

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И
ИННОВАЦИЙ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН
АНДИЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИНСТИТУТ**

УДК: 616.8-009.85+616.036.12

**ВАСИЛЕВСКИЙ ЭДУАРД АЛЕКСАНДРОВИЧ
ДАДАБОЕВ ОМОНЖОН ТАЛИБДЖАНОВИЧ**

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ
ФОРМИРОВАНИЯ И ПРОГРЕССИИ ХРОНИЧЕСКОЙ
ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НИЖНИХ
КОНЕЧНОСТЕЙ**

МОНОГРАФИЯ

**Андижан – 2025
«JAHONA NASHR»**

Авторы:

Василевский Эдуард Александрович - доцент кафедры общей хирургии и трансплантологии Андижанского государственного медицинского института, PhD

Дадабоев Омонжон Талибджанович - старший преподаватель кафедры общей хирургии и трансплантологии Андижанского государственного медицинского института, PhD

Рецензенты:

Мустафакулов И. Б. – профессор профессор кафедры хирургических болезней № 2 Самаркандского Государственного медицинского университета, доктор медицинских наук

Косимов Адхам Лутфуллаевич - профессор кафедры общей хирургии и трансплантологии Андижанского государственного медицинского института, доктор медицинских наук

Клинико-генетические предикторы формирования и прогрессии хронической венозной недостаточности нижних конечностей: Монография / Василевский Э.А. Андижан: издательство «JAHONA NASHR», 2025

Монография рекомендована к печати Ученым Советом АГМИ, протокол № _____, от «___» _____ 2025 года

© Э.А Василевский, 2025

© издательство «JAHONA NASHR», 2025

Данная монография посвящена комплексному анализу этиопатогенетических механизмов одного из наиболее тяжёлых и социально значимых осложнений сахарного диабета – синдрома диабетической стопы. Авторы рассматривают роль генетической предрасположенности в формировании хронических язвенно-некротических поражений нижних конечностей, уделяя особое внимание полиморфизмам генов фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA), интерлейкина-6 (IL6) и фактора некроза опухоли- α (TNF- α) и их взаимодействию с традиционными клинико-факторами риска: длительностью и декомпенсацией сахарного диабета, нейропатией, микро- и макроангиопатией, ожирением, сопутствующей сердечно-сосудистой патологией и перенесёнными тромботическими осложнениями. На основе обзора современной литературы, результатов собственных клинических наблюдений и молекулярно-генетического анализа выявлены ключевые предикторы перехода от ранних, субклинических проявлений поражения стоп к тяжёлым, деструктивным формам, требующим высокотравматичных хирургических вмешательств и нередко приводящих к ампутациям. Особое внимание уделено построению прогностических моделей, которые позволяют увязать генетические маркеры с клинико-лабораторными характеристиками течения синдрома диабетической стопы, а также сформулированы практические рекомендации по использованию генетического скрининга и интеграции молекулярно-генетических данных в мультидисциплинарный подход к лечению и профилактике, что способствует снижению частоты тяжёлых осложнений, ампутаций и инвалидизации пациентов и представляет интерес для хирургов, эндокринологов, флебологов, врачей общей практики, магистрантов и студентов медицинских вузов.

Ushbu monografiya qandli diabetning eng og'ir va ijtimoiy ahamiyatli asoratlaridan biri – diabetik oyoq sindromining etiopatogenetik mexanizmlarini kompleks tahlil qilishga bag'ishlangan. Mualliflar pastki ekstremitalarning surunkali yarali-nekrotik shikastlanishlari shakllanishida genetik moyillikning rolini ko'rib chiqadilar, ayniqsa tomir endoteliy o'sish omili (VEGFA), interleykin-6 (IL6) va o'sma nekrozi omili- α (TNF- α) genlarining polimorfizmlariga hamda ularning an'anaviy klinik xavf omillari – qandli diabet davomiyligi va dekompensatsiyasi, neyropatiya, mikro- va makroangiopatiya, semirish, hamroh yurak-qon tomir patologiyasi va o'tkazilgan trombotik asoratlar bilan o'zaro ta'siriga alohida e'tibor qaratiladi. Zamonaviy adabiyotlar tahlili, mualliflarning klinik kuzatuvlari va molekulyar-genetik tahlillar asosida oyoq shikastlanishining erta, subklinik ko'rinishlaridan yuqori travmatik jarrohlik aralashuvlarini talab qiladigan va ko'pincha amputatsiyaga olib keladigan og'ir, destruktiv shakllarga o'tishini belgilovchi asosiy prediktorlar aniqlangan. Genetik markerlarni diabetik oyoq sindromining kechishining klinik-laborator xususiyatlari bilan bog'lash imkonini beruvchi prognozlash modellari ishlab chiqilgan, shuningdek genetik skriningdan foydalanish va molekulyar-genetik ma'lumotlarni davolash va profilaktikaga multidisiplinar yondashuvga integratsiyalash bo'yicha amaliy tavsiyalar shakllantirilgan bo'lib, bu og'ir asoratlar, amputatsiyalar va bemorlar nogironlashuvi chastotasini kamaytirishga xizmat qiladi hamda jarrohlar, endokrinologlar, flebologlar, umumiy amaliyot shifokorlari, magistrantlar va tibbiyot oliy o'quv yurtlari talabalari uchun dolzarb ahamiyat kasb etadi.

This monograph is devoted to a comprehensive analysis of the etiopathogenetic mechanisms of one of the most severe and socially significant complications of diabetes mellitus – diabetic foot syndrome. The authors examine the role of genetic predisposition in the development of chronic ulcerative–necrotic lesions of the lower extremities, with particular attention to polymorphisms of the genes encoding vascular endothelial growth factor (VEGFA), interleukin-6 (IL6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), as well as to their interaction with traditional clinical risk factors such as the duration and decompensation of diabetes mellitus, neuropathy, micro- and macroangiopathy, obesity, concomitant cardiovascular disease and previous thrombotic complications. On the basis of a review of contemporary literature, the authors' own clinical observations and molecular genetic analyses, key predictors of progression from early, subclinical manifestations of foot damage to severe, destructive forms that require highly traumatic surgical interventions and often lead to amputation have been identified. Prognostic models have been developed that make it possible to link genetic markers with the clinical and laboratory characteristics of the course of diabetic foot syndrome, and practical recommendations have been formulated on the use of genetic screening and the integration of molecular genetic data into a multidisciplinary approach to treatment and prevention. This contributes to reducing the frequency of severe complications, amputations and disability among patients and is of interest to surgeons, endocrinologists, phlebologists, general practitioners, as well as master's students and medical students.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА I. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ОЦЕНКИ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ.....	14
§1.1. Этиология, распространённость и эпидемиологические факторы риска хронической венозной недостаточности	14
§1.2. Патофизиологические основы формирования и прогрессии хронической венозной недостаточности	24
§1.3. Роль генетических факторов в патогенезе хронической венозной недостаточности нижних конечностей.....	32
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ.....	42
§2.1. Характеристика клинических групп	42
§2.2. Методы исследований	46
2.2.1. Определение биохимических показателей плазмы крови.....	46
2.2.2. Ультразвуковое доплеровское исследование венозной системы нижних конечностей	46
2.2.3. Генетические методы исследования.	47
§2.3. Статистическая обработка и математические методы анализа.....	52
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО, ЛАБОРАТОРНО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ.....	54
§3.1 Результаты проведенных клинических исследований у больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей	54
§3.2 Результаты проведенных лабораторно-инструментальных исследований у больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей	59
ГЛАВА IV. РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ.....	66

§4.1. Оценка влияния частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма генов MMP9 (Gln279Arg), VEGFA (C936T) и TNF- α (G308A) на риск развития и прогрессии хронической венозной недостаточности нижних конечностей	66
§4.2. Анализ ассоциативной связи полиморфизма генов матричных металлопротеиназ, фактора роста эндотелия сосудов и цитокина фактора некроза опухоли - α с генетической предрасположенностью к формированию и прогрессии хронической венозной недостаточностью нижних конечностей	75
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	93
ВЫВОДЫ	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	109
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	131

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и востребованность темы монографии. Хроническая венозная недостаточность (ХВН) нижних конечностей является наиболее распространенным заболеванием сосудистой системы человека. Несмотря на современные достижения в диагностике и лечении хронической венозной патологии в мировой медицине, хроническая венозная недостаточность остается важной медико-социальной проблемой, поскольку распространенность, особенности клинического течения и рецидивов, а также исходы ведут к значительному снижению качества жизни пациентов разных возрастных категорий. По данным зарубежных учёных, «...проведённые масштабные исследования показали, что одними из тяжёлых последствий ХВН являются такие грозные осложнения, как тромбоэмболия легочных артерий, трофические венозные язвы...»¹. Хронические заболевания вен (ХЗВ), относятся к наиболее частым заболеваниям в разных странах США, Европы, и Азии и поражают от трети до половины населения, особенно пациентов женского пола. Социально-экономическая значимость ХВН обусловлена стоимостью диагностики и лечения, влиянием на психо-эмоциональное состояние больных, особенно на более поздних клинических стадиях, а так же тем, что ХВН продолжает оставаться одной из основных причин высокой инвалидности среди трудоспособного населения во всём мире. Учитывая все вышеперечисленное, разработка методов своевременной профилактики, лечения и уменьшения осложнений хронической венозной недостаточности нижних конечностей является одной из актуальных проблем современной медицины.

Во всем мире проводится ряд научных исследований, направленных на выявление клиничко-генетических предикторов развития и формирования хронической венозной недостаточности ног. В связи с этим особое значение

¹ Prochaska J. H., Arnold N., Falcke A. et al. Chronic venous insufficiency, cardiovascular disease, and mortality: a population study//European Heart Journal. - 2021. - 42(40). – P. 4157-4165.

имеет проведение у больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей клинико-лабораторных исследований, определение частоты распространения аллельных и генотипических вариантов полиморфизма гена матриксной металлопротеиназы MMP9 (Gln279Arg), его значение в патогенез хронической венозной недостаточности нижних конечностей, значение предиктивной роли полиморфизма гена фактора роста эндотелия сосудов значение VEGFA (C936T), ассоциативная связь полиморфизма гена некроза опухоли – α TNF- α (G308A) с предрасположенностью к развитию хронической венозной недостаточности нижних конечностей, а также разработка прогностических критериев оценки риска формирования и прогрессирования хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

В нашей стране реализуются комплексные мероприятия, направленные на развитие системы здравоохранения, ее адаптацию к требованиям мировых стандартов, разработку комплексного подхода к устранению соматических заболеваний, вызванных воздействиями различных факторов. В связи с этим, в соответствии с семью приоритетными направлениями стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы, в поднятии уровня медицинского обслуживания населения на новый уровень, определены такие задачи, как «...повышение эффективности, качества оказания населению квалифицированных медицинских услуг, созданию благоприятных условий для расширения возможностей оказания высокотехнологичной медицинской помощи, поддержке здорового образа жизни и профилактике заболеваний...»². Исходя из этих задач, проведение исследований по совершенствованию оценки клинико-генетических предикторов развития и формирования хронической венозной недостаточности нижних конечностей имеют большую практическую значимость.

