

**МИНАЕВ АНТОН ВАЛЕРЬЕВИЧ**

**ЗНАЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ  
ВЕНОЗНОЙ СТЕНКИ ДЛЯ ПРОГНОЗА И  
ЛЕЧЕНИЯ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

1.5.4. Биохимия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
**Вавилова Татьяна Павловна.**

**Научный консультант:** доктор медицинских наук, профессор  
**Дибиров Магомед Дибирович.**

**Официальные оппоненты:**

**Никулина Дина Максимовна**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии и клинической лабораторной диагностики, заведующая кафедрой;

**Мустафин Ильшат Ганиевич**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии и клинической лабораторной диагностики, заведующий кафедрой.

**Ведущая организация:**

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 14 февраля 2023 года в 11.00 час. на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) (350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861)2625018).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 202\_\_ г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета 21.2.014.02  
доктор медицинских наук,  
профессор



Лапина Наталья Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Варикозная болезнь нижних конечностей (ВБНК) является достаточно распространенным заболеванием, особенно в высокоразвитых странах и промышленных регионах (Казаков М.С. и др., 2017; Конева М.И. и др., 2021; Кунанбаева К.О. и др., 2021; Robertson L. et al., 2008). По данным многочисленных работ, данная патология выявляется до 1/3 населения с незначительным преобладанием у женщин (Кириенко А.И. и др., 2015; Закирова Г.Э. и др., 2018; Комарова Л.Н. и др., 2021; Shabani Varaki E. et al., 2018; Evans C.J. et al., 1999; Rabe E. et al., 2003, 2012; Carpentier P.H. et al., 2004; Jawień A., Grzela T., 2004; Zahariev T. et al., 2009). Факторами риска являются ожирение (Willenberg T. et al., 2010), женский пол и беременность (Carpentier P.H. et al., 2004; Robertson L. et al., 2008), наследственный характер и возраст (Dindelli M. et al., 1993; Rabe E. et al., 2003, 2012; Fiebig A. et al., 2010; Carpentier P.H. et al., 2004). В настоящее время отмечается омоложение пациентов с ВБНК (Шевченко Ю.Л. и др., 2013; Кириенко И.А. и др., 2015; Белоусова О.В. и др., 2016; Зубко А.В. и др., 2018; Конева М.И. и др., 2021; Zolotukhin I. et al., 2017).

Этиология венозной недостаточности остается до сих пор не до конца выясненной. Клапанная недостаточность и рефлюкс долгое время считались решающими в формировании варикозно расширенных вен (Corcos L. et al., 2000). В других исследованиях предполагают, что воспаление может быть основополагающим звеном в патогенезе венозной недостаточности (Raffetto J.D., Khalil R.A., 2008; Lim C.S., Davies A.H., 2009; Rabe E., Pannier F., 2012). В конечном итоге заболевание завершается образованием незаживающих язв, что обуславливает социально значимый характер изучаемой патологии. Следует подчеркнуть, что на сегодняшний день ни один из хирургических методов лечения ВБНК при различных стадиях декомпенсации не может полностью решить проблему лечения данной патологии (Комарова Л.Н. и др., 2018; Дибиров М.Д. и др., 2020; Черняго Т.Ю. и др., 2021).

Многочисленные работы указывают на возможность участия в этиологии варикозного расширения вен факторов роста, высвобождаемых макрофагами, провоспалительных цитокинов, матриксных металлопротеиназ и молекул адгезии (Sayer G.L., Smith P.D., 2004; Sprague A.H., Khalil R.A., 2009). В результате воспалительных изменений эндотелиальный слой вены дегенерирует до деформированной, фрагментарной структуры (Кириенко А.И. и др., 2012; Богачев В.Ю., 2012; Комарова Л.Н. и др., 2018; Конева М.И., 2021; Elsharawy M.A. et al., 2007). Согласно исследованиям ряда авторов, эндотелиальные клетки выделяют множество медиаторов воспаления и факторов роста, таких как фактор фон Виллебранда (Lim C.S., Davies A.H., 2009), остеопротегерин (Tisato V. et al., 2012), факторы, индуцирующие пролиферацию гладких мышц, – простагландин F<sub>2</sub>, фактор роста фибробластов-1 (Schuller-Petrovic S. et al., 1997), молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1), молекулы адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM-1), молекулы адгезии тромбоцитов в эндотелиальных клетках-1 (PECAM-1) (Khaleel M.S. et al., 2012). Другой важной особенностью несостоятельных вен является повышенный

ангиогенез, сопровождающийся повышенной проницаемостью сосудов (Howlader M.H., Coleridge Smith P.D., 2004; Gomez I. et al., 2014). Как только эндотелиальный барьер повреждается, его антикоагулянтные свойства теряются и обнажается прокоагуляционный слой перицитов (Juchem G. et al., 2010; Nees S. et al., 2013). Лейкоциты прилипают к стенке капилляра и закупоривают сосуды, высвобождая протеолитические ферменты и токсические метаболиты (Agu O. et al., 2002).

Несмотря на многочисленные исследования, до сих пор нет ясности в отношении роли ферментных систем и белков иммунной защиты в этиологии этого заболевания, также мало работ по цитокиновому профилю при варикозе.

В связи с этим проведение исследований по выяснению роли ряда ключевых метаболитов в патогенезе варикозной болезни, в основе которых лежит определение данных показателей в варикозно деформированных участках подкожных вен нижних конечностей у пациентов разных классов заболевания, представляется крайне актуальным (Тодуа Ф.И. и др., 2015; Вавилова Т.П. и др., 2018; Минаев А.В. и др., 2019, 2020; Петриков А.С. и др., 2019; Grudzińska E. et al., 2019). При этом необходим персонифицированный подход к пациентам с ВБНК с учётом биохимических аспектов патогенеза заболевания и стадии декомпенсации (Максимов М.Л. и др., 2018; Калинин Р.Е. и др., 2018; Петриков А.С., 2019; Дибиров М.Д. и др., 2020).

**Степень разработанности темы.** В последнее время уделяется значительное внимание изучению у пациентов с ВБНК в плазме крови ряда биохимических показателей, которые отражают изменения в метаболических и иммунных процессах (Кожевникова Л.М., 2017; Вавилова Т.П. и др., 2019; Davydov V.V. et al., 2018). В отечественной и зарубежной литературе имеется достаточно данных об исследовании у пациентов с ВБНК в плазме крови таких показателей как гидроксипролин, эндотелиальный фактор роста, фактор роста фибробластов, гликопротеины, спектр различных ферментов (Cazaubou M. et al., 2001; Кузнецов О.Е. и др., 2009; Вавилова Т.П. и др., 2018; Калинин Р.Е. и др., 2018). Вместе с тем содержание ключевых показателей, отражающих интенсивность метаболических процессов, и активность факторов гуморального иммунитета непосредственно в варикозно трансформированной венозной стенке практически не изучены.

**Цель исследования:** изучить биохимические особенности венозной стенки пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на различных стадиях хронической венозной недостаточности для прогноза развития и оценки эффективности лечения.

**Задачи исследования:**

1. Выявить этиопатогенетические факторы риска развития варикозной болезни нижних конечностей.
2. Установить у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей энергетический потенциал клеток венозной стенки по активности лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и креатинкиназы.
3. Определить целостность венозной стенки у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на различных стадиях хронической венозной

недостаточности по количеству холестерина, активности аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы.

4. Выявить фибринолитический потенциал вен по количеству D-димера у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на различных стадиях заболевания.

