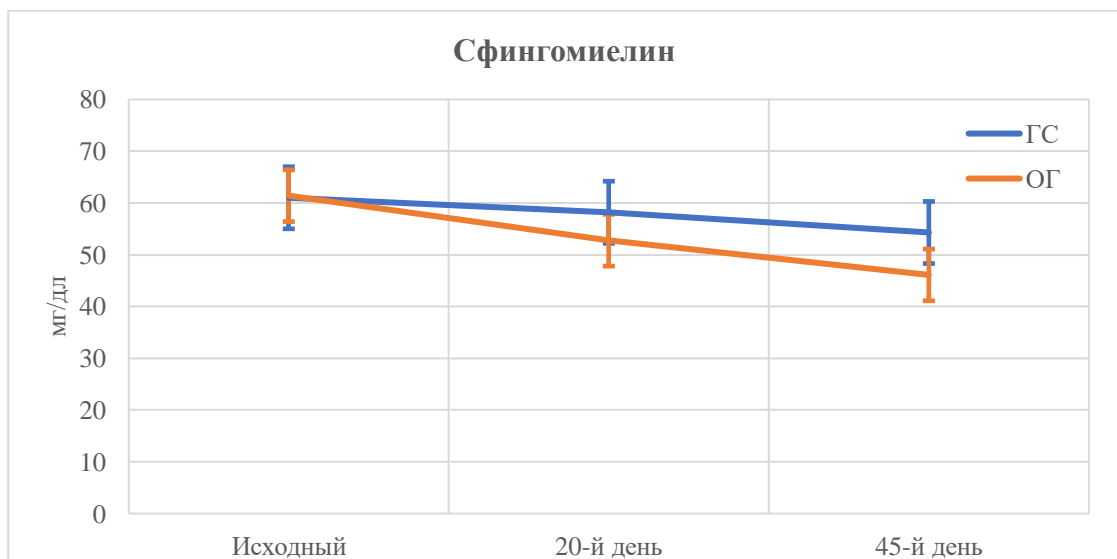


ГС – группа сравнения, ОГ – основная группа

Рисунок 4.3 – Периоперационная динамика показателя таурина в плазме крови у пациентов группы сравнения и основной группы

Периоперационная динамика показателя сфингомиелина в плазме крови у пациентов обеих групп представлена на рисунке 4.4. К 20-у дню после ОВ у пациентов ГС показатель сфингомиелина в плазме крови незначительно снизился с $61,0 \pm 8,3$ мг/дл до $58,2 \pm 7,8$ мг/дл (на 4,6% относительно исходного, $p=0,871$), в то

время как у пациентов ОГ снижение было статистически значимым с $61,4 \pm 8,2$ мг/дл до $52,8 \pm 8,1$ мг/дл (на 14,0% относительно исходного, $p=0,048$). Различия между ГС и ОГ по динамике показателя сфингомиелина не достигали уровня статистической значимости, но имелась явная тенденция в пользу предложенного комплексного лечения ($p=0,647$). К 45-у дню после ОВ у пациентов в ГС наблюдалась дальнейшая тенденция к снижению показателя сфингомиелина в плазме крови относительно исходного показателя и зафиксированного на предыдущем оценочном этапе, не достигающая уровня статистической значимости ($p=0,871$ и $p=0,624$ соответственно). У пациентов в ОГ показатель сфингомиелина в плазме крови был статистически значимо ниже относительно исходного (на 24,9%, $p=0,002$) и значения в ГС ($46,1 \pm 8,0$ мг/дл против $54,3 \pm 7,9$ мг/дл, $p=0,038$) и не имел статистически значимых различий с нормативным показателем ($p=0,887$).



ГС – группа сравнения, ОГ – основная группа

Рисунок 4.4 – Периоперационная динамика показателя сфингомиелина в плазме крови у пациентов группы сравнения и основной группы

Таким образом, предложенный способ комплексного лечения доказал свою эффективным в отношении коррекции окислительного гомеостаза и клеточного метаболомного профиля у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, что подтверждалось более ранним восстановлением плазменных маркеров активности

антиоксидантной системы и клеточного метаболизма. Плазменные показатели TAC, SOD, таурина являются информативными предикторами эффективности лечения (независимо от особенностей периоперационного ведения).

4.2. Анализ отдаленных результатов применения предложенного комплексного лечения у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей классов С4 – С6

Эффективность предложенного комплексного лечения у пациентов с ВБВ НК классов С4 – С6 в фазе последующего наблюдения (в отдаленном послеоперационном периоде) оценивали по динамике изменений клинического класса и тяжести ХВН на основании классификации CEAP и результатов клинической шкалы VCSS, динамике оценки пациентами КЖ по результатам специфического опросника CIVIQ-2. Период наблюдения составил 2 года.

Отдаленные результаты лечения изучены у 157 пациентов (76 из ГС и 81 из ОГ). Демографический профиль и исходные клинико-anamнестические характеристики, показатели КЖ этих пациентов представлены в таблицах 4.4, 4.5. Таблица 4.4 – Демографический профиль пациентов группы сравнения и основной группы в фазе последующего наблюдения

Характеристики	Группа сравнения n=76	Основная группа n=81	p
18–30 лет, n (%)	2 (2,7)	3 (3,7)	1,000
31– 40 лет, n (%)	16 (21,0)	15 (18,5)	0,982
41–50 лет, n (%)	28 (36,8)	31 (38,2)	0,846
51– 60 лет, n (%)	17 (22,5)	15 (18,5)	0,879
61– 70 лет, n (%)	8 (10,5)	10 (12,3)	0,878
71– 80 лет, n (%)	5 (6,5)	7 (8,6)	1,000
Мужчины, n (%)	22 (28,9)	24 (29,6)	1,000
Женщины, n (%)	54 (71,1)	57 (70,4)	1,000

Средний возраст пациентов составил 48,1 [36,9;56,4] лет: в ГС – 49,2 [35,9;53,8] лет, в ОГ – 51,3 [37,6;56,2] лет ($p=0,853$) при большей представленности лиц в возрасте от 41 до 50 лет – 59 (37,6): 28 (36,8%) и 31 (38,2%) соответственно. В выборке преобладали женщины – 111(70,7%): в ОГ – 54 (71,1%), в ГС – 57 (70,4%).

Средняя длительность ВБВ НК на момент исследования 12,6 [8,6;14,6] лет: в ГС – 12,3 [8,2;14,1] лет, в ОГ – 13,1 [8,9;14,9] лет ($p=0,952$). У большинства пациентов длительность заболевания составила более 10 лет – 71 (45,2%): 25 (32,8%) и 46 (56,7%) соответственно. Преобладали пациенты с ХВН клинического класса С4 – 98 (62,4%): в ГС – 47 (61,8%) в ОГ – 51 (62,9%). СИП по шкале VCSS составил 17,1 [14,4; 20,3] баллов: 17,7 [14,6; 20,8] баллов и 17,6 [12,5; 20,4] баллов соответственно. Коморбидная соматическая патология выявлена у 110 (55,6%) пациентов: в ГС – 54 (56,2%), в ОГ – 56 (54,9%) ($p=1,000$), в структуре которой преобладала артериальная гипертензия – 35 (22,3%):16 (21,1%) и 19 (23,4%) соответственно. Средний ОИ КЖ по опроснику CIVIQ-2 составил 54,3 [50,7;57,2] баллов: в ГС – 54,4 [50,5;57,2] баллов и в ОГ – 54,3 [50,8;57,2] баллов ($p=1,000$). Как видно из таблиц 4.4, 4.5, группы были сбалансированы.

Таблица 4.5 – Клинико-anamнестические характеристики и показатели качества жизни пациентов группы сравнения и основной группы в фазе последующего наблюдения

Характеристики	Группа сравнения n=76	Основная группа n=81	P
Длительность заболевания 1–5 лет, n (%)	9 (12,0)	11 (13,5)	0,921
Длительность заболевания 6–10 лет, n (%)	25 (32,8)	24 (29,8)	1,000
Длительность заболевания >10 лет, n (%)	42 (55,2)	46 (56,7)	0,854
Класс ХВН по СЕАР – 4, n (%)	47 (61,8)	51 (62,9)	0,867
Класс ХВН по СЕАР – 5, n (%)	17 (22,4)	20 (24,6)	0,888
Класс ХВН по СЕАР – 6, n (%)	12 (15,8)	10 (12,5)	0,912
Боль по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	2,4 [2,1; 2,7]	2,3 [2,1; 2,6]	1,000
Варикозные вены по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	1,4 [1,2; 1,8]	1,4 [1,1; 1,7]	1,000
Отек по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	2,3 [1,6; 2,5]	2,4 [1,7; 2,4]	1,000
Пигментация по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	1,7 [1,4;2,4]	1,7 [1,2;2,3]	1,000
Воспаление по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	2,5 [2,3;2,7]	2,4 [2,1;2,6]	1,000
Индурация по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	1,3 [1,1;1,6]	1,3 [1,2;1,6]	1,000
Активная язва по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	1,2 [0,8;1,4]	1,2 [0,9;1,6]	1,000
МВС открытой язвы по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	1,4 [1,0;1,6]	1,3 [0,9;1,6]	1,000

Продолжение таблицы 4.5

Характеристики	Группа сравнения n=76	Основная группа n=81	P
Размер язвы по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	1,3 [1,1;1,5]	1,4 [1,2;1,6]	1,000
Применение КСТ по шкале RVCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	2,2 [2,0;2,6]	2,2 [1,8;2,4]	1,000
СИП по шкале VCSS, баллы, Медиана [25%;75%]	17,7 [14,6; 20,8]	17,6 [12,5; 20,4]	1,000
Артериальная гипертензия, n (%)	16 (21,1)	19 (23,4)	0,911
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	11 (14,4)	9 (11,1)	0,886
ХОБЛ, астма, n (%)	5 (6,6)	5 (6,2)	1,000
Сахарный диабет, n (%)	4 (5,2)	5 (6,2)	1,000
Хронический гастрит, n (%)	11 (14,4)	10 (12,3)	1,000
Мочекаменная болезнь, n (%)	4 (5,2)	4 (4,9)	1,000
Болевой фактор по опроснику CIVIQ-2, баллы, Медиана [25%;75%]	53,8 [49,7;56,3]	52,6[49,1;55,9]	0,986
Физический фактор по опроснику CIVIQ-2, баллы, Медиана [25%;75%]	52,9 [50,1;55,2]	53,3 [50,8;54,8]	0,914
Психологический фактор по опроснику CIVIQ-2, баллы, Медиана [25%;75%]	56,8 [52,7;59,5]	56,2 [53,0;60,1]	1,000
Социальный фактор по опроснику CIVIQ-2, баллы, Медиана [25%;75%]	54,2 [49,5;57,7]	55,1 [50,2;58,1]	0,982
ОИ КЖ по опроснику CIVIQ-2, баллы, Медиана [25%;75%]	54,4 [50,5;57,2]	54,3 [50,8;57,2]	1,000
Эндовазальная лазерная коагуляция большой подкожной вены	14 (18,4)	17 (20,9)	0,832

Продолжение таблицы 4.5

Характеристики	Группа сравнения n=76	Основная группа n=81	P
Эндовазальная лазерная коагуляция БПВ и перфорантных вен	21 (27,7)	19 (23,5)	1,000
ЭВЛК БПВ, перфорантных вен + минифлебэктомия варикозно-измененных притоков БПВ	41 (53,9)	45 (55,6)	0,812

Примечание – МВС – максимальное время существования, КСТ – компрессионная терапия, СИП – средний итоговый показатель, ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких, БПВ – большая подкожная вена

Динамика клинического класса ХВН по классификации CEAP через 2 года после ОВ в обеих группах представлены на рисунке 4.5. Через 2 года после ОВ у пациентов ГС регресс клинического класса ХВН зарегистрирован в 35 (46,1%), у пациентов ОГ – в 64 (79,0%) случаев. Различия между ГС и ОГ оказались статистически значимыми (ОШ 1,632 при 95% ДИ 1,337– 1,819, $p=0,004$).

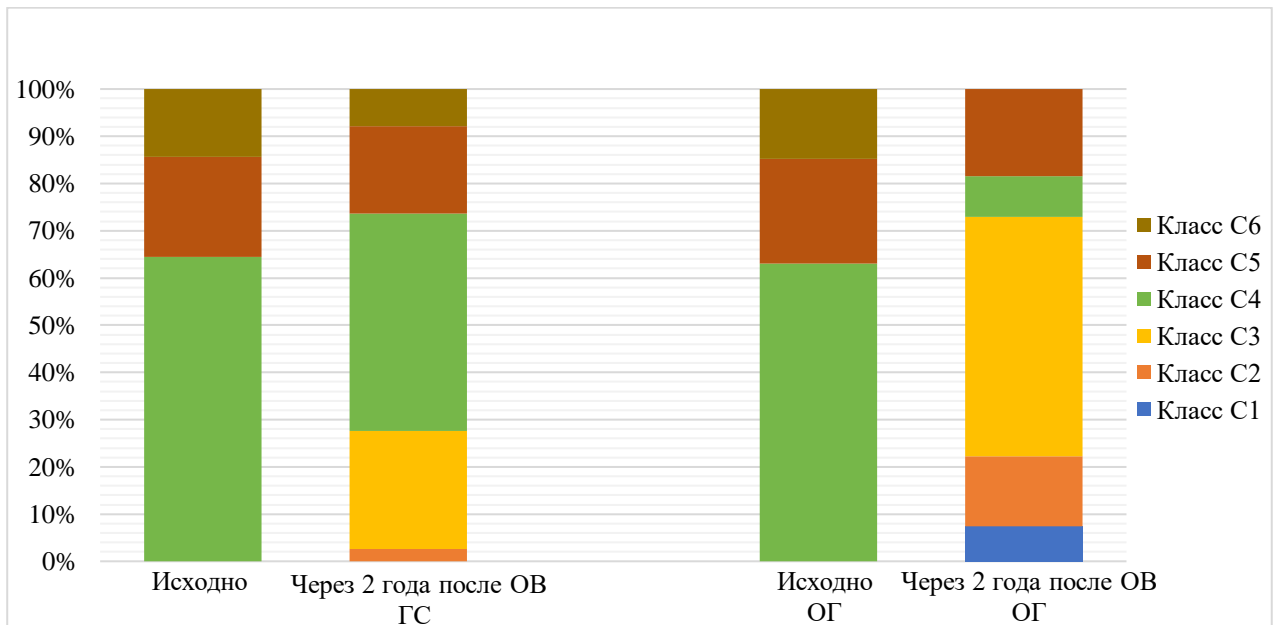


Рисунок 4.5 – Динамика клинического класса хронической венозной недостаточности по классификации CEAP через 2 года после ОВ у пациентов группы сравнения и основной группы

Динамика признаков ХВН по шкале VCSS через 2 года после ОВ в обеих группах представлена на рисунке 4.6. Через 2 года после ОВ в ГС отмечалась статистически значимое снижение баллов относительно исходных по признакам «варикозные вены» с 1,4 [1,2; 1,8] до 0,6 [0,4;0,9] ($p=0,034$), «воспаление» с 2,5 [2,3;2,7] до 1,6 [1,3;1,6] ($p=0,044$) и «индурация» с 1,3 [1,1;1,6] до 0,5 [0,2;0,6] ($p=0,028$). Изменения баллов по признакам «боль» и «отек» приближались к уровню статистической значимости ($p=0,524$ и $p=0,589$ соответственно). Внутригрупповых статистически значимых различий в динамике других признаков ХВН по шкале VCSS не выявлено.

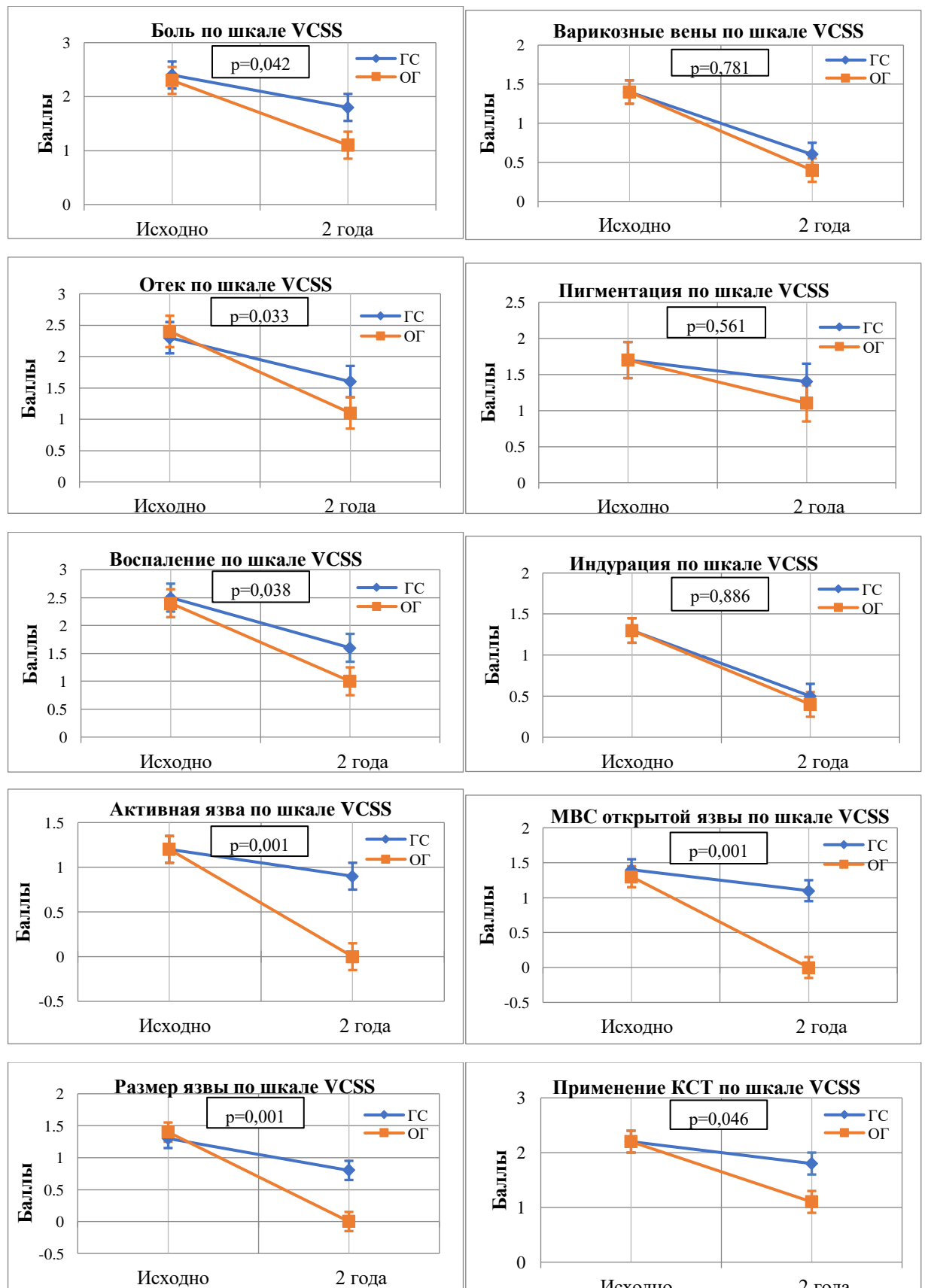


Рисунок 4.6 – Динамика признаков хронической венозной недостаточности по шкале VCSS через 2 года после оперативного вмешательства у пациентов группы сравнения и основной группы

Напротив, у пациентов ОГ снижение всех признаков ХВН по шкале VCSS было статистически значимым. Межгрупповые различия достигали уровня статистической значимости по всем признакам ХВН по шкале VCSS, кроме «варикозные вены» и «пигментация» ($p=0,781$ и $p=0,561$ соответственно).

Динамика СИП тяжести ХВН по шкале VCSS через 2 года после ОВ в обеих группах представлена на рисунке 4.7. Через 2 года после ОВ в ГС изменение СИП тяжести ХВН по шкале VCSS приближалось к уровню статистической значимости (ниже на 52,6 % относительного исходного, $p=0,511$). У пациентов ОГ наблюдалось статистически значимое снижение СИП тяжести ХВН по шкале VCSS ($p=0,046$). Различия между ГС и ОГ по СИП тяжести ХВН по шкале VCSS оказались статистически значимыми – 8,8 [7,7; 9,9] баллов против 5,4 [4,2; 6,6] баллов (ниже на 63,0%, $p=0,022$).

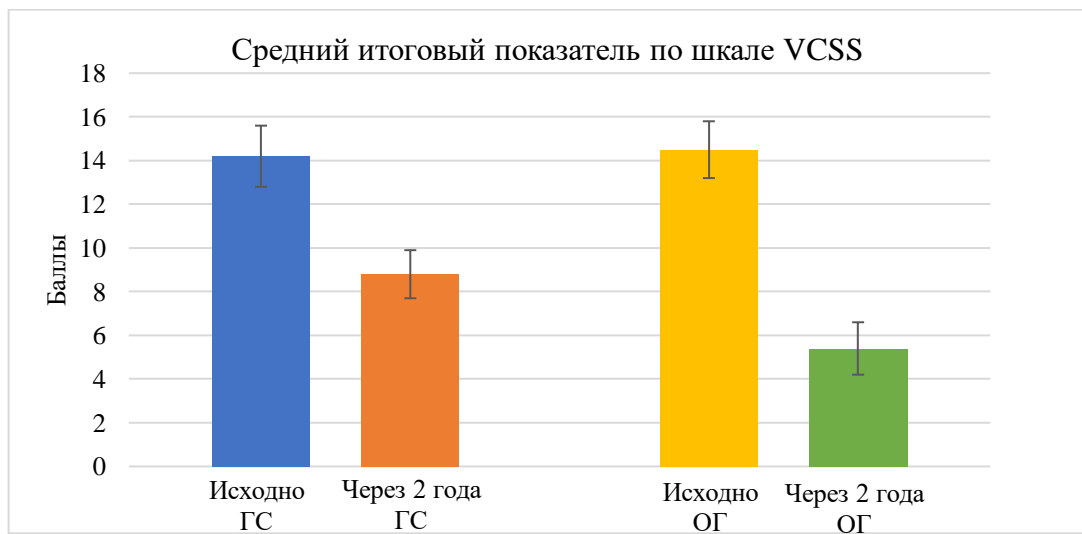


Рисунок 4.7 – Динамика среднего итогового показателя тяжести хронической венозной недостаточности по шкале VCSS через 2 года после оперативного вмешательства у пациентов группы сравнения и основной группы

Рецидив ВБВ НК развился у 9 (11,8%) пациентов ГС и у 2 (2,5%) пациентов ОГ (ОШ 5,107 при 95% ДИ 4,565 – 5,668, $p=0,007$).

На рисунке 4.8 представлена динамика параметров КЖ по опроснику CIVIQ-2 в обеих группах. Через 2 года после ОВ статистически значимое улучшение оценки КЖ по опроснику CIVIQ-2 отмечалось в ГС и ОГ в обеих группах. При этом

в ОГ наблюдалось статистически более значимое снижение баллов по всем шкалам CIVIQ-2: показатель «болевого фактор» с 52,6[49,1;55,9] до 31,1[28,4;34,2], в ГС с 53,8[49,7;56,3] до 39,1[36,6;43,2] (–69,1% против –27,3%, $p=0,001$ соответственно), «физический фактор» – с 53,3 [50,8;54,8] до 32,3 [29,4;35,5], в ГС с 52,9 [50,1;55,2] до 38,7 [36,2;45,1] (–59,3% против –36,8%, $p=0,026$ соответственно), «психологический фактор» – с 56,2 [53,0;60,1] до 30,2 [28,6;33,7], в ГС с 56,8 [52,7;59,5] до 42,6 [40,1;45,5] (–54,7% против –34,3%, $p=0,001$ соответственно) и «социальный фактор» – с 55,1 [50,2;58,1] до 31,8 [29,5;33,3], в ГС с 54,2 [49,5;57,7] до 43,9 [41,2;46,3] (–59,3% против –36,8%, $p=0,026$ соответственно). В ГС ОИ КЖ статистически значимо снизился с 54,3 [50,8;57,2] до 31,3 [29,0;34,2] баллов, в то время как в ГС с 54,4 [50,5;57,2] до 41,1 [38,5;45,0] баллов (–59,9% против –46,3%, $p=0,002$ соответственно) (Рисунок 4.9).