² Указ Президента Республики Узбекистан от 28.01.2022 г. № УП - 60 «О стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы». Сборник законодательных актов.

Данная монография в служит реализации задач поставленных в Указах Президента Республики Узбекистан № УП № 60 от 28 января 2022 года «О стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы», УП № 5590 от 7 декабря 2018 года «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан»; Постановлениях Президента Республики Узбекистан ПП № 3071 от 20 июня 2017 года «О мерах по дальнейшему развитию оказания специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан в 2017-2021 годах», ПП № 4513 от 8 ноября 2019 года «По повышению качества и дальнейшему расширению объемов медицинской помощи, оказываемой женщинам репродуктивного возраста, беременным женщинам и детям», ПП № 4891 от 12 ноября 2020 года «О дополнительных мерах по обеспечению здоровья населения путем дальнейшего увеличения эффективности лечебно-профилактической работы» и других нормативных - правовых документах, связанных с данной сферой деятельности.

Данная монография выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности темы монографии. Во всём мире за последние четыре десятилетия распространённость ХВН резко возросла. Если такая тенденция сохранится, то к 2030 году, по прогнозам, более 30% населения промышленно развитых стран будут страдать различными формами ХВН (Золотухин И.А. и соавт., 2017; Salim S. et al., 2021). Этиология и патофизиология ХВН интенсивно изучаются в последние десятилетия. Выяснение механизмов, ведущих к развитию и прогрессии ХВН, является сложной задачей, поскольку одних только приобретенных факторов, по-видимому, недостаточно для объяснения всей полноты клинического разнообразия данной патологии (Serra R. Et al., 2020). Этиология и патофизиология ХВН являются сложными и многофакторными, включая генетические, протеомные и клеточные механизмы, которые

приводят к изменениям в венозной структуре и функциях. Был проведен ряд исследований показавших, что экспрессия некоторых генов, связанных с ангиогенезом, развитием сосудов и регуляцией тонуса вен, ответственна за предрасположенность к ХВН (Raffeto J.D., 2018). В настоящее время в отечественных и зарубежных научных источниках имеются данные, подтверждающие участие генов матриксных металлопротеиназ (ММП), фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) и провоспалительного цитокина – фактора некроза опухоли – α (TNF- α) в патогенезе возникновения и прогрессии патологических процессов в венозной системы нижних конечностей (Яриев А.А. и соавт., 2022; Сметанина М.А. и соавт., 2021; Costa D., et al. 2023). Однако, эти мировые данные неоднозначны, противоречивы и индивидуальны, вследствие этнической гетерогенности изученных выборок пациентов и популяционных особенностей частот аллельных и генотипических вариантов этих генов. Несмотря на весьма важную социальную и медицинскую значимость ХВН, к настоящему времени не выявлены сочетания генетических полиморфизмов, которые могли бы играть роль предикторов развития и прогрессии ХВН и являлись бы основой для выявления факторов риска её формирования и персонализированных подходов к диагностике и лечебной тактике.

В Узбекистане ряд авторов проводили масштабные исследования по изучению влияния генетических полиморфизмов на патологические изменения функционального состояния различных органов и систем при различных соматических заболеваниях (Каримов Х.Я., 2021, 2022, Яриев А.А., Бобоев К.Т., 2022, 2023), однако, не проводилось исследований направленных на изучение различных генетических взаимодействий при ХВН.

Учитывая вышеизложенное, детальное изучение частоты носительства некоторых генетических полиморфизмов, которые могут оказывать патологическое воздействие на структурную целостность венозной стенки (ремоделирование), способствовать развитию эндотелиальной дисфункции и

индуцировать воспалительные процессы, а так же оценить их роль в развитии ХВН является насущной проблемой. В связи с этим, весьма актуальными являются проведение в Узбекистане комплексных клинических и молекулярно-генетических исследований, направленных на изучение патогенеза и поиск предикторов развития и прогрессии хронической венозной недостаточности.

Монография выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Андижанского государственного медицинского института в рамках темы № 012000275: «Изучение регуляторных механизмов различных систем организма человека в физиологии и патологии» (2022-2026).

Целью данной монографии является совершенствование прогностических критериев риска развития и прогрессирования хронической венозной недостаточности на основе оценки клинических и генетических факторов.

Задачи исследования:

проведение клинико-лабораторных исследований у больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей;

оценка распространенности аллельных и генотипических вариантов полиморфизма гена матриксной металлопротеиназы MMP9 Gln279Arg у больных с хронической венозной недостаточностью и их значения в патогенезе хронической венозной недостаточности нижних конечностей;

оценка значимости полиморфизма гена фактора роста эндотелия сосудов VEGFA (C936T) как предиктора хронической венозной недостаточности на ногах и ее обострения на ногах;

оценка ассоциативной связи полиморфных вариантов гена некроза опухоли TNF- α (G308A) со склонностью к развитию хронической венозной недостаточности нижних конечностей;

совершенствование прогностических критериев оценки риска формирования и прогрессирования хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Объектом исследования служили 98 пациентов, находившихся на лечении в клиниках Андижанского государственного медицинского института и Андижанском областном филиале республиканского научного центра экстренной медицинской помощи в 2020-2022 гг., из них у 45 больных была установлена ХВН клинического класса С3-С4 по СЕАР и у 37 - ХВН клинического класса С5-С6 по СЕАР. Контрольная группа включала в себя 87 «условно здоровых» лиц, не имевших на момент обследования клинических проявлений хронической венозной недостаточности и не имевших в анамнезе хронической болезни вен ни у себя, ни у своих близких родственников.

Предметом исследования были исследованные с целью уточнения клинико-генетических предикторов развития и прогрессирования хронической венозной недостаточности полиморфизмы генов фактора роста эндотелия сосудов VEGFA (C936T), матричной металлопротеиназы MMP9 (Gln279Arg) и фактора некроза опухоли TNF – α TNF- α (G308A).

Методы исследования. В исследование использованы клинические, инструментальные, биохимические, молекулярно-генетические и статистические методы исследования для уточнения клинико-генетических предикторов развития и формирования хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

доказано преобладание аллельных и генотипических вариантов полиморфизма гена матричной металлопротеиназы Gln279Arg MMP9 у больных с хронической венозной недостаточностью и их роль в патогенезе хронической венозной недостаточности нижних конечностей;

доказано прогностическое значение неблагоприятных генотипов С/Т и Т/Т полиморфизма С936Т гена VEGFA в отношении риска развития хронической венозной недостаточности;

доказана значимая ассоциативная связь между носительством неблагоприятного гетерозиготного генотипа G/A полиморфизма G308A гена TNF- α при хронической венозной недостаточности и риском развития осложненных форм хронической венозной недостаточности;

разработаны критерии индивидуального подхода к прогнозированию риска формирования и прогрессирования хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

выявление клинико-генетических предикторов формирования и прогрессии ХВН нижних конечностей расширило возможности ранней профилактики её развития;

одновременное носительство нескольких генетических полиморфизмов генов эндотелиального фактора роста сосудов VEGFA (С936Т), матричной металлопротеиназы MMP9 (Gln279Arg) и фактора некроза опухоли TNF – α (G308A), значительно повышает риск развития ХВН;

для выявления предрасположенности к развитию ХВН исследование больных должно осуществляться не по одному, а по нескольким генотипам;

выработаны персонафицированные критерии прогнозирования риска формирования и прогрессии ХВН нижних конечностей с учётом сочетанного влияния неблагоприятных генотипов.

Достоверность результатов представленных в монографии исследований основана на применении в работе теоретических подходов и методов, методологической правильности проведенного исследования, выборе достаточного количества материала, современности использованных методов, специфичности совершенствования оценки клинико-генетических предикторов развития и формирования хронической венозной недостаточности ног на основе взаимодополняющих клинических,

инструментальных, биохимических, молекулярно-генетических и статистических методов исследования, сопоставлении полученных данных с международным и отечественным опытом, утверждении заключения и полученных результатов полномочными структурами.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования объясняется тем, что с помощью современных биохимических, молекулярно-генетических и инструментальных исследований, расширены знания в области патогенеза хронической венозной недостаточности нижних конечностей, оценена прогностическая значимость неблагоприятных полиморфизмов генов фактора роста эндотелия сосудов VEGFA (C936T), матричной металлопротеиназы MMP9 (Gln279Arg) и фактора некроза опухоли TNF- α (G308A) в развитии ХВН.

Практическая значимость результатов исследования приведённых в монографии заключается в том, что они позволили разработать критерии персонифицированного прогнозирования риска формирования и прогрессии ХВН с учетом сочетанного действия отрицательных генотипов выявили наследственную предрасположенность к её развитию и прогрессии.

ГЛАВА I. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ОЦЕНКИ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

§1.1. Этиология, распространенность и эпидемиологические факторы риска хронической венозной недостаточности

Хроническая венозная недостаточность (ХВН) - это синдром, при котором нарушается физиологическое функционирование и структурная целостность венозных сосудов нижних конечностей. В основе хронической венозной недостаточности лежит нарушение венозного возврата из сосудов нижних конечностей. ХВН соответствуют клинические классы С3 - С6 по международной классификации CEAP [21; с.146-240]. ХВН наблюдается у 2/3 населения трудоспособного возраста [6; с.92-96, 18; с.12-21]. Хроническая венозная недостаточность включает заболевания, поражающую венозную систему нижней конечности и не включает заболевания, при которых имеется вторичное поражение вен (хроническая сердечная и почечная недостаточности, ятрогении, травмы и т.п.) [131; с.971-976, 11; с.164-165]. Основные клинические и морфологические формы ХВН включают варикозное расширение вен, посттромбофлебитический синдром, венозную дисплазию и флебит. Варикозное расширение вен составляет большую часть (70-86%) [30; с.88-93]. Хронический тромбофлебит встречается у 14-29% больных и у 20-50% пациентов развивается в течение одного-двух лет после перенесенного острого тромбофлебита глубоких вен нижних конечностей [22; с.35-43, 167; с. 752-758].

Несмотря на достигнутые успехи в своевременной диагностике и лечении ХВН, достигнутые в последние годы, доля пациентов с тяжелыми формами ХВН растет с каждым годом. По данным литературы, ежегодно у 150 000 человек диагностируются ХЗВ, при этом ежегодный прирост числа пациентов с венозными трофическими язвами составляет 0,2-0,35% [117; с.4157-4165, 123; с.337- 347]. ХЗВ связаны с повышенным риском развития

ВТЭ, что требует проведения профилактических мероприятий с пациентами групп риска [86; с.1557-1567]

Эпидемиологическое исследования показали, что только 16,4% людей среднего и пожилого возраста не имели признаков ХВН [15; с.52-56]. В 15% случаев ХВН встречаются в декомпрессированной форме и может проявляться в виде индуративных изменений, экземы, образования трофических язв голени [10; с.5, 123; с.337– 347, 160; с.1-6].