5. Оценить степень развития воспалительной реакции в варикозно расширенных участках вен на различных стадиях хронической венозной недостаточности по уровню фактора некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкина-1 $\beta$ .

6. Изучить у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей роль маркеров иммунологических реакций в варикозно расширенных участках вен по количеству иммуноглобулинов А, G, М.

7. Выделить биохимические предикторы развития варикозной болезни нижних конечностей по показателям плазмы крови и биоптатов вен у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

**Научная новизна.** Установлены биохимические основы заболевания вен нижних конечностей по уровню фактора некроза опухоли- $\alpha$ , D-димера, холестерина, интерлейкина-1 $\beta$ , иммуноглобулинов А, G, активности аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и креатинкиназы, что позволяет проанализировать современные подходы к лечению данной патологии с учётом выявленных метаболических сдвигов.

Увеличение уровня D-димера в плазме крови и биоптатах вен является предиктором развития заболевания вен нижних конечностей.

Получены доказательства, что колебания уровня хлора в плазме крови от верхних до нижних пределов нормы могут являться точным критерием диагностики острой и хронической стадии развития заболевания вен нижних конечностей.

Поздняя стадия развития заболевания вен нижних конечностей характеризуется признаками кислородной недостаточности в плазме крови на фоне снижения количества эритроцитов и, как следствие, уровня гемоглобина, а в клетках вен нижних конечностей – усилением реакций гликолиза и глюконеогенеза наряду со снижением энергетического потенциала.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Была разработана новая концепция учета повреждения стенки венозного клапана у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей, и установлена взаимосвязь полученных результатов с классом заболевания. Демонстрация лейкоцитарно-эндотелиального клеточного взаимодействия, опосредованная каскадом биохимических реакций, является важным шагом в выяснении этиологии хронического заболевания вен. Выявленные факторы риска – курение и профессиональная деятельность – могут быть связаны с появлением и развитием хронической венозной недостаточности.

Были получены теоретические результаты в области биохимии, которые вошли в основу учебной образовательной программы по дисциплине «Биологическая химия» ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России по специальности 31.05.01 «Лечебное дело».

**Методология и методы исследования.** Комплексное обследование больных

включало в себя сбор жалоб пациентов, данных анамнеза, физикальное обследование, ультразвуковое дуплексное ангиосканирование, выполнялись стандартные клинико-лабораторные исследования крови. Пациентам, включенным в исследование, была выполнена плановая комбинированная флебэктомия: кроссэктомия, стриппинг, минифлебэктомия и перевязка несостоятельных перфорантных вен. Во время оперативного вмешательства были получены варикозно трансформированные фрагменты большой подкожной вены в средней трети бедра. Из полученных фрагментов были приготовлены гомогенаты. В биоптатах венозной стенки спектрофотометрическим методом определяли активность креатинкиназы, лактатдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и количество холестерина. Методом иммуноферментного анализа в полученных образцах исследовали количество интерлейкина-1 $\beta$ , фактора некроза опухоли- $\alpha$ , иммуноглобулинов А, G, М и D-димера.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. При исследовании модели венозной гипертензии на ранней стадии заболевания было установлено развитие лейкоцитарно-эндотелиальной каскадной биохимической реакции.

2. Факторы, запускающие адгезию и миграцию лейкоцитов в венозном эндотелии, связаны со снижением энергетического потенциала клеток, развитием гипоксии и повреждением клеточных мембран. Гипоксия активирует эндотелиальные клетки, а снижение напряжения на венозной стенке может способствовать адгезии лейкоцитов.

3. Изменения в венозных клапанах, вызванные воспалительным процессом, являются ключевым фактором в развитии варикозного расширения. Связь между дисфункцией и ремоделированием вен включает раннюю активацию асептического воспаления, которое запускает клеточные и ферментативные процессы.

4. Колебания уровня D-димера и ионов хлора в плазме крови имеют прямую положительную взаимосвязь со степенью поражения венозной стенки сосудов.

**Степень достоверности и апробация результатов работы.** Достоверность результатов данного диссертационного исследования определяется достаточным материалом комплексного исследования, а также использованием автором современных клинических и биохимических методов, необходимых для решения поставленных задач. Обследован 141 пациент, и изучен ряд биохимических показателей биоптатов варикозно деформированных вен и плазмы крови методами спектрофотометрического и иммуноферментного анализов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в соответствии с методами, принятыми в вариационной статистике с применением программы «Statistica 13.3» (TIBCO, США). Полученные данные оформлены в виде таблиц и рисунков.

Результаты диссертационной работы освещены в печати и доложены на научных конференциях:

1. Девятая Российская научно-практическая конференция с международным участием «Здоровье человека в XXI веке», Казань, 2017;

2. 72-ая Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная 100-летию со дня рождения почётного профессора ЯГМУ, заслуженного врача РФ Ярыгина Н.Е., Ярославль, 2018;

3. XXXX Итоговая научная конференция общества молодых учёных МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, 2018;

4. Двенадцатая Российская научно-практическая конференция с международным участием «Здоровье человека в XXI веке», Казань, 2020.

Диссертация апробирована на совместном заседании кафедр биологической химии, общей и биорганической химии, нормальной физиологии и медицинской физики, хирургических болезней и клинической ангиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (2021).

**Уровень внедрения результатов исследования.** Результаты данной работы внедрены в педагогический процесс при проведении практических занятий по биологической химии и хирургическим болезням студентам лечебного факультета, чтении лекций, а также в научных исследованиях на кафедрах биологической химии, хирургических болезней и клинической ангиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в практическую деятельность 16 отделения сосудистой хирургии государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница им. В.В. Вересаева Департамента здравоохранения города Москвы».

**Публикации по теме исследования.** Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 14 научных работ, из которых 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним

**Степень личного участия в работе.** Автор самостоятельно проанализировал современные источники литературы, посвящённые данной теме, выполнил все заявленные лабораторные исследования, оформил необходимую первичную документацию, выполнил статистическую обработку полученных результатов, провёл их анализ. Автором обследован 141 пациент (анализ историй болезни, участие в заборе материала для исследования). В ходе исследования образцов клинического материала автором освоены биохимические методы исследования (иммуноферментный анализ, спектрофотометрический метод).

**Объём и структура работы.** Текст диссертации изложен на 120 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 269 источников: 118 отечественных и 151 зарубежных. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 20 рисунками.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящей работе был обследован 141 пациент, из них 63 (44,7%) мужчины и 78 (55,3%) женщин, с варикозной болезнью нижних конечностей, которые проходили стационарное обследование и дальнейшее хирургическое лечение в плановом порядке по медицинским показаниям.

При поступлении в стационар у всех пациентов собирали анамнез, проводили общий осмотр, общие клинические и лабораторные методы исследования, специальные методы исследования.

При объективном обследовании особое внимание обращали на внешний вид нижних конечностей, цвет кожных покровов, наличие варикозно деформированных подкожных вен и их локализацию, телеангиоэктазий, отёков, участков гиперпигментации и индurations кожи голени.

По результатам комплексного исследования пациентам с варикозной болезнью нижних конечностей устанавливали диагноз и разделяли по классификации CEAP (C2-C6) (клиника-этиология-анатомия-патофизиология) на 4 группы (таблица 1).