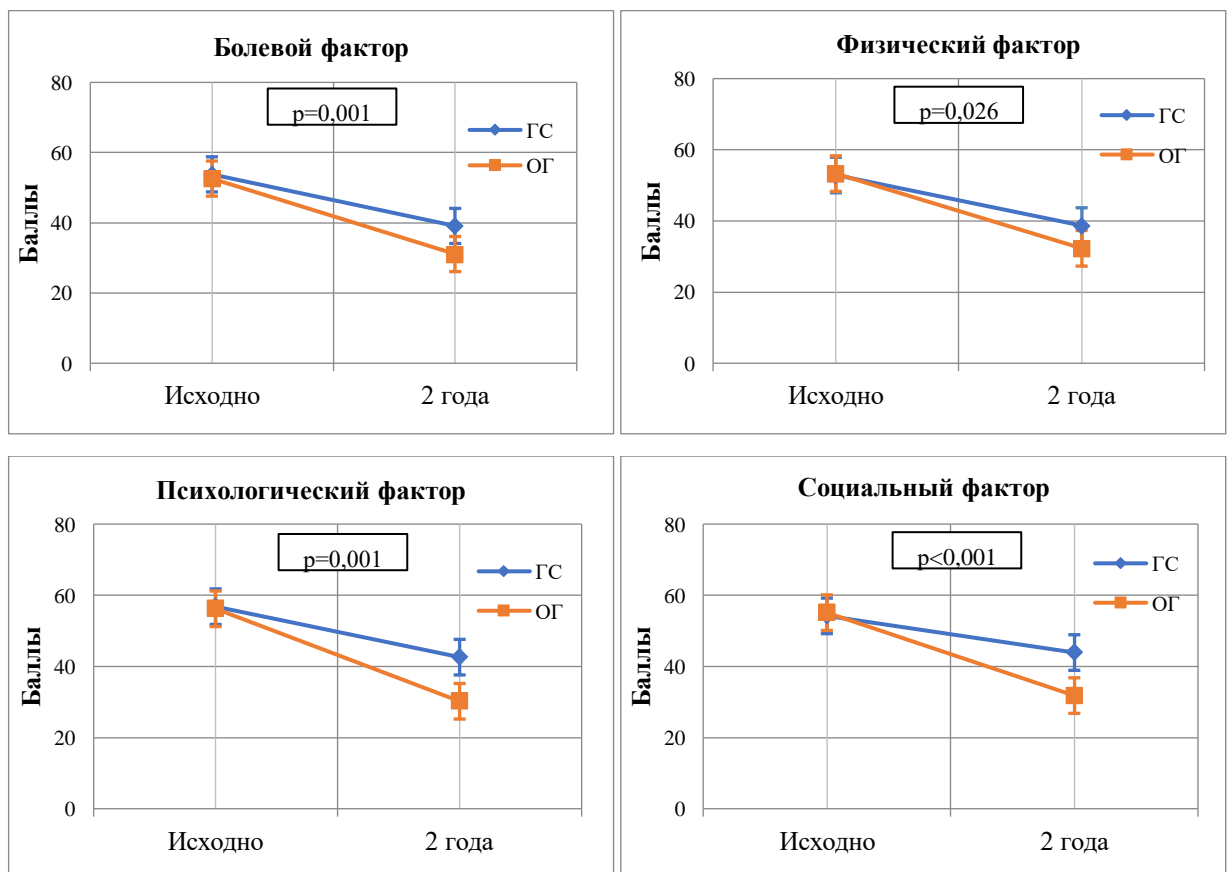


Рисунок 4.8 – Динамика параметров качества жизни по опроснику CIVIQ-2 через 2 года после оперативного вмешательства у пациентов группы сравнения и основной группы

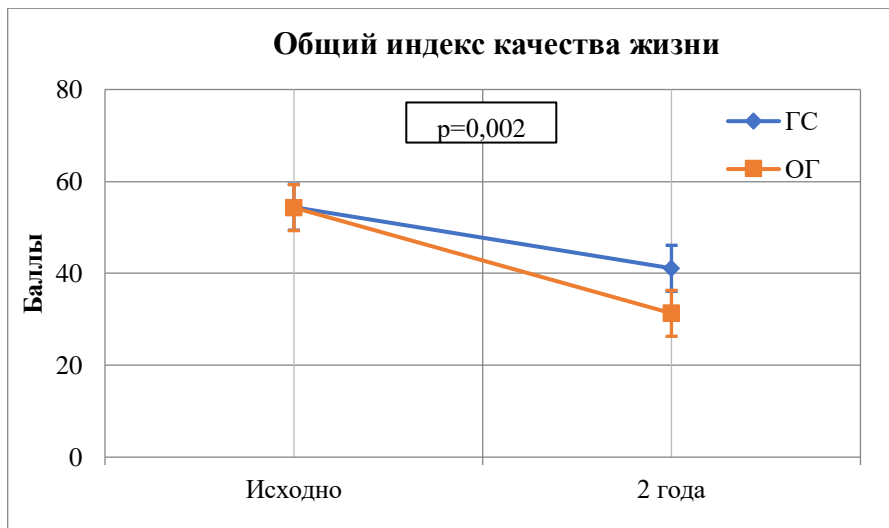


Рисунок 4.9 – Динамика параметров качества жизни по опроснику CIVIQ-2 через 2 года после оперативного вмешательства у пациентов группы сравнения и основной группы

Далее нами выполнен анализ возможной прогностической значимости периоперационных изменений плазменных биомаркеров ТАС, SOD, таурина и сфингомиелина, ассоциированных с неблагоприятными исходами. Исход оценивали как неблагоприятный, если в течение периода наблюдения (2 года после ОВ) состояние пациента отвечало следующим критериям: стабильность или прогрессивное повышение клинического класса ХВН, константный показатель или рост суммарной оценки по шкале VCSS, константный показатель или повышение суммарной оценки КЖ по опроснику CIVIQ-2. Частота фиксации неблагоприятного исхода представлена на рисунке 4.10.

По данным ROC-анализа показатель ТАС в предоперационном периоде и через 15 дней после выполненного ОВ не обеспечивали достаточную значимость для стратификации риска развития неблагоприятных исходов в связи с низкой чувствительностью теста –51,6% и специфичностью – 59,5% (AUC=0,497;95%CI=0,421–0,473; p=0,934) и 51,1%, 58,8% (AUC=0,495;95%CI=0,419–0,471; p=0,914). Уровень ТА <339,2 нмоль/мл через 30 дней после выполнения ОВ позволил с наибольшей вероятностью (чувствительность – 74,3%, специфичность –75,9%, AUC=0,601;95%CI=0,523–

0,672, $p=0,036$) прогнозировать развитие неблагоприятных исходов у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 (Рисунок 4.11).

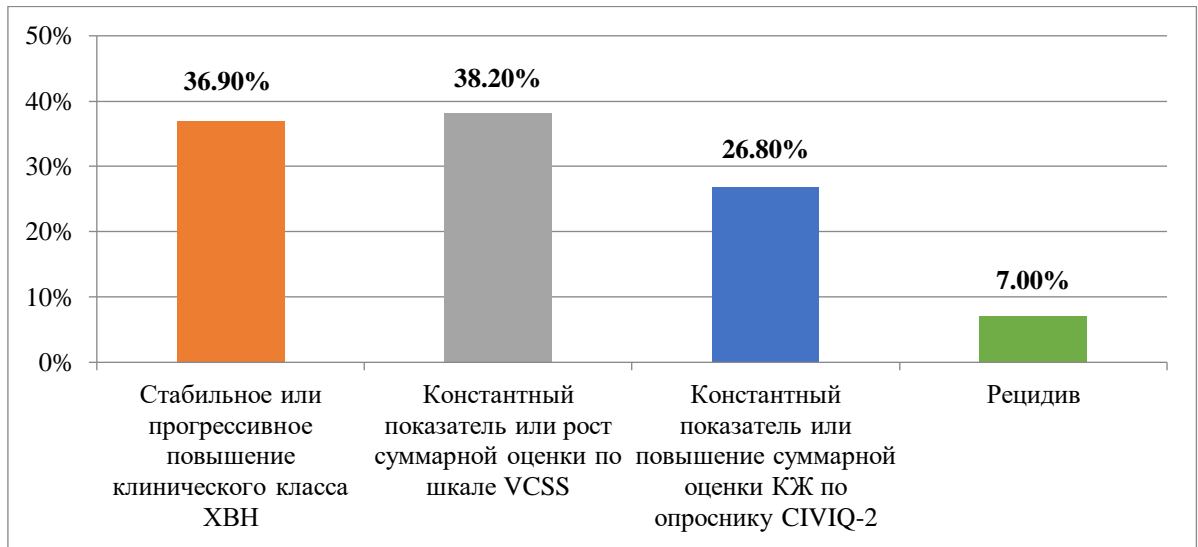


Рисунок 4.10 – Доля пациентов, у которых в течение периода наблюдения были зафиксированы неблагоприятные исходы

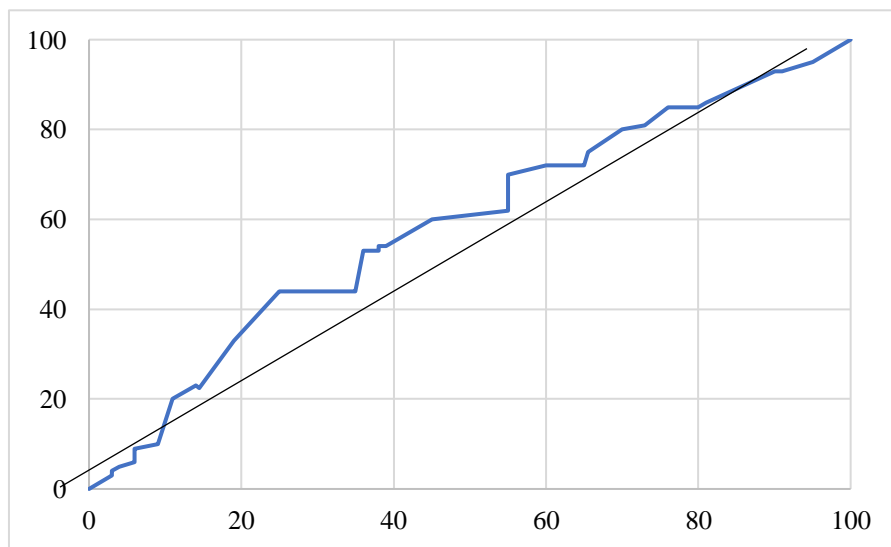


Рисунок 4.11 – ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови общей антиоксидантной способности через 30 дней после выполненного оперативного вмешательства в прогнозе риска развития неблагоприятных исходов в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Показатель SOD не обладал прогностической значимостью в отношении риска развития неблагоприятных исходов в предоперационном периоде (чувствительность – 52,2%, специфичность – 59,1%, AUC=0,497;95%CI=0,421–0,473; p=0,934) и через 30 дней после выполненного ОВ (чувствительность – 52,4%, специфичность – 58,8% AUC=0,494;95%CI=0,423–0,476; p=0,922). Уровень SOD <12,8 ЕД/мл через 15 дней после выполнения ОВ позволил с наибольшей вероятностью (чувствительность – 94,8%, специфичность – 86,7%, AUC=0,952;95%CI=0,523–0,674; p<0,001) прогнозировать развитие неблагоприятных исходов у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 (Рисунок 4.12).

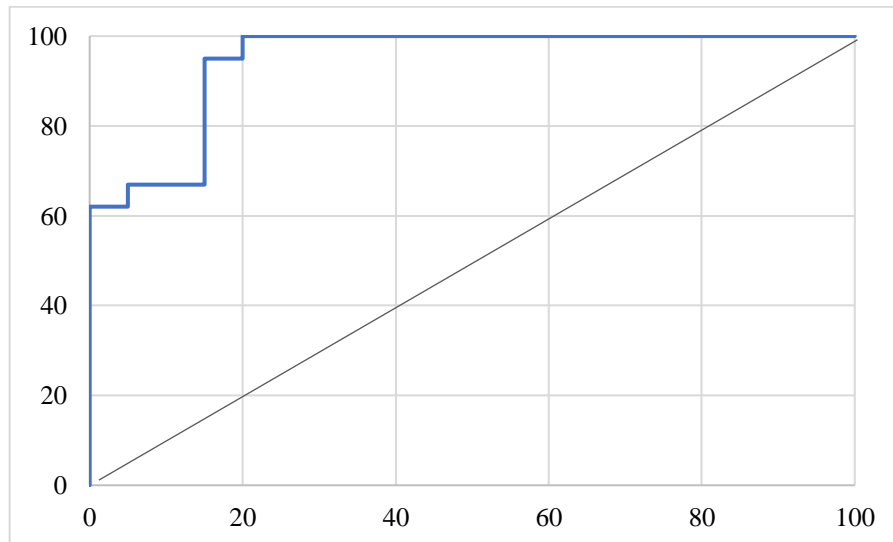


Рисунок 4.12 – ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови супероксиддисмутазы через 15 дней после выполненного оперативного вмешательства в прогнозе риска развития неблагоприятных исходов в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Показатель таурина через 30 дней после ОВ не обеспечивал достаточную значимость для стратификации риска развития неблагоприятных исходов (чувствительность – 51,2%, специфичность – 58,9%, AUC=0,495;95%CI=0,422–0,471, p=0,924). Уровень таурина <31,6 мкмоль/л в предоперационном периоде и

<38,1 мкмоль/л через 14 дней после выполнения ОВ позволил с наибольшей вероятностью (чувствительность – 67,3%, специфичность – 90,5%, AUC=0,709;95%CI=0,424–0,472,p=0,002;чувствительность–61,8%, специфичность – 93,4%, AUC=0,643;95%CI=0,521–0,675, p<0,001 соответственно) прогнозировать развитие неблагоприятных исходов у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 (Рисунок 4.13, 4.14).

Показатель сфингомиелина не обладал прогностической значимостью в отношении риска развития неблагоприятных исходов в предоперационном периоде (чувствительность –75,1%, специфичность – 39,4%, AUC=0,530;95%CI=0,453 – 0,605, p=0,548) и через 15 дней после ОВ (чувствительность – 76,8%, специфичность – 37,2%, AUC=0,526;95%CI=0,451 – 0,603, p=0,546) и слабой прогностической значимостью через 30 дней после ОВ(чувствительность – 76,8%, специфичность – 42,6%, AUC=0,586;95%CI=0,52 – 0,668; p=0,068) (Рисунок 4.15).

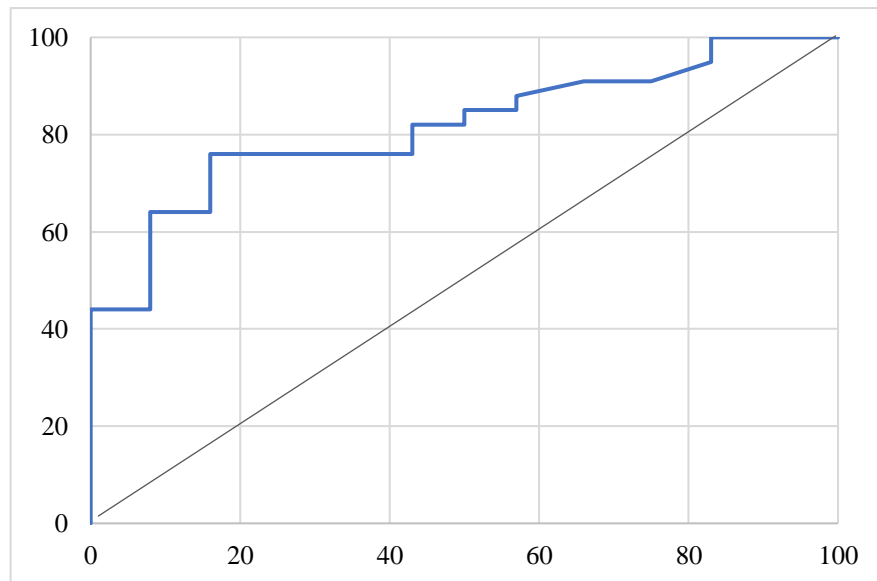


Рисунок 4.13 – ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови таурина в предоперационном в прогнозе риска развития неблагоприятных исходов в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

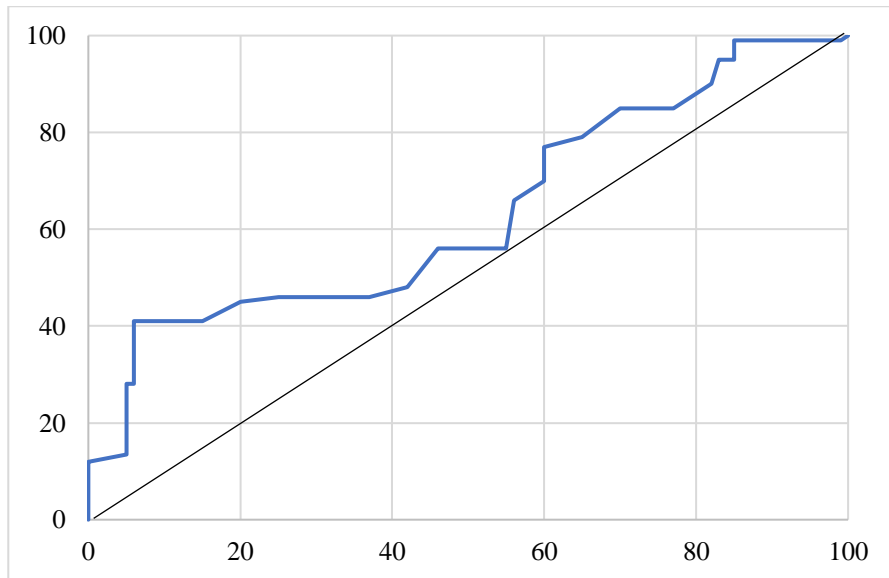


Рисунок 4.14 – ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови таурина через 15 дней после выполненного оперативного вмешательства в прогнозе риска развития неблагоприятных исходов в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

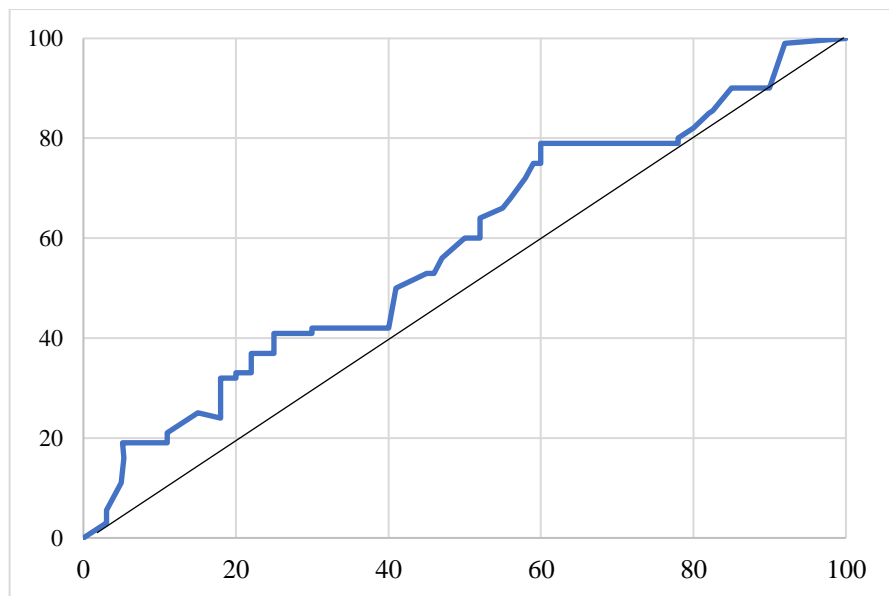


Рисунок 4.15 – ROC-анализ определения чувствительности и специфичности значений в крови сфингомиелина через 15 дней после выполненного оперативного вмешательства в прогнозе риска развития неблагоприятных исходов в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6

Риск развития неблагоприятных исходов оказался выше в 2,3 раза у пациентов с уровнем ТАС <339,2 нмоль/мл через 45 дней после выполнения ОВ (ОШ 2,294 при 95% ДИ 0,949 – 2,860, $p=0,026$), в 2,8 раза – с уровнем SOD <12,8 ЕД/мл через 20 дней после выполнения ОВ (ОШ 2,842 при 95% ДИ 1,624 – 4,902, $p<0,001$), в 2,1 раза – с уровнем таурина <31,6 мкмоль/л в предоперационном периоде (ОШ 2,110 при 95% ДИ 1,116 – 3,602, $p=0,025$) и в 3,2 раза – с уровнем таурина <38,1 мкмоль/л через 20 дней после выполнения ОВ (ОШ 3,234 при 95% ДИ 1,726 – 6,602, $p=0,001$).

За весь период исследования НЯ Полученные данные по профилю безопасности свидетельствуют о хорошей переносимости предложенного способа комплексного лечения, включающего минимально инвазивное ОВ в сочетании с озонотерапией O₂O₃ и антикоагулянтом прямого действия Вессел Дуэ Ф (сулодексид).

Резюмируя изложенные в этой главе результаты, можно заключить, что реализация предложенного способа комплексного лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6, включающего применение минимально инвазивных технологий в сочетании с озонотерапией и препаратом Вессел Дуэ Ф (сулодексид) позволяет коррегировать окислительный гомеостаз и метаболомный профиль, а также улучшить результаты хирургического лечения и повысить КЖ пациентов. Представленные доказательства клинической эффективности предложенного способа комплексного лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6 позволяет рекомендовать его к более широкому внедрению в практическое здравоохранение.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выполненное нами диссертационное исследование посвящено двум важным проблемам ВБВ НК клинических классов С4 – С6: выяснению патофизиологической роли изменений ОАС и клеточного метаболомного профиля в развитии и прогрессировании заболевания и оптимизации комплексного лечения. Целью исследования было повышение эффективности хирургического лечения варикозной болезни вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6, основанной на изучении и коррекции окислительного гомеостаза и клеточного метаболомного профиля, как факторов формирования и прогрессирования заболевания. Реализация поставленной цели осуществлялась в два этапа.

Накопление экспериментальных и клинических данных о нарушениях функций эндотелия вен как центральном патофизиологическом звене ВБВ НК [26] привело к тому, что агенты, влияющие на этот процесс, рассматриваются, с одной стороны, как факторы прогнозирования неблагоприятных исходов, с другой стороны, как потенциальные мишени терапевтического воздействия. Показано, что активация эндотелиальных клеток сопряжена с интенсификацией экспрессии адгезивных молекул, способствующих инкорпорированию значительного числа активированных лейкоцитов и развитию воспаления при ВБВ НК [111]. Не вызывает сомнения, что морфофункциональные изменения эндотелиальной выстилки сосудов способствуют развитию варикозной трансформации вен, прогрессированию заболевания и его рецидива [336].

Наряду с традиционными факторами риска в литературе широко обсуждается важная роль метаболических предикторов эндотелиальной дисфункции при ВБВ НК. Одним из таких параметров является состояние ОАС [26]. Однако данные комплексной оценки маркеров оксидантного стресса и антиоксидантной способности на локальном и системном уровнях у пациентов с

ВБВ НК клинических классов С4 – С6 единичны и фрагментарны, а предположения о связи с клиническими характеристиками заболевания являются дискуссионными. Результаты настоящего исследования подтвердили, что состояние ОАС на системном и локальном уровнях у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 существенно отличается от такового у лиц КГ. В настоящем исследовании в качестве маркеров ОАС мы использовали показатели ТАС, ТOS, OSI, COD, GPx в плазме крови и образцах стенки патологически-измененных вен (ПИВ). Нами обнаружено, что изменения ОАС в плазме крови и стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4–С6 по сравнению с лицами КГ характеризовались более низкими статистически значимыми показатели ТАС и более высокими статистически значимыми показатели ТOS и OSI. Данный факт позволяет констатировать у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 наличие оксидантного стресса, определяемого как на системном (в крови), так и на локальном уровнях (в ПИВ). Полученные нами результаты частично соотносятся с данными работы Akar İ. et al. [27], согласно которой у пациентов с ВБВ НК в стенке ПИВ наблюдались более низкие статистически значимые показатели ТАС и более высокие статистически значимые показатели ТOS и OSI, в то время как значимой разницы по изучаемым показателям в плазме крови не было выявлено. Контрастирование полученных результатов может определяться некоторыми различиями в дизайне, а именно тем, что в нашем исследовании группа пациентов с ВБВ НК и группы лиц КГ1, КГ2 были сбалансированы по возрасту – 47,1 [38,4;52,3] лет, 48,4 [37,2;54,9] лет, 45,9 [33,0;53,2] лет соответственно и по наличию коморбидных соматических расстройств, включая сахарный диабет – 6 (5,9%) и 4 (4,1%), в то время как в предыдущем исследовании группа пациентов с ВБВ НК и группы лиц КГ1, КГ2 статистически значимо различались по возрасту – $31,03 \pm 8,59$ лет против $67,1 \pm 8,81$ лет и $43,73 \pm 10,8$ лет соответственно и по наличию сахарного диабета – 13,3%, против 66,7% и 10,0%. Кроме того, это может быть связано с тем, что мы включали в исследовании пациентов с клиническими классами С4–С6, в то время как в исследовании Akar İ. et al. [27] приняли участие пациенты с ВБВ НК клинического класса С2, и при этом классе, возможно,

системные изменения показателей TAC, TOS и OSI не столь очевидны. В этом контексте известно, что у пациентов с ВБВ НК нарушен уровень многих соединений в плазме крови, включая маркеры оксидантного стресса [337.]. Кроме того, число этих маркеров возрастает по мере увеличения клинического класса ХВН на поздних стадиях ВБВ НК, что свидетельствует о системных последствиях заболевания [47].

В свою очередь изменения ферментативного звена антиоксидантной системы у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 характеризовались статистически значимой более низкой активностью GPx и SOD в плазме крови и стенке ПИВ, что отражает недостаточность внутриклеточной антиоксидантной активности на системном и локальном уровнях и свидетельствует об усиленном потреблении этих ферментов в условиях интенсивного вовлечения в процесс окисления. Полученные нами данные частично соотносятся с результатами ранее выполненного исследования Норека А. et al. [28], согласно которому у пациентов с ВБВ НК по сравнению с лицами КГ отмечено статистически значимое снижение активности SOD в плазме крови, повышение активности SOD в стенке ПИВ и отсутствие статистически значимых различий между группами по активности GPx в плазме крови и стенке ПИВ. Несогласованность полученных данных, возможно, обусловлена тем, что в настоящей работе выборка обследованных включала пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, в то время как в работе Норека А. et al. [28] приняли участие пациенты с ВБВ НК клинического класса С4. Вместе с тем, Saribal D. et al. [26] описали более низкие уровни SOD в ВРВ яичников крыс, утверждая, что нелеченное варикоцеле может вызывать снижение активности антиоксидантных ферментов и усиливать клеточный апоптоз посредством экспрессии проапоптического гена Вах [338]. Представленные выше данные позволяют предположить наличие различий в показателях ОАС у пациентов с ВБВ НК в зависимости от клинического класса ХВН.