Трофические венозные язвы представляют собой некротический дефект кожи и нижележащих тканей, в основе которого лежит хронический венозный застой, и не заживающие в течение 4-6 недель. Венозные трофические язвы занимают более 60% от среди всех трофических язв нижних конечностей. Это состояние вызывает социальную дезадаптацию у пациентов, может привести к инвалидности. Эти две патологии являются основными причинами развития хронической венозной недостаточности, которая значительно снижает трудоспособность и качество жизни больных [30; с.88-93, 111; с.32-39]. Пациенты с осложненными формами ХВН становятся инвалидами чаще, чем больные с ревматизмом, туберкулезом поражением легких и астмой вместе взятыми [4; с.122-123].

Кроме того, ХВН может иметь важные последствия для качества жизни пострадавших лиц. Даже пациенты с не осложненными ХВЗ нижних конечностей отмечают значительное снижение качества жизни, и при отсутствии лечения они обязательно прогрессируют до ХВН [57; с.229, 87; с.76-83]. Хронической венозной недостаточностью страдают более 25 миллионов взрослых только в Соединенных Штатах и более 6 миллионов человек с поздними стадиями венозного заболевания. Высокая заболеваемость ХВН и растущие затраты на лечение ложатся тяжелым финансовым бременем на систему здравоохранения. Недавние исследования оценивают общую стоимость ухода более чем в 3 миллиарда долларов в год. [89; с.59-64, 73; с.29–37].

Течение заболевания у пациентов с ХВЗ склонно к прогрессированию, при этом пациенты со временем переходят в более высокий клинический класс или у них развивается венозный рефлюкс и/или ВВ в ранее не пораженных венах, а так же может образовываться трофическая венозная язва. Прогрессирование может произойти, несмотря на лечение или хирургическое удаление пораженных вен [56; с.5–12]

По данным исследования, Курбаниязова З. Б. и соавт., особенностей распространения хронических болезней вен в Узбекистане, за последние десятилетия общее число выявленных случаев ХЗВ резко возросло в связи с увеличением числа пациентов молодого возраста. Более половины выявленных больных с ХВНв Узбекистане – женщины [16; с.27-30]. Таким образом, ХВЗ, а тем более ХВН, представляют собой одно из наиболее частых сосудистых заболеваний в мире, влекущее за собой серьезное бремя не только для человека, но и для системы здравоохранения [42; с.1988-2002, 68; с.90-95]. Социально-экономическая значимость ХВН обусловлена стоимостью диагностики и лечения, снижением качества жизни, особенно на более поздних клинических стадиях, и потерей трудоспособности [89;с.59-64].

80-ые года прошлого века знаменуются началом масштабных исследований, посвященных изучению эпидемиологии оценке распространенности ХЗВ. Оказалось, что показатели распространенности этой патологии имеют распространенность от 2 до 60 % среди всего взрослого населения различных регионов и такая разница объяснялась в основном национальными различиями. В странах Африки и Тихоокеанского региона распространенность ХЗВ не превышает 5-6 %, а в странах Европы она доходит до 20-30% всего взрослого населения [56; с.5–12].

Среди эпидемиологических исследований ХВН одним из крупнейших было Vein Consult, при проведения, которого была применена классификация CEAP. В исследование участвовало 91 545 добровольца из более чем 20 государств. По данным выполненного крупномасштабного исследования

симптомы хронической венозной патологии ХЗВ были обнаружены среди 83,6% участвовавших в исследовании лиц. При этом среди участников с выявленными ХВЗ женщин было значимо больше (68,4%), чем участников мужского пола (31,6%). Средний возраст участников с обнаруженными с ХЗВ был 53,3 года. По классификации CEAP они были представлены следующими группами: клинический класс C 0 - 19,7%, клинический класс C1 - 21,7%, клинический класс C2 - 17,9%, клинический класс C3 - 14,7%, клинический класс C4 - 7,5%, клинический класс C5 - 1,4%, клинический класс C6 - 0,7%. Среди патологических вариантов телеангиоэктазии и ретикулярные вены были диагностированы у 34,1%, варикозное расширение вен - у 29,0% и хронический тромбоз глубоких вен у 1,4%; ХВН была выявлена у 8,2% [156; с. 779-785].

Некоторые демографические и предрасполагающие факторы могут увеличить риск ХВН, включая возраст, женский пол, использование противозачаточных таблеток и эстрогенной терапии, беременность, избыточный вес и ожирение, травмы ног, а также венозное воспаление и флебит [124; с. 36]. Эстроген активирует рецепторы эстрогена в стенке вены и, в свою очередь, увеличивает расширение вен. Некоторые исследования показывают, что ХЗВ более распространен у женщин, чем у мужчин. Например, Фрамингемское исследование показало более высокую ежегодную частоту ВВ у женщин (2,6%), чем у мужчин (1,9%). Заслуживает внимания для понимания эпидемиологии и факторов риска развития и прогрессии ХВН так же Эдинбургское исследование, во время которого был проведен скрининг ХЗВ у 1566 человек в возрасте 18–64 лет в 12 клиниках общей практики. Было показано, что женщины сообщали о большем количестве симптомов ХВН [111; с. 3239]. Последующие исследования показали, что скорректированная по возрасту распространенность ХВЗ составляла ~ 40% у мужчин и ~ 32% у женщин, а распространенность ХВЗ увеличивалась с возрастом у обоих полов [106; 1-7, 120;260-263]. Кроме того, исследования с использованием дуплексного ультразвукового

исследования для оценки венозного рефлюкса выявили ХВН у ~9,4% мужчин и ~6,6% женщин, а также увеличение заболеваемости с возрастом до ~21,2% у мужчин старше 50 лет и до ~12,0% у женщин старше 50 лет [109; с. 25-30]. Таким образом, пожилые люди особенно подвержены сердечно-сосудистым заболеваниям и прогрессируют в ССЗ, особенно в сочетании с другими факторами риска, такими как индекс массы тела (ИМТ) и женский пол [156; с. 325–333]

Избыточный вес и ожирение являются одними из наиболее установленных факторов, непосредственно связанных с категориями СЕАР, независимо от остальных факторов риска [107; с.1-4, 116; с. 58]. Это может быть связано со многими правдоподобными и синергическими эффектами, включая провоспалительный статус, обычно связанный с повышенным ожирением, и другими факторами, такими как повышенное внутрибрюшное давление, которое может привести к большему рефлюксу, увеличению диаметра вен вследствие венозной гипертензии [167; с. 752–758].

Избыточный вес и ожирение у женщин повышают риск развития ХВЗ. По сравнению с худыми женщинами, женщины с умеренным избыточным весом (ИМТ = 25,0–29,9 кг/м²) чаще имели ВВ, а женщины с ожирением (ИМТ ≥ 30 кг/м²) в 3 раза чаще имели ВВ. С другой стороны, у мужчин не наблюдалось положительной связи между ИМТ и ССЗ [61; с. 56–61]. Следует отметить, что уровни общего и биодоступного эстрогена в плазме выше у женщин с избыточным весом и ожирением по сравнению с худыми женщинами, особенно в период постменопаузы, что еще раз подчеркивает положительную связь между уровнями эстрогена в плазме и частотой ХЗВ [40;205-216].

Беременность связана с важными физиологическими изменениями, которые могут способствовать расширению вен и образованию предрасположенности к ХВН. Беременные женщины более склонны к развитию венозной патологии, примерно 40% из них страдают ХЗВ [60; с. 872-878]. Кроме того, количество беременностей также может быть важной

переменной для приобретения этого состояния. Таким образом, по оценкам, 20% нерожавших женщин старше 40 лет будут подвергаться риску развития ХВЗ. Однако, этот процент увеличивается до 40% у женщин, которые были беременны от 1 до 4 раз, и до 65% у женщин с пятью и более беременностями [115; с. 980].

Уровни эстрогена и прогестерона в плазме повышены во время беременности [60; с. 872–878]. Кроме того, увеличение объема крови и увеличение объема плазмы происходит на ранних сроках беременности. Прогрессирующий рост плода и увеличение массы тела во время беременности также вызывают повышение внутрибрюшного давления и центрального венозного возврата, что может вызвать недостаточность венозного клапана и дальнейшее прогрессирование ХЗВ [76; с. 35–40].

Приведенные в научных исследованиях данные позволяют предположить, что важную роль в развитии ХЗВ могут играть индивидуальные особенности образа жизни и привычки, а не национальность. Это подтверждается известными эпидемиологическими исследованиями, такими как проведенное Beaglehole R. и соавт. в Новой Зеландии и на островах Тихого океана. Результаты показывают, что имеется зависимость прямая между образом жизни населения и частотой распространенности ХЗВ. Так было установлено, что чем менее современного образа жизни придерживаются люди, тем меньше встречается среди них хроническая венозная патология, в том числе варикозная болезнь нижних конечностей. На тихоокеанских островах Токелау, общине, далекой от благ цивилизации, ХЭВ было обнаружено только у 2,9% мужчин и 0,8% женщин. Напротив, в Новой Зеландии, показатели распространенности составляют 33,4% и 43,7% соответственно. Сидячая работа, высокое потребление мучного и мясного в ущерб растительной пище, современный образ жизни, являются факторами развития сердечно-сосудистых заболеваний [22; с. 35-43].

Таким образом, поведенческие факторы, включая длительное сидение или стояние и малоподвижный образ жизни, могут представлять риск сердечно-сосудистых заболеваний [124; с. 36.] Кроме того, физическая активность и эргономика профессии и рабочего места могут влиять на эпидемиологию ХВН. В общинном исследовании мужчин и женщин в возрасте от 20 до 64 лет в Иерусалиме распространенность ХВЗ была выше у лиц, проводящих большую часть своего рабочего дня в положении стоя. Кроме того, сообщения о профессиях, требующих длительного стояния, были выше у женщин (31,4%) по сравнению с мужчинами (13,6%), хотя соотношение положения стоя и сидя на рабочем месте было выше у мужчин (1,88), чем у женщин (1,53) [50; с. 91-99, 83; с. 37].

Возраст, женский пол, ожирение и генетика традиционно признаются факторами риска ХЗВ. Факторы риска, характерными для женщин, являются перенесенные беременности, использование пероральных контрацептивов и менопаузу [156; с. 779-785]. Семейный анамнез и несколько генетических факторов связаны с ХВН [24; с. 123-134]. Факторы окружающей среды, включая малоподвижный образ жизни и ожирение, также могут способствовать развитию сердечно-сосудистых заболеваний [124; с. 36].

Все выше изложенное свидетельствует о многофакторности ХВН. Имеет место так же значимая наследственная предрасположенность к развитию данной патологии [54; с. 1928]. Более 60% пациентов с ХВЗ имеют родственников страдавших данной патологией; таким образом, существует явное генетическое влияние на патогенез ХВЗ [121; с. 95–137]. В частности, Cornu-Thenard и соавт. исследовали 134 семьи и обнаружили, что у 90 % детей разовьется ССЗ, когда оба родителя страдают этим заболеванием, по сравнению с 25 % мальчиков и 62 % девочек, когда один из родителей страдает ССЗ, и с 20 %, когда ни один из родителей не страдает [54; с. 1928]. Однако, предыдущие генетические исследования были небольшими и дали противоречивые результаты [70; с. 2869–2880]. Соответственно, по-прежнему трудно выявить тех, кто подвергается риску развития ХВЗ, и

отсутствие у нас генетических знаний о патогенезе объясняет, почему до сих пор не существует утвержденных персонализированных методов лечения, основанных на принципах предиктивной медицины [1; с. 14-28], для предотвращения или замедления прогрессирования ХВН [9; с. 36-45].