**Таблица 1** – Общая характеристика групп пациентов

Группы пациентов	Количество пациентов	Возраст, лет M±m	Пол (абс. ч./%)	
			Мужчины	Женщины
1-ая группа (C2)	55 (39%)	53,1±2,28	23 (41,8%)	32 (58,2%)
2-ая группа (C3)	30 (21,3%)	64,4±3,39	16 (53,3%)	14 (46,7%)
3-я группа (C4 <sub>ab</sub> )	30 (21,3%)	66,5±1,54	13 (43,3%)	17 (56,7%)
4-ая группа (C5-C6)	26 (18,4%)	68,2±1,88	11 (42,3%)	15 (57,7%)

Всем пациентам, включенным в исследование, была выполнена плановая комбинированная флебэктомия, которая включала в себя выполнение кроссэктомии, стриппинга, минифлебэктомии и перевязку несостоятельных перфорантных вен.

До и после проведённого оперативного вмешательства все пациенты в комплексном лечении получали системную фармакотерапию.

Критериями исключения пациентов из настоящего исследования явились состояния, которые могут оказать своё влияние на течение хронической венозной недостаточности, а также на исследуемые нами биохимические показатели:

- перенесённый в анамнезе тромбофлебит подкожных вен нижних конечностей;
- облитерирующие заболевания аорты, артерий таза и нижних конечностей;
- тромбоз глубоких вен нижних конечностей;
- ранее перенесённые оперативные вмешательства по поводу варикозной болезни;
- сахарный диабет;
- ишемическая болезнь сердца;
- инфекционно-воспалительные заболевания мягких тканей нижних конечностей.

Во время проведения комбинированной флебэктомии с согласия пациента были выделены образцы ткани с варикозно трансформированных участков большой подкожной вены в средней трети бедра.

Извлеченные фрагменты вен отмывали 0,9% раствором хлорида натрия, затем размещали на фильтровальной бумаге для удаления излишек влаги и упаковывали в пластиковую пробирку с крышкой типа эппендорф. Образцы замораживали в холодильной камере при температуре  $-30^{\circ}\text{C}$ . Перед началом исследования образцы медленно размораживали при комнатной температуре  $+25^{\circ}\text{C}$ . Навеску взвешивали на электронных весах «Ohaus» и из расчета на 1 г ткани добавляли 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Для получения растворимых белков ткань растирали в фарфоровой ступке с кварцевым песком на холоде до гомогенного состояния, а затем центрифугировали (Sigma 2-16KL с охлаждением) в течение 15 минут, относительное ускорение центрифуги 4751 g. Отделяли полученную надосадочную жидкость и переливали в чистые пробирки.

Для анализа были использованы реактивы фирмы ООО «Вектор-Бест» (Россия). Определение биохимических показателей проводили на спектрофотометрах BioChem (USA) и StatFax 4200 (USA). В супернатанте ткани вен нижних конечностей спектрофотометрическим методом определяли активность креатинкиназы (Mildvan A. S., 1994), лактатдегидрогеназы (Pesce A. et al., 1984), аланинаминотрансферазы (Thefeld W. et al., 1974), аспаратаминотрансферазы (Thefeld W. et al., 1974), щелочной фосфатазы (Young D.S., 1995) и количество холестерина (Young D.S., 1995), методом иммуноферментного анализа определяли количество интерлейкина-1 $\beta$  (Petitto J.M. et al., 2000), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (Arnett H.A. et al., 2001), иммуноглобулинов A, G, M (Dati F. et al., 1996) и D-димера (Wells P.S. et al., 2000).

В плазме крови спектрофотометрическим методом определяли активность лактатдегидрогеназы (Pesce A. et al., 1984), аланинаминотрансферазы (Thefeld W. et al., 1974), аспаратаминотрансферазы (Thefeld W. et al., 1974), щелочной фосфатазы (Young D.S., 1995), количество холестерина (Zlatkis, A. et al., 1953), триацилглицерола (Kaplan A. et al., 1984), общего билирубина (Jendrassik L., leghorn R.A., 1936), глюкозы (Keston A.S., 1956), липопротеинов низкой плотности (Young D.S., 1995), липопротеинов высокой плотности (Young D.S.,

1995), общего белка (Koller A. et al., 1984), прямого билирубина (Jendrassik L., leghorn R.A., 1936), натрия, калия, хлора (Young D.S., 1995), железа (Thompson J.C., Mottola H.C., 1984), креатинина (Heinegard D., Tiderstrm G., 1973), методом иммуноферментного анализа определяли количество D-димера (Wells P.S. et al., 2000), турбидиметрическим методом определяли количество C-реактивного белка (Hart W.R., 1989).

Также определяли следующие показатели клинического анализа крови: СОЭ, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация Hb в эритроцитах, относительная ширина распределения эритроцитов по объему (стандартное отклонение), относительная ширина распределения эритроцитов по объему (коэффициент вариации), тромбоциты, средний объем тромбоцитов, тромбоциты, относительная ширина распределения тромбоцитов по объему, лейкоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты, лимфоциты.

Результаты проведенных исследований были обработаны с помощью пакета программ для статистического анализа «STATISTICA 13.3» (TIBCO, США). Для наглядности и структурированности материалы представлены в виде электронных таблиц «Microsoft Excel 2013».

Первым этапом анализа любого признака было определение вида его распределения. Для этой цели использовался критерий Шапиро-Уилкса. Признак считался нормально распределенным, если удовлетворял этому критерию (уровень статистической значимости  $p > 0,05$ ) и представлялся как среднее значение со стандартным квадратическим отклонением:  $(M \pm SD)$ , где  $M$  – среднее значение,  $SD$  – среднее квадратическое отклонение. Если распределение признака не удовлетворяло критерию Шапиро-Уилкса, то признак признавался распределенным ненормально и результат имел вид медианы ( $Me$ ) с указанием интерквартильного размаха:  $Me (25\%; 75\%)$ .

Следующим этапом оценивалась дисперсия распределения признака в группе. Согласно общепринятым рекомендациям, для этой цели использовался критерий Левена. При  $p > 0,05$  дисперсии распределения признака считались равными. Соответственно, при  $p < 0,05$  дисперсии распределения признавались неравными. При возникновении необходимости нахождения различий между результатами двух выборок с нормальным распределением признака использовались t-критерий Стьюдента и модифицированный t-критерий Стьюдента. Если при сравнении двух независимых выборок хотя бы один из признаков был ненормально распределенным, использовался метод непараметрической статистики – U-критерий Манна-Уитни. Для уменьшения их вероятности при анализе признаков трех и более независимых выборок использовался однофакторный дисперсионный анализ.

Параметрический однофакторный анализ вариаций (ANOVA) выбирался в случае нормального распределения и равенства дисперсии признака в группах. При получении статистически значимых различий ( $p < 0,05$ ) признака в группах проводились апостериорные сравнения групп с поправкой Бонферрони. Аналогично предыдущему статистическому анализу t-критерий Стьюдента использовался для выборок с нормальным распределением, а критерий Манна-

Уитни применялся в группах с ненормальным распределением признака. Оценка взаимосвязи между признаками осуществлялась через определение корреляции ранговым методом Спирмена (при  $p < 0,05$  корреляция считалась достоверной).