В настоящей работе установлено, что максимального повышения показатель OSI и максимального снижения показатели TAC, SOD и GPx в плазме крови и стенке ПИВ достигают при клиническом классе С6, что свидетельствует о более

выраженном смещении равновесия ОАС в сторону прооксидантной активности и может объясняться характерной для этого класса ХВН утратой контроля высвобождения из фагоцитов ионов Fe [339], которые, в свою очередь, в значительной степени индуцируют оксидантный стресс [340]. В настоящее время нет достоверных данных о взаимосвязи между изменениями показателей ОАС и тяжестью ХВН при ВБВ НК клинических классов С4–С6. Вместе с тем в исследовании Krzyściak W. et al. [30] отмечена сопряженность интенсивности оксидантного стресса с тяжестью ХВН у пациентов с ВБВ НК клинических классов С2 – С3. Полученная в нашем исследовании прямая сильная корреляция активности OSI на системном и локальном уровнях с тяжестью ХВН по классификации CEAP и СИП по шкале VCSS предполагает ее негативную роль в патофизиологии ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Известно, что в условиях клеточного оксидантного стресса избыточная генерация АФК путем активации секреции провоспалительных молекул инициирует и поддерживает воспаление [341]. В свою очередь тяжесть клинических проявлений ХВН сопряжена с выраженностью воспалительных процессов, обуславливающих непосредственное повреждение тканей на молекулярном уровне [342]. Например, в исследовании Lattimer C.R. et al. [343] было показано, что клинический класс ХВН значительно коррелирует с уровнем IL-6. В работе Шадрина А.С. и соавт. [344] сообщалось, что хроническое воспаление лежит в основе прогрессирования заболевания и возникновения трофических изменений у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Учитывая обратные корреляции между показателями TAC и SOD на системном и локальном уровнях с тяжестью ХВН по классификации CEAP и СИП по шкале VCSS и данные многофакторного логистического РА позволяют предложить применение данных антиоксидантных маркеров для прогнозирования тяжести течения ВБВ НК клинических классов С4 – С6, но в совокупности с OSI. В ходе анализа литературных данных нам не встретилось исследований, посвященных изучению характера взаимосвязи между показателями TAC и SOD с клиническим классом ХВН у пациентов с ВБВ НК. Вместе с тем, в работе Budzyń M. et al. [345] продемонстрировано, что у пациентов с клинически классом

С6 наблюдаются более низкие показатели ТАС по сравнению с пациентами клинических классов С2 – С4.

Нами также установлена тенденция к более выраженному оксидантному стрессу у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 по мере нарастания длительности заболевания (более 10 лет), что может быть сопряжено с истощением у этих пациентов эндогенных биоантиоксидантов в условиях выраженного и длительного перекисления липидов, а также замедлением их поступления в результате нарушения циркуляции и проницаемости клеточных мембран. По результатам исследования мы подтвердили наличие прямой взаимосвязи между показателями OSI на системном и локальном уровнях и длительностью ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Ранее выполненные исследования показали, что показатель OSI, отражающий отношение TOS к TAS, является точным индикатором интенсивности оксидантного стресса [346]. В литературе нами были найдены подобные корреляции у пациентов с псориазом [347].

Сочетанное рассмотрение в настоящем исследовании изменений показателей ОАС на системном и локальном уровнях у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 являлось актуальным ввиду изучения возможности использовать первые в качестве биохимических маркеров изменений ОАС в ПИВ как неинвазивного метода обследования. Нами обнаружены прямые взаимосвязи между плазменными показателями ТАС, TOS, OSI, SOD, GPx и аналогичными показателями в стенке ПИВ. В связи с этим представляется, что изменения показателей ОАС на системном уровне могут использоваться в качестве биохимических маркеров интенсивности оксидантного стресса на локальном уровне с целью мониторинга на фоне лечения и прогноза. Кроме того, полученные результаты позволяют предположить наличие сложных двунаправленных отношений между показателями ОАС на локальном и системном уровне. В работе Miguel A. et al. [348] продемонстрировано, что у пациентов с ВБВ НК оксидантный стресс, возникающий на тканевом уровне, имеет системные последствия и коррелирует с возрастом. Krzysciak W. et al. [349] изучили концентрацию MDA в стенке ПИВ у пациентов с ХВН до и после развития заболевания и показали

сопряженность между оксидантным стрессом и ХВН на локальном и системном уровнях с первых лет заболевания. Mikuła-Pietrasik J. et al. [350] сообщили, что повышение уровня оксидантного стресса сыворотки крови напрямую связано с увеличением пролиферации клеток, экспрессии маркеров старения SA- β -Gal и выработкой АФК в эндотелиальных клетках пупочной вены человека. Эти данные показывают, что наличие оксидантного стресса на системном уровне является основным фактором, вызывающим прогрессирование ВБВ НК [350].

Таким образом, наблюдаемые нами высокие уровни TOS и OSI при недостаточности ТАС и дефиците активности SOD и GPx в плазме крови и образцах стенки ПИВ, а также тесная ассоциация ТАС, SOD с тяжестью ХВН и OSI с длительностью заболевания позволяют предположить важную роль оксидантного стресса в патофизиологии ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

Негативная клиничко-прогностическая значимость инверсии экспрессии ангиогенных ростовых медиаторов VEGF и PDGF при ВБВ НК не вызывает сомнений [7,192]. В ряде исследований при ВБВ НК была продемонстрирована повышенная экспрессия VEGF в стенке ПИВ по сравнению с контролем [28, 84]. Наши результаты также свидетельствуют о статистически значимом повышении уровня VEGF в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Литературные данные указывают, что определенную роль в интенсификации активности VEGF играет оксидантный стресс [92, 192]. Однако характер взаимосвязи между уровнем этого ростового медиатора в стенке ПИВ и показателями ОАС на локальном и системном уровнях при ВБВ НК не установлен. Вместе с тем на модели *in vitro* была показана обратная корреляция между экспрессией VEGF и активностью SOD [351]. Более того, в одном из исследований *in vitro* выявлен положительный эффект назначения антиоксиданта в отношении снижения экспрессии VEGF в плазме крови мышей с атеросклерозом и возрастной макулярной дегенерацией [94]. В настоящем исследовании у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 выявлена статистически значимая обратная корреляция между активностью SOD в стенке ПИВ и плазме крови и уровнем VEGF в стенке ПИВ. Полученные данные позволяют считать низкую активность

SOD одной из возможных причин усиленной экспрессии VEGF при ВБВ НК клинических классов С4 – С6. В ранее выполненной экспериментальной работе на культуре HUVEC было показано, что введение SOD, конъюгированной с антителами, обеспечивающих ее доставку в эндотелиальные клетки, приводит к ослаблению АТФ-индуцированной экспрессии VEGF [352]. VEGF является наиболее мощной ангиогенной молекулой [353]. Есть данные, что усиленная экспрессия VEGF ассоциирована с интенсификацией иммунной адгезии, рекрутированием в ПИВ [83], повышением проницаемости венозной стенки [28] и прогрессированием ВБВ НК [31].

Старение уже давно признано независимым фактором риска развития ВБВ НК [109]. Растущий объем информации указывает на то, что миграция и пролиферация ГМК сосудов играют ключевую роль в процессе патологического старения сосудов. Как экспериментальные, так и клинические данные указывают на связь повышенного уровня PDGF в стенке вены с пролиферацией ГМК и прогрессированием сосудистого старения [108]. Тем не менее особенности экспрессии PDGF в стенке ПИВ при ВБВ НК недостаточно изучены. В настоящем исследовании выявлено статистически значимое повышение уровня PDGF в ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Кроме того, нами обнаружена прямая корреляция между показателем OSI в стенке ПИВ и плазме крови и уровнем PDGF в стенке ПИВ. Как уже указывалось выше, показатель OSI является точным индикатором интенсивности оксидантного стресса [346, 354]. В свою очередь избыточная генерация АФК признана связующим звеном между оксидантным стрессом и экспрессией PDGF. Описаны ассоциации между высоким уровнем молекул АФК и активацией экспрессии PDGF в фибробластах *in vitro* [355]. На клеточных культурах фибробластов было продемонстрировано, что повышенная экспрессия PDGF, интенсифицируя активность компонентов сигнального каскада Ras/ERK1/2, отвечающего за клеточный рост и дифференцировку, приводит к стимуляции синтеза коллагена, повреждению ДНК и ускорению старения [355].

Следует также отметить, что значимая роль в патофизиологии ВБВ НК отводится действию MMPs – деградантам компонентов ВКМ [356], среди которых

существенный интерес представляют MMP-2, MMP-9. Тем не менее данные об изменении этих MMP в ПИВ неоднозначны [28, 133], а информация о их связи с изменениями показателей ОАС при ВБВ НК клинических классов С4 – С6 отсутствует. Наши результаты свидетельствуют о статистически значимом повышении уровней MMP-2 и MMP-9 в стенке ПИВ и соответствуют результатам исследования Horecka A. et al. [28]. В ходе уточнения взаимосвязи между показателями ОАС и экспрессией изученных MMP нами выявлена сопряженность низкой концентрации ТАС в сыворотке крови и стенке ПИВ с высоким уровнем MMP-9 в стенке ПИВ. В ходе анализа литературных данных мы не встретили работ, посвященных изучению связи между активностью MMP-9 и ТАС у пациентов с ВБВ НК. Вместе с тем на модели *in vitro* была продемонстрирована сопряженность снижения антиоксидантной активности с параллельным снижением ее способности ингибировать экспрессию MMP-9 [357], что может быть опосредовано возникающей вследствие снижения активности ТАС интенсификацией прооксидантных ферментов, стимулирующих экспрессию MMPs [358]. Считается, что именно высота экспрессии MMP-9 является стержневым маркером верификации варикозной трансформации различной локализации, поскольку она отражает степень деградации ВКМ и факт наличия распространенной дезорганизации соединительной ткани [128, 359]. Повышенная экспрессия MMP-9 ассоциирована с интенсификацией коллагеновой активности, следствием которой является ремоделирование компонентов ВКМ и изменение эластичности сосудов [360]. Кроме того, повышенный уровень MMP-9 служит предиктором прогрессирования заболевания и критически сопряжен с соответствующими клиническими событиями и прогнозом [361]. В исследовании Kucukguven A. et al. [124] получены результаты, определяющие связь повышенной экспрессии MMP с интенсификацией воспалительных изменений и выраженностью фиброза в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК. Отдельного внимания, на наш взгляд, заслуживают изменения активности пролидазы – марганец-зависимого цитозольного фермента, который является членом MMPs и основным регулятором метаболизма ВКМ, поскольку играет важную роль в рециркуляции пролинсодержащих белков для

синтеза коллагена [211]. Согласно ряду исследований, у пациентов с ВБВ НК в стенке ПИВ наблюдается повышение активности пролидазы по сравнению с КГ [27, 134]. Однако полученные результаты преимущественно относятся к пациентам клинических классов С2 – С4. Настоящее исследование дополняет имеющиеся литературные сведения, продемонстрировав более высокую активность пролидазы в стенке ПИВ у пациентов с ВБ НК клинических классов С4 – С6 по сравнению с КГ. Полученные результаты позволяют предположить, что повышение уровня фермента пролидазы может играть определенную роль в патофизиологии ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Необходимо также отметить, что в настоящее время в научных публикациях все чаще указывается на существование связи между активностью пролидазы и показателями ОАС при широком спектре патологических состояний [141 - 144]. Однако данных, подтверждающих или опровергающих такую связь при ВБВ НК не найдено. В нашем исследовании получены результаты, определяющие взаимосвязь между повышенным показателем OSI, сниженным показателем ТАС и повышенной активностью пролидазы. Полагают, что причиной этой связи может служить стимулирующее влияние АФК на гены, кодирующие MMPs и провоспалительные цитокины [362]. Есть данные, что повышенная активность пролидазы сопряжена с лимитированием активности факторов, регулирующих биосинтез коллагена, активацией секреции $\text{NF-}\kappa\text{B}$ [140] и служит предиктором прогрессирования заболевания [139].

Рассматривая возможные механизмы патофизиологии ВБВ НК необходимо отметить важную роль аномального клеточного метаболизма [32]. В ряде работ показана связь между изменениями клеточного метаболомного профиля и развитием ВБВ НК клинических классов С1 – С3 [32, 363]. Вместе с тем в настоящий момент недостаточно освещены изменения метаболомного профиля при ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Нами проведен анализ клеточного метаболомного профиля в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Результаты настоящего исследования подтвердили, что клеточный метаболомный профиль в стенке ПИВ у этого контингента пациентов существенно отличается от такового у лиц КГ. Нами обнаружено, что изменения содержания

водных метаболитов в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 по сравнению с контролем характеризовались более высоким статистически значимым уровнем глутамата и более низкими статистически значимыми уровнями мио-инозитола и таурина. Полученные результаты частично согласуются с данным ранее выполненного исследования Anwar M.A. et al. [32], в котором сообщалось о повышении уровня указанных выше водных метаболитов в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С2 – С4. Данный факт может объясняться различием в дизайне, а именно избирательным включением в настоящее исследование пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, а также более строгим подходом при проведении метаболомного профилирования в КГ. Нами в качестве материала исследования в КГ использовались образцы ткани БПВ, а в указанном выше исследовании дополнительно использовались образцы вен из других анатомических областей, таких как шея и нижняя часть живота, которые подвергаются отличным от БПВ биомеханическим нагрузкам, что также могло исказить представленные результаты [32].

Среди выявленных нами ключевых водных метаболитов необходимо отметить глутамат, чья роль в развитии и прогрессировании ССП широко изучается в течение последних десятилетий. На данный момент накоплено достаточно данных о том, что глутамат, являясь непосредственным фактором клеточного протективного механизма, регулирует критические процессы в сосудистых клетках, включая пролиферацию, миграцию, апоптоз, старение и отложение ВКМ [364], а следовательно, может играть важную роль в ремоделировании стенок вен. Результаты исследований *in vitro* показали, что в эндотелиальных клетках, культивируемых в среде без глутамата, наблюдалось отсутствие пролиферации и синтеза ДНК, а также значительное замедление миграции [365]. Некоторые исследователи указывают на значимую роль глутамата в поддержании ОАС эндотелиальных клеток посредством генерации синтеза глутатиона [365]. Кроме того, Hsu C.S. et al. [366] показали, что физиологические уровни глутамата ингибируют экспрессию молекул адгезии и миграцию лейкоцитов в эндотелиальные клетки, активированные преэклампсией или мышьяком [366]. В

свою очередь введение глутамата усиливает мобилизацию эндотелиальных клеток-предшественников у мышей с сахарным диабетом и сепсисом [367, 368] и способствует эндотелий-зависимой дилатации у мышей и людей [369, 370]. Рядом авторов продемонстрирована способность глутамата ингибировать продукцию NO в культивируемых эндотелиальных клетках [371], одним из базовых эффектов которого является снижение контрактильности ГМК и последующая вазодилатация, что в итоге приводит к повышению гидростатического давления и ВБВ НК [372]. Liu X.M. et al. [373] сообщали, что выделяющийся из глутамата аммиак (NH_3) способствует выживаемости эндотелиальных клеток, а индуцируя экспрессию фермента гемоксигеназы может ингибировать оксидантный стресс, воспаление, активацию сосудистых ГМК и тонус сосудов. В исследовании Zhang Y. et al. [256] получены результаты, свидетельствующие о мощном антиоксидантном и противовоспалительном действии глутамата в системном кровообращении, в частности, за счет инициации экспрессии гемоксигеназы-1, белка теплового шока 70 и глутатиона. В некоторых исследованиях была подтверждена роль глутамата в минимизации воспалительных реакций посредством блокирования секреции провоспалительных медиаторов, экспрессии молекул адгезии, рекрутирования и инфильтрации иммунных клеток в ткани, а также путем увеличения процента альтернативно активированных макрофагов, поддерживающих разрешение воспаления [368].

Мио-инозитол является наиболее распространенным изомером инозитола. Пул научных работ, посвященных молекулярно-физиологическим эффектам мио-инозитола и его производным впечатляет. Так, число публикаций в реферируемых научных изданиях превышает 40 000 [374]. Показано, что мио-инозитол и его фосфат-производные, такие как инозитолфосфаты и фосфатидилиновые липиды представляют собой эссенциальные вторичные мессенджеры мембранных рецепторов, принимающие участие в координировании внутриклеточных сигнальных каскадов PI3K/Akt-пути [375]. Есть данные, что интенсификация активности PI3K/Akt -пути характерна для пациентов с венозным рефлюксом, в том числе ассоциирована с прогрессированием заболевания [59]. Ortega M.A. et al. [59]

продемонстрировали значительно более высокую активность PI3K/Akt-пути у молодых пациентов (<50 лет) с венозным рефлюксом по сравнению с пожилыми пациентами, что позволило авторам выдвинуть предположение о возможной его роли в ускоренном старении венозной стенки. Собственно заинтересованность мио-инозитола в сигнальных каскадах PI3K/Akt-пути и объясняет его роль в протекции метаболических реакций. Результаты анализа 120 инозитол-зависимых белков протеома человека показали, что более 50% из них вовлечены в защиту функционирования сердечно-сосудистой системы, иммунного ответа и структуры соединительной ткани, включая процессы заживления ран [374]. Согласно данным систематического анализа Лиманова О.А. и соавт. [374], мио-инозитол считается принципиально необходимым для реализации активности множества основополагающих регуляторных молекул, включая NO и VEGF, абберантное высвобождение которых, как известно, повышает проницаемость венозной стенки, способствуя инфильтрации иммунной адгезии [28] и рекрутированию в ВРВ [83]. Результаты экспериментального исследования Nascimento N.R. et al. [376] показали, что включение мио-инозитола в пищевой рацион значительно лимитирует выраженность эндотелиальной дисфункции при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете у крыс и кроликов. Авторы также отметили, что изомер мио-инозитола D-хиро-инозитол резко снижает оксидантный стресс и нормализует сигналинг NO в эндотелиальных клетках, возможный механизм которого может объясняться опосредованной модуляцией активации протеинкиназы C, активностью гемоксозамина и расширенным формированием конечного продукта гликирования [376]. Также сообщалось, что мио-инозитол участвует в нормализации концентрации внутриклеточного кальция, сигналинг которого является ключевым фактором регуляции сосудистого тонуса и функции, отвечающей за гидростатическое давление [377]. Экспериментальные наблюдения продемонстрировали противовоспалительную активность мио-инозитола. В частности, в работе Zhang Y. et al. [256] показано, что добавка мио-инозитола у крыс вызывала снижение уровня IL-6.

Таурин обладает мощной цитопротекторной [378] и осморегуляторной активностью [379]. Наряду с этим, модулируя метаболизм фосфолипидов – базового компонента клеточной мембраны, обуславливает мембраностабилизирующий эффект [379]. Результаты ряда экспериментальных исследований показали, что включение таурина в пищевой рацион существенно снижает выраженность эндотелийзависимой сосудистой релаксации при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете у крыс [380], что обусловлено влиянием таурина на ряд клеточно-молекулярных механизмов, включая интенсификацию биодоступности NO и ингибирование активности молекул адгезии сосудистого эндотелия 1 типа. Описан протективный эффект таурина в отношении эндотелиальных клеток сосудистой ткани в условиях индуцированной липопротеидами низкой плотности токсичности [381] и гомоцистеин-индуцированного стресса эндоплазматического ретикулума [382], возможный механизм которого может объясняться участием таурина в нивелировании пероксидации ненасыщенных липидов мембраны посредством ингибирования образования АФК и связывания свободных ионов железа и меди. В исследовании Lambert I.H. et al. [383] продемонстрировано, что таурин благодаря формированию N-хлортаурина оказывает плеiotропный эффект, модулируя продукцию цитокинов и эйкозаноидов: ингибирует синтез TNF- α , IL-6, IL-8. В контексте ВБВ НК повышенные уровни провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и TNF- α ассоциированы с недостаточностью венозного клапана [339]. Было показано, что вышеописанные эффекты таурина инспирируют исход ишемически-реперфузионного повреждения. У пациентов в постинфарктном периоде добавки таурина способствовали стабилизации электрической возбудимости мембран, одновременно снижая перегрузку ионами кальция и агрегационную способность тромбоцитов [384]. Имеются данные, свидетельствующие о роли таурина в подавлении пролиферации ГМК сосудов и регуляции активности фосфатазы, дефосфорилирующей рецептор PDGF, который является мощным хемоаттрактантом и пролиферативным фактором для ГМК. Известно, что ГМК, наиболее многочисленные клетки стенок сосудов, находясь в активном состоянии,

синтезируют значительное количество ингибиторов протеаз, что замедляет деградацию вновь синтезированных коллагеновых волокон [385]. Существуют данные об антиоксидантном действии таурина. В исследовании Fukuda T. et al. [386] показано, что таурин защищает клетки животных при оксидантном стрессе, интенсифицируя активность ферментов антиоксидантной системы. Ряд исследований продемонстрировал влияние таурина на активность SOD [387]. В частности, предобработка ГМК таурином предваряла обусловленное гомоцистеином ингибирование активности SOD. В работе Banks M. A. et al. [388] показано, что практически 40% альвеолярных макрофагов, экспоненцированных при 0,45 ppm озона на протяжении 30 минут в условиях недостатка таурина утрачивают жизнеспособность, в то время как в присутствии таурина клеточная гибель снижается до 15%. Указывалось, что в основе антиоксидантного эффекта таурина лежит модуляция содержания внутриклеточного кальция, снижение интенсивности ПОЛ и утраты глутатиона [379], который считается краеугольным скэвенжером аккумулируемых провоспалительными клетками оксидантных агентов, прежде всего, гипохлорной кислоты, способной вызывать повреждение ДНК *in vitro*.

Нами также обнаружены изменения содержания органических метаболитов в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Так, у пациентов с ВБВ НК классов С4 – С6 в стенке ПИВ содержание сфингомиелина было статистически значимо выше по сравнению с лицами КГ. Полученные нами результаты соотносятся с данными ранее выполненного исследования Tanaka H. et al. [33]. По современным представлениям, воспаление играет одну из ключевых ролей в развитии и прогрессировании ВБВ НК [92, 192]. Сфинголипиды принимают активное участие в формировании воспалительных процессов, являясь медиаторами апоптоза. Сфингомиелин считается одним из наиболее распространенных типов сфинголипидов. Аугментация внутриклеточной концентрации сфингомиелина отмечена при апоптозе, инициированном TNF- α [389]. Наряду с этим TNF- α может активизировать синтез сфингомиелина внутри клетки [390]. В контексте ВБВ НК TNF- α интересен тем, что он является мощным

функциональным активатором эндотелиальных клеток, нарушающий их рост *in vitro* и при определенных условиях может индуцировать апоптоз эндотелиальных клеток [391]. Помимо этого, повышенный уровень TNF- α коррелирует с увеличением сроков заживления трофической язвы при ВБВ НК. Имеются основания полагать, что модуляция секреции провоспалительных цитокинов сфинголипидами реализуется посредством коммуникации последних с промотерными участками генов внутри клеточного ядра. Следует отметить, что аугментация содержания дигидроцерамидов, инициируемая витамином E, ингибирует влияние TNF- α на такие внутриклеточные воспалительные медиаторы, как NF- κ B, под контролем которого находятся десятки генов [130], включая гены MMPs, VEGF, провоспалительных цитокинов и хемокинов.

Кроме этого, у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 в стенке ПИВ регистрировалось статистически значимое увеличение содержания широкого спектра фосфолипидов, включая фосфатидилсерин, фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин, которые являются ключевыми компонентами липидного биологического слоя и необходимы для жизнеспособности клеток. Полученные нами результаты не противоречат данным ранее выполненного исследования Anwar M.A. et al. [32]. Известно, что фосфолипиды активно участвуют во внутриклеточной передаче сигналинга и пролиферации клеток, определяют подвижность и проницаемость мембран, явления экзоцитоза и клеточной адгезии, развитие физиологических процессов и патологических реакций, старение и гибель клеток. Показано, что добавление фосфолипидов к мембранам вызывает резкое снижение продолжительности их жизни: инициирует образование и абсолютный рост липидных пор, генерируемых белковыми регуляторами апоптоза Вах [392]. Наибольший интерес представляет фосфатидилхолин. Являясь ключевым компонентом мембран и липидных мессенджеров, фосфатидилхолин принимает непосредственное участие в развитии клеточного цикла и пролиферации клеток. Аберрантная активация продуцирования фосфатидилхолина является следствием индукции пути PI3K/Akt. Есть данные, что повышенная активация этого пути характерна для пациентов с венозным рефлюксом, в том числе связана с

прогрессированием ВБВ НК [59]. Кроме того, было показано, что повышенный уровень фосфатидилхолина вследствие аугментации экспрессии холинкиназы сопряжен с гипоксией, поскольку ген, кодирующий ее, включает в себя индуцируемый гипоксией элемент в промоторной области. Это означает, что в условиях гипоксии, характерной для ВБВ НК, клетки будут повышать абсорбцию холина, что может привести к дальнейшему развитию клеточного цикла. Фосфатидилхолин также является субстратом для фосфолипазы А₂ (ФЛА₂). Известно, что ФЛА₂ вызывает гидролиз фосфатидилхолина до свободных жирных кислот, таких как арахидоновая кислота и лизофосфатидилхолин. В свою очередь арахидоновая кислота, входящая в структуру мембранных фосфолипидов тромбоцитов и эндотелиальных клеток, является молекулой-предшественником простагландинов и лейкотриенов, ответственных за хроническое воспаление [33]. В большинстве исследований сообщается о том, что у пациентов с ВБВ НК в стенках ПИВ содержится повышенный уровень простагландинов и лейкотриенов [393]. Одним из последствий повышенного уровня простагландинов и лейкотриенов является интенсификация локальной вазопроницаемости, приводящей к утолщению интимы. Лизофосфатидилхолин оказывает ростостимулирующий и цитоскелетный эффекты. Доказано, что этот фермент способен вызывать серьезные нарушения не только ультраструктуры и функций клеток, но и компоненты мембранных образований [394]. Лизофосфатидилхолин действует как внутриклеточный вторичный мессенджер либо метаболизируется в провоспалительные медиаторы, включая эйкозаноиды, PDGF и лизофосфатидиловую кислоту. Имеются сведения, что лизофосфатидилхолин выступает в роли хемоаттрактанта для моноцитов и Т-лимфоцитов, митогеном – для макрофагов, ингибирует эндотелийзависимое расслабление и мобильность эндотелиальных клеток. В результате, формирование лизофосфатидилхолина приводит к тканевому воспалению и нарушению гомеостаза.