Следовательно, возраст, женский пол, малоподвижный образ жизни, ожирение и генетика традиционно признаются факторами риска развития и прогрессии ХВН. Факторами риска, характерными для женщин, являются перенесенные беременности, использование пероральных контрацептивов и менопаузу [156; с. 779-785].

Классификация Clinical, Etiological, Anatomical, Pathophysiological (CEAP) была создана в 1994 г. для стандартизации разнообразных проявлений хронического заболевания вен. В 2020 году она была изменена для более широкого обозначения ХВЗ [108; с. 143-148].

Классификация CEAP является общепринятым методом изучения венозных заболеваний. Она основана на различных медицинских особенностях, что позволяет точно анализировать клинический, этиологический, анатомический и патологический статус вен [48; с. 1–8]. Классификация CEAP является наиболее точным и широко используемым методом для установления точного диагноза ХВЗ. Она основана на клинических, этиологических, анатомических и патофизиологических критериях возникновения и течения ХВЗ. Использование этой системы позволяет лучше классифицировать пациентов с целью изучения их начальных симптомов и прогрессии заболевания [101; с. 342-352.].

Классификации CEAP по хроническим заболеваниям вен: «Клинический раздел (C), в котором дается описание клиническим проявлениям

1. C 0 — нет видимых или пальпируемых признаков ХЗВ;
2. C 1 — телеангиэктазии или ретикулярные вены;
3. C 2 — варикозно-измененные подкожные вены;
4. C 3 — отек;

5. C 4 — трофические изменения кожи и подкожных тканей:
 - a. a — гиперпигментация и/или варикозная экзема;
 - b. b — липодерматосклероз и/или белая атрофия кожи;
6. C5 — зажившая венозная язва;
7. C6 — открытая (активная) венозная язва.

Этиологический раздел (E), где указывается происхождение заболевания:

1. Ec — врожденное заболевание;
2. Ep — первичное заболевание;
3. Es — вторичное заболевание с известной причиной;
4. En — не удастся установить этиологический фактор.

Анатомический раздел (A), указывающий анатомический сегмент локализации патологического процесса. Поражение может локализоваться в одной (например, Ad) или в нескольких системах одновременно (As, p, d):

1. As — поверхностные вены;
2. Ap — перфорантные вены;
3. Ad — глубокие вены;
4. An — не удастся выявить изменения в венозной системе.

Патофизиологический раздел (P), где описывается характер нарушений венозной гемодинамики:

1. Pr — рефлюкс;
2. Po — окклюзия;
3. Pr, o — сочетание рефлюкса и окклюзии;
4. Pn — не удастся выявить изменения в венозной системе»³

Согласно обновленной классификации CEAP, обозначение патологии вен как C0 соответствует отсутствию клинических признаков ХВЗ, C1 проявляется наличием телеангиоэктазий/ретикулярных вен, C2

³ <https://ceap.phlebology-sro.ru/>

соответствуют наличию варикозно-расширенных подкожных вен нижней конечности, а С3–С6 рассматривается как ХВН, начиная от отека и дерматологических изменений (С3/С4 соответственно) до зажившим и активным трофическими венозным язвам нижних конечностей (С5/С6) [132; с. 538–556].

В этом контексте часто используются клинические (С) проявления для обозначения конкретных проявлений хронических венозных заболеваний. Например, варикозная болезнь может классифицировать как С2, в то время как ХВН находится между стадиями С3 и С6. [13; с. 15-30].

Неоспоримо, что генетические факторы способствуют развитию ХВН, поскольку считается, что снижение способности выдерживать нагрузку обуславливается генетической предрасположенностью. Подтверждением этого является то, что снижение венозного оттока, перенесенные беременности, ожирение, возраст, особенности образа жизни, долговременные статические нагрузки, из-за длительного вертикального положения создают условия для развития ХВН. Исходя из этого, совокупное влияние генетических и внешних факторов ведут к тому, что гемодинамические изменения становятся хроническими [6; с. 92-96, 32; с. 71-75. 33; с. 196-198].

Подводя итог можно с уверенностью сказать, что несмотря на многовековую историю, проблемы эпидемиологии, профилактики, определения предикторов риска возникновения и прогрессии ХВН остаются актуальными до сегодняшнего дня [19; с.25–29]. Значительная распространенность позволяет рассматривать ХВН как «болезнь цивилизации» и требует активного поиска, направленного на уточнение этиопатогенеза, методов профилактики, ранней диагностики и разработки персонализированных методов лечения

§1.2. Патологические основы формирования и прогрессии хронической венозной недостаточности

Патогенез ХВН представляет собой сложный многокомпонентный процесс, при котором повреждается стенка вены стенки и её клапаны. К этому приводит то, что замедление скорости кровотока в венозной системе нижних конечностей ведёт к изменению тангенциального давления на венозную стенку, т.е. "силы сдвига" [126; с. 428–440]. Застой в венах формирует области, в которых сила сдвига на поверхности эндотелиального слоя имеет низкие значения или отсутствует совсем. В свою очередь изменения в тангенциальном давлении непосредственно воздействуют на клетки эндотелия и являются причинами его разнообразных изменений [99; с. 2544]. Таким образом, снижение сдвига, вызванное ретроградным кровотоком, приводит к воспалительному фенотипу и тромбозу эндотелиальных клеток, которые приобретают способность связывать клеточные элементы крови (лейкоциты, лимфоциты, тромбоциты) и их поверхностные белковые молекулы [50; с. 4091, 91; 4411]. Действительно, это взаимодействие между лейкоцитами и эндотелиальными клетками играет важную роль в развитии хронических венозных заболеваний. Накоплено много доказательств того, что специфические воспалительные процессы вовлечены в ремоделирование венозной стенки и клапанов [36; с. 315-321, 165; с. 104105].

Обнаружение инфильтрации моноцитов и макрофагов в стенках и клапанах варикозных вен подтверждает эту точку зрения. Аналогичным образом, клеточная инфильтрация происходит в той части стенки сосуда, где эндотелиальные клетки вырабатывают молекулы клеточной адгезии [94; с. 13-19, 114; с. 516-528, 44; 39].

Протеолитические ферменты, синтезируемые эндотелиальными клетками и макрофагами, в частности матриксные металлопротеиназы, приводят к деградации белков, образующих внеклеточный матрикс венозной стенки [145; с. 2164-2169]. Многие воспалительные изменения, включая

выработку медиаторов воспаления и факторов роста, приводят к деформации венозной стенки и клапанов [49; с. 380-393]; все элементы венозной стенки вовлечены в патологический процесс при формировании ХВН [126; с. 428-440].

Следует отметить, что все патологические процессы, вызванные лейкозом и взаимодействием эндотелиальных клеток, очень сложны и недостаточно изучены.

При патологических нарушениях венозного оттока интима кровеносных сосудов происходит непосредственное поражение эндотелиального слоя [145; с. 2164-2169]. Световая и электронная микроскопия показывают, что эндотелиальные клетки и их структурное расположение нарушены, при этом повреждается и сама структура эндотелиального слоя. На ранних стадиях ХЗВ часто наблюдается утолщение интимы [162; с. 723-733]. Эти проявления связаны с изменениями, которые происходят в эндотелиальном слое, и включают увеличение эластических и коллагеновых волокон, миграцию субэндотелиальных мышечных клеток на фоне слизистых и фиброзно-гетеротрофических изменений [144; с. 138-152]. По мере прогрессирования заболевания развивается фиброз интимы, эластические волокна утолщаются, интима становится рыхлой и в конечном итоге разрушается. Эндотелиальная дисфункция и гипоксия тканей приводят к изменению противовоспалительной и антикоагулянтной активности эндотелия [152; с. 1-13]. Эндотелий выполняет множество функций: барьерную функцию для макромолекул крови; принимает непосредственное участие в образовании медиаторов; регулирует скорость реакции между стенкой сосуда и кровью, обеспечивая при этом гемостатический гомеостаз; поддерживает гомеостатический баланс «кровь-ткани»; удаляет из крови биологически активные вещества, активированные факторы системы гемостаза, комплемента; препятствует образованию тромбов; выполняет регуляторную функцию, принимая участие в регуляции тонуса сосудов; влияет на скорость протекания иммунных реакций [72; с. 705-728,74; с. 23-

38]. Гипоксия эндотелия является следствием нарушения регионального кровотока, когда кислородное напряжение в венозной крови падает до критически низких показателей [113; с. 715-729]. Увеличивается синтез свободных радикалов, нарушается трансмембранный обмен электролитов, изменяется потенциал и проницаемость сосудистой стенки; нарушение работы Na^+/K^+ насоса увеличивает внутриклеточную концентрацию Na^+ , что приводит к внутриклеточному отеку [39; с.367-371]. Высвобождение ионов Ca^{2+} из хранилищ изменяет активность Ca^{2+} -зависимых ферментов, активизирует окислительные процессы в митохондриях и стимулирует апоптоз. Впоследствии данные изменения приводят к функциональной эндотелиальной перестройке. «При механическом воздействии крови на эндотелий сосуда возрастает скорость апоптоза эндотелиоцитов, расширяются межклеточные промежутки в эндотелии и возрастает его проницаемость» [5; с.92–96]. Таким образом, осуществляется роллинг и адгезия лейкоцитов к интиме венозной стенки.

В начальных стадиях ХВН в интиме сосудов наблюдаются признаки гипертрофии мышечного слоя, вследствие чего происходит его выраженное утолщение.

По мере прогрессирования патологических процессов, являющихся триггерами развития ХВН, происходит атрофия мышечного слоя стенки вены, что приводит к её истончению. Во многих случаях можно наблюдать чередование изменений поверхности стенки с гипертрофией и атрофией мышечных элементов [66; с.3-20]. Иммуногистохимические и электронно-микроскопические исследования доказали, что изменяется не только структура венозной мышечной стенки [129; с.139-145], но и снижается синтез, пролиферация и фагоцитоз сокращающихся миоцитов, о чем свидетельствует обнаружение их цитоплазмы и достаточного количества митохондрий [63; с.279-292]. Это способствует структурной и функциональной реорганизации гладкомышечных клеток сосудистой стенки.

Эти морфологические и функциональные процессы формируют основу для дальнейшего ремоделирования венозной стенки [66; с.3-20].

Параллельно становятся очевидными изменения в структуре и содержании коллагена в эластических волокнах в венозной стенке [41; с.419-430]. Их количество увеличивается. По мере прогрессирования заболевания эластические волокна повреждаются и теряют свои эластические свойства. Часто можно наблюдать только их фрагменты. Аналогичные изменения наблюдаются и в оболочке наружной мембраны. Нарушение синтеза эластина и разрушение эластических волокон в венах также играют важную роль в нарушении эластических свойств венозной стенки [114; с. 516-528]. Дисрегуляция синтеза коллагена является важным фактором в развитии поверхностных варикозных вен при ХВН [59; с.729-735]. Множество исследований продемонстрировали множественные изменения в содержании различных типов коллагена в стенке венозного сосуда. Среди них наибольший интерес для исследователей представляет собой концентрация, образующего толстые волокна в венозной стенке и ведущего к ее утолщению, интерстициального коллагена I и III типов. В нескольких научных исследованиях изучались изменения, происходящие в структуре коллагеновых волокон в стенке варикозных вен при ХВН [85; с. 588-597]. Обнаруженные патологически измененные структуры были определены как дезорганизованные коллагеновые волокна [154; с. 711-723]. Их количество увеличивается, но в то же время они теряют свою нормальную структуру, становясь толстыми, грубыми, имея неправильную форму [82; с.217-232].