Для визуального контроля и исключения выбросов дополнительно проводилось построение диаграмм рассеяния. Сила корреляционных взаимоотношений признаков анализировалась с помощью коэффициента корреляции ( $r$ ): при  $|r| \leq 0,25$  корреляция признавалась слабой, при  $0,25 < |r| < 0,75$  – умеренной, при  $|r| \geq 0,75$  – сильной. Если  $r$  принимал значения меньше 0, то корреляция считалась отрицательной, если  $r$  имел значение больше 0 – положительной,  $r=0$  свидетельствовал об отсутствии корреляции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В настоящем исследовании для установления критериев риска развития хронической венозной недостаточности нижних конечностей был применен параметрический однофакторный анализ вариаций и корреляционный анализ. С этой целью у пациентов с ВБНК был осуществлен сбор данных по полу, возрасту, отношению к курению, профессиональной деятельности, уровню образования, сопутствующим заболеваниям и классификации СЕАР согласно диагнозу.

Все эти параметры были статистически обработаны, и получены следующие результаты. Основная масса пациентов с ВБНК (72,3%) находилась в возрастном диапазоне от 50 до 80 лет. Возрастной диапазон от 19 до 29 лет выявлен у 10 пациентов с ВБНК, что составляло всего 7,1%. Число пациентов с ВБНК в возрасте от 30 до 50 лет достигало 12,8%, а от 80 лет и выше – 9,2%. Таким образом, критический возрастной коридор для развития ВБНК был установлен в возрасте от 50 до 70 лет.

У большинства пациентов с ВБНК 39% был поставлен диагноз по классификации СЕАР-2. Несколько меньше было пациентов с СЕАР-3 и СЕАР-4 – по 21,3 %, а число пациентов с СЕАР-5 составило 8,5% и СЕАР-6 – 9,9%.

Опрос пациентов с ВБНК показал, что число курящих пациентов составило 23,4%. Однофакторный тест значимости (ANOVA) для возраста пациентов с ВБНК, Sigma-ограниченная параметризация и эффективное разложение гипотезы показали достоверную зависимость развития заболевания от возраста ( $F=6,98$ ;  $p < 0,0005$ ) и от курения ( $F=7,83$ ,  $p < 0,006$ ).

Для выявления профессионального риска развития ВБНК был применен Общероссийский классификатор занятий (ОКЗ), который входит в состав национальной системы стандартизации Российской Федерации. Каждому виду профессиональной деятельности присвоен код.

Среди всех опрошенных пациентов с ВБНК больше половины (59,6%) имели высшее образование. Согласно профессиональному классификатору, основная часть пациентов с ВБНК 33,3% являлась специалистами высшего уровня квалификации. Работниками сферы обслуживания и торговли, охраны граждан и собственности были 19,9% пациентов с ВБНК, а по 10,6% пациентов составили работники сельского и лесного хозяйства, рыбоводства и

рыболовства и квалифицированные рабочие промышленности, строительства, транспорта и рабочие родственных занятий. Несколько меньший процент пациентов с ВБНК составили руководители – 8,5%, специалисты среднего уровня квалификации – 7,8%, служащие, занятые подготовкой и оформлением документации, учетом и обслуживанием – 9,9%, операторы производственных установок и машин, сборщики и водители – 6,4%. Неквалифицированных рабочих и военнослужащих среди обследованных пациентов с ВБНК не было.

Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) на значимость отличий между профессиональной деятельностью пациентов и степенью тяжести ВБНК показали достоверно значимую зависимость ( $F=3,10$ ,  $p=0,02$ ). И, в частности, высокие зоны риска имеются у работников сферы обслуживания и торговли, охраны граждан и собственности (ОКЗ 5) и служащих, занятых подготовкой и оформлением документации, учетом и обслуживанием (ОКЗ 4).

Ранее подозревалось, что длительное стояние на ногах на работе является отягчающим фактором или фактором риска развития ВБНК. Корреляционный анализ выявил наиболее значимые профессии из перечня и установил взаимосвязь увеличения степени тяжести ВБНК от профессии машиниста поезда, врача, бухгалтера, слесаря и бортпроводника и снижение степени тяжести ВБНК у физиков, скульпторов, пилотов и ветеринаров. Поэтому можно считать, что причиной развития ВБНК может являться низкая мобильность пациентов на рабочем месте.

Таким образом, уровень отличий показал достоверную разницу риска развития ВБНК от возраста, курения и профессиональной деятельности пациентов. Не было установлено отличий степени риска развития ВБНК от пола пациентов. При этом получена достоверная ( $p<0,05$ ) отрицательная взаимосвязь между полом пациентов и курением (25%), возрастом и курением (23%), курением и профессиональной деятельностью (31%).

Таким образом, этиопатогенетический анализ данных пациентов с ВБНК показал, что заболевание развивается независимо от пола и общего соматического статуса, но показывает значимость регрессии к курению и профессиональной деятельности.

У пациентов с ВБНК с различными стадиями заболевания были изучены 14 показателей клинического анализа крови + СОЭ и 19 показателей плазмы крови. Полученные результаты представлены в таблицах 2-5.

Согласно статистическим расчетам, на ранней стадии заболевания (СЕАР-2) в образцах крови у пациентов с ВБНК определялось повышенное количество эритроцитов, лейкоцитов и СОЭ на верхней границе нормы (таблица 2), что может свидетельствовать о развитии воспалительной реакции организма. На 3 стадии заболевания (СЕАР-3) лейкоцитарная активность не только сохраняется, но и увеличивается, при этом количество эритроцитарных клеток постепенно достигает показателей нормы.

На 4 стадии (СЕАР-4) наблюдается временное затишье со стороны клеток крови и их количество в среднем соответствует референсным значениям нормы.

**Таблица 2** – Клинический анализ крови с лейкоцитарной формулой + СОЭ у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на разных стадиях заболевания (M±m, min-max).

Наименование (ед.изм)	СЕАР				Референсные значения
	2	3	4	5-6	
СОЭ (мм/час)	15,7±2,09 3-47	15,0±1,07 1-20	10,5±2,77 5-16	6,00±1,77 3-11	0-15
Эритроциты (10*12 л)	6,74±1,72* 2,13-13,6	5,17±0,05 5,13-5,40	5,07±0,19 4,93-5,2	4,30±0,03* 3,2-6,7	4,44-5,61
Гемоглобин (г/л)	143±3,64 132,3-157	156±15,4 156-187	135±17,0 123-147	122±12,3* 120-128	135-169
Гематокрит (%)	32,7±1,44 13,9-47	45,5±0,78 44,9-51	41,8±2,19 40,3-43,4	37,0±1,17 32-41	40-49,4
Индекс распределения эритроцитов (%)	13,9±1,80 12,2-16,4	13,8±1,52 12,4-15,4	14,9±2,82 12,9-16,9	11,8±2,20 10,9-13,5	11,5-14,5
Средний объем эритроцитов (фл)	76,6±4,18 23,2-131	88,2±11,3 87,4-93	82,7±7,49 77,4-88	87,0±4,32 78-99	81,8-95,5
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (пг/кл)	30,0±0,40 29,2-31,8	30,7±7,01 28,2-38,9	26,6±4,53 23,4-29,8	28,4±5,22 22,5-31,7	27,0-32,3
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (г/дл)	30,7±1,71 29,7-34,1	33,5±5,65 30,1-36,7	32,1±2,62 30,2-33,9	32,9±2,76 27,1-36,8	30,0-35,0
Нейтрофилы (10*9 л)	4,50±0,33 1,9-10,1	6,59±1,49 3,07-10,1	3,84±1,70 2,63-5,04	3,31±0,06 2,88-4,1	1,80-6,98
Лимфоциты (10*9 л)	1,67±0,09 0,37-2,85	2,35±0,71 1,84-2,85	2,57±0,06 2,53-2,61	2,06±0,04 1,88-2,45	1,26-3,35
Моноциты (10*9 л)	0,44±0,02 0,2-0,8	0,64±0,22 0,48-0,8	0,56±0,03 0,33-0,79	0,46±0,005 0,34-0,49	0,29-0,95
Эозинофилы (10*9 л)	0,17±0,01 0,02-0,4	0,25±0,02 0,1-0,4	0,14±0,04 0,11-0,17	0,06±0,002 0,03-0,08	0,03-0,59
Базофилы (10*9 л)	0,06±0,01 0,02-0,1	0,04±0,003 0,01-0,06	0,04±0,007 0,03-0,04	0,01±0,003 0,006-0,2	0,01-0,07
Тромбоциты (10*9 л)	241±16,6 211-301	177±69,2 128-226	218±54,4 179-256	263±32,8 188-271	166-308
Лейкоциты (10*9 л)	13,9±0,80* 12,3-15,1	14,3±8,95* 5,5-23,4	5,45±1,15 4,3-6,6	5,90±0,45 4,8-6,7	3,91-10,9

Примечание: \* отличия по отношению к референсным значениям.