Учитывая, что ВБВ НК рассматривается как мультифакториальное заболевание, в основе которого лежит инициированный венозным стазом каскад патологических инверсий на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях [47],

мы оценили связь между идентифицированными нами метаболитами в стенке ПИВ с тяжестью ХВН, показателями ОАС, ростовыми медиаторами и MMPs. Насколько нам известно, это первое контролируемое клиническое исследование, посвященное изучению данного аспекта у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Несмотря на то, что некоторые идентифицированные нами метаболиты могут являться общими для ряда других заболеваний, как локальных, так и системных, обнаруженная в нашем исследовании сопряженность сниженного содержания таурина и повышенного содержания сфингомиелина в стенке GBD и крови с более высокими баллами по шкале VCSS позволяют предположить, что изменения секреции этих метаболитов могут быть специфичными для данной когорты пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Мы полагаем, что терапевтическое повышение содержания таурина и снижение содержания сфингомиелина может быть эффективным в отношении смягчения тяжести заболевания, однако для подтверждения этой гипотезы необходимо дальнейшее проведение исследований с соответствующим дизайном. Кроме того, содержание таурина в стенке ПИВ обратно коррелировало с уровнем SOD в стенке ПИВ и плазме крови. В литературе имеются данные экспериментальных наблюдений о влиянии пероральной добавки таурина на повышение активности SOD в крови и тканях мышеч с сахарным диабетом [395], а также о значительном снижении генерации АФК [396]. Кроме того, в некоторых клинических исследованиях продемонстрирован положительный эффект таурина в отношении снижения интенсивности ПОЛ и повышения активности SOD у женщин с ожирением [397]. Хотя точный молекулярный механизм антиоксидантного действия таурина не до конца понятен, наиболее вероятным считается ингибирование активности АФК и восстановление тиоловых групп. В частности, в исследовании Schaffer S.W. et al. [398] показано, что таурин подавляет выработку супероксида в митохондриях. В целом, стимулирующее действие таурина на активность SOD, каталазы и GPx [399] приводит к значительному снижению генерации АФК. Нами также выявлена сопряженность низкого содержания таурина с повышенной экспрессией MMP-9 в стенке ПИВ. Аналогичные результаты продемонстрированы на модели

экспериментального оксидантного стресса, вызванного истощением глутатиона в сердце кролика: лечение таурином приводило к ингибированию повышенной экспрессии MMP-9 [400]. Эти результаты позволили предположить, что фармакологическое повышение содержания таурина представляет собой ценную стратегию превенции и/или лечения различных ССП [400]. И наконец, нами выявлена обратная связь между содержанием таурина и экспрессией VEGF. Подобная корреляция показана в экспериментальном исследовании Zeng K. et al. [401], уровень VEGF в сетчатке глаз крыс с сахарным диабетом значительно снижался при введении таурина. Высокое содержание сфингомиелина было сопряжено с повышенной экспрессией PDGF. Ранее роль сфинголипидов в опосредованном влиянии на экспрессию PDGF была продемонстрирована на линии клеток A7r5, производных гладких мышц сосудов. Сообщалось, что L-циклосерин – ингибитор синтеза сфинголипидов, подавлял стимуляцию синтеза ДНК как PDGF-AB, так и PDGF-BB. Эти данные позволили авторам предположить, что инициированная сфинголипидами экспрессия PDGF реализует его митогенные эффекты в сосудистых ГМК [402], чем и объясняется полученная в нашей работе ассоциация

Нами также обнаружены прямые взаимосвязи между плазменными показателями таурина и сфингомиелина и аналогичными показателями в стенке ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. В связи с этим представляется, что изменения этих показателей на системном уровне могут использоваться в качестве биохимических маркеров оценки клеточного метаболомного профиля на локальном уровне с целью мониторинга на фоне лечения и прогноза.

Кроме того, каждый из статистически значимых изученных нами показателей был проанализирован с точки зрения влияния на вероятность развития и прогрессирования ВБВ НК клинических классов С4 – С6 посредством многофакторного РА. В настоящем исследовании обнаружено, что наиболее значимыми независимыми предикторами развития и прогрессирования ВБВ НК клинических классов С4 – С6 являются более низкие в плазме крови и стенке вены

уровни TAC (ОШ 2,644 при 95% ДИ 1,866 – 3,001, $p=0,021$ и ОШ 0,995 при 95% ДИ 0,991 – 0,999, $p=0,005$ соответственно) , SOD (ОШ 3,128 при 95% ДИ 2,762 – 3,457, $p=0,007$ и ОШ 3,135 95% ДИ 2,616– 3,339, $p=0,004$ соответственно) и таурина (ОШ 3,216 при 95% ДИ 2,684 – 3,427, $p=0,007$ и ОШ 3,885 при 95% ДИ 2,881 – 4,251, $p=0,003$ соответственно), а также более высокие в стенке вены уровни VEGF (ОШ 2,776 при 95% ДИ 2,368 – 3,691, $p=0,003$), PDGF (ОШ 2,308 при 95% ДИ 1,772 – 2,689, $p=0,006$), MMP-9 (ОШ 2,241 при 95% ДИ 1,964– 2,634, $p=0,002$), в плазме крови и стенке вены уровень сфингомиелина (ОШ 2,294 при 95% ДИ 1,948 – 2,560, $p=0,038$ и ОШ 2,129 при 95% ДИ 1,698– 2,603, $p=0,038$ соответственно).

Обобщая полученные нами результаты 1-го этапа исследования можно заключить следующее:

1. При ВБВ НК клинических классов С4 – С6 имеет место высокий уровень оксидативного стресса на локальном и системном уровнях, что подтверждалось повышением в стенке ПИВ и плазме крови показателей TOS и OSI, сопровождающийся дефицитом активности факторов антиоксидантной защиты, а именно TAC, COD и GPx при статистически значимой тесной ассоциации показателей TAC, SOD с тяжестью ХВН и OSI с длительностью заболевания.

2. Изменения экспрессии ростовых медиаторов и MMHs в ПИВ при ВБВ НК клинических классов С4 – С6 характеризуются статистически значимым повышением уровней VEGF, PDGF, MMP-2, MMP-9 и пролидазы.

3. Клеточный метаболомный профиль в ПИВ у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 характеризуется нарушениями в белково-липидном обмене: статистически значимым снижением содержания таурина, мио-инозитола, триглицеридов, церамидов и статистически значимым повышением содержания глутамата, сфингомиелинов, фосфатидилсеринов, фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламинами. При этом сниженный уровень таурина и повышенный уровень сопряжены с повышением тяжести ХВН.

4. Низкие уровни TAC, SOD и таурина, а также высокие уровни VEGF, PDGF, MMP-9 и сфингомиелина являются основными независимыми предикторами развития и прогрессирования ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

5. Анализ межсистемных взаимосвязей свидетельствует о сопряженности изменений показателей ОАС и клеточного метаболомного профиля и их существенном влиянии на уровень VEGF, PDGF, MMP-9, что указывают на целесообразность коррекции окислительного гомеостаза и метаболомного профиля как патофизиологических звеньев развития и прогрессирования ВБВ, а также возможность использования динамику показателей TAC, SOD, таурина и сфингомиелина в качестве маркеров эффективности комплексного лечения.

К настоящему времени приоритетным методом лечения пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, способным положительно влиять на течение заболевания и прогноз пациентов, является хирургическое вмешательство с использованием минимально инвазивных технологий [403]. Однако частота послеоперационного рецидива ВБВ НК продолжает оставаться на высоком уровне, достигает 21,4% – 22% в течение двух лет после ОВ [24, 25] и представляет актуальную проблему современной хирургии. Рядом исследователей показано, что развитие рецидива ВБВ НК может быть обусловлено хроническим прогрессирующим характером заболевания [24]. Так, O'Donnell T.F. et al. [24] продемонстрировали, что из 1450 пациентов у 73,3% прогрессирование заболевания является независимым фактором развития послеоперационного рецидива ВБВ НК. В основе одной из признанных концепций прогрессирования ВБВ НК и, как следствие, развития рецидива лежит представление о сохраняющемся хроническом оксидантном стрессе, поддерживаемом сниженной активностью антиоксидантной защиты как о важном патофизиологическом механизме неблагоприятного течения заболевания. В этом контексте большой интерес представляет применение доступных и безопасных средств, рекомендованных непосредственно для повышения антиоксидантной активности. Целесообразность применения метода озонотерапии – известного эффективного блокатора оксидантного стресса при широком спектре патологических состояний не вызывает сомнений. Его способность индуцировать модуляцию генов, участвующих в механизме транскрипции С-терминального домена малой фосфатазы 1 (CTDSP1), запуск которого повышает экспрессию множества

антиоксидантных ферментов, включая глутатион [235], SOD [240], каталазу, NAD, белки теплового шока и ферменты II фазы клеточного ответа, таких как HO-1 и NQO1[248] была подтверждена в ряде исследований. Более того, ранее проведенные исследования продемонстрировали положительное влияние озонотерапии на уровень КЖ пациентов [274]. Доказана способность озона улучшать прогноз у пациентов с ВБВ НК клинического класса С6 [404].

Точно также и Вассел Дуэ Ф – известный доступный препарат, представляющий собой смесь ГАГ и дерматосульфата, с минимумом побочных эффектов доказал возможность интенсифицировать активность антиоксидантной системы. In vivo пероральное введение сулодексида способствовало значительному повышению экспрессии SOD и снижению экспрессии MDA [405]. Шевченко Ю. и соавт. [406] описали опыт применения сулодексида после хирургического вмешательства у пациентов с ВБВ НК клинического класса С4 и показали, что данный препарат способствовал более выраженному снижению тяжести заболевания, увеличению перфузии тканей, улучшению микроциркуляции оперированной конечности и повышению КЖ. Кроме того, результаты выполненного нами первого этапа исследования свидетельствуют о значимой роли изменений клеточного метаболомного профиля в развитии и прогрессировании ВБВ НК клинических классов С4 – С6. А в свежем экспериментальном исследовании подтверждена способность сулодексида модулировать клеточные метаболические процессы посредством интенсификации внутриклеточного белка p62, участвующего в регуляции аутофагии [305]. Все эти сведения побудили нас предположить, что позитивные эффекты озонотерапии O₂O₃ и Вассел Дуэ Ф могут способствовать ослаблению прогрессирования заболевания, повышению эффективности хирургического вмешательства и способствовать снижению риска развития послеоперационного рецидива в столь сложной когорте пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6. Поэтому второй этап диссертационной работы был посвящен интегративной оценке эффективности предложенного нами способа комплексного лечения, включающего минимально инвазивное ОВ в сочетании с 1-ых послеоперационных суток с озонотерапией O₂O₃ (400 мл озонированного 0,9%

раствора натрия хлорида с концентрацией озона 2500 мкг/л в течение 10 дней внутривенно) и антикоагулянтом прямого действия Вессел Дуэ Ф (в дозе 2мл (300 ЛЕ/мл) в течение 15 дней внутримышечно с последующим переходом на пероральный прием 500 ЛЕ в течение 30 дней). Нами были запланированы 3 конечных контрольных точки. В качестве 1-й (промежуточной) (на 20-й день после ОВ) и первичной конечной точки 2 (на 45-й день после ОВ) использовалась динамика показателей ТАС, SOD, таурина и сфингомиелина в плазме крови. Конечная точка 3 (комбинированная) – через 2 года после ОВ, включала оценку изменения класса по классификации CEAP, частоты рецидива, динамики баллов по клинической шкале VCSS и опроснику CIVIQ-2.

Полученные в настоящем исследовании данные полностью подтвердили нашу гипотезу. Применение предложенного способа комплексного лечения способствовало статистически значимым и более существенным, чем в ГС, изменениям биохимических маркеров окислительного гомеостаза. На 20-й день после ОВ у пациентов группы комплексного лечения наблюдалось значительное повышение в плазме крови показателя ТАС по сравнению с исходными на 19,6% ($p=0,046$), а на 45-й день – и по сравнению с показателем пациентов ГС на 16,8 % ($p=0,042$), при том что в ГС изменения в плазме крови показателя ТАС не имели статистической значимости за весь период исследования. Заметные отличия касались и активности SOD. У пациентов группы комплексного лечения статистически значимое повышение в эритроцитах активности SOD по сравнению с исходным произошло на 20-й день после ОВ, а у пациентов в ГС не отмечалось даже на 45-й день. Обращает на себя внимание, что у пациентов группы комплексного лечения как на 20-й, так и на 45-й день после ОВ активность SOD в эритроцитах значительно превышала показатель у пациентов ГС ($p=0,046$, $p=0,038$ соответственно). Более того, к 45-у дню после ОВ у пациентов группы комплексного лечения показатель активности SOD в эритроцитах не отличался от нормативного значения.

Статистически значимо и более существенно у пациентов группы комплексного лечения по сравнению с пациентами ГС изменялся и уровень

клеточных метаболитов: уже к 20-у дню после ОВ показатель таурина в плазме крови был статистически значимо выше не только по сравнению с исходным на 39,8 % ($p=0,032$), но и по сравнению с показателем пациентов ГС на 26,5% ($p=0,032$) и не имел значимых различий с нормативным показателем с устойчивостью межгрупповых статистически значимых различий на 45-й день после ОВ ($p=0,038$). У пациентов группы комплексного лечения на 20-й день после ОВ было достигнуто статистически значимое снижение в плазме крови показателя сфингомиелина по сравнению с исходными на 14,0% ($p=0,048$), а на 45-й день и по сравнению с показателем пациентов ГС на 24,9 % ($p=0,002$). К 45-у дню после ОВ у пациентов группы комплексного лечения показатель сфингомиелина в плазме крови практически не отличался от нормативного значения. Полученные результаты подтверждают целесообразность предложенного способа комплексного лечения с целью восстановления окислительного гомеостаза и клеточного метаболомного профиля.

В отдаленном послеоперационном периоде именно регресс клинического класса и снижение тяжести признаков ХВН рассматриваются как важные критерии эффективности хирургического лечения ВБВ НК в большинстве исследований. Полученные нами результаты свидетельствуют о высокой клинической эффективности предложенного способа комплексного лечения у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, что нашло подтверждение в статистически значимом снижении клинического класса ХВН по классификации СЕАР у 79%, в то время как в ГС у 46,1% пациентов ($p=0,004$). Обращает на себя внимание, что у всех 100,0% пациентов группы комплексного лечения отмечен регресс клинического класса С6, а в ГС лишь у 45%. Отношение шансов иметь регресс клинического класса С6 составило 2,222 (95% ДИ: 1,911– 2,534, $p=0,001$) при комплексном лечении по сравнению с ГС. Считаем это особенно важным в свете доказательств того, что венозные трофические язвы являются ведущей причиной значительного ухудшения качества жизни, потери трудоспособности, высокого уровня инвалидизации и существенных затрат на их лечение [407]. В настоящем исследовании динамика баллов по клинической шкале VCSS отражала

значительное улучшение клинического статуса в обеих группах пациентов. Однако, что немаловажно, комплексное лечение оказалось более результативным. К концу наблюдения (2 года после ОВ) у пациентов в группе комплексного лечения по сравнению с ГС более существенно снизился СИП по клинической шкале VCSS (– 9 баллов против – 5 баллов, $p=0,022$). По данным некоторых авторов рецидив ВБВ НК в течение двух лет после ОВ достигает 21,4% – 22% [24, 25], у нас показатель – 11,8% в ГС и 2,5% в ОГ. Обращает на себя внимание, что предложенный способ комплексного лечения позволяет снизить риск развития рецидива ВБВ НК в 4,7 раза (отношение шансов составило 5,107; 95% ДИ: 4,565 – 5,668, $p=0,007$). Это подчеркивает клиническую эффективность предложенного способа комплексного лечения и подтверждает положительные эффекты озонотерапии/ Вессел Дуэ Ф при ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

Тема изучения КЖ пациентов с ВБВ НК в отдаленном послеоперационном периоде привлекает возрастающее внимание исследователей. Считается, что хирургическая стратегия при ВБВ НК должна быть направлена не только на нивелирование симптомов ХВН и снижение риска развития рецидива, но и на максимально возможное повышение КЖ пациентов. Поэтому одним из значимых результатов настоящего исследования является подтверждение более выраженного положительного влияния предложенного нами способа комплексного лечения на КЖ пациентов по сравнению с пациентами ГС. Так, через 2 года после ОВ у пациентов группы комплексного лечения отмечалось статистически значимое улучшение КЖ не только по сравнению с исходным на 73,5% (ОИ КЖ по опроснику CIVIQ-2 54,3 [50,8;57,2] баллов против 31,3 [29,0;34,2] баллов соответственно, $p=0,001$), но и по сравнению с пациентами ГС на 31,3 % (ОИ КЖ по опроснику CIVIQ-2 41,1 [38,5;45,0] баллов, $p=0,032$).

Нами также была проанализирована прогностическая значимость констелляции изученных патофизиологически различных плазменных биомаркеров: ТАС, SOD, таурина и сфингомиелина с точки зрения их влияния на неблагоприятный послеоперационный исход (в течение периода наблюдения – 2 года после ОВ стабильность или прогрессивное повышение клинического класса

ХВН, константный показатель или рост суммарной оценки по шкале VCSS, константный показатель или повышение суммарной оценки КЖ по опроснику CIVIQ-2). Использование в мультимаркерном анализе двух и более биомаркеров различных патофизиологических классов предоставляет возможность извлечь аксессуарную прогностическую информацию и является представляется сообразной и точной современной стратегией стратификации риска у пациентов с сосудистой патологией, требующих повышенного внимания [408]. Неблагоприятные послеоперационные исходы зарегистрированы у 38,2% из 157 пациентов. Однако необходимо констатировать, что у пациентов в группе комплексного лечения неблагоприятные послеоперационные исходы наблюдались в 2,4 раза реже по сравнению с пациентами ГС ($p=0,001$). Данные ROC-анализа указывают, что тремя наиболее значимыми предикторами негативных послеоперационных исходов являются: уровень ТАС $<339,2$ нмоль/мл через 45 дней после выполнения ОВ с чувствительностью 74,3% и специфичностью – 75,9% ($AUC=0,601$), уровень SOD $<12,8$ ЕД/мл через 20 дней после выполнения ОВ с чувствительностью 94,8% и специфичностью – 86,7% ($AUC=0,952$), уровень таурина $<31,6$ мкмоль/л в предоперационном периоде с чувствительностью 67,3%, специфичностью 90,5% ($AUC=0,709$) и $<38,1$ мкмоль/л через 20 дней после выполнения ОВ с чувствительностью 61,8% и специфичностью 93,4% ($AUC=0,643$). Считаем целесообразным включение этих показателей в панель биомаркеров для прогнозирования риска развития неблагоприятных послеоперационных исходов у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

Полученные данные по профилю безопасности свидетельствуют о хорошей переносимости предложенного способа комплексного лечения, включающего минимально инвазивное ОВ в сочетании с озонотерапией и препаратом Вессел Дуэ Ф (сулодексид).

Таким образом, предложенный нами способ комплексного лечения, включающий минимально инвазивное ОВ в сочетании с озонотерапией и препаратом Вессел Дуэ Ф (сулодексид) представляет собой эффективный и безопасный путь потенцирования эффективности хирургического вмешательства

при ВБВ НК клинических классов С4 – С6, позволяющий достигать нормализации окислительного гомеостаза и клеточного метаболомного профиля, снижать клинический класс ХВН и риск развития рецидива, что можно интерпретировать как замедление прогрессирования заболевания. Более того, отмечено позитивное влияние предложенного способа комплексного лечения на все компоненты КЖ пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение необходимо подчеркнуть, что проведенное исследование актуально не только с научной, но и клинической точки зрения. Установление межсистемных взаимодействий между изменениями показателями ОАС и клеточного метаболомного профиля, их значимой роли в экспрессии ангиогенных ростовых медиаторов и MMPs, установление основных факторов, тесно ассоциированных с развитием и прогрессированием ВБВ НК клинических классов С4 – С6, а также с неблагоприятными послеоперационными исходами, позволит специалистам своевременно определить пациентов с высоким риском развития этого заболевания, требующих пристального внимания и более активных лечебно-диагностических мероприятий. Применение предложенного способа комплексного лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6, включающего минимально инвазивное ОВ в сочетании с 1-ых послеоперационных суток с озонотерапией (400 мл озонированного 0,9% раствора натрия хлорида с концентрацией озона 2500 мкг/л в течение 10 дней внутривенно) и препаратом Вессел Дуэ Ф (сулодексид) (в дозе 2 мл (300 ЛЕ/мл) в течение 15 дней внутримышечно с последующим переходом на пероральный прием 500 ЛЕ в течение 30 дней) позволило улучшить результаты хирургического лечения и обеспечить повышение КЖ пациентов. Доказательства высокой клинической эффективности предложенного способа комплексного лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6 позволяет рекомендовать его к широкому внедрению в практическое здравоохранение.

ВЫВОДЫ

1. На основании комплексной оценки показателей ОАС у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей клинических классов С4 – С6 установлено на локальном и системном уровнях статистически значимое повышение показателей TOS ($p < 0,001$, $p = 0,046$) и OSI ($p < 0,001$, $p = 0,027$) при недостаточности ТАС ($p = 0,003$, $p < 0,001$) и дефиците активности SOD ($p = 0,001$, $p = 0,042$) и GPx ($p = 0,003$, $p = 0,002$ соответственно). Установлена обратная корреляция класса ХВН с показателями на локальном и системном уровнях ТАС ($r = -0,62$; $p = 0,011$, $r = -0,57$; $p = 0,002$), SOD ($r = -0,64$; $p = 0,011$, $r = -0,59$; $p = 0,001$) и прямая корреляция длительности заболевания с показателем OSI ($r = 0,54$; $p = 0,001$, $r = 0,52$; $p = 0,001$ соответственно), что подтверждает факт наличия оксидантного стресса и его сопряженность с клиническими характеристиками.

2. У пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 установлено на локальном уровне статистически значимое повышение экспрессии ангиогенных медиаторов – VEGF ($p = 0,001$), PDGF ($p = 0,040$) и металлопротеиназ – MMP-2 ($p = 0,022$), MMP-9 ($p = 0,012$), пролидазы ($p < 0,001$), играющих ключевую роль в прогрессировании заболевания.

3. Профиль изменений клеточных метаболитов у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 характеризовался статистически значимым снижением уровней таурина ($p = 0,003$), мио-инозитола ($p = 0,011$), триглицеридов ($p = 0,002$), церамидов ($p = 0,012$) и статистически значимым повышением уровней глутамата ($p < 0,0001$), сфингомиелинов ($p = 0,0007$), фосфатидилсеринов ($p = 0,003$), фосфатидилхолинов ($p = 0,009$), фосфатидилэтаноламинами ($p = 0,004$), что указывает на инверсию белково-липидного обмена. Установлена корреляция СИП по шкале VCSS с показателями таурина ($r = -0,54$; $p = 0,002$) и сфингомиелина с ($r = 0,52$; $p < 0,001$).

4. На основании анализа межсистемных взаимодействий выявлена сопряженность изменений показателей ОАС и клеточного метаболомного профиля и доказано их влияние на уровень экспрессии ангиогенных медиаторов (VEGF, PDGF) и матриксных металлопротеиназ (ММР-9, пролидазы), что указывает на целесообразность коррекции окислительного гомеостаза и метаболомного профиля как патофизиологических звеньев развития и прогрессирования ВБВ.

5. Основными прогностическими маркерами развития и прогрессирования ВБВ НК клинических классов С4 – С6 (по результатам РА) являются на локальном и системном уровнях более низкие показатели ТАС (ОШ 0,995 при 95% ДИ 0,991 – 0,999, $p=0,005$ и ОШ 2,644 при 95% ДИ 1,866 – 3,001, $p=0,021$), SOD (ОШ 3,135 при 95% ДИ 2,616– 3,339, $p=0,004$ и ОШ 3,128 при 95% ДИ 2,762 – 3,457, $p=0,007$), таурина (ОШ 3,885 при 95% ДИ 2,881 – 4,251, $p=0,003$ и ОШ 3,216 при 95% ДИ 2,684 – 3,427, $p=0,007$) и более высокий уровень сфингомиелина ((ОШ 2,129 при 95% ДИ 1,698– 2,603, $p=0,038$ и ОШ 2,294 при 95% ДИ 1,948 – 2,560, $p=0,038$ соответственно), на локальном уровне – более высокие показатели (ОШ 2,776 при 95% ДИ 2,368 – 3,691, $p=0,003$), PDGF (ОШ 2,308 при 95% ДИ 1,772 – 2,689, $p=0,006$) и ММР-9 (ОШ 2,241 при 95% ДИ 1,964– 2,634, $p=0,002$).