Многие авторы отмечают изменения в количестве двух типов коллагена в стенке варикозных вен: увеличение количества коллагеновых волокон I типа и уменьшение количества коллагеновых волокон III типа [45; с.274-284]. Дисрегуляция синтеза коллагена приводит к снижению эластических свойств стенки вены, вызывая варикозное расширение вен.

В целом, патологические изменения, происходящие в поверхностных венах при ХЗВ, характеризуются прогрессирующей атрофией мышечного

слоя сосуда, уменьшением количества эластических волокон и увеличением количества коллагеновых волокон, что приводит к потере венозной стенок своих эластических свойств, что ведет к повреждению поверхностных вен и клапанов нижней конечности [96; с. 656-664]. Эти патологические изменения связаны с тем, что клапаны являются измененной частью венозной стенки и состоят из тех же волокон и клеток, хотя и имеют более сложную структуру и функцию [69; с. 3781-3811]. Структурное ремоделирование клапанов вены, происходит, вероятно, совместно с патологическими процессами протекающими в стенке пораженного сосуда. Не было обнаружено корреляции между характером развития морфологических изменений в стенке вены и клинической тяжестью заболевания и степенью регрессии в проксимальной части большой подкожной вены [52; с.267–299].

Механизм "лейкоцитарной агрессии" имеет важное значение для развития нарушений питания при ХВН. Макромолекулы (фибриноген) и эритроциты заполняют интерстициальную ткань из-за последствий венозной гипертензии и застоя [19; с.25-29]. Продукты деградации обладают сильной хемотаксической активностью и служат сигналами для рекрутирования и активации лейкоцитарных клеток [136; с.61-66, 157; с.1005-1012]. Эндотелиальные клетки микрососудов имеют повышенную экспрессию ICAM-1, молекулы клеточной адгезии, используемой макрофагами, лимфоцитами и тучными клетками для отсоединения от неповрежденных капилляров и посткапиллярного эндотелия в строму [72; с.705-728].

Активированные лейкоцитарные клетки инфильтрируют окружающие ткани и стимулируют фибробласты к синтезу компонентов соединительной ткани путем секреции модифицирующих факторов [92; с.202-213]; этот показатель аномально высок у пациентов с ЦП и увеличивается пропорционально тяжести заболевания. Лейкоцитарные клетки связываются с дермальными фибробластами и белками внеклеточного матрикса, способствуя пролиферации фибробластов и развитию фиброза. Фиброз мягких тканей - еще одна распространенная форма поражения кожи,

связанная с ХВН. Этот процесс индуцируется и регулируется цитокином TGF-beta1, который секретируется лейкоцитами и фибробластами; при ХВН уровень активированного TGF-beta1 значительно выше в измененной коже по сравнению с интактной. Предположительно, активированные лейкоцитарные клетки стимулируют выработку коллагена фибробластами в коже. Этот процесс приводит к фиброзу. Цитокины также могут вызывать острофазовые реакции, которые влияют как на весь организм, так и локально [33; с.191-198, 138; с.6, 159; с.128-141].

Что еще более важно, пролиферативный ответ фибробластов на стимуляцию снижается с увеличением тяжести заболевания. У пациентов с венозной язвой фибробласты приобретают морфологические характеристики стареющих клеток. Старение фибробластов у пациентов с венозной язвой связано с четырехкратным снижением количества рецепторов II типа [49; с. 380-393]. Поэтому фосфорилирование белков SMAD типов 2 и 3 и митоген-активированной протеинкиназы p42/44 снижено в клетках венозной язвы по сравнению с клетками интактной кожи, как и синтез коллагена и фибронектина. Пролиферация фибробластов значительно снижается в венозных язвах, стимулированная фактором роста фибробластов (bFGF), эндотелиальным фактором роста (VEGFA) и интерлейкином 1 (IL-1) [111; с. 3239, 163; с. 168-169].

Пролиферирующие фибробласты активно синтезируют матриксные металлопротеиназы (ММП), которые начинают преобладать над тканевыми ингибирующими металлопротеиназами (ТИМП) [78; с. 255-259, 146; с. 75-81]. Синтез ММП связан с активацией протеаз межклеточного матрикса, цитокинов и роста. Он играет роль в секреции факторов и межклеточной коммуникации, но его роль в патогенезе не важна. Роль синтеза ММП в патогенезе липодерматоза до конца не изучена. Сообщалось о повышенных уровнях ММП-1, ММП-2 и ТИМП-1 в коже пациентов с липодерматозом [119; с.1370, 138; с.6]. Было показано, что ММП-9 присутствует сразу после образования трофических язв, а ММП-1 и ММП-8 присутствуют в

незаживающих венотропных язвах [52; с.267-299]. Функция ММП при ХЗВ заключается в разрушении внеклеточного матрикса и образовании венозных и незаживающих язв [95; с. 1076]. Повышенный уровень медиаторов воспаления, таких как TNF- α и IL-1, также наблюдается у пациентов с ХВДП. Дисбаланс между про- и противовоспалительными факторами особенно очевиден при индуцированной гипертензии (окклюзионная манжета до 60 мм рт. ст. в течение 25 мин) [75; с.363].

ХВН развивается в результате взаимосвязанного каскада воспалительного процесса в мягких тканях нижней конечности. В начальной стадии развивается липосклероз, при нем площадь поверхности капиллярного слоя увеличивается за счет удлинения и извитости, а не увеличения абсолютного числа капилляров, при этом структура мягких тканей сохраняется [44; с.39]. Микроскопическое исследование характеризуется скоплением моноцитов, макрофагов, соединительнотканых белков и манжетообразной фиброзной ткани вокруг сосочкового слоя дермы и капилляров. ХВН развивается с серией реакций воспаления в мягких тканях конечностей [96; с.656-664]. В начальной стадии происходит липосклероз, структура мягких тканей сохранена, площадь капилляров увеличивается, но их абсолютное количество не возрастает, и они имеют дольчатый вид [53; с.303-308]. Микроскопически определяется, что моноциты, макрофаги, соединительнотканые белки и фибронектин инфильтрируют сосочковый слой дермы и скапливаются в манжетках вокруг капилляров; Т-лимфоцитов мало, а капилляры инфильтрированы моноцитами, макрофагами и фибронектином. На этой стадии вырабатывается фактор роста эндотелия сосудов VEGFA [46; с. 1149-1154]. Он стимулирует экспрессию молекул адгезии ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина эндотелиальными клетками, опосредуя адгезию лейкоцитарных клеток к эндотелию и способствуя инвазии тканей [112; с. 149-158]. Фиброз мягких тканей - еще одна распространенная форма повреждения кожи, связанная с ХВН. Этот процесс инициируется и регулируется цитокином TGF-beta1,

выделяемым лейкоцитами и фибробластами; при ХВН уровень активированного TGF-beta1 значительно выше в измененной коже по сравнению с интактной. Предположительно, активированные лейкоцитарные клетки стимулируют выработку коллагена фибробластами в дерме. Этот процесс приводит к фиброзу. Цитокин TNF- α может вызывать острофазовые реакции, которые влияют как на весь организм, так и локально. VEGFA также играет роль митогена эндотелиальных клеток, одновременно повышая проницаемость сосудистой стенки и регулируя экспрессию ММП и ТИМП [135; с.233-240]. Отмечается, что плазменный уровень VEGFA значительно выше у пациентов с ХВН 3-4 стадии по сравнению со здоровым контролем. Уровень фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) может использоваться в качестве индикатора гипертрофии венозной стенки; VEGFA активно участвует в морфологических изменениях капилляров при липосклерозе и способствует проницаемости капилляров. Когда у пациентов с варикозным расширением вен измеряли базальные уровни плазмы, они были на 21% выше у пациентов с гипертонией и на 15% выше в контроле; плазменные уровни VEGF прямо пропорциональны тяжести ХВН и наиболее высоки у пациентов с трофическими язвами [134; с.19-27].

Изменения макроциркуляторных свойств при ХВДП вызваны дисфункцией венозных клапанов, приводящей к венозной обструкции и регургитации вследствие снижения венозного оттока [129; 139-145]. Одним из проявлений этого состояния является динамическая венозная "гипертензия", при которой венозное давление недостаточно снижается при активации мышечного насоса [19; стр. 25-29, 110; стр. 181-254]. Прямые измерения заднего венозного давления и данные рентгенографии грудной клетки показали, что когда мышцы конечностей расслабляются после активного сокращения, венозное давление выше, чем у здоровых людей, и требуется значительно меньше времени, чтобы венозное давление вернулось к исходному уровню [12; стр. 68-76].

Таким образом, в развитие ХВН вовлечено множество сложных патофизиологических процессов, включающих клеточные, молекулярные и генетические события, и без этих объяснений понять болезнь будет невозможно. ХВН является многофакторным заболеванием, включающим сложные патофизиологические механизмы. Повышенное и расширенное внешнее венозное давление в нижней конечности, а также изменения напряжения сдвига способствуют сложной сосудистой реакции, приводящей к обструкции и последующим вторичным воспалительным реакциям. Обструкция и/или регургитация - два основных патологических механизма, приводящих к значительным изменениям венозной стенки и патологическому венозному возврату, что способствует прогрессированию ХВН [94; с.13-19]. Ремоделирование венозной стенки нижних конечностей, последующая эндотелиальная дисфункция и воспалительные процессы приводят к дисфункции венозных клапанов, дилатации венозной стенки и нарушению ее проницаемости. Кроме того, роль специфических генетических мутаций и вариантов также имеет значение для этиологии и патофизиологии заболевания. Также были обнаружены свидетельства эпигенетических изменений у пациентов с ХВН и маркеры системного повреждения, связанные с прогрессированием заболевания [50; с.91-99, 113; с.715-729, 122; с.337-347].

§1.3. Роль генетических факторов в патогенезе хронической венозной недостаточности нижних конечностей

Высокая распространенность ХВН позволяет предположить, что наследственность играет важную роль в природе этого заболевания. Более 60% пациентов с ХВЗ имеют в анамнезе указания на наследственность. Семейный анамнез является хорошо известным фактором риска хронической венозной патологии вен нижних конечностей, однако её истинную наследуемость было трудно установить из-за многофакторной природы ХВН, когда известные факторы риска окружающей среды взаимодействуют с

генетическими вариациями, которые определяют предрасположенность пациента к заболеванию [42;1988-2002, 141;379-393]. Многочисленные эпидемиологические исследования установили наследственный характер хронических венозных заболеваний вен нижних конечностей. Следовательно, существует явное генетическое влияние на патогенез ХВН [121; 95–137, 142;141-150]

Хотя окончательной картины генетической основы ХЗВ нет, в последнее время начались активные исследования этого аспекта проблемы, особенно у пациентов с ХВН [140; 27-35].