На тяжелой стадии заболевания ВБНК (СЕАР 5-6) наблюдаются признаки снижения количества эритроцитов и соответствующее им снижение уровня гемоглобина. Это свидетельствует о нарушении снабжения тканей кислородом и, как следствие, развитии анемии.

В отношении других исследуемых показателей клеточного состава и их индексов особых изменений не выявлено.

В плазме крови пациентов с ВБНК была изучена активность ферментов ЩФ, ЛДГ, АСТ и АЛТ (таблица 3).

Как показали результаты, у пациентов на начальной стадии СЕАР-2 в плазме крови выявлялась повышенная активность ЛДГ, что может свидетельствовать о

гипоксии тканей и активном переходе клеток на анаэробное потребление глюкозы. На 3 и 4 стадии активность ЛДГ не отличалась от показателей нормы, в то время как активность данного фермента на стадии СЕАР 5-6 начала постепенно увеличиваться и почти достигла верхних границ нормы.

**Таблица 3** – Активность ферментов (МЕ/л) в плазме крови пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на разных стадиях заболевания (M±m, min-max).

Ферменты	СЕАР				Референсные значения
	2	3	4	5-6	
ЩФ	86,1±15,4 45-146	93,2±18,9 67-112	94,5±17,7 82-107	66,0±16,4 48,9-93	42-128
АСТ	26,4±1,87 14-44	21,1±4,79 13-30	23,2±6,78 12,1-34	24,2±7,04 15,1-41	0-35
АЛТ	26,5±3,21 2,5-65	19,6±8,21 8,2-39	21,8±9,73 11,6-42	22,2±10,3 6,0-44	0-45
ЛДГ	548±186* 362-734	291±19,8 118-578	395±43,1 364-425	414±97,7 252-734	218-435

Примечание: \* отличия по отношению к референсным значениям.

Активность ферментов АСТ, АЛТ и ЩФ в плазме крови пациентов с ВБНК на разных стадиях развития заболевания не отличалась от значений нормы.

В таблице 4 приведены данные о количестве метаболитов в плазме крови пациентов с ВБНК на разных стадиях заболевания.

**Таблица 4** – Содержание метаболитов в плазме крови пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на разных стадиях заболевания (M±m, min-max).

Метаболиты (ед.изм.)	СЕАР				Референсные значения
	2	3	4	5-6	
Общий билирубин (мкмоль/л)	15,3±1,61 4,38-47,5	15,3±9,93 4,5-42,6	14,6±5,84 3,8-28	13,6±6,16 7,01-34	0-21
Прямой билирубин (мкмоль/л)	6,35±0,39 2,85-15,8	3,22±0,39 2,65-3,5	4,65±0,35 4,4-4,9	3,99±2,11 2,1-7,0	0-4,3
Глюкоза (ммоль/л)	5,06±0,12 4,2-6,59	5,66±0,86 4,1-7,2	5,25±0,78 3,76-6,6	5,04±0,43 4,47-6,0	3,64-6,16
Триглицериды (ммоль/л)	1,52±0,24 0,6-4,42	2,40±1,55 0,56-5,2	1,38±0,99 0,58-4,06	1,44±0,45 0,72-2,18	0,5-2,30
Холестерол (ммоль/л)	5,44±0,24 3,85-8,19	5,38±1,43 3,75-7,93	4,97±1,68 2,66-9,7	4,78±1,13 3,12-6,57	3,2-6,0
ЛПНП (ммоль/л)	3,40±0,27 2,16-5,68	3,21±1,60 1,32-5,98	2,93±1,03 1,84-5,7	2,94±1,03 1,62-4,71	0,08-4,0
ЛПВП (ммоль/л)	5,32±1,62* 0,74-68,3	1,23±0,33 0,8-1,74	1,45±0,61 0,89-2,9	1,15±0,23 0,8-1,55	0,9-1,89
Общий белок (г/л)	70,3±2,18 27,3-78	70,3±4,04 64-75,9	71,4±6,68 58-81	72,3±2,71 68-76,6	64-83
Креатинин (мкмоль/л)	86,2±6,00 3,69-148	87,9±20,2 64,1-122	84,1±18,3 63,4-120	90,5±19,1 60,9-121,8	62-115
D-димер (мкг/мл)	2,22±0,56* 0,11-6,7	1,94±0,18* 1,33-2,76	2,16±0,72* 0,24-6,91	1,50±0,93* 0,32-2,89	0-0,50
СРБ (мг/л)	3,06±0,42 0,27-4,63	1,66±0,16 0,33-3,44	1,57±0,01 1,56-1,66	1,24±0,55 0,6-1,56	0-5,0

Примечание: \* отличия по отношению к референсным значениям.

Показатели уровня метаболитов в плазме крови у пациентов с ВБНК не выявили существенных отличий за некоторым исключением.

У пациентов с ВБНК на начальной стадии заболевания СЕАР-2 в плазме крови выявлено повышенное количество ЛПВП, что, возможно, связано с активным транспортом холестерина, блокируя тем самым повреждение интимы сосудов.

Обращает на себя внимание повышение в плазме крови пациентов с ВБНК уровня D-димера, пептида, который участвует в процессах тромбообразования, и наибольшее его количество обнаруживается у пациентов с ВБНК на стадии СЕАР-2. Его количество колебалось от 0,11 до 6,7 мкг/мл.

У пациентов с ВБНК количество ионов железа, натрия, калия и хлора в плазме крови не отличалось от референсных значений нормы (таблица 5).

Однако корреляционный анализ всех изученных параметров плазмы крови выявил положительную прямую высокодостоверную связь между степенью тяжести развития ВБНК и уровнем хлора в плазме крови ( $r=0,33$ ,  $p=0,04$ ).

**Таблица 5** – Содержание ионов в плазме крови пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на разных стадиях заболевания ( $M \pm m$ , min-max).