6. Предложенный способ комплексного лечения, включающий минимально инвазивное ОВ потенцированное озонотерапией и применением препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид), является эффективным в отношении коррекции окислительного гомеостаза и клеточного метаболомного профиля у пациентов с ВБВ НК клинических классов С4 – С6, что подтверждалось более ранним восстановлением плазменных маркеров активности антиоксидантной системы и клеточного метаболизма: показатели SOD и таурина были статистически значимо выше на 20-й день после ОВ ($p=0,046$ и $p=0,036$ соответственно), показатель ТАС статистически значимо выше ($p=0,042$) и показатель статистически значимо ниже ($p=0,038$) на 45-й день после ОВ по сравнению с группой стандартного хирургического лечения. Установлены информативные предикторы эффективности лечения (независимо от особенностей периоперационного ведения): плазменные показатели ТАС, SOD, таурина.

7. Оценка отдаленных результатов (через 2 года после ОВ) показала высокую клиническую эффективность предложенного способа комплексного лечения: значительное редуцирование тяжести ХЗВ, что подтверждалось статистически значимым регрессом клинического класса ХВН по классификации СЕАР – 79,0% против 46,1% в группе стандартного лечения (ОШ 1,632 при 95% ДИ 1,337– 1,819, $p=0,004$), снижением СИП по шкале VCSS – 5,4 [4,2;6,6] баллов против 8,8 [7,7; 9,9] баллов ($p=0,022$) и частоты развития рецидива – 2,5% против 11,8% (ОШ 5,107 при 95% ДИ 4,565 – 5,668, $p=0,007$) , а также улучшение КЖ пациентов по опроснику CIVIQ-2 – ОИ КЖ 31,3 [29,0;34,2] баллов против 41,1 [38,5;45,0] баллов соответственно ($p=0,002$ соответственно), что является убедительным доказательством в пользу целесообразности потенцирования хирургического вмешательства озонотерапией и применением препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид) при ВБВ НК клинических классов С4 – С6.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с ВБВ НК клинических классов С4 – С6 в предоперационном периоде целесообразно включать в комплексную диагностику мониторинг показателя таурина в плазме крови для формирования группы пациентов повышенного риска прогрессирования заболевания и вероятности развития рецидива. Уровень таурина $<31,6$ мкмоль/л является прогностически значимым.

2. Для оценки эффективности лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6 и его своевременной коррекции в послеоперационном периоде необходимо проводить контроль таких прогностических маркеров, как уровень SOD и таурина на 20-ый день после ОВ, уровень ТАС на 45-ый день после ОВ. Уровни ТАС $<339,2$ нмоль/мл, SOD $<12,8$ ЕД/мл, таурина $<38,1$ мкмоль/л являются критическими в развитии неблагоприятных исходов.

3. Результаты настоящего исследования показали тесную корреляцию между показателями ТАС, SOD, таурина на локальном и системном уровнях, поэтому считаем достаточным определение плазменных уровней, позволяющих судить об изменениях, происходящих в стенке вены.

4. С целью потенцирования эффективности хирургического лечения ВБВ НК клинических классов С4 – С6 рекомендуется применение предложенного способа комплексного лечения, включающего выполнение ОВ (ЭВЛК, ЭВЛК с минифлебэктомией) в сочетании с проведением озонотерапии с 1-ых послеоперационных суток в течение 10 дней в режиме 1 сеанс в день посредством внутривенного капельного введения 400 мл озонированного 0,9% раствора натрия хлорида с концентрацией озона 2500 мкг/л и препаратом Вессел Дуэ Ф (сулодексид) с 1-ых послеоперационных суток внутримышечно в дозе 2 мл (300 ЛЕ/мл) с интервалом 24 часа в течение 15 дней с последующим переходом на пероральный прием 500 ЛЕ 2 раза в день в течение 30 дней.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК	- активные формы кислорода
БПВ	- большая подкожная вена
ВБВ НК	- варикозная болезнь вен нижних конечностей
ВКМ	- внеклеточный матрикс
ВРВ	- варикозно-расширенная вена
ВЭЖХ	- высокоэффективная жидкостная хроматография
ГМК	- гладкомышечные клетки
МС	- масс-спектрометрия
ОВ	- оперативное вмешательство
ПИВ	- патологически-измененная вена
ССП	- сердечно-сосудистая патология
ХВН	- хроническая венозная недостаточность
ХЗВ	- хронические заболевания вен
УЗДАГ	- ультразвуковое дуплексное ангиосканирование
ЭВЛК	- эндовазальная лазерная коагуляция
ЯМР ¹ H	- спектрометрия ядерного магнитного резонанса
GPx	- глутатионпероксидаза
ILF-1 α	- гранулоцитарно-моноцитарно-колониестимулирующий фактор
HUVEC	- эндотелиальные клетки пупочной вены человека
IL	- интерлейкин
MDA	- малоновый диальдегид
MMP	- матриксная металлопротеиназа
MMPs	- семейство матриксных металлопротеиназ
NO	- оксид азота
NF- κ B	- ядерный фактор каппа-би
Nrf2	- ядерный фактор-эритроид 2-сопутствующий фактор 2

OSI	- индекс окислительного стресса
PDGF	- тромбоцитарный фактор роста
SOD	- супероксиддисмутаза
TAC	- общая антиоксидантная способность
TOS	- тотальный окислительный статус
VEGF	- vascular endothelial growth factor

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дифференциально экспрессирующиеся гены при варикозной болезни нижних конечностей / М. А. Сметанина, Ф. А. Сипин, Е. И. Селиверстов [и др.] // Флебология. – 2020. – Т. 14, № 2. – С. 122-134.
2. Лечение венозной трофической язвы на фоне вторичного артериовенозного свища / А. Г. Хитарьян, А. А. Орехов, А. А. Леденев [и др.] // Флебология. – 2020. – Т. 14, № 2. – С. 155–160.
3. Варикозная болезнь нижних конечностей в общехирургической практике / Е. А. Корымасов, В. Ю. Богачев, Е. П. Кривошеков [и др.]. - М.: Самарский государственный медицинский университет МЗ Рос- сии, 2016. – 254 с.
4. Хронические заболевания вен у лиц с избыточной массой тела и морбидным ожирением / А. Г. Хитарьян, С. С. Бурцев, А. А. Орехов [и др.] // Флебология. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 17-22.
5. Дибиров, М. Д. Исследование биохимических показателей в биоптатах стенок вен нижних конечностей при варикозной болезни / М. Д. Дибиров, Т. П. Вавилова, А. В. Минаев // Флебология. – 2019. – Т. 13, № 2. – С. 141-145.
6. Эпидемиология хронических заболеваний вен среди сельских жителей Таджикистана / Д. Д. Султанов, Е. Л. Калмыков, А. Д. Гаибов [и др.] // Флебология. – 2019. – Т. 13, № 4. – С. 307-313.
7. Nicolaides, A. N. Burden and suffering in chronic venous disease / A. N. Nicolaides, N. Labropoulos // Adv Ther. – 2019. – Vol. 36, Suppl 1. – P. 1-4.
8. Prevalence and risk factors for chronic venous disease in the general russian population / I. A. Zolotukhin, E. I. Seliverstov, Y. N. Shevtsov [et al.] // Eur J Vasc Endovasc Surg. – 2017. – Vol. 54, № 6. – P. 752-758.
9. VCP Coordinators. Epidemiology of chronic venous disorders in geographically diverse populations: results from the Vein Consult Program / E. Rabe, A. Puskas, A. Scuderi, F. Fernandez Quesada // Int. Angiol. – 2012. – Vol. 31, № 2. – P. 15-

115.

10. Influence of age, gender, duration of illness, and symptoms on pigmentation/ulceration in varicose veins of the great saphenous system / P. Dhakal, . R/ M. Karmacharya, S. Vaidya [et al.] // *Phlebolympology*. - 2020. – Vol. 27, № 3. – P. 106-112.

11. Maly, S. J. Ten conclusions after ten years' experience in radical endovenous laser therapy of lower extremity varicose veins / S. J. Maly // *J Phlebol Lymphol*. - 2017. – Vol. 10. – P. 1-4.

12. Clinical and genetic determinants of varicose veins: prospective, communitybased study of $\approx 500\,000$ individuals / E. Fukaya, A. M. Flores, D. Lindholm [et al.] // *Circulation*. – 2018. – Vol. 138. – P. 2869-2880.

13. Дибиров, М. Д. Лечение венозных трофических язв при варикозной недостаточности у лиц пожилого и старческого возраста / М. Д. Дибиров // *Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия*. - 2015.- № 3-4.- С. 12-16

14. Сушков, С. А. Комплексное лечение пациентов с посттромботической болезнью нижних конечностей / С. А. Сушков, Ю. С. Небылицин, И. В. Самсонова, Н. А. Смолянец // *Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова*. - 2016. - № 1.- С. 75-85.

15. Сравнительный анализ параметров пациентов, страдающих варикозной болезнью вен нижних конечностей и потребителей лекарственных средств / Е. А. Белоусов, О. В. Белоусова, И. А. Бевз, П. Е. Белоусов // *Научный результат. Медицина и фармация*. - 2016. - Т. 2, № 3. - С. 28-33.

16. Лонуа, Р. Качество жизни и расходы при хронических заболеваниях вен: мировые данные из исследовательской программы Vein Consult Program: избр. тезисы XVII Всемирного конгресса Международного союза флебологов (Бостон, США, 8-13 сент. 2013 г.) / Р. Лонуа. – Бостон, 2013. - С. 2 - 3.

17. Abelyan, G. A case-control study of risk factors of chronic venous ulceration in patients with varicose veins / G. Abelyan, L. Abrahamyan, G. Yenokyan // *Phlebology*. – 2018. – Vol. 33. – P. 60 - 67.

18. Mathes, B. M. Clinical manifestations of lower extremity chronic venous disease [Electronic source] / B. M. Mathes, L. S. Kabnick. - In: Collins KA (Ed.), UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc., 2019. – URL: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-of-lower-extremity-chronic-venous-disease>
19. Клинические рекомендации. Варикозное расширение вен / А. А. Камаев, В. Л. Булатов, П. Е. Вахрастьян [и др.] // Флебология. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 41—108.
20. Калмыков, Е. Л. Эндовазальная лазерная коагуляция в лечении варикозной болезни / Е. Л. Калмыков, А. Д. Гаибов, М. С. Иноятов // Новости хирургии. – 2013. – Т. 21, № 5. – С. 91-100.
21. Оценка результатов флебэктомии без лигирования несостоятельных перфорантных вен при варикозной болезни вен нижних конечностей / Р. Е. Калинин, И. А. Сучков, И. Н. Шанаев [и др.] // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 2017. – Т. 176, № 1. – С. 46-51.
22. Бурлева, Е. П. К вопросу о стриппинге большой подкожной вены / Е. П. Бурлева, О. А. Смирнов, С. А. Тюрин // Флебология. – 2017. – Т. 11, № 2. – С. 76-82.
23. Богачев, В. Ю. Хронический венозный отек (С3 по СЕАР): новые международные рекомендации и консенсусы / В. Ю. Богачев, О. В. Голованова, А. Н. Кузнецов // Ангиология и сосуд. хирургия. – 2013. – Т. 19, № 3. – С. 75-82.
24. Сохранение или облитерация большой подкожной вены в хирургии варикозной болезни нижних конечностей: отдаленные результаты моноцентрового исследования / И. Н. Игнатович, Г. Г. Кондратенко, Н. М. Новикова, Е. И. Игнатович // Флебология. – 2020. – Т. 14, № 1. – С. 19-24.
25. Recurrence of varicose veins after endovenous ablation of the great saphenous vein in randomized trials / T. F. O'Donnell, E. M. Balk, M. Dermody [et al.] // Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders. – 2016. – Vol. 4, № 1. – P. 97-105.
26. Effects of the oxidative stress and genetic changes in varicose vein patients.

/ D. Saribal, E. M. Kanber, F. S. Hocaoglu-Emre, M. C. Akyolcu // *Phlebology*. - 2019. – Vol., 34, № 6. – P. 406-413.

27. Oxidative stress and prolidase enzyme activity in the pathogenesis of primary varicose veins / I. Akar, I. İnce, C. Aslan [et al.] // *Vascular*. – 2018. – Vol. 26, № 3. – P. 315-321.

28. Antioxidative mechanism in the course of varicose veins / A. Horecka, J. Biernacka, A. Hordyjewska [et al.] // *Phlebology*. – 2018. – Vol. 33, № 7. – P. 464-469.

29. Agrawal, A. Oxidative protein modification alters proteostasis under acute hypobaric hypoxia in skeletal muscles: a comprehensive in vivo study / A. Agrawal, R. Rathor, G. Suryakumar // *Cell Stress and Chaperones*. – 2017. - Vol. 22, № 3. – P. 429–443.

30. Krzyściak, W. Generation of reactive oxygen species by a sufficient, insufficient and varicose vein wall / Krzyściak W., Kózka M. // *Acta Biochim Pol*. – 2011. - Vol. 58. - P. 89-94.

31. Labropoulos, N. How does chronic venous disease progress from the first symptoms to the advanced stages? A review / N. Labropoulos // *Adv. Ther*. – 2019. – Vol. 36. – P. 13–19.

32. In-vitro identification of distinctive metabolic signatures of intact varicose vein tissue via magic angle spinning nuclear magnetic resonance spectroscopy / M. A. Anwar, J. Shalhoub, P. A. Vorkas [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg*. – 2012. – Vol. 44. – P. 442–450.

33. Imaging mass spectrometry reveals unique lipid distribution in primary varicose veins / H. Tanaka, N. Zaima, N. Yamamoto [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg*. – 2010. - Vol. 40, № 5. – P. 657-663.

34. Генетические основы хронических заболеваний вен нижних конечностей: обзор современных представлений / М. А. Сметанина, А. С. Шадрина, И. А. Золотухин, М. Л. Филипенко // *Флебология*. – 2016. – Т. 10, № 4. – С. 199 - 213.

35. Золотухин, И. А. Распространенность хронических заболеваний вен: результаты популяционного эпидемиологического исследования / И. А. Золотухин,

Е. И. Селиверстов, Ю. Н. Шевцов [и др.] // Флебология. - 2016.- Т. 10, № 3.- С. 119-125.

36. Эпидемиология хронических заболеваний вен / Е. И. Селиверстов, И. П. Авакьянц, А. С. Никишков, И. А. Золотухин // Флебология. - 2016.- Т. 10, № 1.- С. 35-43.

37. Эпидемиология хронических заболеваний вен среди сельских жителей Таджикистана / Д. Д. Султанов, Е. Л. Калмыков, А. Д. Гаибов [и др.] // Флебология. – 2019. – Т. 13, № 4. – С. 307-313.

38. Богачев, В. Ю. Хронический венозный отек (С3 по СЕАР): новые международные рекомендации и консенсусы / В. Ю. Богачев, О. В. Голованова, А. Н. Кузнецов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19, № 3. – С. 75–82.

39. Литынский, А. В. Современные проблемы варикозной болезни нижних конечностей (эпидемиология, диагностика, лечение) и ее особенности у лиц старших возрастных групп / А. В. Литынский, П. И. Поляков, С. Г. Горелик // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. - 2012. - №10 (129), Вып. 18/1. - С. 101-105.

40. Лазеротерапия в комплексном лечении венозных язв нижних конечностей / М. Р. Табаров, А. Н. Камолов, Д. Д. Султанов [и др.] // Флебология. – 2009. – Т. 3, № 2. – С. 43-45.

41. Комплексное лечение трофических язв венозной этиологии / А. И. Шиманко, М. Д. Дибиров, В. Ф. Зубрицкий [и др.] // Флебология. – 2017. - Т. 11, № 2. – С. 91-95.

42. Заваруев, А. В. Опыт хирургического лечения венозных трофических язв / А. В. Заваруев, А. А. Брегадзе, А. А. Козка // Флебология. – 2016. – Т. 10, № 2. – С. 103-105.

43. Мини-инвазивные стационарзамещающие технологии в лечении осложненных форм хронических заболеваний вен / Ю. М. Стойко, А. В. Цыплящук, С. Е. Харитоновна [и др.] // Флебология. – 2017. – Т. 11, № 3. -С. 170-175.

44. Pittaluga, P. Update on varicose veins recurrence and its management /

P. Pittaluga, M. Maeseneer, S. Chastanet. - In: In Anais do V Simpósio Internacional de Flebologia [=Blucher Medical Proceedings, Vol. 1, № 1]. São Paulo: Blucher, 2014. - P. 79-80.

45. Defining the human and health care costs of chronic venous insufficiency / Y. Kim, C. Y. M. Png, B. J. Sumpio [et al.] // Semin. Vasc. Surg. – 2021. - Vol. 34. – P. 59–64

46. Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: consensus statement / B. Eklöf, R. B. Rutherford, J. J. Bergan [et al.] // J Vasc Surg. – 2004. – Vol. 40, № 6. – P. 1248-1252.

47. Understanding chronic venous disease: a critical overview of its pathophysiology and medical management / M. A. Ortega, O. Fraile-Martínez, C. García-Montero [et al.] // Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10, № 15. – P. 32-39.

48. Primary chronic venous disorders / M. H. Meissner, P. Gloviczki, J. Bergan [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2007. – Vol. 46, Suppl S. – P. 54S-67S.

49. Primary superficial vein reflux with competent saphenous trunk / N. Labropoulos, S. S. Kang, M. A. Mansour [et al.] // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. – 1999. – Vol. 18. – P. 201–206.

50. Bergan, J. J. Pathogenesis of primary chronic venous disease: Insights from animal models of venous hypertension / J. J. Bergan, L. Pascarella, G. W. J. Schmid-Schönbein // Vasc. Surg. – 2008. – Vol. 47. – P. 183–192.

51. Sharma, S. EJBPS|Family history as major predisposing factor in varicose veins disorder / S. Sharma, M. Vashist, M. G. Vashist // Eur. J. Biomed. Pharm. Sci. – 2015. – Vol. 73. – P. 392–396.

52. Рецидив варикозной болезни после флебэктомии / О. Н. Садриев, Е. Л. Калмыков, А. Д. Гаибов, М. С. Иноятов // Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова. – 2016. – Т. 24, № 1. – С. 86 - 90.

53. Послеоперационные рецидивы варикозной болезни / А. В. Покровский, И. М. Игнатъев, Р. А. Бредихин, Е. Г. Градусов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т. 21, № 4. – С. 118-125.

54. Bharath, V. Genetic polymorphisms of vein wall remodeling in chronic

venous disease: a narrative and systematic review / V. Bharath, S. R. Kahn, A. Lazo-Langner // *Blood*. – 2014. – Vol. 124, № 8. – P. 1242-1250.

55. Polymorphisms of genes involved in inflammation and blood vessel development influence the risk of varicose veins / A. Shadrina, Y. Tsepilov, M. Smetanina // *Clin Genet*. – 2018. – Vol. 94, № 2. – P. 191-199.

56. The epidemiology of varicose veins: The Framingham Study / F. N. Brand, A. L. Dannenberg, R. D. Abbott, W. B. Kannel // *Am. J. Prev. Med.* – 1988. – Vol. 4. – P. 96–101.

57. Epidemiological study on chronic venous disease in Belgium and Luxembourg: Prevalence, risk factors, and symptomatology / M. E. Vuylsteke, S. Thomis, G. Guillaume [et al.] // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2015. – Vol. 49. – P. 432–439.

58. Progression of varicose veins and chronic venous insufficiency in the general population in the Edinburgh Vein Study / A. J. Lee, L. A. Robertson, S. M. Boghossian [et al.] // *J. Vasc. Surg. Venous Lymphat. Disord.* – 2015. – Vol. 3. – P. 18–26.

59. Newborns of mothers with venous disease during pregnancy show increased levels of lipid peroxidation and markers of oxidative stress and hypoxia in the umbilical cord / M. A. Ortega, L. Sánchez-Trujillo, C. Bravo [et al.] // *Antioxidants*. – 2021. – Vol. 10, № 6. – P. 980.

60. Cavezzi, A. Medicine and phlebology: time to change? / A. Cavezzi // *J. Clin. Med.* – 2020. – Vol. 9, № 12. – P. 4091.

61. Prevalence of chronic venous disorders among employees working in prolonged sitting and standing postures / I. Sudoł-Szopińska, A. Bogdan, T. Szopiński [et al.] // *Int. J. Occup. Saf. Ergon.* – 2011. – Vol. 17. – P. 165–173.

62. Effects of tobacco smoking on cardiovascular disease / T. Kondo, Y. Nakano, S. Adachi, T. Murohara // *Circ. J.* – 2019. – Vol. 83. – P. 1980–1985.

63. Возможности фармакотерапии хронической венозной недостаточности препаратами диосмина с позиции функционального состояния эндотелия / Р. Е. Калинин, И. А. Сучков, А. С. Пшенников, Н. Д. Мжаванадзе // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2015. – Т. 21, № 3. – С. 91-97.

64. Robertson, L. Epidemiology of chronic venous disease / L. Robertson, C. Evhalen Ans, F. G. Fowkes // *Phlebology*. – 2008. – Vol. 23. – P. 103–111.
65. Yasim, A. Serum concentration of procoagulant, endothelial and oxidative stress markers in early primary varicose veins / A. Yasim, M. Kilinc, M. Aral // *Phlebology*. – 2008. – Vol. 23. – P. 15–20.
66. A plasma oxidative stress global index in early stages of chronic venous insufficiency / L. Condezo-Hoyos, M. Rubio, S. M. Arribas // *J Vasc Surg*. – 2013. – Vol. 57. – P. 205–213.
67. Sequential changes in histologic pattern and extracellular matrix deposition during the healing of chronic venous ulcers / Herrick S. E., Sloan P., McGurk M. [et al.] // *Am. J. Pathol*. – 1992. – Vol. 141. – P. 1085–1095.
68. Lushchak, V. I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals / V. I. Lushchak // *Aquatic Toxicology*. – 2011. – Vol. 101, № 1. – P. 13-30.
69. Holmström, K. M. Cellular mechanisms and physiological consequences of redoxdependent signaling / K. M. Holmström, T. Finkel // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. – 2014. – Vol. 15, № 6. – P. 411–421.
70. Brand, M. D. The sites and topology of mitochondrial superoxide production / M. D. Brand // *Experimental Gerontology*. – 2010. – Vol. 45, № 7–8. – P. 466–472.
71. Role of peroxi somes in ROS/RNS metabolism: Implications for human disease / M. Fransen, M. Nordgren, B. Wang, O. Apanasets // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA Molecular Basis of Disease)*. – 2012. – Vol. 1822, № 9. – P. 1363–1373.
72. Schieber, M. ROS function in redox fing and oxidative stress / M. Schieber, N. S. Chandel // *Current Biology*. – 2014. – Vol. 24, № 10. - R453–462.
73. Reactive oxygen species in redox cancer therapy / L. Tong, C. C. Chuang, S. Wu, L. Zuo // *Cancer Letters*. – 2015. – Vol. 367, № 1. – P. 18–25.
74. The role of oxidative stress during inflammatory processes / J. Lugin, N. Rosenblatt-Velin, R. Parapanov, L. Liaudet // *Biol. Chem*. – 2014. – Vol. 395, № 2. – P. 203-230.
75. Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival. / J. Navarro-Yepes, M. Burns, A. Anandhan [et al.]. // *Antioxid. Redox Signal*. – 2014. –

Vol. 21, № 1. – P. 66-85.

76. Vascular oxidative stress: impact and therapeutic approaches / C. M. Sena, A. Leandro, L. Azul [et al.] // *Front Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1668.

77. Занозина, О. В. Свободнорадикальное окисление при сахарном диабете 2-го типа: источники образования, составляющие, патогенетические механизмы токсичности / О. В. Занозина, Н. Н. Боровков, Т. Г. Щербатюк // *Современные технологии в медицине.* — 2010. — № 3. — С. 104–112.

78. Сахарный диабет: метаболические эффекты и окислительный стресс // / И. Б. Заводник, И. К. Дремза, Е. А. Лапшина, В. Т. Чещевик // *Биологические мембраны.* — 2011. — Т. 28, № 2. — С. 83–94.

79. Cai, H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: origins, mechanisms, and consequences / H. Cai // *Cardiovasc Res.* – 2005. – Vol. 68, № 1. – P. 26–36.

80. Wassmann, S. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells / S. Wassmann, K. Wassmann, G. Nickenig // *Hypertension* 2004. – Vol. 44, № 4. – P. 381–386.

81. Колобова, О. И. Биохимические основы дисфункции эндотелия при варикозной болезни / О. И. Колобова, С. А. Трянкина, И. В. Минаков // *Третий Междунар. хирург. конгресс: материалы конгр., Москва, 21-24 февраля 2008 г. – Москва, 2008.* – С. 205.

82. Endothelial dysfunction in patients with chronic venous disease: An evaluation based on the flow-mediated dilatation test / W. Komarów, P. Hawro, A. Lekston [et al.] // *Int. Angiol.* – 2015. – Vol. 34. - P. 36–42

83. Michiels, C. Endothelial cell responses to hypoxia: Initiation of a cascade of cellular interactions / C. Michiels, T. Arnould, J. Remacle // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* – 2000. – Vol. 1497. – P. 1–10.

84. Analysis of vascular endothelial growth factor gene expression in the tissues of patients with chronic venous insufficiency / A. Flórez, J. De Haro, S. Bleda [et al.] // *Phlebology.* – 2013. – Vol. 28. – P. 32–37.

85. Christian, F. FGF23 induces left ventricular hypertrophy / F. Christian,

P. Ansel, O. Behzad // *J Clin Invest.* – 2011. – Vol. 121, № 11. – P. 4393–4408.

86. Frechette, J. P. Platelet rich plasmas: growth factor content and roles in wound healing / J. P. Frechette, I. Martineau, G. Gagnon // *J Dent Res.* – 2005. – Vol. 84. – P. 434–439.

87. Марченко, Ж. С. Роль сосудистого эндотелиального фактора роста в патогенезе ревматоидного артрита / Ж. С. Марченко, Г. В. Лукина // *Научно-практическая ревматология.* – 2005. – № 1. – С. 3-10.

88. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta. Implication for plaque vulnerability / P. R. Moreno, R. Purushothaman, V. Fuster [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110, № 14. – P. 2032-2038.

89. Experimental angiogenesis of arterial vasa vasorum / I. M. Bayer, I. Caniggia, L. S. Adamson, L. B. Langille // *Cell and Tissue Research.* – 2002. - Vol. 307, № 3. – P. 303–313.

90. Prognostic value of interleukin-6, plasma viscosity, fibrinogen, von Willebrand factor, tissue factor and vascular endothelial growth factor levels in congestive heart failure / B. S. Chin, A. D. Blann, C. R. Gibbs [et al.] // *Eur J Clin Invest.* – 2003. – Vol. 33. – P. 941–948.

91. Michiels, C. Endothelial cell responses to hypoxia: Initiation of a cascade of cellular interactions / C. Michiels, T. Arnould, J. Remacle // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* – 2000. -Vol. 1497. -P. 1–10.

92. Labropoulos, N. How does chronic venous disease progress from the first symptoms to the advanced stages? / N. Labropoulos // *A Review. Adv. Ther.* – 2019. – Vol. 36. - P. 13–19.

93. Coleridge Smith, P. D. Update on chronic-venous-insufficiency-induced inflammatory processes / P. D. Coleridge Smith // *Angiology.* – 2001. – Vol. 52. - S35–S42.

94. Effect of lutein and antioxidant supplementation on VEGF expression, MMP-2 activity, and ultrastructural alterations in apolipoprotein E-deficient mouse / P. Fernández-Robredo, L. M. Sádaba, A. Salinas-Alamán [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2013. – Vol. 2013. -P. 213 - 505.

95. Vaziri, C. Repression of platelet-derived growth factor b-receptor expression by mitogenic growth factors and transforming oncogenes in murine 3T3 fibroblasts / C. Vaziri, D. V. Faller // *Mol Cell Biol.* – 1995. – Vol. 15. – P. 1244–1253.
96. Ostman, A. Identification of a cell retention signal in the B-chain of platelet-derived growth factor and in the long splice version of the A-chain / A. Ostman, M. Andersson // *Cell Regul.* – 1991. – Vol. 2. – P. 503–512.
97. The role of PDGF-BB on the development of the collateral circulation after acute arterial occlusion / R. N. Martins, J. O. Chleboun, P. Sellers [et al.] // *Growth Factors.* – 1994. – Vol. 10. – P. 299 – 306.
98. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice / P. B. Lindahl, R. Johansson, E. P. Leve, C. Betsholtz // *Science.* – 1997. – Vol. 27. – P. 242 – 245.
99. Andrae, J. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine / J. Andrae, R. Gallini, C. Betsholtz // *Genes Dev.* – 2008. – Vol. 22. – P. 1276–1312.
100. Platelet isoforms of platelet-derived growth factor stimulate fibroblasts to contract collagen matrices / R. A. Clark, F. J. Folkvord, C. E. Hart [et al.] // *J Clin Invest.* – 1989. – Vol. 84. – P. 1036 – 1040.
101. Механизмы ранозаживляющего действия нативного коллагена I типа в модели ишемизированных полнослойных ран кожи на примере медицинского изделия «Коллост». (Часть I) / А. А. Андреев-Андриевский, А. А. Болгарина, В. Н. Манских [и др.] // *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова.* – 2020. - № 10. – С. 79 - 87.
102. Koh, T. J. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage / T. J. Koh, L. A. DiPietro // *Expert Rev Mol Med.* – 2011. Vol. 13. - e23.
103. The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes / P. Krzyszczyk, R. Schloss, A. Palmer, F. Berthiaume // *Frontiers in Physiology.* – 2018. – Vol. 9. – P. 419.
104. Macrophage phenotypes regulate scar formation and chronic wound healing / M. Hesketh, K. B. Sahin, Z. E. West, R. Z. Murray // *International Journal of Molecular*

Sciences. – 2017. – Vol. 18, № 7. – P. 1545.

105. A significant part of macrophage-derived growth factor consists of at least two forms of PDGF / K. E. Shimokado, W. Raines, D. K. Madtes [et al.] // *Cell*. – 1985. – Vol. 43. – P. 277 – 286.

106. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta enhance tissue repair activities by unique mechanisms / G. F. Pierce, T. A. Mustoe, J. Ingelbach [et al.] // *J Cell Biol*. – 1989. – Vol. 109. – P. 429 – 440.

107. Evaluation of plasma growth factors (VEGF, PDGF, EGF, ANG1, and ANG2) in patients with varicose veins before and after treatment with endovenous laser ablation / N. A. Al-Zoubi, R. J. Yaghan, T. S. Mazahreh [et al.] // *Photomed Laser Surg*. – 2018. – Vol. 36, № 3. – P. 169-173.

108. The influence of arachidonic acid metabolites on leucocyte activation and skeletal muscle injury after ischaemia and reperfusion / R. A. Cambria, R. J. Anderson, J. Dikdan [et al.] // *J Vasc Surg*. – 1991. – Vol. 14. – P. 549-556.

109. Buján, J. Interaction between ageing, inflammation process, and the occurrence of varicose veins / J. Buján, G. Pascual, J. M. Bellón // *Phlebology*. – 2008. – Vol. 15.4. – P. 123 - 130.

110. Tarbell, J. M. The glycocalyx and its significance in human medicine / J. M. Tarbell, L. M. Cancel // *J. Intern. Med*. – 2016. – Vol. 280. – P. 97–113.

111. Sprague, A. H. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease / A. H. Sprague, R. A. Khalil // *Biochem. Pharmacol*. – 2009. – Vol. 78. – P. 539–552.

112. Genetic biomarkers in chronic venous disease / R. Serra, L. Ssempijja, M. Provenzano, M. Andreucci // *Biomark. Med*. – 2020. – Vol. 14. – P. 75–80.

113. Matrix metalloproteinases in remodeling of lower extremity veins and chronic venous disease / Y. Chen, W. Peng, J. D. Raffetto, R. A. Khalil // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci*. – 2017. – Vol. 147. - P. 267–299.

114. MacColl, E. Matrix metalloproteinases as regulators of vein structure and function: Implications in chronic venous disease / E. MacColl, R. A. Khalil // *J. Pharmacol. Exp. Ther*. – 2015. – Vol. 355. – P. 410–428.

115. Webster, N. L. Matrix metalloproteinases, their production by monocytes and macrophages, and their potential role in HIV-related diseases / N. L. Webster, S. M. Crowe // *J. Leukocyte Biology*. – 2006. – Vol. 80. – P. 1–15.

116. Raffetto, J. D. Matrix metalloproteinase 2-induced venous dilation via hyperpolarization and activation of K⁺ channels: Relevance to varicose vein formation / J. D. Raffetto, R. L. Ross, R. A. Khalil // *J. Vasc. Surg.* – 2007. – Vol. 45. – P. 373–380.

117. Dorland, Y. L. Cell–cell junctional mechanotransduction in endothelial remodeling / Y. L. Dorland, S. Huveneers // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2016. – Vol. 74. – P. 279–292.

118. Faringthon, R. Chronic venous insufficiency and structural changes in the walls of the veins / R. Faringthon, V. Sosa // *Rev. Méd. Sinerg.* – 2019. – Vol. 4. – P. 3–20.

119. Boisseau, M. R. Recent findings in the pathogenesis of venous wall degradation / M. R. Boisseau // *Phlebology*. – 2007. – Vol. 14. – P. 59–73.

120. Chronic venous insufficiency: Dysregulation of collagen synthesis / P. Sansilvestri-Morel, A. Rupin, C. Badier-Commander [et al.] // *Angiology*. – 2003. – Vol. 54. – P. S13–S18.

121. Analysis of the connective tissue matrix and proteolytic activity of primary varicose veins / R. H. Gandhi, E. Irizarry, G. B. Nackman [et al.] // *J Vasc Surg.* – 1993. – Vol. 18, № 5. – P. 814 - 820.

122. Elastin-Elastases and Inflamm-Aging / F. Antonicelli, G. Bellon, L. Debelle // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 2007. – Vol. 79. – P. 99–155.

123. Kanta, J. Role of fibronectin in chronic venous diseases: A review / J. Kanta, A. Zavadakova // *Vasc. Med.* – 2020. – Vol. 25. – P. 588–597.

124. Kucukguven, A. Matrix metalloproteinases as potential targets in the venous dilation associated with varicose veins / A. Kucukguven, R. A. Khalil // *Curr Drug Targets*. – 2013. – Vol. 14, № 3. – P. 287-324.

125. Lefebvre, V. Production of gelatin-degrading matrix metalloproteinases ('type IV collagenases') and inhibitors by articular chondrocytes during their dedifferentiation by serial subcultures and under stimulation by interleukin-1 and tumor

necrosis factor alpha / V. Lefebvre, C. Peeters-Joris, G. Vaes // *Biochim Biophys Acta*. – 1991. – Vol. 1094, № 1. – P. 8-18.

126. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) / Л. Н. Рогова, Н. В. Шестернина, Т. В. Замечник, И. А. Фастова // *Вестник новых медицинских технологий*. - 2011. – Т. XVIII, 2. – С. 86-89.

127. Современный взгляд на патогенез варикоцеле и проблему развития его рецидивов / В. В. Студенникова, Л. О. Севергина, Д. Г. Цариченко [и др.] // *Урология*. – 2018. № 1. – С. 150 - 154.

128. Serra, R. Altered metalloproteinase-9 expression as least common denominator between varicocele, inguinal hernia, and chronic venous disorders / R. Serra, G. Buffone, G. Costanzo // *Ann Vasc Surg*. – 2014. - Vol. 28, № 3. – P. 705-709.

129. Impact of micronised purified flavonoid fraction on increased malondialdehyde and decreased metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 levels in varicocele: outcome of an experimentally induced varicocele / F. Dogan, A. Armagan, T. Oksay [et al.] // *Andrologia*. – 2014. – Vol. 46, № 4. – P. 380-385.

130. Lim, C. S. Pathogenesis of primary varicose veins / C. S. Lim, A. H. Davies // *The British Journal of Surgery*. – 2009. – Vol. 96, № 11. – P. 1231-1242.

131. Matrix metalloproteinases in vascular disease — a potential therapeutic target? / C. S. Lim, J. Shalhoub, M. S. Gohel [et al.] // *Current Vascular Pharmacology*. – 2010. – Vol. 8, № 1. – P. 75-85.

132. Increased TIMP/MMP ratio in varicose veins: a possible explanation for extracellular matrix accumulation / C. Badier-Commander, T. Verbeuren, C. Lebard [et al.] // *J Pathol*. – 2000. – Vol. 192, № 1. – P. 105-112.

133. Signaling pathways associated with structural changes in varicose veins: a case–control study / M. H. S. Modaghegh, S. Saberianpour, S. Amoueian, M. M. Kamyar // *Phlebology*. – 2022. – Vol. 37, № 1. – P. 33-41.

134. Koçarslan, A. What is the role of prolidase in pathogenesis of primary varicose veins? / A. Koçarslan, S. Koçarslan. // *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*. – 2017. – Vol. 25, № 1. – P. 68-73.

135. Шадрина, А. С. Молекулярные механизмы развития варикозной болезни нижних конечностей / А. С. Шадрина, И. А. Золотухин, М. Л. Филипенко // *Flebologia*. – 2017. – Т. 11, № 2. – С. 71-75.

136. Emmerson, K. S. Hydrolysis of proline dipeptides completely fulfills the proline requirement in a prolineauxotrophic Chinese hamster ovary cell line / K. S. Emmerson, J. M. Phang // *J Nutr*. – 1993. – Vol. 123. – P. 909-914.

137. Comparison of prolidase enzyme activities of maternal serum and placental tissue in patients with early pregnancy failure / M. Vural, H. Toy, H. Camuzcuoglu, N. Aksoy // *Arch Gynecol Obstet*. – 2011. – Vol. 283. – P. 953-958.

138. Plasma prolidase activity: a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease / I. Myara, A. Myara, M. Mangeot [et al.] // *Clin Chem*. – 1984. – Vol. 30. – P. 211-215.

139. Phang, J. M. Proline metabolism and microenvironmental stress / J. M. Phang, W. Liu, O. Zahirnyk // *Annu Rev Nutr*. – 2010. – Vol. 30. – P. 441– 463.

140. Extracellular matrix and HIF-1 signaling: the role of prolidase / A. Surazynski, S. P. Donald, S. K. Cooper [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2008. – Vol. 122. – P. 1435–1440.

141. Uzar, E. Serum prolidase activity and oxidative status in patients with diabetic neuropathy / E. Uzar, Y. Tamam, O. Evliyaoglu // *Neurol Sci*. – 2012. – Vol. 33. – P. 875–880.

142. Duygu, F. Prolidase and Oxidative Stress in Chronic Hepatitis C / F. Duygu, S. T. Koruk, H. Karsen // *J Clin Lab Anal*. – 2012. – Vol. 26. – P. 232–237.

143. Gecit, I. Serum prolidase activity, oxidative stress, and nitric oxide levels in patients with bladder cancer / I. Gecit, M. Aslan, M. Gunes // *J Cancer Res Clin Oncol*. – 2012. – Vol. 138. – P. 739–743.

144. Bozkurt, M. Serum prolidase enzyme activity and oxidative status in patients with Behçet's disease / M. Bozkurt, H. Yüksel, S. Em // *Redox Rep*. – 2014. – Vol. 19. – P. 59–64.

145. Aslan, M. Serum prolidase enzyme activity in obese subjects and its relationship with oxidative stress markers / M. Aslan, U. Duzenli, R. Esen // *Clin Chim*

Acta. – 2017. – Vol. 473. – P. 186–190.

146. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human varicose veins / B. Guzik, M. Chwała, P. Matusik [et al.] // *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*. – 2011. – Vol. 121, № 9. – P. 279-286.

147. Green, C. O. Modulation of antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation products in diet-induced hypercholesterolemic rats fed ortanique peel polymethoxylated flavones extract / C. O. Green, A. O'Brien Wheatley, D. A. McGrowder // *J Appl Biomed*. – 2012. – Vol. 10. – P. 91–101.

148. Трянкина, С. А. Роль перекисного окисления в патогенезе варикозного расширения вен / С. А. Трянкина, О. И. Колобова, Б. Я. Варшавский // *Клин лаб диагн*. – 2003. - № 6. – С. 19—20.

149. A plasma oxidative stress global index in early stages of chronic venous insufficiency / L. Condezo-Hoyos, M. Rubio, S. M. Arribas [et al.] // *J Vasc Surg*. – 2013. – Vol. 57, № 1. – P. 205-213.

150. Endothelial dysfunction and reduced antioxidant protection in an animal model of the developmental origins of cardiovascular disease / J. L. Rodford, C. Torrens, R. C. Siow [et al.] // *J Physiol*. – 2008. – Vol. 586, № 19. – P. 4709-4720.

151. Alterations in the plasma and red blood cell properties in patients with varicose vein: a pilot study / L. Gwozdziński, A. Pieniązek, J. Bernasinska-Słomczewska [et al.] // *Cardiol Res Pract*. – 2021. – Vol. 2021. – P. 5569961.

152. The structural biochemistry of the superoxide dismutases / J. J. Perry, D. S. Shin, E. D. Getzoff, J. A. Tainer // *Biochimica et Biophysica Acta*. - 2009. - Vol. 1804, № 2. - P. 245-262.

153. Leopold, J. A. Oxidative enzymopathies and vascular disease / J. A. Leopold, J. Loscalzo // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2005. – Vol. 25, № 7. - P. 1332–1340.

154. Сазонтова, Т. Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов — равнозначных участников метаболизма / Т. Г. Сазонтова, Ю. В. Архипенко // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. – 2007. - № 3. – С. 2—18.

155. Metabolic coupling of glutathione between mouse and quail cardiac

myocytes and its protective role against oxidative stress / T. Nakamura, L. Yamamoto, Y. Kanno [et al.] // *Circ. Res.* – 1994. – Vol. 74, № 5. – P. 806—816.

156. Колобова, О. И. Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе варикозной болезни / О. И. Колобова, О. Г. Симонова, В. А. Лещенко // *Политравма.* – 2015. - № 1. – С. 36-41.

157. Flohé, L. Its molecular biology and role in human health / L. Flohé, R. Brigelius-Flohé. – New York: Springer, 2011. - P. 167-180.

158. Triankina, S. A. The role of peroxidation in pathogenesis of varicose veins / S. A. Triankina, O. I. Kolobova, B. I. Varshavski˘ // *Klin Lab Diagn.* – 2003. – Vol. 6. – P. 19–20.

159. Glutathione peroxidase knockout mice are susceptible to myocardial ischemia reperfusion injury / T. Yoshida, N. Maulik, R. M. Engelman [et al.] // *Circulation.* – 1997. – Vol. 96, Suppl. 9. – P. 216–220.

160. Overexpression of cellular glutathione peroxidase rescues homocyst(e)ine-induced endothelial dysfunction / N. Weiss, Y. Y. Zhang, S. Heydrick [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2001. – Vol. 98, № 22. – P. 12503–12508.

161. Burk, R. F. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis / R. F. Burk, K. E. Hill // *Annu. Rev. Nutr.* - 2005. – Vol. 25. – P. 215–235.

162. Tissue specific expression of the plasma glutathione peroxidase gene in rat kidney / S. Yoshimura, K. Watanabe, H. Suemizu [et al.] // *J. Biochem.* – 1991. – Vol. 109. – P. 918–923.

163. Sena, C. M. Endothelial dysfunction — a major mediator of diabetic vascular disease / C. M. Sena, A. M. Pereira, R. Seiça // *Biochimica Biophysica Acta.* -2013. – Vol. 1832. – P. 2216–2231.

164. Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. In situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides / J. P. Thomas, M. Maiorino, F. Ursini [et al.] // *J Biol Chem.* - 1990. - Vol. 265. - № 1. - P. 454-461.

165. Brigelius-Flohé, R. Glutathione peroxidases / R. Brigelius-Flohé, M.

Maiorino // *Biochimica et Biophysica Acta*. - 2013. - Vol. 1830. - P. 3289–3303.

166. Generation of plasmatic oxidative damages in patients with chronic venous insufficiency / Y. D. Karamalakova, H. M. Abrashev, G. D. Nikolova [et al.] // *Bulgarian Chemical Communications*. - 2019. – Vol. 51, Sp. Iss. A. - P. 47 – 52.

167. Different types of ROS- scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair / H. Steiling, B. Munz, S. Werner, M. Brauchle // *Exp Cell Res*. – 1999. – Vol. 247. – P. 484–494.

168. Metabolic profiling of a *Schistosoma mansoni* infection in mouse tissues using magic angle spinning-nuclear magnetic resonance spectroscopy / J. V. Li, E. Holmes, J. Saric [et al.] // *International journal for parasitology*. – 2009. – Vol. 39, № 5. – P. 547-558.

169. Magic angle spinning NMR and ¹H-³¹P heteronuclear statistical total correlation spectroscopy of intact human gut biopsies / Y. Wang, O. Cloarec, H. Tang [et al.] // *Anal Chem*. – 2008. – Vol. 80, № 4. – P. 1058-1066.

170. In-vial dual extraction for direct LC-MS analysis of plasma for comprehensive and highly reproducible metabolic fingerprinting / L. Whiley, J. Godzien, F. J. Ruperez [et al.] // *Anal Chem*. – 2012. – Vol. 84, № 14. – P. 5992-5999.

171. Datadriven optimization of metabolomics methods using rat liver samples / G. S. Parab, R. Rao, S. Lakshminarayanan [et al.] // *Anal Chem*. - 2009;81, № 4. – P. 1315-1323.

172. Nicholson, J. K. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data / J. K. Nicholson, J. C. Lindon, E. Holmes // *Xenobiotica*. – 1999. – Vol. 29, № 11. – P. 1181-1189.

173. Лохов, П. Г. Масс-спектрометрические методы в метаболомике / П. Г. Лохов, А. И. Арчаков. // *Биомедицинская химия*. – 2008. - Т. 54, № 5. – С. 497-511.

174. A comprehensive characterisation of the metabolic profile of varicose veins; implications in elaborating plausible cellular pathways for disease pathogenesis / M. A. Anwar, K. N. Adesina-Georgiadis, K. Spagou [et al.] // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7. – P.

2989.

175. Метаболомное профилирование больных с метаболическим синдромом / Е. О. Коробкова, М. В. Кожевникова, И. С. Ильгисонис [и др.] // Кардиология. – 2020. – Т. 60, № 3. – С. 37–43.

176. Nicholson, J. K. Opinion: understanding 'global' systems biology: metabonomics and the continuum of metabolism / J. K. Nicholson, I. D. Wilson // Nat Rev Drug Discov. – 2003. – Vol. 2, № 8. – P. 668-676.

177. The European multicenter study on cyanoacrylate embolization of refluxing great saphenous veins without tumescent anesthesia and without compression therapy / T. M. A. J. Proebstle, L. Rasmussen, S. Dimitri [et al.] // Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders. – 2013. – Vol. 1. – P. 101.

178. Systems level studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy / W. B. Dunn, D. I. Broadhurst, H. J. Atherton [et al.] // Chem Soc Rev. – 2011. – Vol. 40, № 1. – P. 387-426.

179. The human serum metabolome / N. Psychogios, D. D. Hau, J. Peng [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6, № 2. - e16957.

180. Lindon, J. C. Metabonomics techniques and applications to pharmaceutical research & development / J. C. Lindon, E. Holmes, J. K. Nicholson // Pharm Res. – 2006. – Vol. 23, № 6. - P. 1075-1088.

181. Moolenaar, S. H. Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy of body fluids in the field of inborn errors of metabolism / S. H. Moolenaar, U. F. Engelke, R. A. Wevers // Ann Clin Biochem. – 2003. – Vol. 40, Pt. 1. – P. 16-24.

182. Proton nuclear magnetic resonance-based metabonomics for rapid diagnosis of meningitis and ventriculitis / M. Coen, M. O'Sullivan, W. A. Bubb [et al.] // Clin Infect Dis. - 2005. – Vol. 41. – P. 1582–1590.

183. Hermansson, M. Automated quantitative analysis of complex lipidomes by liquid chromatography/mass spectrometry / M. Hermansson, A. Uphoff, R. Kakela, P. Somerharju // Analytical Chemistry. — 2005. — Vol. 77. — P. 2166– 2175.

184. Barrett, D. Advances in metabolic profiling / D. Barrett // Bioanalysis. —

2012. — Vol. 4. — № 6. — P. 643-644.

185. Cancer detection and biopsy classification using concurrent histopathological and metabolomic analysis of core biopsies / M. V. Brown, J. E. McDunn, P. R. Gunst [et al.] // *Genome medicine*. – 2012. – Vol. 4, № 4. – P. 33.

186. Lindon, J. C. Metabonomics techniques and applications to pharmaceutical research & development / J. C. Lindon, E. Holmes, J. K. Nicholson // *Pharm Res*. – 2006. – Vol. 23, 6. – P. 1075-1088.

187. Proton HR-MAS spectroscopy and quantitative pathologic analysis of MRI/3D-MRSI- targeted postsurgical prostate tissues / M. G. Swanson, D. B. Vigneron, Z. L. Tabatabai [et al.] // *Magnetic resonance in medicine*. – 2003. – Vol. 50, № 5. – P. 944-954.

188. Biochemical classification of kidney carcinoma biopsy samples using magic-angle-spinning ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy / D. Moka, R. Vorreuther, H. Schicha [et al.] // *J Pharm Biomed Anal*. 1998. – Vol. 17, № 1. – P. 125-132.

189. High-resolution magic angle spinning MRS of breast cancer tissue / B. Sitter, U. Sonnewald, M. Spraul [et al.] // *NMR Biomed*. – 2002. – Vol. 15, № 5. – P. 327-337.

190. Comparison of in vivo ^1H MRS of human brain tumours with ^1H HR-MAS spectroscopy of intact biopsy samples in vitro / S. J. Barton, F. A. Howe, A. M. Tomlins [et al.] // *Magma*. – 1999. – Vol. 8, № 2. – P. 121-128.

191. A functional analysis of mouse models of cardiac disease through metabolic profiling / G. L. Jones, E. Sang, C. Goddard [et al.] // *J Biol Chem*. – 2005. – Vol. 280, № 9. – P. 7530-7539.

192. Danziger, N. Pathophysiology of pain in venous disease / N. Danziger // *J. Mal. Vasc*. – 2007. – Vol. 32. – P. 1–7.

193. Изолированное удаление притоков несостоятельной большой подкожной вены приводит к восстановлению функции ее клапанов / И. А. Золотухин, Е. И. Селиверстов, Е. А. Захарова, А. И. Кириенко // *Флебология*. – 2016. – 10, № 1. – С. 8 - 18.

194. Randomised clinical trial, observational study and assessment of cost-

effectiveness of the treatment of varicose veins (REACTIV trial) / J. A. Michaels, W. B. Campbell, J. E. Brazier [et al.] // *Heal Technol Assess.* - 2006. – Vol. 10, № 13. – P. 1-196.

195. Randomized clinical trial comparing surgery with conservative treatment for uncomplicated varicose veins / J. A. Michaels, J. E. Brazier, W. B. Campbell [et al.] // *Br J Surg.* – 2006. – Vol. 93, № 2. – P. 175-181.

196. The effect of superficial venous surgery on generic health-related quality of life / R. Sam, R. MacKenzie, A. Paisley [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* – 2004. – Vol. 28, № 3. – P. 253-256.

197. Management of chronic venous disorders of the lower limbs. Guidelines according to scientific evidence / A. Nicolaides, S. Kakkos, B. Eklof [et al.] // *International Angiology.* – 2014. – Vol. 33, № 2. – P. 87-208.