Выяснение молекулярно-генетических причин развития ХВН является одной из важных задач современной медицины. Возможности выделения отдельных генов из различных биологических объектов создали благоприятные условия для изучения их структурной организации, путей регулирования различных метаболических процессов, происходящих в организме. Патологические сдвиги в функционировании такого рода физиологических процессов могут стать причиной развития ХВН [134; 75-80.].

Варикозное расширение вен является распространенной проблемой, для которой нет утвержденных медицинских методов лечения. Хотя считается, что патогенез ХВН является многофакторным, существует ограниченное осознание роли в нем генетических факторов и влияния факторов окружающей среды, которые способствуют их образованию [70; с.2869–2880].

Прорывным в понимание генетической составляющей патофизиологии ХВН являлось исследование с использованием *ex vivo* модели венозной гипертензии, которое показало, что сегменты нижней полой вены у крыс, нагруженных напряжением в течение 24 часов, приводят к увеличению экспрессии матриксной металлопротеиназы (ММП) и уменьшению частоты индуцированного сокращения венозной стенки [42; с.1988-2002]. Это было подтверждено многочисленными исследованиями варикозного расширения

вен на людях, показавшими сходные изменения в MMP и TIMP, их естественных ингибиторах, что указывает на критическую роль ремоделирования матрикса при ХЗВ нижних конечностей. Транскриптомный анализ, сравнил образцы варикозной и нормальной венозной ткани от восьми пациентов и обнаружил многочисленные дифференциально экспрессированные гены, обогащенные путями, диктующими организацию внеклеточного матрикса и сосудистый морфогенез[148; с.1103– 1119].

В 2018 году было представлено исследование ХЗВ, в котором была рассмотрена GWAS варикозного расширения вен с использованием кодов ICD9 и -10 из Биобанка Великобритании с локусами количественных признаков экспрессии (eQTL) и анализом путей среди 337 536 человек (9577 случаев). Это выявило 30 новых значимых для всего генома локусов [70; с.2869–2880].

Анализ eQTL выявил несколько генов, в значительной степени регулируемых SNP варикозного расширения вен, которые влияют на развитие сосудов и скелетные аномалии. Эти анализы идентифицировали ведущие варианты rs2911463 (*PIEZO1* , $p=1,50 \times 10^{-5}$; *GALNS* , $p=1,50 \times 10^{-5}$) и rs3101725 (*FBN2* , $p=9,50 \times 10^{-7}$), которые были связаны с наследственной формой скелетной дисплазии и марфаноподобного синдрома врожденной контрактурной арахнодактилии соответственно. Анализ FUMA показал, что SNP были связаны с предикторами варикозного расширения вен [100; с.1645–1657; 79; с.83– 89] .

В когортном исследовании генетических основ хронической венозной патологии, проведенном *BioRxiv* в 2022 году, использовалась МКБ-10, коды процедур и самоотчеты о болезни из Британского биобанка для сбора когорты из 400 000 пациентов с более чем 22 000 случаев и повторения их результатов с самоотчетами о заболевании. Их анализ выявил 46 локусов предрасположенности к варикозному расширению вен, включая 28 новых локусов. Интересно, что, используя регрессию оценки неравновесия по сцеплению, они воспроизвели связь с ростом и весом, но также обнаружили

новую генетическую корреляцию варикозного расширения вен. Их данные указывают на нарушение регуляции производства ВКМ, роли хронического воспаления и патологический ангиогенез как процессы, которые могут занимать ключевое место в патогенезе ХВН и представлять собой те процессы, на которые можно оказывать предективное лечебное воздействие [35; с.3065].

«Генетически детерминированная предрасположенность стенки вены к её патологическому расширению в совокупности с динамической венозной гипертензией приводят к возникновению воспаления венозной стенки и клапанного аппарата, что в дальнейшем нарушает функционирование венозного клапана и приводит к варикозной трансформации сосудов» [27; с. 37–41].

Вследствие воздействия хронической деформации стенки сосуда и стаза крови в клетках стенки вены экспрессируются многочисленные гены, влияющих на пролиферацию клеток, апоптоз, миграцию клеточных элементов, а так же контролирующих сосудистый тонус, деградацию и перестройку внеклеточного матрикса, воспаление, ангиогенез [8;. 36-45, 14; с. 41].

Растяжение венозной стенки воспринимается механосенсорными механизмами (точки адгезии, межклеточные контакты, интегрины, ионные каналы, рецепторные тирозинкиназы) и активирует внутриклеточные сигнальные пути, в частности PI3K-Akt и MAPK-ERK. Затем наступающая вазодилатация активирует NADPH-оксидазные комплексы в мембранах эндотелиальных клеток и гладкомышечных клеток, а также внутриклеточные сигнальные пути, что приводит к генерации ROS. Застой крови вызывает гипоксию и активирует транскрипционные факторы. Все это активирует множество генов, происходящее под контролем ключевых транскрипционных факторов, таких как AP-1, HIF-1 α , HIF-2 α и NF- κ B [119; с. 1370]. К этим факторам относятся матриксные металлопротеиназы (ММП), ответственные за протеолиз компонентов клеточного матрикса (коллаген,

эластин, протеогликаны, фибронектин, ламинин и другие белки)[31; с. 608-612, 80; с. 185-193]. Дисбаланс этой активности приводит к нарушению гомеостаза внеклеточного матрикса и морфологическим изменениям в венозной стенке. В ряде исследований было показано увеличение экспрессии ММП-1, ММП-2, ММП-3, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-3 в стенке вен при варикозной болезни по сравнению с нормальной стенкой вены [78; с. 255-259, 43; с. 725-731, 123; с. 337-347]. 337- 347].

Воспалительные цитокины и хемокины стимулируют пролиферацию и дифференцировку В- и Т-лимфоцитов (интерлейкин (IL)-6 и фактор некроза опухоли (TNF- α)) и привлекают моноциты/макрофаги, нейтрофилы, базофилы и лимфоциты в зону воспаления (IL-8 и MCP-1) [23; с. 100, 47; с. 65-79, 149; с. 204-312].

Другим примером активируемых генов является фактор роста эндотелия сосудов (VEGFA), экспрессия которого регулируется транскрипционными факторами AP-1 и HIF-1 α . VEGFA стимулирует эндотелиальные клетки к экспрессии молекул адгезии ICAM-1, VCAM-1 и E-селектина, что приводит к адгезии лейкоцитов и инфильтрации тканей [166, с. 52-59].

Многие исследования показали, что уровень VEGFA в плазме крови выше у пациентов с ХЗВ [140, с. 27-35]. Действие этого фактора очень разнообразно. Помимо индуцирования синтеза молекул адгезии, VEGFA является мощным митогеном для эндотелиальных клеток, увеличивает проницаемость сосудов и регулирует экспрессию MMPs и TIMPs [143, с. 42-51].

Представляет интерес проблема влияния полиморфизма генов цитокинов на развитие еще одного тяжелого осложнения – венозных трофических язв. Венозные трофические язвы голени являются поздними индикаторами хронической венозной недостаточности. Наличие венозной трофической язвы голени является инвалидизирующим состоянием, широко распространенным среди пожилых людей. В странах Европы и США около

2% всего населения страдают трофическими язвами, при этом на венозные трофические язвы приходится до 70% язв голени [103; с.8–15, 133; с.281–292, 90; с. 63–72, 134; с. 19–27]. Венозная трофическая язва представляет собой открытую рану, расположенную между коленом и голеностопным суставом, которая остается незаживающей более 30 дней из-за наличия венозной недостаточности [98; с.484]. Факторы, связанные с ХВН, которые инициируют образование венозных язв нижних конечностей и ухудшают заживление ран, до сих пор обсуждаются. Было показано, что уровни провоспалительных цитокинов интерлейкина-1, интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли (TNF- α), а также клинического маркера воспаления, С-реактивного белка, снижаются в раневой жидкости при заживающих хронических венозных язвах по сравнению с незаживающими язвами [125; с.29, 51; с.7204–7218, 65; с.867]. Установлено, что одним из последствий ХВН является нарушение тканевой перфузии кислорода. Длительное воспаление, наблюдаемое в венозной трофической язве, приводит к рекрутированию лейкоцитов и высвобождению модуляторов воспаления, что негативно влияет на окружающие ткани [103; с.8–15]. Хотя процесс заживления ран включает в себя воспаление и разрешение воспалительной реакции, избыточное производство медиаторов воспаления может привести к неблагоприятным последствиям [133; с.281-292]. Предыдущие исследования выявили повышенную концентрацию цитокинов у пациентов с венозной трофической язвы, предполагая, что ХВН приводит к воспалительному состоянию, ответственному за плохое заживление ран [90; с.63–72, 98; с.466-484].

Предполагается, что продолжительное воспаление ухудшает заживление венозных трофических язв из-за неблагоприятного действия цитокинов, которые влияют на рост или жизнеспособность типов клеток, обнаруженных в заживающей коже, и которые влияют на целостность внеклеточного матрикса [105; с.144-155, 136; с.61–66]. TNF- α является важным провоспалительным цитокином, который был обнаружен в

интракапиллярных моноцитах при биопсии венозной язвы. In vitro TNF- α стимулирует пролиферацию дермальных фибробластов, но ингибирует пролиферацию клеток и индуцирует молекулы клеточной адгезии в кератиноцитах [65; с.867].

Помимо геномных исследований, одним из способов «расшифровки» возможных стадий патогенеза ВВ является изучение особенностей экспрессии тех или иных генов при патологическом состоянии по сравнению с нормальным состоянием. Такие дифференциально экспрессируемые гены могут быть вовлечены в патогенез заболевания за счет изменения качества их участия в каком-либо функциональном процессе или сигнальном пути [148; с.19]. В исследованиях, проведенных в Сметаниной М.А. и соавт. в 2016 году было показано, что, например, для полиморфных вариантов генов AGGF1 (rs13155212, rs7704267), MTHFR (rs1801133) и MTR (rs1805087) ассоциаций с риском ХВН у этнических русских не обнаружено. Также не обнаружено ассоциаций для регуляторных SNP генов матриксных металлопротеиназ MMP1 (rs1799750), MMP2 (rs243865), MMP3 (rs3025058) и MMP7 (rs11568818), тогда как редкий аллель rs1800562A гена HFE, который приводит к накоплению железа в пораженных тканях и полиморфные варианты rs1035550 и rs34221221 гена фактора транскрипции FOXC2 были ассоциированы с повышенным риском возникновения ХВН [25; с.199-210].

Экспрессия нескольких генов, связанных с ангиогенезом, развитием сосудов и регуляцией гомеостаза стенки вены, изменяется при ХВН [137; с.75–80].

Принимая во внимание ангиогенез и аномалии развития сосудов, имеются убедительные доказательства специфической роли некоторых генов, таких как ген FOXC2 и ген VEGFA [54; с.1928].