Ионы (ед.изм.)	СЕАР				Референсные значения
	2	3	4	5-6	
Натрий (ммоль/л)	141±0,92 137-147	141±1,42 139-143	142±2,63 136-145	141±2,06 139-146	138-153
Калий (мг-экв/л)	4,89±0,13 4,1-5,5	4,65±0,60 3,8-5,8	4,66±0,55 3,9-5,9	4,46±0,45 3,9-5,3	3,5-5,3
Хлор (ммоль/л)	101±2,18 80-106	104±1,44 103-107	106±2,16 103,7-110	105±2,24 101,3-108	98-108
Железо (мкмоль/л)	9,30±1,46 3,69-14,8	5,85±0,59 2,6-9,1	11,2±2,19 3,2-21,2	8,84±4,69 2,44-13,2	8,95-31,3

Таким образом, исследование параметров плазмы крови пациентов с ВБНК показало, что на начальных стадиях развития заболевания выявляется усиление гликолитических процессов наряду с лейкоцитарной активностью и процессами транспорта холестерина и гемоглобина. Полученные данные свидетельствуют в пользу острого воспалительного процесса, связанного с недостаточностью венозного шунта нижних конечностей.

В 3 и 4 стадии ВБНК особых изменений не выявлено, что характерно для приспособительной реакции организма в ответ на заболевание. На поздней 5-6 стадии развития заболевания имеются признаки кислородной недостаточности, отражаемые снижением количества гемоглобина на фоне понижения количества эритроцитов, и, как следствие, нарастание гликолитических процессов.

Увеличение уровня D-димера на всех стадиях развития ВБНК свидетельствует о циркулирующем в плазме крови большом числе продуктов распада фибрина, который участвует в образовании тромбов. В данном случае его повышение может указывать на острое и хроническое заболевание сосудистой системы. Наряду с D-димером, колебания уровня хлора в плазме

крови в пределах верхних и нижних границ нормы может свидетельствовать о дисрегуляции транспорта ионов на уровне клеток и, как следствие, развитии нарушения циркуляции жидкости в сосудистом русле.

Чувствительным показателем энергетического потенциала клеток является ферментативная активность, которая используется для диагностических и прогностических целей. Энергетический метаболизм клеток во многом зависит от ключевых реакций с участием аденозинмонофосфата. В этом разделе будет оценен энергетический барьер реакции поврежденных заболеванием клеток венозной стенки по активности щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и креатинкиназы.

У пациентов с ВБНК на различных стадиях заболевания также были изучены 12 биохимических показателей в биоптатах варикозно измененных вен (таблица б).

Установлено, что у пациентов с ВБНК с изменением класса ХВН статистически значимо менялась активность ЛДГ в биоптатах ткани. Очевидно, что активность ЛДГ отражает степень венозного застоя крови и уровень гипоксии в тканях в области варикозного расширения. Выявлена прямая высокодостоверная положительная корреляция между активностью ЛДГ и классом ХВН ( $r=0,92$ ,  $p<0,000$ ).

Значения активности креатинкиназы у пациентов с ВБНК на разных этапах заболевания также подвергались изменениям. Выявлена отрицательная корреляция между активностью КК и классом ХВН ( $r=-0,69$ ,  $p<0,001$ ).

Наряду с изменением активности ЛДГ в биоптатах ткани статистически значимо изменялась активность ЩФ в биоптатах ткани ( $p<0,001$ ). Таким образом, снижение анаэробного ресинтеза АТФ, регулируемого гликолитическим и креатинфосфатным механизмами, и усиление гидролиза АТФ, который обеспечивает фермент щелочная фосфатаза, свидетельствуют о снижении энергетического баланса клеток вен нижних конечностей. Освобождающийся в результате гидролиза АТФ фосфат не используется креатинкиназной реакцией в полной мере. Накопление лактата в тканях вен нижних конечностей в результате усиления анаэробного процесса, регулируемого ферментом ЛДГ, приводит к снижению метаболической емкости клеток. В итоге клетки не имеют возможность осуществлять взаимодействие АДФ с макроэргическими соединениями для ресинтеза АТФ, что приводит к значительному энергетическому голоданию.

В наших исследованиях также определена активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и количество холестерина в биоптатах вен нижних конечностей у пациентов с хронической венозной недостаточностью. Было выявлено, что с изменением класса ХВН статистически значимо менялось значение активности АЛТ в биоптатах ткани ( $p<0,001$ ). Установлена высокодостоверная прямая положительная корреляция между активностью АЛТ и классом ХВН ( $r=0,84$ ,  $p<0,001$ ).

Аналогично с изменением класса ХВН статистически значимо менялись значения активности АСТ в биоптатах ткани ( $p<0,001$ ).

Нами было выявлено присутствие холестерина в варикозно изменённой венозной стенке и изменение его количества в зависимости от класса ХВН. Так, на фоне увеличения количества D-димера в стенке варикозных вен у пациентов с С3 и С4 возрастало и содержание холестерина. Таким образом, о целостности мембран клеток вен нижней конечности можно судить по активности АСТ, АЛТ и количеству холестерина, полученным по результатам исследования биоптатов вен нижних конечностей у пациентов с ВБНК. АСТ и АЛТ широко распространены в организме и участвуют в глюконеогенезе, катализируя перенос аминогрупп от аспартата и аланина к  $\alpha$ -оксоглутаровой кислоте с образованием оксалоацетата и пирувата соответственно, а также глутамата. Повреждение мембран клеток, опосредованное ростом активности АСТ и АЛТ, обосновывается увеличением скорости тканевого протеолиза при участии матриксных металлопротеиназ и повышением внутриклеточного распада аминокислот. При этом АЛТ оказался более специфическим биомаркером клеточного повреждения. Целостность клеточных мембран поддерживается балансом между количеством холестерина и уровнем насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах. Снижение скорости синтеза холестерина отражает нарушение трофики и возможно связано с повышением содержания активных форм кислорода, стимуляцией процессов перекисного окисления липидов и разрушением клеточных мембран. В клетках, обедненных холестерином, изменение свойств подмембранного цитоскелета или его связи с мембраной сопровождается деформацией мембран.

При варикозном расширении вен повышенный уровень воспалительных маркеров является индикатором повреждения эндотелия и повышенной прокоагулянтной активности. Эти данные требуют подтверждения предположения, что уровень D-димера в биоптатах варикозно расширенных вен отличается от его уровня в плазме крови. Нами было показано, что количество D-димера в биоптатах варикозно измененных вен имело статистически значимые различия в зависимости от класса СЕАР. Выявлена сильная положительная корреляция между уровнем D-димера ткани и классом ХВН ( $r=0,95$ ,  $p<0,0000$ ). Наши исследования показали, что количество D-димера в биоптатах вен достоверно возрастает в зависимости от класса заболевания и его уровень в тканях выше, чем в плазме крови. В связи с этим количество D-димера в венозной стенке можно считать маркером прогрессирования варикозной болезни вен нижних конечностей и предиктором возникновения тромбоэмболических осложнений – тромбозов в бассейне НПВ и ТЭЛА, а пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей классов С5-С6 можно отнести в группу риска по возникновению данных осложнений.