198. Management of chronic venous disease. Clinical practice guidelines of the European Society for Vascular Surgery (ESVS) / C. Wittens, A. H. Davies, N. Vækgaard [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* – 2015. – Vol. 49, № 6. – P. 678-737.

199. Дибиров, М. Д. Радиочастотная облитерация в комплексном хирургическом лечении больных с варикозной болезнью вен нижних конечностей / М. Б. Дибиров, А. И. Шиманко, А. С. Волков [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия.* – 2018. – Т. 24, № 1. – С. 92–96.

200. Изолированное удаление притоков несостоятельной большой подкожной вены приводит к восстановлению функции ее клапанов / И. А. Золотухин, Е. И. Селиверстов, Е. А. Захарова, А. И. Кириенко // *Флебология.* – 2016ю – Т. 10, № 1. – С. 8 - 18.

201. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of minimally invasive techniques to manage varicose veins: a systematic review and economic evaluation / C. Carroll, S. Hummel, J. Leaviss [et al.] // *Health Technol Assess.* – 2013. – Vol. 17, № 48. – P. 1-141.

202. Endovenous ablation (radiofrequency and laser) and foam sclerotherapy versus conventional surgery for great saphenous vein varicosities / C. Nesbitt, R. Bedenis, V. Bhattacharya, G. Stansby // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2014. – Vol. 7. -

CD 005624.

203. Paravastu, S. C. Endovenous ablation therapy (laser or radiofrequency) or foam sclerotherapy versus conventional surgical repair for short saphenous varicose veins / S. C. Paravastu, M. Horne, P. D. Dodd // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2016. – Vol. 11. - CD 010878.

204. Луценко, М. М. Результаты лазерной и радиочастотной облитерации в лечении варикозного расширения вен – рандомизированное исследование / М. М. Луценко, М. А. Овсяницкая, А. Л. Соколов // *Флебология.* – 2016. – № 2. – С. 34–35.

205. Factors associated with recurrence of varicose veins after thermal ablation: results of the recurrent veins after thermal ablation study [Electronic resource] / R. G. Bush, P. Bush, J. Flanagan [et al.] // *Scientific World Journal.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 505843. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24592172/>

206. Guidelines of the first international consensus conference on endovenous thermal ablation for varicose vein disease / M. D. Pavlović, S. Schuller-Petrović, O. Pichot // *Phlebology.* – 2015. – Vol. 30, № 4. – P. 257-273.

207. Царев, О. А. Прогнозирование осложненного клинического течения варикозной болезни вен нижних конечностей на основании анализа фенотипических признаков дисплазии соединительной ткани / О. А. Царев, А. Ю. Анисимов, Н. Н. Захаров // *Саратовский научно-медицинский журнал.* – 2015. – Т. 11, № 4. – С. 587-591.

208. Богдан, В. Г. Проспективное рандомизированное клиническое исследование эффективности применения аутологичных тромбоцитарных концентратов для стимуляции регенерации трофических язв венозной этиологии / В. Г. Богдан, Д. А. Толстов // *Новости хирургии.* – 2014. – Т. 22, № 3. – С. 344–350.

209. Раздел I. Хронические заболевания вен: Диагностика. Консервативное лечение. Хирургическое лечение. Трофические язвы. // *Флебология.* – 2010. – Т. 2, № 4. – С. 53 – 124.

210. Гурфинкель, Ю. И. Коррекция параметров микроциркуляции крови и функции эндотелия при хронической венозной недостаточности нижних

кнечностей / Ю. И. Гурфинкель, М. Л. Сасонко, Н. А. Талов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2017. – Т. 23, № 2. – С. 89–95.

211. Влияние тренировки мышечного компонента мышечно- венозной помпы нижних конечностей на течение варикозной болезни / П. Ф. Кравцов, С. Е. Каторкин, В. В. Волковой, Я. В. Сизоненко // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры.- 2016.- Т. 93, № 6.- С. 33-36.

212. Бредихин, Р. А. Эффективность препарата «Антистакс» в лечении хронической венозной недостаточности нижних конечностей / Р. А. Бредихин, Е. Е. Фомина, И. М. Игнатъев // Хирургия сердца и сосудов. – 2007. – № 1. – С. 40-42.

213. Дибиров, М. Д. Современные позиции в лечении хронической венозной недостаточности / М. Д. Дибиров, М. В. Костюченко, А. И. Исаев // Хирургия, приложение к журналу Consilium Medicum. – 2012. – № 1. - С.18- 23.

214. Богачев, В. Ю. Флеботропная терапия улучшает результаты хирургического лечения варикозной болезни / В. Ю. Богачев // Русский медицинский журнал. – 2012. – № 36. – С.1738–1742.

215. Васильев, И. М. Эффективность системной энзимотерапии в комплексном лечении трофических язв венозного генеза / И. М. Васильев, Л. И. Богданец, С. В. Щербин // Вестник РГМУ. – 2016. – № 5. – С. 39–43.

216. Особенности фармакотерапии хронической венозной недостаточности нижних конечностей / В. Ю. Богачев, Б. В. Болдин, О. В. Дженина, В. Н. Лобанов // Стационарзамещающие технологии: Амбулаторная хирургия. – 2016. – Т. 63–64, № 3–4. – С. 11–15.

217. Карапетян, Г. Э. Атомно-силовая микроскопия эритроцитов больных с длительно незаживающими ранами на фоне хронической венозной недостаточности / Г. Э. Карапетян, Л. В. Кочетова, Р. А. Пахомова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14, № 1-1. – С. 22-25.

218. Rational approach, technique and selection criteria treating lumbar disk herniations by oxygen-ozone therapy / M. Muto, F. Giurazza, R. P. Silva, G. Guarnieri // Interv. Neuroradiol. – 2016. – Vol. 22. – P. 736–740.

219. Comparison between intra-articular ozone and placebo in the treatment of

knee osteoarthritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study / C. C. Lopes de Jesus, F. C. Dos Santos, L. M. O. B. de Jesus [et al.] // PLoS ONE. – 2017. – Vol. 12. - e0179185.

220. Medical ozone treatment ameliorates the acute distal colitis in rat / A. Aslaner, T. Çakır, S. Tekeli [et al.] // Acta Cir. Bras. – 2016. – Vol. 31. – P. 256–263.

221. Beneficial effects of nontoxic ozone on H. Biochem / A. Kucukgul, S. Erdogan, R. Gonenci, G. Ozan // Cell Biol. – 2016. – Vol. 94. – P. 577–583.

222. Ozone therapy protects against rejection in a lung transplantation model: a new treatment? / N. Santana-Rodríguez, P. Llontop, B. Clavo [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2017. – Vol. 104. – P. 458–464.

223. Alpan, A. L. Ozone therapy enhances osseous healing in rats with diabetes with calvarial defects: a morphometric and immunohistochemical study / A. L. Alpan, H. Toker, H. Ozer // J. Periodontol. – 2016. – Vol. 87. – P. 982–989.

224. The effects of ozone therapy on caspase pathways, TNF- α , and HIF-1 α in diabetic nephropathy / A. Güçlü, H. A. Erken, G. Erken [et al.] // Int. Urol. Nephrol. – 2016. – Vol. 48. – P. 441–450.

225. Rosul, M. V. Ozone therapy effectiveness in patients with ulcerous lesions due to diabetes mellitus / M. V. Rosul, B. M. Patskan // Wiad. Lek. – 2016. – Vol. 69. – P. 7–9.

226. Health-related quality of life in patients with chronic wounds before and after treatment with medical ozone / M. Izadi, M. Bozorgi, M. S. Hosseine [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2018. - Vol. 97. - e12505.

227. The effect of ozone and naringin on intestinal ischemia/reperfusion injury in an experimental model / A. Isik, K. Peker, C. Gursul [et al.] // Int. J. Surg. – 2015. – Vol. 21. – P. 38–44.

228. Major ozonated autohemotherapy preconditioning ameliorates kidney ischemia-reperfusion injury / E. B. Sancak, H. Türkön, S. Çukur [et al.] // Inflammation. – 2016. – Vol. 39. – P. 209–217.

229. Oxygen-ozone therapy as support and palliative therapy in 50 cancer patients with fatigue—A short report / U. Tirelli, C. Cirrito, M. Pavanello [et al.] // Eur. Rev. Med.

Pharm. Sci. – 2018. – Vol. 22. – P. 8030–8033.

230. Possible therapeutic effects of ozone mixture on hypoxia in tumor development / M. Luongo, A. L. Brigida, L. Mascolo, G. Gaudino // *Anticancer Res.* 2017. – Vol. 37. – P. 425–435.

231. Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway / W. Xiao, H. Tang, M. Wu [et al.] // *Biosci. Rep.* – 2017. – Vol. 37, № 6. - BSR20170658.

232. The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection / M. Song, Q. Zeng, Y. Xiang [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2018. – Vol. 17. – P. 2449–2455.

233. Amin, L. E. Biological assessment of ozone therapy on experimental oral candidiasis in immunosuppressed rats / L. E. Amin // *Biochem. Biophys. Rep.* – 2018. – Vol. 15. – P. 57–60.

234. NRF2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells / A. Pecorelli, A. Bocci, A. Acquaviva [et al.] // *Toxicology and applied pharmacology.* – 2013. – Vol. 267, № 1. – P. 30-40.

235. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility / N. L. Smith, A. L. Wilson, J. Gandhi [et al.] // *Med Gas Res.* 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 212-219.

236. Mechanisms of action of ozone therapy in emerging viral diseases: immunomodulatory effects and therapeutic advantages with reference to SARS-CoV-2 [Electronic source] / A. Cenci, I. Macchia, V. La Sorsa [et al.] // *Front Microbiol.* 2022. – Vol. 13. – P. 871645. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35531273/>

237. Ozone mediators effect on “in vitro” scratch wound closure / G. Valacchi, C. Sticozzi, I. Zanardi [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2016. – Vol. 50. – P. 1022–1031.

238. Ozone therapy could attenuate tubulointerstitial injury in adenine-induced CKD rats by mediating Nrf2 and NF- κ B / G. Yu, X. Liu, Z. Chen [et al.] // *Iran. J. Basic. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 19. – P. 1136–1143.

239. Medical ozone promotes Nrf2 phosphorylation reducing oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in multiple sclerosis patients / L. Delgado-Roche, M. Riera-

Romo, F. Mesta [et al.] // Eur. J. Pharm. – 2017. – Vol. 811. – P. 148–154.

240. The role of Nrf2 in the antioxidant cellular response to medical ozone exposure / M. Galiè, V. Covi, G. Tabaracci, M. Malatesta // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Vol. 20, № 16. – P. 4009.

241. Озон и озонирование: монография / И. С. Чекман, А. О. Сыровая, В. А. Макаров, В. В. Макаров, В. В. Лапшин, Е. В. Шаповал. – Х.: «Цифрова друкарня № 1», 2013. – 144 с.

242. Microbiological aspects of ozone: bactericidal activity and antibiotic/antimicrobial resistance in bacterial strains treated with ozone [Electronic source] / G. Giuliani, G. Ricevuti, A. Galoforo, M. Franzini // Ozone Therapy. - 2018. – Vol. 3, № 3. – URL: https://www.researchgate.net/publication/329793717_Microbiological_aspects_of_ozone_bactericidal_activity_and_antibioticantimicrobial_resistance_in_bacterial_strains_treated_with_ozone

243. Remondino, M. The use of ozone as a driver for economic and environmental sustainable development [Electronic source] / M. Remondino // Ozone Therapy. - 2018. – URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-use-of-ozone-as-a-driver-for-economic-and-Remondino/42a736685010c3572a4a36b7a805519303042025>

244. Validity of oxygen-ozone therapy as integrated medication form in chronic inflammatory diseases / V. Bocci, I. Zanardia, G. Valacchi [et al.] // Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. – 2015. – Vol. 15, № 2. – P. 127-138.

245. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway in vivo? A preliminary result / L. Re, G. Martínez-Sánchez, M. Bordicchia [et al.] // Eur. J. Pharm. – 2014. – Vol. 742. – P. 158–162.

246. Байбуз, Л. А. Эффективность применения озонотерапии в сочетании с физиотерапевтическими факторами при лечении диабетической нейропатии / Л. А. Байбуз // Забайкальский медицинский журнал. - 2017. - № 3. - С. 39-40.

247. Intraperitoneal administration of oxygen/ozone to rats reduces the pancreatic damage induced by Streptozotocin / D. Siniscalco, M. C. Trotta, A. L. Brigida [et al.] // Biology (Basel). – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 10.

248. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility / N. L. Smith, A. L. Wilson, J. Gandhi [et al.] // *Med Gas Res*. 2017. – Vol. 7, № 3. – P. 212-219.
249. Cardiovascular effects of ozone exposure in human volunteers / H. Ir. Yong, R. Wong, R. I. Sarma [et al.] // *Am. J. Respir. Crit Care Med*. – 1998. – Vol. 158, № 2. – P. 538-546.
250. Influence of ozone on hemoglobin oxygen affinity in type-2 diabetic patients with peripheral vascular disease: in vitro studies / L. Coppola, R. Yiunta, Y. Verrazzo [et al.] // *Diabetes et Metabolizme*. – 1995. – Vol. 21, № 4. – P. 252-255.
251. Yoldstein, B. D. Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell / B. D. Yoldstein, O. I. Balchum // *Proc soc Exp Biol Med*. – 1967. – Vol. 126. – P. 356-359.
252. Hernandez, F. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy / F. Hernandez, S. Menendaz, R. Wong // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1995. – Vol. 19, № 1. – P. 115-119.
253. Баринов, А. Н. Роль окислительного стресса в заболеваниях нервной системы - пути коррекции / А. Н. Баринов // *Трудный пациент*. – 2012. - № 1. – С. 10-13.
254. Куликов, А. Г. Озонотерапия: микрогемодинамические аспекты / А. Г. Куликов // *Физиотерапия, бальнеология и реабилитация*. – 2012. - № 3. – С. 3-8.
255. Метаболические эффекты озонотерапии в восстановительном лечении пациентов с артериальной гипертензией / Е. В. Хмелева, М. В. Антонюк, А. Д. Новгородцев [и др.] // *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. – 2011. - № 1. – С. 90-92.
256. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target / H. Zhang, J. M. Penninger, Y. Li [et al.] // *Intensive Care Med*. – 2020. – Vol. 46, № 4. – P. 586-590.
257. Dosch, S. F. SARS coronavirus spike protein-induced innate immune

response occurs via activation of the NF-kappaB pathway in human monocyte macrophages in vitro / S. F. Dosch, S. D. Mahajan, A. R. Collins // *Virus Res.* – 2009. – Vol. 142. – P. 19–27.

258. Ozone protects rat heart against ischemia-reperfusion injury: A role for oxidative preconditioning in attenuating mitochondrial injury / W. Meng, Y. Xu, D. Li [et al.] // *Biomed. Pharm.* – 2017. – Vol. 88. – P. 1090–1097.

259. Ozone protects the rat lung from ischemia-reperfusion injury by attenuating NLRP3-mediated inflammation, enhancing Nrf2 antioxidant activity and inhibiting apoptosis / Z. Wang, A. Zhang, W. Meng [et al.] // *Eur. J. Pharm.* – 2018. – Vol. 835. – P. 82–93.

260. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription / E. H. Kobayashi, T. Suzuki, R. Funayama [et al.] // *Nat. Commun.* – 2016. – Vol. 7. – P. 11624.

261. The high Nrf2 expression in human acute myeloid leukemia is driven by NF- κ B and underlies its chemo-resistance / S. A. Rushworth, L. Zaitseva, M. Y. Murray [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 120. – P. 5188–5198.

262. Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis / R. K. Thimmulappa, H. Lee, T. Rangasamy [et al.] // *J. Clin. Investig.* – 2006. – Vol. 116. – P. 984–995.

263. Bertolotti, M. B- to plasma-cell terminal differentiation entails oxidative stress and profound reshaping of the antioxidant responses / M. Bertolotti, S. H. Yim, J. M. Garcia-Manteiga // *Antioxid. Redox. Signal.* - 2010. – Vol. 13. – P. 1133-1144.

264. Nuclear factor NF- κ B involvement in transformation of chronic inflammation into type 2 diabetes (review of literature and own data) / M. Tronko, V. Pushkarev, L. Sokolova, V. Pushkarev // *J. Nat. Acad. Med. Sci of Ukraine.* – 2017. - Vol. 23. – P. 1-17.

265. Тишко, В. В. Влияние эфферентной терапии на вязкость крови у пациентов со стабильной стенокардией напряжения после коронарной ангиопластики и стентирования / В. В. Тишко, А. Н. Бельских, В. В. Тыренко // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* – 2014. – Т. 48, № 4. – С. 7-11.

266. Инструменты скрининга синдрома старческой астении в амбулаторной практике / В. С. Остапенко, Н. К. Рунихина, О. Н. Ткачева [и др.] // Успехи геронтологии. – 2016. – Т. 29, № 2. – С. 306- 312.

267. Покровский, А. В. Консервативное лечение пациентов с перемежающейся хромотой / А. В. Покровский, А. В. Харазов, С. В. Сапелкин // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – № 1. – С.172–180.

268. Bocci, V. A. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art / V. A. Bocci // Arch Med Res. – 2006. – Vol. 37. – P. 425–435.

269. Erin, F. Ozone therapy for the treatment of chronic wounds: a systematic review / F. Erin, O. J. Holland, J. J. Vanderlelie // International wound journal. – 2018. – Vol. 15, № 4. – P. 633-644.

270. Randomized, controlled study of innovative spray formulation containing ozonated oil and α -bisabolol in the topical treatment of chronic venous leg ulcers / L. G. Solovăstru, A. Stîncanu, A. De Ascentii [et al.] // Adv Skin Wound Care. – 2015. – Vol. 28, № 9. - P. 406- 409.

271. Use of a non-specific immunomodulation therapy as a therapeutic vasculogenesis strategy in no-option critical limb ischemia patients / R. Marfella, C. Luongo, A. Coppola [et al.] // Atherosclerosis. – 2010. – Vol. 208, № 2. – P. 473- 479.

272. Topical ozonated autohaemotherapy for the treatment of skin lesions. Proposal of a new method: concept, technique and initial clinical results / E. Borrelli, M. L. Iabichella, G. Mosti, V. Bocci // Int J Ozone Ther. – 2008. – Vol. 7, № 2. – P. 103- 107.

273. Clinical investigation of CT-guided ozone-blowing and fumigation therapy for the chronic refractory cutaneous sinus and ulcer / M. Q. Wei, J. S. Zhou, H. T. Liu [et al.] // Afr J Biotechnol. – 2010. - Vol. 9, № 22. – P. 3334- 3337.

274. Health-related quality of life in patients with chronic wounds before and after treatment with medical ozone / M. Izadi, M. Bozorgi, M. S. Hosseine [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2018. – Vol. 97, 48. - e12505.

275. Juchniewicz, H. Oxygen-Ozone (O₂-O₃) therapy in peripheral arterial disease (PAD): a review study / H. Juchniewicz, A. Lubkowska // Ther Clin Risk Manag.

- 2020. – Vol. 16. – P. 579-594.

276. Central Role of Metabolism in Endothelial Cell Function and Vascular Disease / L. Bierhansl, L. C. Conradi, L. Treps [et al.] // *Physiology* (Bethesda). - 2017. – Vol. 32, № 2. – P. 126-140.

277. Coccheri, S. Development and use of sulodexide in vascular diseases: implications for treatment / S. Coccheri, F. Mannello // *Drug Des Devel Ther.* 2013. – Vol. 24, 8. – P. 49-65.

278. Сулодексид в лечении хронической венозной недостаточности. Итоги всероссийской мультицентровой программы ACVEDUCT / А. В. Чупин, С. Е. Каторкин, И. И. Кательницкий [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2018. – Т. 24, № 1. – С. 47-55.

279. Additive thrombin inhibition by fast moving heparin and dermatan sulfate explains the anticoagulant effect of sulodexide, a natural mixture of glycosaminoglycans / B. Cosmi, M. Cini, C. Legnani [et al.] // *Thromb Res.* – 2003. – Vol. 109. – P. 333–339.

280. Andreozzi, G. M. Sulodexide in the treatment of chronic venous disease / G. M. Andreozzi // *Am J Cardiovasc Drugs.* – 2012. – Vol. 12. – P. 73-81.

281. Tissue factor pathway inhibitor release and depletion by sulodexide in humans / J. Borawski, J. Gozdzikiewicz, M. Dubowski [et al.] // *Adv Med Sci.* – 2009. – Vol. 54. – P. 32-36.

282. Fulllength TFPI release by heparinoid sulodexide / J. Borawski, B. Naumnik, M. Dubowski, M. Mysliwiec // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2010. – Vol. 16. – P. 485-487.

283. Mauro, M. Profibrinolytic and antithrombotic effects of sulodexide oral administration: a double-blind, cross-over, placebo-controlled study / M. Mauro, G. Ferraro, G. C. Palmieri // *Curr Ther Res.* – 1992. – Vol. 51. – P. 342–350.

284. Antithrombotic and thrombolytic activity of sulodexide in rats / M. Barbanti, S. Guizzardi, F. Calanni [et al.] // *Int J Clin Lab Res.* – 1992. – Vol. 22. – P. 179-184.

285. Effects of glycosaminoglycans on platelet and leucocyte function: role of N-sulfation / G. Rajtar, E. Marchi, G. de Gaetano, C. Cerletti // *Biochem Pharmacol.* – 1993. – Vol. 46. – P. 958-960.

286. Carroll, B. J. Sulodexide in venous disease / B. J. Carroll, G. Piazza, S. Z. Goldhaber // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 31-38.

287. Sulodexide improves endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetes in rats / V. Kristova, S. Liskova, R. Sotnikova [et al.] // *Physiol Res*. – 2008. – Vol. 57. – P. 491–494.

288. A new mechanism of action of sulodexide in diabetic nephropathy: inhibits heparanase-1 and prevents FGF-2-induced renal epithelial-mesenchymal transition / V. Masola, M. Onisto, G. Zaza [et al.] // *J Transl Med*. 2012. – Vol. 10. – P. 213.

289. Effect of sulodexide on endothelial glycocalyx and vascular permeability in patients with type 2 diabetes mellitus / L. N. Broekhuizen, B. A. Lemkes, H. L. Mooij [et al.] // *Diabetologia*. – 2010. – Vol. 53. – P. 2646-2655.

290. Mesoglycan and sulodexide act as stabilizers and protectors of fibroblast growth factors (FGFs) / Tardieu M, Bourin MC, Desgranges P, Barbier P, Barritault D, Caruelle JP. // *Growth Factors*. – 1994. – Vol. 11. – P. 291– 300.

291. Sulodexide induces hepatocyte growth factor release in humans / J. Borawski, M. Dubowski, K. Pawlak, M. Mysliwiec // *Eur J Pharmacol*. – 2007. – Vol. 558. – P. 167-171.

292. Effect of sulodexide on plasma transforming growth factor-beta1 in healthy volunteers / J. Borawski, M. Dubowski, K. Pawlak, M. Mysliwiec // *Clin Appl Thromb Hemost*. – 2010. – Vol. 16. – P. 60-65.

293. Jarzabek, K. Sulodexide in the treatment of vascular disease: its therapeutic action on the endothelium / K. Jarzabek, B. Gabryel, T. Urbanek // *Phlebological Review*. – 2016. – Vol. 24, № 4. – P. 51-59.

294. Chronic venous disease – part II: proteolytic biomarkers in wound healing / D. Ligi, G. Mosti, L. Croce [et al.] // *Biochim Biophys Acta*. – 2016. – Vol. 1862. – P. 1900-1908.

295. Glycosaminoglycan sulodexide inhibition of MMP-9 gelatinase secretion and activity: possible pharmacological role against collagen degradation in vascular chronic diseases / F. Mannello, V. Medda, D. Ligi, J. D. Raffetto // *Curr Vasc Pharmacol*.

– 2013. – Vol. 11. – P. 354-365.

296. Mannello, F. Glycosaminoglycan sulodexide modulates inflammatory pathways in chronic venous disease / F. Mannello, D. Ligi, J. D. Raffetto // *Int Angiol.* – 2014. – Vol. 33. – P. 236– 242.

297. Sulodexide prevents peripheral nerve damage in streptozotocin induced diabetic rats / H. Y. Jin, K. A. Lee, S. K. Song [et al.] // *Eur J Pharmacol.* – 2012. – Vol. 15. – P. 217–226.

298. Microvascular alterations in diabetic mice correlate with level of hyperglycemia / P. Algenstaedt, C. Schaefer, T. Biermann [et al.] // *Diabetes.* – 2003. – Vol. 52. – P. 542-549.

299. Superoxide dismutase 1 and glutathione peroxidase 1 are involved in the protective effect of sulodexide on vascular endothelial cells exposed to oxygen-glucose deprivation / B. Gabryel, K. Jarzabek, G. Machnik [et al.] // *Microvasc Res.* – 2016. – Vol. 103. – P. 26-35.

300. Spectrophotometric detection of the interaction between cytochrome c and heparin / M. Antalík, M. Bona, Z. Gazová, A. Kuchár // *Biochim Biophys Acta.* – 1992. – Vol. 1100. – P. 155-159.

301. Heparin inhibits TNF- α signaling in human endometrial stromal cells by interaction with NF- κ B / J. Spratte, H. Meyer zu Schwabedissen, N. Endlich [et al.] // *Mol Hum Reprod.* – 2013. – Vol. 19. – P. 227-236.

302. Autophagy deficiency by Atg4B loss leads to metabolomic alterations in mice / G. G. Martínez-García, R. F. Pérez, Á. F. Fernández [et al.] // *Metabolites.* – 2021. – Vol. 11, № 8. – P. 481.