Ген FOXC2, расположенный на хромосоме 16q24, кодирует фактор транскрипции, регулирующий экспрессию генов, участвующих в нормальном развитии венозной и лимфатической систем. В частности, он необходим при раннем созревании и формировании венозных и

лимфатических клапанов [54; с.1928]. Более того, данные указывают на то, что сверхэкспрессия FOXC2 в венозных эндотелиальных клетках (ECs) может повышать экспрессию белков, связанных с дельта-путем Notch, таких как Notch-1 и его лиганд дельта-подобный-4 (Dll4) и Hey2, который играет ключевую роль в развитие сосудистых сетей [150; с.399–408]. Молекулярные изменения, которые происходят сигнальном пути Dll4-Hey2, по-видимому, также связаны с гипертрофией и гиперплазией гладкомышечных клеток при варикозном расширении вен [93; с.461–465]. Фактор транскрипции Foxc2 также играет роль в регуляции ангиогенеза посредством индукции экспрессии интегрина $\beta 3$. Интегрин $\beta 3$ представляет собой рецептор клеточной адгезии, который взаимодействует в основном с компонентами внеклеточного матрикса (ECM), такими как фибронектин и витронектин. Транскрипционный фактор Foxc2 может также влиять на функцию CXCL12 и его рецептора, CXCR4, которые имеют решающее значение для процесса ангиогенеза в сосудистой системе [94; с.13-19].

Ген VEGFA кодирует белок сосудистого эндотелиального фактора роста А (VEGFA), который является одновременно критическим регулятором ангиогенеза и ключевым фактором, способным поддерживать целостность и функциональность сосудистой стенки [64; с.456-468]. VEGFA опосредует рост новых кровеносных сосудов из ранее существовавших сосудов (ангиогенез) путем связывания с рецепторами клеточной поверхности VEGFR1 и VEGFR2, двумя тирозинкиназами, расположенными в ЭК системы кровообращения. Повышенная экспрессия VEGFA, по-видимому, определяет значительную роль в патогенезе ХВН, поскольку он способен повышать проницаемость венозной стенки, определяя отек, и снижать тонус венозной стенки, что может приводить к дилатации вен с застоем крови в нижних конечностях. венозной системы и последующее развитие венозной гипертензии. Более того, повышенная экспрессия VEGFA может влиять на ремоделирование ВКМ из-за дисбаланса нескольких процессов синтеза

протеолитических ферментов, таких как матриксные металлопротеиназы (ММП) [97; с.267–278].

Активность ММП в ВКМ контролируется специфическим тканевым ингибитором металлопротеиназ (ТИМП) для поддержания гомеостаза и баланса ВКМ, поддерживающего целостность сосудистой стенки[81; с.2775–2791]. Экспрессия некоторых ММП повышена у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Основной причиной этого повышения является дисбаланс между активностью ММП и ТИМП, что приводит к нарушению гомеостаза ВКМ в стенке вены [128; с.939–942, 52; с.267–299]. В частности, Кунт и соавт. исследовали взаимосвязь между полиморфизмами генов ММП-9 и ТИМП-2 и риском сердечно-сосудистых заболеваний и показали, что лица с аллелем С -418G для ТИМП-2 были значительно связаны с риском ХВН, тогда как лица с генотипом GG имели более низкий риск сердечно-сосудистых заболеваний. Они не обнаружили статистически значимой разницы между пациентами с ХВН и здоровым контролем для анализа гена ММП9 [158; с.472-483.]. С другой стороны, Ху Н.-М. и соавт. обнаружили, что аллель -1562С/Т в *ММП9* является фактором риска ХВН и что полиморфизм -418G/С гена ТИМП2 также связан с риском развития ХВН [38; с.902, 58; с.1-10].

Этиология и патофизиология ХВН являются сложными и многофакторными, включая генетические, молекулярные и клеточные механизмы, которые приводят к изменениям в венозной структуре и функциях. Изучение генетических полиморфизмов генов, связанных с ангиогенезом, развитием сосудов и регуляцией вен, воспалительной реакцией и их ассоциаций обнаружили связь между вариациями ДНК в генах и предрасположенностью к развитию и прогрессии ХВН. Некоторые вариантные аллели этих генов, которые влияют либо на экспрессию гена, либо на функцию кодируемого белка, являются генетическими факторами риска ХВН.

Таким образом, успехи, достигнутые в изучении молекулярной генетики, создает основу для разработки эффективных методов нетрадиционного лечения, предупреждения развития и прогрессии заболеваний, индивидуальной, генетически обоснованной лечебной тактике при ХВН нижних конечностей.

Таким образом, несмотря на раскрытие современными исследованиями многочисленных генетических факторов хронической венозной недостаточности нижних конечностей, сведения о влиянии значительной части полиморфизмов генов в развитие индивидуальной предрасположенности к различным процессам всё ещё остаются очень противоречивыми. Очень мало исследований, посвящённых изучению различных генетических взаимодействий, которые могут привести к появлению неслучайных сочетаний мутаций различных генов, способных значительно повысить риск развития ХВН. Кроме того, до настоящего времени остаются много нерешённых вопросов о необходимости диагностики определённых генетических полиморфизмов в практической медицине. Подобного рода проблемы в основном связаны с недостаточным количеством исследований, посвящённых выявлению взаимосвязей между носительством определённых маркеров в генотипе пациента и клиническим течением ХВН. Подробное изучение не только отдельных генов, но и сложных взаимодействий между ними, по всей видимости, является наиболее важным и патогенетически обоснованным подходом к изучению такой тяжелой и сложной патологий, как ХВН нижних конечностей.

Выше изложенное обосновывает актуальность и клиническую необходимость подробного изучения роли отдельных генетических полиморфизмов и их ассоциаций, способных оказывать значительное влияние на риск формирования и прогрессии ХВН.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ РАЗВИТИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

§2.1. Характеристика клинических групп

В монографии приведены данные комплексного клинико-лабораторного обследования 98 больных обоих полов с предварительно диагностированной ХВН, которые находились на лечение и обследование в клиниках АндГосМи и Андижанского филиала РНЦЭМП с 2022 по 2024 гг.

Диагноз ХВН был верифицирован на основании результатов лабораторно-инструментальных и молекулярно-генетических исследований, среди которых: УЗДГ (ультразвуковая доплерография нижних конечностей), молекулярно-генетический анализ ДНК. УЗДГ проводилась с целью оценки сосудистой проходимости, состояния венозных клапанов и гемодинамики вен нижних конечностей. Далее диагноз был детализирован в соответствии с классификацией СЕАР 2020 года. В отобранной выборке из 98 пациентов 45 больных были со средней тяжестью течения ХВН (СЕАР класс С3 и С4) и 53 больных с тяжелой степенью течения ХВН (СЕАР класс С5 и С6) (см.табл.2.1).

Таблица 2.1.

Распределение больных в основной исследуемой группе

№	Группы больных	Количество пациентов, абс.	%
1.	ХВН (класс С3-С4)	45	46,0
2.	ХВН (класс С5-С6)	53	54,0
Всего:		98	100,0

У всех исследуемых больных в период госпитализации в стационар были подробно собраны клинико-anamnestические данные, проведены лабораторные, биохимические, инструментальные и генетические методов исследований.

Установление диагноза ХВН производилась согласно принятым в настоящее время клиническим рекомендациям. На основании классификации СЕАР были применены диагностические критерии верификации клинических признаков ХВН [21; 146-240].

Таблица 2.3

**Классификация по клинической диагностике
объективных признаков ХЗВ**

№	Клинический класс ХЗВ	Клинические проявления
1.	C 0	нет видимых клинических или пальпируемых признаков ХЗВ
2.	C1	телеангиэктазии – наличие расширения внутрикожных вен в диаметре до 0,5—1 мм, имеющих вид сосудистых звёздочек или сеточек; ретикулярные вены - наличие извитых подкожные вены в диаметре от 1 до 3 мм, синего цвета.
3.	C 2	варикозно расширенные подкожные вены - это расширенные, узловатые и мешковидные, извитые подкожные вены диаметром более 3 мм в положении стоя
4.	C 3	отеки – это увеличение конечности в объеме в области лодыжек, стоп и голени за счет скопления жидкости, при нарушении её оттока из межклеточного пространства
5.	C 4	трофические изменения кожи и подкожных тканей (гиперпигментация, варикозная экзема по типу эритематозный дерматит, липодерматосклероз и/или белая атрофия кожи)
6.	C5	зажившая венозная трофическая язва
7.	C6	открытая (активная) венозная язва – это дефект кожи и глуболежащих тканей, который чаще всего образуется в нижней трети голени

Критериями включения в исследуемую группу было наличие у больных проявлений, соответствующих ХВН по классификации СЕАР (клинические классы С3-С6). Критериями исключения были пациенты с клиническими классами СЕАР С0-С2.

В контрольную группу вошли 87 «условно здоровых» лиц, не имеющих клинические проявления ХВН в момент обследования, без отягощенного анамнеза в аналогичном возрастном диапазоне. Они были представлены пациентами стационара, а также добровольцами, не имеющими в анамнезе у себя и родственников заболеваний венозной системы.

Все исследования в основной и контрольной группах проводились у больных в возрасте старше 18 лет и с согласия пациента на исследование. Каждый пациент был информирован о дизайне и целях научного исследования.

Во время отбора участников во всех подгруппах не допускались пациенты с онкологическими, эндокринологическими заболеваниями в анамнезе и с лабораторно подтвержденным сахарным диабетом, хроническими декомпенсированными заболеваниями внутренних органов, в период беременности или лактации, а также с острыми инфекционными заболеваниями.

В основной группе пациентов преобладали пациенты в возрастном диапазоне 46-55 лет – 41 (41,8%), тогда как больных в возрасте 20-35 лет составили наименьшую часть обследуемых - 11 (11,2%) человек. Лиц старшего возраста было 18 (18,4%) больных (таб.2.2). Основная часть пациентов с ХВН тяжелых степеней была обнаружена у исследуемых в возрастном диапазоне 45-55 лет. Половое распределение пациентов показало, что в исследуемой группе из 98 пациентов 71 (72,5%) были женского, а 27 (27,5%) - женского пола.

Данные возрастных категорий обследуемых

№	Возраст (лет)	Число обследуемых (n, %)
1	20-35	11 (11,2%)
2	36-45	28 (28,6%)
3	46-55	41 (41,8%)
4	56-78	18 (18,4%)

Была отмечена следующая тенденция среди полового распределения в обеих когортах – это преобладание пациентов женского пола (рис.2.1).