**Таблица 6** – Активность ферментов и количество метаболитов в биоптатах варикозно измененных вен у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на разных стадиях заболевания (M±m, min-max)

Показатели (ед. изм.)	СЕАР			
	2	3	4	5-6
ЛДГ (ммоль/мин·г ткани)	157±17,1 98,8-346	401±28,1 236-654	597±21,6 495-782	923±18,2 764-1029
КК (ммоль/мин·г ткани)	118±13,9 45,7-287	43,2±9,78 0-124	10,2±2,43 0-34,7	7,22±2,3 0-32,5
ЩФ (ммоль/мин·г ткани)	86,9±8,48 28,2-135	117±11,2 19,6-175	203±19,7 87,6-322	126±13,9 39,6-197
АЛТ (ммоль/мин·г ткани)	23,8±0,69 20,0-30,1	29,2±0,88 20,3-36,1	35,7±0,97 29,5-42,7	64,2±3,99 50,0-103
АСТ (ммоль/мин·г ткани)	19,3±0,67 13,5-22,4	23,2±0,75 18,6-29,5	30,2±0,46 27,2-34,1	41,2±0,68 37,3-45,3
Холестерол (пг/г ткани)	2,03±0,06 1,83-2,91	3,46±0,11 2,96-4,37	5,06±0,09 4,15-5,65	1,54±0,03 1,35-1,75
Д-димер (нг/г ткани)	134±14,7 0,41-200	519±36,4 234-854	1481±58,7 988-2012	3002±37,2 2731-3232
ИЛ-1β (пг/г ткани)	2,56±0,22 1,12-4,56	5,29±0,41 2,95-8,62	8,36±0,46 5,24-11,2	11,6±0,79 6,13-18,2
ФНО-α (пг/г ткани)	18,6±1,09 11,0-26,2	26,0±0,91 20,1-30,1	31,7±1,51 24,1-42,6	17,5±1,01 10,3-24,1
IgA (мг/г ткани)	1,43±0,05 1,23-2,01	1,87±0,06 1,33-2,22	3,94±0,07 3,45-4,33	4,94±0,05 4,41-5,32
Ig G (мг/г ткани)	12,5±0,44 10,3-18,2	17,3±0,59 13,4-21,2	24,1±0,51 20,4-26,7	30,9±0,44 28,8-36,4

Количество ИЛ-1β в биоптатах варикозных вен также имело статистически значимые различия в зависимости от класса ХВН ( $p < 0,001$ ). С изменением класса ХВН также статистически значимо менялся уровень ФНО-α в биоптатах ткани ( $p < 0,001$ ). Выявленные изменения можно связать с активацией лейкоцитов, что приводит к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов и способствует миграции фибробластов в зону повреждения. Повышение уровня ФНО-α у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей классов С2-С4 является причиной активации лейкоцитов, чем и объясняется повышение уровня ИЛ-1β, описанное выше.

Резкое уменьшение количества ФНО-α у пациентов с трофическими язвами связано с тем, что данный показатель индуцирует апоптоз по митохондриальному типу за счёт участия каспазы-3 и каспазы-6. Эти метаболические сдвиги свидетельствуют о нарастании воспалительной реакции в венозной стенке по мере прогрессирования заболевания.

При исследовании биоптатов варикозно изменённых вен мы установили наличие Ig A и Ig G в венозной стенке.

Исследование количества Ig A и Ig G в биоптатах вен выявило, что уровень данных иммуноглобулинов возрастает в зависимости от класса заболевания ( $p < 0,001$ ). Была выявлена высокодостоверная прямая положительная взаимосвязь между уровнем Ig A ( $r = 0,89$ ,  $p < 0,0000$ ), Ig G ( $r = 0,90$ ,  $p < 0,0000$ ) и

классом ХВН. При исследовании биоптатов варикозно изменённых вен нами также было установлено присутствие Ig M в венозной стенке. В то же время данное исследование не выявило достоверных отличий ( $p=0,2$ ) в уровне данного показателя в зависимости от стадии заболевания.

Таким образом, у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей уровень Ig A и Ig G возрастает в зависимости от класса заболевания. Выявленные изменения можно связать с активацией лейкоцитов и лизосомальных ферментов, а также с местным иммунным ответом на поступление антигена, которым является D-димер, изменения количества которого описаны выше. Уровень Ig M не зависит от класса заболевания, что связано с отсутствием острой воспалительной реакции в венозной стенке у пациентов с ВБНК.

Таким образом, по мере прогрессирования заболевания выявляются необратимые дистрофические изменения. Снижение регенеративного и трансмембранного потенциала, серьёзные метаболические сдвиги в венозной стенке свидетельствуют об отсутствии выраженного клинического эффекта от консервативной терапии, особенно на поздних стадиях развития заболевания. Полученные данные позволяют расширить представление о патогенезе данного заболевания, предположить прогноз развития заболевания и оптимизировать лечение.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Несмотря на то, что ранее проведенные исследования установили генетический аспект заболевания вен нижних конечностей, возраст, профессию, беременность и ожирение, которые оказывают влияние на распространенность и прогрессирование заболевания, до сих пор неизвестно, как варианты заболеваний нарушают биохимические процессы в клетках вен и как эти события приводят к образованию их варикозного расширения. Понимание того, как биохимические aberrации модулируют метаболические пути, ферментативную активность и нормальную клеточную функцию, является естественным следующим шагом в исследовании болезни.

Для идентификации метаболического статуса человека необходимо проводить оценку биохимических компонентов фенотипа болезни. Было обнаружено, что D-димер, креатинкиназа и лактатдегидрогеназа являются дифференциальными биомаркерами, которые различают группы здоровых и поврежденных вен, а также наблюдалось более низкое содержание холестерина в варикозной ткани. Показатели воспаления – фактор некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкин- $1\beta$ , а также элементы неспецифического иммунитета – иммуноглобулины – отражают весь спектр воспалительной реакции в местном масштабе.

Механизмы, описанные в отношении варикозного расширения вен, имеют большое значение для изучения ремоделирования межклеточного матрикса, механизмов клеточной гипоксии и множественных гемодинамических изменений, которые, глобально воздействуя на разные слои стенки вены, приводят к хроническому воспалению и окислительному стрессу. В

совокупности локальная химическая среда и физическое давление, которому клетки подвергаются после хронического застоя крови, могут вызывать изменения в балансе метаболизма и нарушать гомеостаз липидов, что приводит к производству определенных молекул, способствующих адаптации, и в конечном итоге выживанию клеток.

## **ВЫВОДЫ**

1. У пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей основными этиопатогенетическими факторами риска выявлены возраст ( $F=6,98$ ), курение ( $F=7,83$ ) и вид профессиональной деятельности ( $F=3,10$ ). Получена достоверная отрицательная взаимосвязь между полом пациентов и курением (25%), возрастом и курением (23%), курением и профессиональной деятельностью (31%).

2. По мере прогрессирования варикозной болезни нижних конечностей в биоптатах венозной стенки нарастает тканевая гипоксия, нарушается энергообеспечение тканей и усиливается распад клеточных структур, что отражается повышением активности лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и уменьшением активности креатинкиназы.

3. Нарушение целостности венозной стенки у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей подтверждается высокой активностью в биоптатах вен трансаминаз, и в большей степени аланинаминотрансферазы, и снижением уровня холестерина.

4. У пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей по мере прогрессирования заболевания возрастает риск возникновения тромбоэмболических осложнений – тромбозов в бассейне нижней полой вены и тромбоза лёгочной артерии, о чем свидетельствует увеличение количества D-димера в плазме крови и биоптатах венозной стенки и положительная корреляционная зависимость между данными показателями.

5. В ткани венозной стенки нарастает воспалительная реакция по мере прогрессирования заболевания, что выражается в повышении количества интерлейкина- $1\beta$  и фактора некроза опухоли- $\alpha$ , а у пациентов с трофическими язвами (стадия С5-С6) наблюдается снижение количества фактора некроза опухоли- $\alpha$ .

6. Варикозная болезнь нижних конечностей характеризуется повышением уровня иммуноглобулинов А и G в биоптатах ткани, за исключением иммуноглобулина М, соответственно прогрессированию тяжести хронической венозной недостаточности.