303. Endothelial cell metabolism / G. Eelen, P. de Zeeuw, L. Treps [et al.] // *Physiol Rev.* – 2018. – Vol. 98, № 1. – P. 3-58.

304. Sulodexide counteracts endothelial dysfunction induced by metabolic or non-metabolic stresses through activation of the autophagic program / F. De Felice, F. Megiorni, I. Pietrantonio [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2019. – Vol. 23, № 6. – P. 2669-2680.

305. Metabolic reprogramming of the tumor microenvironment by p62 and its

partners / M. Reina-Campos, P. M. Shelton, M. T. Diaz-Meco, J. Moscat // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. – 2018. – Vol. 1870, № 1. – P. 88-95.

306. The autophagy-associated factors DRAM1 and p62 regulate cell migration and invasion in glioblastoma stem cells / S. Galavotti, S. Bartesaghi, D. Faccenda [et al.] // *Oncogene*. – 2013. – Vol. 32. – P. 699–712.

307. A functional role for the p62-ERK1 axis in the control of energy homeostasis and adipogenesis / S. J. Lee, P. T. Pfluger, J. Y. Kim [et al.] // *EMBO Rep*. – 2010. – Vol. 11. – P. 226-232.

308. p62 links beta-adrenergic input to mitochondrial function and thermogenesis / T. D. Müller, S. J. Lee, M. Jastroch [et al.] // *J. Clin. Invest*. – 2013. – Vol. 123. – P. 469-478.

309. Metabolic reprogramming of stromal fibroblasts through p62-mTORC1 signaling promotes inflammation and tumorigenesis / T. Valencia, J. Y. Kim, S. Abu-Baker [et al.] // *Cancer Cell*. – 2014. – Vol. 26. – P. 121-135.

310. Autophagy regulates lipid metabolism through selective turnover of NCoR1 / T. Saito, A. Kuma, Y. Sugiura [et al.] // *Nat Commun*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1567.

311. p62 is a key regulator of nutrient sensing in the mTORC1 pathway / A. Duran, R. Amanchy, J. F. Linares [et al.] // *Mol Cell*. – 2011. – Vol. 44. – P. 134–46.

312. K63 polyubiquitination and activation of mTOR by the p62-TRAF6 complex in nutrient-activated cells / J. F. Linares, A. Duran, T. Yajima [et al.] // *Mol Cell*. – 2013. – Vol. 51. – P. 283–296.

313. Сулодексид в лечении хронической венозной недостаточности. Итоги всероссийской мультицентровой программы ACVEDUCT / А. В. Чупин, С. Е. Каторкин, И. И. Кательницкий [и др.] // *Ангиология и сосудистая хирургия*. -2018. – Т. 24, № 1. – С. 47 – 55.

314. Saviano, M. Double-blind, double-dummy, randomized, multi-centre clinical assessment of the efficacy, tolerability and dose-effect relationship of sulodexide in chronic venous insufficiency / M. Saviano, O. Maleti, L. Liguori // *Curr Med Res Opin*. – 1993. – Vol. 13. – P. 96-108.

315. CVD study investigators. Sulodexide in patients with chronic venous disease

of the lower limbs: clinical efficacy and impact on quality of life / N. Elleuch, H. Zidi, Z. Bellamine [et al.] // *Adv Ther.* – 2016. – Vol. 33. – P. 1536–1549.

316. Carroll, B. J. Sulodexide in venous disease / B. J. Carroll, G. Piazza, S. Z. Goldhaber // *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 31-38.

317. Treatment of venous leg ulcers with sulodexide / G. Scondotto, D. Aloisi, P. Ferrari, L. Marini // *Angiology.* – 1999. – Vol. 50. – P. 883–889.

318. Randomised, double blind, multicentre, placebo controlled study of sulodexide in the treatment of venous leg ulcers / S. Coccheri, G. A. Scondotto, D. Aloisi [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2002. – Vol. 87. – P. 947–952.

319. Kucharzweski, M. Treatment of venous leg ulcers with sulodexide / M. Kucharzweski, A. Franek, H. Koziolok // *Phlebologie.* – 2003. – Vol. 32. – P. 115–120.

320. Zhou, Y. X. Efficacy and safety of sulodexide in the treatment of venous ulcers of leg / Y. X. Zhou, X. Feng, Z. P. Jing // *Pharm Care Res.* – 2007. – Vol. 7. – P. 22–24.

321. Каторкин, С. Е. Оценка эффективности применения сулодексида в комплексном лечении пациентов с венозными трофическими язвами / С. Е. Каторкин // *Флебология.* – 2015. – Т. 9, № 4. – С. 35-41.

322. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен / Ю. М. Стойко, А. И. Кириенко, И. И. Затевахин [и др.] // *Флебология.* – 2018. – Т. 3. – С. 146-230.

323. Овчаров, В. К. Справочник Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10-го пересмотра (МКБ-10) / В. К. Овчаров, М. В. Максимов. - Российская академия медицинских наук, НИИ социальной гигиены, экономики и управления здравоохранением им. Н. А. Семашко, 2011. - 593 с.

324. Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: consensus statement / B. Eklöf, R. B. Rutherford, J. J. Bergan [et al.] // *J Vasc Surg.* – 2004. – Vol. 40, № 6. – P. 1248-1252.

325. Куликов, В. П. Основы ультразвукового исследования сосудов / В. П. Куликов. – М.: ИД Видар-М, 2015. – 329 с.
326. Костюк, В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кварцетина / В. А. Костюк // Вопр. мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88–91.
327. Lowry, O. H. Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr // J Biol Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.
328. Heteronuclear ^1H - ^{31}P statistical total correlation NMR spectroscopy of intact liver for metabolic biomarker assignment: application to galactosamine-induced hepatotoxicity / M. Coen, Y. S. Hong, O. Cloarec [et al.] // Anal Chem. - 2007. – Vol. 79, № 23. – P. 8956–8966.
329. Untargeted UPLC-MS profiling pipeline to expand tissue metabolome coverage: application to cardiovascular disease / P. A. Vorkas, G. Isaac, M. A. Anwar [et al.] // Anal Chem. – 2015. – Vol. 87, № 8. – P. 4184–4193.
330. Probabilistic quotient normalization as robust method to account for dilution of complex biological mixtures. Application in ^1H NMR metabonomics / F. Dieterle, A. Ross, G. Schlotterbeck, H. Senn // Anal Chem. – 2006. – Vol. 78. – P. 4281–4290.
331. Optimization of metabolite extraction of human vein tissue for ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance-based untargeted metabolic profiling / M. A. Anwar, P. A. Vorkas, J. V. Li [et al.] // The Analyst. – 2015. – Vol. 140. – P. 7586–7597.
332. XCMS: processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching, and identification / C. A. Smith, E. J. Want, G. O'Maille [et al.] // Anal Chem. – 2006. – Vol. 78. – P. 779–787.
333. Bligh, E. G. A rapid method of total lipid extraction and purification / E. G. Bligh, W. J. Dyer // Can J Biochem Physiol. – 1959. – Vol. 37, № 8. – P. 911–917.
334. Do varicose veins affect quality of life? Results of an international population-based study / X. Kurz, D. L. Lamping, S. R. Kahn [et al.] // J Vasc Surg. - 2001. - Vol. 34, № 4. - P. 641-648.

335. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе венозной трансформации / Ю. Л. Шевченко, Ю. М. Стойко, М. Н. Замятин, В. Г. Гудымович // *Ангиология и сосудистая хирургия*. - 2008. - № 1. - С. 15-19.

336. Patients with incompetent valves in chronic venous insufficiency show increased systematic lipid peroxidation and cellular oxidative stress markers / M. A. Ortega, B. Romero, Á. Asúnsolo [et al.] // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2019. – Vol. 2019. – P. 5164576.

337. Kehinde, B. A. The effects of unilateral varicose ovarian vein on antioxidant capacity and oocyte quality in rat ovary / B. A. Kehinde, F. Abolhassani, H. Yazdekhasti // *Iran J Basic Med Sci.* – 2016. – Vol. 19. – P. 863–869.

338. Simka, M. Cellular and molecular mechanisms of venous leg ulcers development– the "puzzle" theory / M. Simka // *Int Angiol.* – 2010. – Vol. 29, № 1. – P. 1–19.

339. Seidl, R. Evidence against increased oxidative DNA damage in Down syndrome / R. Seidl, S. Greber, E. Schuller // *Neurosci. Lett.* – 1997. – Vol. 235. – P. 137–140.

340. Челомбитько, М. А. Роль активных форм кислорода в воспалении. Мини-обзор / М. А. Челомбитько // *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. - 2018. - № 4. – С. 242-246.

341. Coleridge Smith, P. D. Deleterious effects of white cells in the course of skin damage in CVI / P. D. Coleridge Smith // *Int Angiol.* – 2002. – Vol. 21, 2 Suppl 1. – P. 26–32.

342. Participation of leucocytes in pathogenesis of primary forms of lower limb chronic venous disease / V. Bogachev, O. V. Golovanova, N. A. Sergeeva, A. N. Kuznetsov // *Angiol Sosud Khir.* – 2011. – Vol. 17, № 3. – P. 71–75.

343. Are inflammatory biomarkers increased in varicose vein blood? / C. R. Lattimer, E. Kalodiki, G. Geroulakos [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2016. – Vol. 22, № 7. - P. 656-664.

344. Шадрина, А. С. Молекулярные механизмы развития варикозной болезни нижних конечностей / А. С. Шадрина, И. А. Золотухин, М. Л. Филипенко

// Флебология. – 2017. – Т. 11, № 2. – С. 71-75.

345. Serum iron concentration and plasma oxidant-antioxidant balance in patients with chronic venous insufficiency / M. Budzyń, M. Iskra, Z. Krasieński [et al.] // Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. – 2011. - Vol. 17, № 12. - CR719-27.

346. Efficacy of safranal to cisplatin-induced nephrotoxicity / Y. S. Karafakioglu, M. F. Bozkurt, O. Hazman [et al.] // Biochem J. – 2017. – Vol. 474. – P. 1195–1203.

347. Salivary antioxidants and oxidative stress in psoriatic patients: can salivary total oxidant status and oxidative status index be a plaque psoriasis biomarker? / A. Skutnik-Radziszewska, M. Maciejczyk, K. Fejfer [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2020. – Vol. 2020. – P. 9086024.

348. Patients with incompetent valves in chronic venous insufficiency show increased systematic lipid peroxidation and cellular oxidative stress markers / M. A. Ortega, B. Romero, Á. Asúnsolo [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2019. - Vol. 2019. – P. 5164576.

349. Krzysciak, W. Generation of reactive oxygen species by a sufficient, insufficient and varicose vein wall / W. Krzysciak, M. Kózka // Acta Biochimica Polonica. – 2011. - Vol. 58, № 1. - P. 89–94.

350. Serum from varicose patients induces senescence-related dysfunction of vascular endothelium generating local and systemic proinflammatory conditions / J. Mikuła-Pietrasik, P. Uruski, K. Aniuikiewicz [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2016. - Vol. 2016. – P. 2069290.

351. Extracellular SOD-derived H₂O₂ promotes VEGF signaling in caveolae/lipid rafts and post-ischemic angiogenesis in mice / J. Oshikawa, N. Urao, H. W. Kim [et al.] // PloS One. – 2010. – Vol. 5, № 4. - e10189.

352. Han, J. Catalase and superoxide dismutase conjugated with platelet-endothelial cell adhesion molecule antibody distinctly alleviate abnormal endothelial permeability caused by exogenous reactive oxygen species and vascular endothelial growth factor / J. Han, V. V. Shuvaev, V. R. Muzykantov // J Pharmacol Exp Ther. - 2011. – Vol. 338, № 1. – P. 82-91.

353. Raica, M. Platelet-derived growth factor (PDGF)/PDGF receptors PDGFR axis as target for antitumor and antiangiogenic therapy / M. Raica, A. M. Cimpean // *Pharmaceuticals*. – 2010. – Vol. 3. – P. 572–599.

354. Kelle, I. Protective effects of ethyl pyruvate in cisplatin-induced nephrotoxicity / I. Kelle, H. Akkoc, S. Tunik [et al.] // *Biotechnol Biotechnol Equip.* – 2014. – Vol. 28. – P. 674–680.

355. Platelet-derived growth factor and reactive oxygen species (ROS) regulate Ras protein levels in primary human fibroblasts via ERK1/2 - Amplification of ROS and Ras in systemic sclerosis fibroblasts / S. Svegliati, R. Cancellato, P. Sambo [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. – 2005. – Vol. 280. – P. 36474-82.

356. Механизмы развития и особенности варикозной болезни вен нижних конечностей в детском и молодом возрасте / В. В. Студенкова, Л. О. Севергина, А. Н. Дзюндзе, И. А. Коровин // *Архив патологии*. – 2017. – Т. 79, № 4. – С. 56-60.

357. Natural flavones and flavonols: relationships among antioxidant activity, glycation, and metalloproteinase inhibition [Electronic source] / S. Ronsisvalle, F. Panarello, G. Longhitano [et al.] // *Cosmetics*. – 2020. – Vol. 7, 3. – P. 71. – URL: <https://doi.org/10.3390/cosmetics7030071>

358. Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs / J. S. Ramkisson, M. F. Mahomoodally, N. Ahmed, A. H. Subratty // *Asian Pac. J. Trop. Med.* – 2013. – Vol. 6. – P. 561–569.

359. Современный взгляд на патогенез варикоцеле и проблему развития его рецидивов / В. В. Студенникова, Л. О. Севергина, Д. Г. Цариченко [и др.] // *Урология*. – 2018. - № 1. – С. 150-154.

360. Genetic biomarkers in chronic venous disease / R. Serra, L. Ssempijja, M. Provenzano, M. Andreucci // *Biomark. Med.* – 2020. – Vol. 14. – P. 75–80.

361. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group / D. H. O'Leary, J. F. Polak, R. A. Kronmal [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 340. – P. 14–22.

362. Prolidase, matrix metalloproteinases 1 and 13 activity, oxidative-

antioxidative status as a marker of preterm premature rupture of membranes and chorioamnionitis in maternal vaginal washing fluids / H. E. Soydinc, M. E. Sak, O. Evliyaoglu [et al.] // *International journal of medical sciences*. – 2013. – Vol. 10, № 10. – P. 1344–1351.

363. Metabolic phenotyping in venous disease: the need for standardization / S. Onida, M. K. Tan, M. Kafeza [et al.] // *Journal of Proteome Research*. – 2019. – Vol. 18, 11. – P. 3809-3820.

364. Sailem, H. Z. Morphological landscape of endothelial cell networks reveals a functional role of glutamate receptors in angiogenesis [Electronic source] / H. Z. Sailem, A. Al Haj Zen // *Sci Rep*. – 2020. – Vol. 10. – P. 13829. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70440-0>

365. Glutaminase-1 stimulates the proliferation, migration, and survival of human endothelial cells / K. J. Peyton, X. M. Liu, Y. Yu [et al.] // *Biochem. Pharmacol*. – 2018. – Vol. 156. - P. 204–214.

366. Effect of physiologic levels of glutamine on ICAM-1 expression in endothelial cells activated by preeclamptic plasma / C. S. Hsu, S. Y. Chou, S. J. Liang [et al.] // *J. Reprod. Med*. – 2006. – Vol. 51. – P. 193–198.

367. Dietary glutamine supplementation enhances endothelial progenitor cell mobilization in streptozotocin-induced diabetic mice subjected to limb ischemia / S. T. Su, C. L. Yeh, Y. C. Hou [et al.] // *J. Nutr. Biochem*. – 2017. – Vol. 40. – P. 86–94.

368. Glutamine administration modulates endothelial progenitor cell and lung injury in septic mice / M. H. Pai, Y. M. Shih, J. M. Shih, C. L. Yeh // *Shock*. – 2016. – Vol. 46. – P. 587–592.

369. Glutamine supplementation alleviates vasculopathy and corrects metabolic profile in an in vivo model of endothelial cell dysfunction / F. Addabbo, Q. Chen, D. P. Patel [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. - e65458.

370. Effects of 6-month supplementation with β -hydroxy- β -methylbutyrate, glutamine and arginine on vascular endothelial function of older adults / A. C. Ellis, M. Patterson, T. Dudenbostel [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr*. – 2016. – Vol. 70. – P. 269–273.

371. Inhibition by l-glutamine of the release of endothelium-derived relaxing

factor from cultured endothelial cells / M. Hecker, J. A. Mitchell, T. A. Swierkosz [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 1990. – Vol. 101. – P. 237–239.

372. Патогенез несостоятельности стенки вены при варикозной болезни / В. В. Студенникова, Л. О. Севергина, Г. В. Синявин [и др.] // *Хирургия. Журнал им. НИ Пирогова.* – 2019. - № 10. – С. 69-74.

373. Liu, X. M. Ammonia promotes endothelial cell survival via the heme oxygenase-1 mediated release of carbon monoxide / X. M. Liu, K. J. Peyton, W. Durante // *Free Radic. Biol. Med.* – 2017. – Vol. 102. – P. 37–46.

374. Систематический анализ молекулярно-физиологических эффектов мио-инозитола: данные молекулярной биологии, экспериментальной и клинической медицины / О. А. Лиманова, О. А. Громова, И. Ю. Торшин [и др.] // *Эффективная фармакотерапия. Акушерство и гинекология.* – 2013. - № 3(28). - С. 32-41.

375. Di Paolo, G. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics / G. Di Paolo, P. De Camilli // *Nature.* – 2006. – Vol. 443, № 7112. – P. 651-657.

376. Inositols prevent and reverse endothelial dysfunction in diabetic rat and rabbit vasculature metabolically and by scavenging superoxide / N. R. F. Nascimento, L. M. A. Lessa, M. R. Kerntopf [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – Vol. 103. – P. 218–223.

377. Harraz, O. F. Aging, calcium channel signaling and vascular tone / O. F. Harraz, L. J. Jensen // *Mech. Ageing Dev.* – 2020. – Vol. 191. – P. 111336.

378. Taurine reduces high glucose induced leukocyte–endothelial interactions via down-regulation of ICAM-1 / R. G. Casey, G. Chen, M. Joyce [et al.] // *J Anat.* – 2002. – Vol. 200, № 5. – P. 525–526.

379. Фармакокинетика таурина / Е. П. Елизарова, Б. Г. Ходжакулиев, Л. И. Заволовская [и др.] // *Кардиология.* – 1995. - № 4. – С. 69-70.

380. Taurine rescues vascular endothelial dysfunction in streptozocin-induced diabetic rats: correlated with downregulation of LOX-1 and ICAM-1 expression on aortas / L. J. Wang, Y. H. Yu, L. G. Zhang [et al.] // *Eur J Pharmacol.* – 2008. – Vol. 597. – P. 75–80.

381. Protective effects of taurine on endothelial cells impaired by high glucose and oxidized low-density lipoproteins / G. Ulrich-Merzenich, H. Zeitler, H. Vetter, R. R. Bhonde // *Eur J Nutr.* – 2007. – Vol. 46. – P. 431–438.

382. High dietary taurine reduces apoptosis and atherosclerosis in the left main coronary artery / A. Zulli, E. Lau, B. P. P. [et al.] // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 53. – P. 1017–1022.

383. Physiological role of taurine – from organism to organelle / I. H. Lambert, D. M. Kristensen, J. B. Holm, O. H. Mortensen // *Acta Physiol.* – 2015. – Vol. 213. – P. 191–212.

384. Is there any cardioprotective role for taurine during cold ischemic period following global myocardial ischemia? / M. A. Sahin, O. Yucel, A. Guler [et al.] // *J Cardiothorac Surg.* – 2011. – Vol. 6. – P. 31.

385. Ghaderian, S. M. Tissue remodeling investigation in varicose veins / S. M. Ghaderian, Z. Khodaii // *Int J Mol Cell Med.* – 2012. – Vol. 1, № 1. – P. 50-61.

386. Taurine preserves gap junctional intercellular communication in rat hepatocytes under oxidative stress / T. Fukuda, K. Ikejima, M. Hirose [et al.] // *J Gastroenterol.* – 2000. – Vol. 35, № 5. – P. 361-368.

387. Vohra, B. P. Taurine protects against carbon tetrachloride toxicity in the cultured neurons and in vivo / B. P. Vohra, X. Hui // *Arch Physiol Biochem.* – 2001. – Vol. 109, № 1. – P. 90-94.

388. Taurine content of isolated rat alveolar type I cells // *Comparative biochemistry and physiology* / M. A. Banks, D. W. Porter, W. H. Pailes [et al.] // *Comp Biochem Physiol B.* – 1991. – Vol. 100, № 4. – P. 795–799.

389. Sphingolipid signalling: Molecular basis and role in TNF- α -induced cell death / S. Malagarie-Cazenave, N. Andrieu-Abadie, B. Ségui [et al.] // *Expert Reviews in Molecular Medicine.* – 2002. – Vol. 4, № 28. – P. 1-15.

390. TNF- α - and tumor-induced skeletal muscle atrophy involves sphingolipid metabolism / J. De Larichaudy, A. Zufferli, F. Serra [et al.] // *Skeletal Muscle.* – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 2.

391. Induction of endothelial cell apoptosis by TNF α : modulation by

inhibitors of protein synthesis / V. Polunovsky, C. Wendt, D. Ingbar [et al.] // *Exp Cell Res.* – 1994. – Vol. 214. – P. 584-594.

392. Карпунин, Д. В. Формирование пор в плоских липидных мембранах, содержащих лизолипиды и холестерин / Д. В. Карпунин, С. А. Акимов, В. А. Фролов // *Биологические мембраны.* – 2005. – Т. 22, № 5. – С. 429 – 432.

393. Boisseau, M. R. Leukocyte Involvement in the Signs and Symptoms of Chronic Venous Disease / M. R. Boisseau // *Perspectives for Therapy.* – *Clin Hemorheol Microcirc.* – 2007. – Vol. 37, № 3. – P. 277 – 290.

394. Грибанов, Г. А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов / Г. А. Грибанов // *Вопросы медицинской химии.* - 1991. - Т. 37, № 4. - С. 2–10.

395. Taurine attenuates oxidative stress and alleviates cardiac failure in type I diabetic rats / G. G. Wang, W. Li, X. H. Lu [et al.] // *Croat Med J.* – 2013. – Vol. 54. – P. 171–179.

396. Rashid, K. Taurine ameliorate alloxan induced oxidative stress and intrinsic apoptotic pathway in the hepatic tissue of diabetic rats / K. Rashid, J. Das, P. C. Sil // *Food Chem Toxicol.* – 2013. – Vol. 51. – P. 317–329.

397. Oxidative stress and inflammation in obesity after taurine supplementation: a double-blind, placebo-controlled study / F. T. Rosa, E. C. Freitas, R. Deminice [et al.] // *Eur J Nutr.* – 2014. – Vol. 53. – P. 823–830.

398. Schaffer, S. W. Role of antioxidant activity of taurine in diabetes / S. W. Schaffer, J. Azuma, M. Mozaffari // *Can J Physiol Pharmacol.* – 2009. – Vol. 87. – P. 91–99.

399. Shivananjappa, M. M. Taurine attenuates maternal and embryonic oxidative stress in a streptozotocin-diabetic rat model / M. M. Shivananjappa // *Reprod Biomed Online.* – 2012. – Vol. 24. – P. 558–566.

400. Taurine inhibits increased MMP-2 expression in a model of oxidative stress induced by glutathione depletion in rabbit heart / G. Sevin, G. Ozsarlak-Sozer, D. Keles [et al.] // *European journal of pharmacology.* – 2013. – Vol. 706, № 1-3. – P. 98-106.

401. Dietary taurine supplementation prevents glial alterations in retina of

diabetic rats / K. Zeng, H. Xu, M. Mi [et al.] // *Neurochem Res.* – 2009. – Vol. 34. – P. 244–254.

402. Jacobs, L. S. Sphingolipids as mediators of effects of platelet-derived growth factor in vascular smooth muscle cells / L. S. Jacobs, M. Kester // *Am J Physiol.* – 1993. – Vol. 265, 3 Pt 1. – P. 740-747.

403. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению С1 клинического класса хронических заболеваний вен / В. Ю. Богачев, Д. А. Росуховский, Д. А. Борсук [и др.] // *Амбулаторная хирургия.* - 2020. - № 3-4. - С. 140-206.

404. Effectiveness of a short-term treatment of oxygen-ozone therapy into healing in a posttraumatic wound [Electronic source] / I. D. Agosti, E. Ginelli, B. Mazzacane [et al.] // *Case Reports in Medicine.* – 2016. - Vol. 2016. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/crim/2016/9528572/>

405. Sulodexide attenuates endoplasmic reticulum stress induced by myocardial ischaemia/reperfusion by activating the PI3K/Akt pathway / D. Shen, R. Chen, L. Zhang [et al.] // *Journal of cellular and molecular medicine.* – 2019. – Vol. 23, № 8, - P. 5063–5075.

406. Functional features of vascular endothelium after endovenous laser therapy and pharmacotherapy (Sulodexide) in patients with varicose veins with CEAP clinical class C4 / Y. Shevchenko, Y. Stojko, M. Yashkin, T. Chernyago // *EJVES Vascular Forum.* – 2022. - Vol. 54. – P. e43.

407. Учкин, И. Г. Современные подходы к лечению венозных трофических язв / И. Г. Учкин, А. Г. Багдасарян // *Русский медицинский журнал.* – 2013. – № 15. – С. 810–814.

408. Apo2L/TRAIL-dependent recruitment of endogenous FADD and Caspase-8 to death receptors 4 and 5 / F. C. Kischkel, D. A. Lawrence, A. Chuntharapai [et al.] // *Immunity.* – 2000. – Vol. 12, № 6. – P. 611–620.