7. Развитие хронической венозной недостаточности достоверно взаимосвязано с уровнем хлора (33%) в плазме крови, активностью креатинкиназы, лактатдегидрогеназы (92%), аланинаминотрансферазы (84%), уровнем иммуноглобулинов А (89%) и G (90%), D-димера (95%) в тканях вен.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. В качестве предиктора развития варикозной болезни нижних конечностей необходимо определять уровень D-димера и хлора в плазме крови.

2. Для диагностики стадии развития варикозной болезни нижних конечностей необходимо определять в биоптатах вен активность креатинкиназы, лактатдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы.

3. Степень местного иммунитета при развитии варикозной болезни нижних конечностей можно оценить по уровню иммуноглобулинов А и G.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Выявленные биохимические изменения в варикозно деформированных венах у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей по мере прогрессирования заболевания обосновывают необходимость дальнейшего изучения на молекулярном уровне патогенеза данной патологии. Динамические изменения активности ферментов и количества ряда метаболитов в варикозно расширенных венах могут послужить предпосылкой для разработки новых лекарственных препаратов, оказывающих влияние на энергетический и фибринолитический потенциал клеток и уровень воспаления в венозной стенке. Изучение биохимических основ развития варикозной болезни нижних конечностей может привести к поиску новых молекулярных маркеров прогрессирования заболевания и предикторов возникновения данной патологии и их дальнейшему возможному применению с целью диагностики в клинической практике.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Минаев, А.В.** Исследование активности ферментов в биоптатах подкожных вен нижних конечностей с варикозным расширением / **А.В. Минаев, Т.П. Вавилова, Ю.А. Островский** // Здоровье человека в XXI веке. IX-я Российская научно-практическая конференция: сб. науч. ст. Казань: Издательство «Бриг», 2017. – С. 273–275.

2. **Минаев, А.В.** Исследование биохимических показателей в сосудистой стенке у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей в разных возрастных группах / **А.В. Минаев** // Материалы 65-й Всероссийской юбилейной научной конференции молодых ученых и студентов с международным участием. – Махачкала: ИПЦ, ДГМУ. – 2017. – С. 283–284.

3. **Минаев, А.В.** Исследование содержания интерлейкина-1 $\beta$  в сосудистой стенке у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей в разных возрастных группах / **А.В. Минаев** // Сб. материалов XXXIX Итоговой научной конференции молодых ученых МГМСУ имени А.И. Евдокимова. Москва: МГМСУ. – 2017. – С. 285–287.

**\*4. Вавилова, Т.П.** Определение активности трансаминаз и провоспалительных цитокинов в сосудистой стенке при варикозном расширении подкожных вен нижних конечностей / **Т.П. Вавилова, М.Д. Дибиров, А.В. Минаев** // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т.98. – №6. – С. 968–970.

5. **Минаев, А.В.** Исследование активности креатинкиназы и лактатдегидрогеназы в сосудистой стенке у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей в разных возрастных группах / **А.В. Минаев** // Актуальные вопросы медицинской науки: Сб. тезисов научных работ студентов и молодых ученых 72-ой Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Ярославль, «Аверс ПЛЮС», 2018. – С. 56.

6. Вавилова, Т.П. Исследование биохимических показателей, отражающих прогрессирование варикозной болезни вен нижних конечностей / Т.П. Вавилова, **А.В. Минаев**, Ю.А. Островский // Здоровье человека в XXI веке. X-я Российская научно-практическая конференция: сб. науч. ст. Казань: Издательство «Бриг». – 2018. – С. 388–390.

7. **Минаев, А.В.** Исследование гуморального иммунного статуса у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей / **А.В. Минаев** // Сб. материалов XXXX Итоговой научной конференции молодых ученых МГМСУ имени А.И. Евдокимова. – Москва: МГМСУ. – 2018. – С. 288–290.

8. **Минаев, А.В.** Изменение гуморального иммунного статуса у пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей в зависимости от тяжести заболевания / **А.В. Минаев** // Биохимия в медицинской практике: сб. науч. тр. – Москва: МГМСУ. – 2019. – С. 48–52.

**\*9. Вавилова, Т.П. Исследование биохимических показателей в биоптатах венозной стенки нижних конечностей при варикозной болезни / Т.П. Вавилова, М.Д. Дибиров, А.В. Минаев // Флебология. – 2019. – №2. – С.23–27.**

10. **Минаев, А.В.** Исследование содержания D-димера в биоптатах венозной стенки нижних конечностей и плазме крови при варикозной болезни / **А.В. Минаев**, Г.И. Алекберова, Г.Ф. Ямалетдинова // ЮУГМУ. Медицинская наука и клиническая практика: материалы XVII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 75-летию Южно-Уральского государственного медицинского университета. 10 октября 2019 г. – Челябинск: Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета. – 2019. – С. 80–82.

11. **Минаев, А.В.** Исследование содержания иммуноглобулинов в венозной стенке у пациентов с варикозной болезнью / **А.В. Минаев**, Г.И. Алекберова // Сборник тезисов VII Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Volgamedscience». – 2021. – С. 37–39.

**\*12. Морфолого-биохимические особенности венозной стенки при варикозной болезни у лиц разных возрастных групп / Х.А. Абдувосидов, С.М. Чудных, И.А. Чекмарева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31214>.**

**\*13. Морфологическая перестройка интимы и молекулярные изменения структуры большой подкожной вены у лиц разных возрастных групп при**

варикозной болезни / Х.А. Абдусидов, А.В. Минаев, С.М. Чудных [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2022. – Т.23. – №1. – С. 7–10.

\*14. Оценка каталитической активности ферментов в биоптатах варикозно деформированных вен нижних конечностей в зависимости от тяжести хронической венозной недостаточности / А.В. Минаев, Т.П. Вавилова, Г.И. Алекберова [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т.25. – №2. – С. 42–48.

\* – работа опубликована в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

<b>АДФ</b>	– аденозиндифосфат
<b>АЛТ</b>	– аланинаминотрансфераза
<b>АСТ</b>	– аспаратаминотрансфераза
<b>АТФ</b>	– аденозинтрифосфат
<b>БПВ</b>	– большая подкожная вена
<b>ВБНК</b>	– варикозная болезнь нижних конечностей
<b>ИЛ</b>	– интерлейкин
<b>ИФА</b>	– иммуноферментный анализ
<b>КК</b>	– креатинкиназа
<b>ЛДГ</b>	– лактатдегидрогеназа
<b>ЛПНП</b>	– липопротеины низкой плотности
<b>ЛПВП</b>	– липопротеины высокой плотности
<b>мг</b>	– миллиграмм
<b>мкл</b>	– микролитр, $10^{-6}$
<b>мкмоль</b>	– микромоль
<b>мл</b>	– миллилитр
<b>НПВ</b>	– нижняя полая вена
<b>ОКЗ</b>	– общероссийский классификатор занятий
<b>пг</b>	– пикограмм, $10^{-12}$
<b>СОЭ</b>	– скорость оседания эритроцитов
<b>СРБ</b>	– С-реактивный белок
<b>ТЭЛА</b>	– тромбоэмболия лёгочной артерии
<b>ФНО-<math>\alpha</math></b>	– фактор некроза опухоли- $\alpha$
<b>ХВН</b>	– хроническая венозная недостаточность
<b>ХС</b>	– холестерол
<b>ЩФ</b>	– щелочная фосфатаза
<b>СЕАР</b>	– международная клиническая классификация хронических заболеваний вен
<b>Ig</b>	– иммуноглобулин