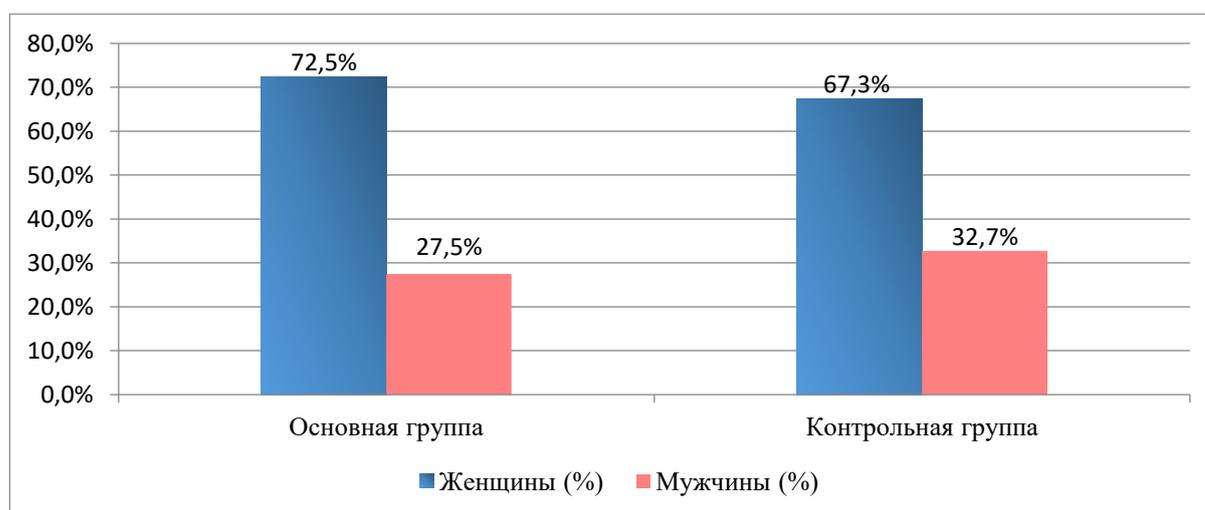


Рис 2.1. Распределение полового состава в обеих когортах исследуемых пациентов

Средняя возрастная характеристика пациентов с ХВН представлена в таблице 2.3. В основной группе средний возраст больных составил $62,7 \pm 1,3$ лет. В том числе, с ХВН С5-С6 – $63,5 \pm 1,7$ года, у больных с ХВН С3-С4 средний возраст составил $62,2 \pm 1,6$ года. Средний возраст здоровых лиц в контрольной группе составил $54,3 \pm 3,9$ года. По возрастному и половому составу исследуемая и контрольная группы были сопоставимы.

Длительность заболевания составила у пациентов с ХВН С3-С4 $5,6 \pm 4,1$ лет, а у больных с ХВН С5-С6 – $11,8 \pm 4,6$ года.

Возрастная характеристика пациентов с ХВН

Пациенты	Средний возраст, лет		
	ХВН С3-С4	ХВН С5-С6	Все пациенты
Мужчины	60,9 ± 2,1	61,5 ± 1,7	61, ± 1,5
Женщины	65,2 ± 2,5	66,0 ± 4,5	63,9 ± 2,3
Все пациенты	62,2 ± 1,6	63,5 ± 1,7	62,7 ± 1,3

§2.2. Методы исследований

2.2.1. Определение биохимических показателей плазмы крови

Состояние свёртывающей системы крови была оценена по следующим критериям: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) по Caenet, протромбиновый индекс по методу Квика, тромботест по Фуэнте Ита, концентрация фибриногена в плазме по Рутбергу, международное нормализованное отношение (МНО) по методу Квика, свёртываемость крови по Сухареву.

2.2.2 Ультразвуковое доплеровское исследование венозной системы нижних конечностей

Исследованным больным было проведено ультразвуковое исследование с доплеровским картированием во время которого оценивалось функциональное состояние венозной системы нижних конечностей. Для исследования венозной системы использовали В-режим, а для изучения скорости венозного кровотока – цветное доплеровское картирование. УЗДГ венозной системы нижних конечностей проводили в горизонтальном и вертикальном положениях с применением нагрузочных проб

(компрессионная проба, проба Вальсальвы). Использовалась ультразвуковая система экспертного класса Voluson E8 (GE, США) с линейным датчиком 8-12 МГц. Основной целью ультразвукового исследования вен являлось изучение и оценка анатомии венозной системы, наличие или отсутствие венозного кровотока, целостности стенки вены, функциональной сохранности венозных клапанов, оценки ретроградного кровотока при недостаточности клапана в нижних конечностях в лежачем и вертикальном положении во время проведения проб [2;49-52, 17;318-340].

2.2.3. Генетические методы исследования.

В ходе выполнения данной работы были изучены частоты распределения аллелей и генотипов наиболее важных, связанных с развитием хронической венозной недостаточностью генетических ДНК-полиморфизмов генов, ассоциированных с эндотелиальной дисфункцией VEGFA (C936T), ремоделированием венозной стенки MMP9 (Gln279Arg) и полиморфизм гена провоспалительного цитокина TNF - α (G308A).

Оценена роль и значимость полиморфизма этих генетических маркеров в формировании ХВН нижних конечностей, а также влияния этих мутаций на прогрессию ХВН нижних конечностей.

Таблица 2.4

Перечень исследованных полиморфизмов генов

Ген (сокращение)	Локализация	Полиморфизм	Международный код
Фактор роста эндотелия сосудов (VEGFA)	6p21.3	C936T	rs3025039
Матриксная металлопротеиназа 9 (MMP9)	20q13.12	Gln279Arg	rs17576
Фактор некроза опухоли (TNF- α)	6p21.33	G308A	rs1800629

Исследования генетических мутаций проводились в отделении молекулярной медицины и клеточных технологий (руководитель, профессор Каримов Х.Я.) и лаборатории медицинской генетики (заведующий лабораторией, профессор Бобоев К.Т.) РСНПМЦ гематологии МЗ РУз.

Данная часть работы состояла из нескольких этапов:

1. Забор периферической крови.
2. Выделение геномной ДНК из лимфоцитов плазмы крови пациентов и контрольной группы.
3. Проведение ПЦР (RT ПЦР и стандартный ПЦР).
4. При необходимости проведение электрофореза и визуализация результатов.

Анализ ассоциаций полиморфизмов исследуемых генов был проведен с использованием модели по типу «case-control» (случай-контроль, сравнения двух выборок). Выборка «случай» формировалась из 98 пациентов с ХВН нижних конечностей, находившихся хирургических отделениях клиники АндГосМИ и Андижанского филиала РНЦЭМП.

Для изучения полиморфизма генов фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA), матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9) и фактора некроза опухоли (TNF- α) после получения согласия на проведение исследования из локтевой вены пациентов производился забор крови в количестве 5 мл. Затем эта кровь помещалась в пробирки типа вакутейнера, в которой в качестве антикоагулянта был ЭДТА (1 объём раствора 0,1 MNa₂-ЭДТА, pH 8,0 (20⁰C) + 10 объёмов крови). После чего кровь замораживали при температуре -70⁰C для его хранения. Выделение ДНК из плазмы крови пациентов производилась с применением коммерческого набора «Рибопреп».

В качестве материала для контрольной выборки использованы препараты геномной ДНК 87 здоровых неродственных лиц, которые соответствовали по половому и возрастному составу пациентам исследуемой группы ($p > 0.05$) и не имевших в анамнезе перенесенные заболевания венозной системы.

Генетическое исследование и анализ полученных данных проводился согласно принципам GRIPS с целью повышения прозрачности, качества прогнозирования рисков.

Для изоляции ДНК из плазмы крови применяли комплект реагентов «Ампли Прайм РИБО-преп» («AmpliSens», Россия). Измеряли концентрацию выделенной нами ДНК на спектрофотометре Nano Drop 2000 (Nano Drop Technologies, США) при длине волны A260/280нм. Чистота всех образцов выделенного препарата ДНК, определяемая отношением A260/280, составила 1.7/1.8.

Коммерческие стандартные наборы: набор для детекции полиморфизмов rs3025039, rs17576 и rs1800629 ООО НПФ Синтол (г.Москва).

ПЦР анализ проводили при помощи термоциклеров Applied Biosystems 2720 (США) и CG1-96 («Corbett Research» QUAGEN Германия) и Rotor GeneQ (QUAGEN Германия) в соответствии со следующими программами амплификации: предварительная денатурация–94⁰С (3 мин 1 цикл), 40 циклов амплификации: 94⁰С (20 сек)–денатурация, 58⁰С (20 сек), 61⁰С (30 сек) 10 циклов–отжиг праймеров, 94⁰С (20 сек)–денатурация, 58⁰С (20 сек), 61⁰С (30 сек), 30 циклов – элонгация и заключительный синтез 72 ⁰С (10 мин. 1-цикл).

ПЦР анализ проводили при помощи термоциклеров Applied Biosystems 2720 (США) и CG1-96 («Corbett Research» QUAGEN Германия) и Rotor GeneQ (QUAGEN Германия) в соответствии со следующими программами амплификации: предварительная денатурация–93⁰С (1 мин. 1 цикл), 35 циклов амплификации: 93⁰С (10 сек)–денатурация, 60⁰С (10 сек)–отжиг праймеров, 72⁰С (20 сек)–элонгация и заключительный синтез 72⁰С (10 мин. 1-цикл). Таким образом, нам удалось успешно провести работу по адаптации используемых олигопраймеров и усовершенствовать методологические подходы детекции полиморфизмов генов VEGFA C936T, MMP9 Gln279Arg, TNF- α G308A.

Для проведения молекулярно-генетических исследований использовали следующее оборудование: термоциклеры Applied Biosystems 2720 (США) и CG1-96 («Corbett Research» QUAGEN Германия) и Rotor GeneQ (QUAGEN Германия), ламинарный бокс (Германия), центрифуги (Eppendorf, Hittich, Германия), вортекс (Eppendorf, Германия), термостаты, спектрофотометр Nano Drop 2000 «Thermo Scientific» (USA), прибор для горизонтального электрофореза, источник питания (ДНК-Технология, Россия), УФ-трансиллюминатор с встроенной цифровой камерой, автоматические пипетки (Sartorius, Финляндия) и др.

Выделение геномной ДНК из лимфоцитов периферической крови.

Для выделения ДНК из лимфоцитов исследуемой крови применяли модифицированный метод фенольно-хлороформной экстракции и набор «РНК/ДНК-сорб» ООО «Интер Лаб Сервис» (Россия). При заборе крови пациентов мы использовали стандартные вакуумные пробирки Vacutainer Becton Dickinson International (США) с ЭДТА.

Детекция лимфоцитарных ядер и последующей ДНК мы выполняли по методике, предложенной Sambrook J. (1989) с некоторыми модификациями. Цитратная кровь смешивалась с равным объемом буфера (4°C), содержащего: 0.32М сахарозы; 5мМ MgCl₂; 1% Тритона X-100; 0.01М Tris-HCl рН 7.5. Затем данную смесь центрифугировали на 3000 об/мин при 4°C. Ядерный осадок ресуспензировали в 400 мкл буфера для протеиназы К, состава: 10мМ Tris-HCl, рН 10.5; 0.5М NaCl; 1мМ EDTA. Добавляли SDS («Serva», ФРГ) до конечной концентрации 0,5% и инкубировали в присутствии протеиназы К («Serva», ФРГ или «Sigma», USA), с концентрацией 250 мкг/мл в течение 16 часов при 37°C. К нему добавляли 400 мкл забуференного фенола, осторожно перемешивая в течении 10 мин, после чего центрифугировали в течение 5 мин, при 5000 об/мин. Затем мы переносили верхнюю фазу их центрифугированной пробирки в другую пробирку, куда добавляли 400 мкл смеси фенол: хлороформ (1:1). Полученную смесь мы осторожно перемешивали в течение 5 мин., а потом повторно центрифугировали. После

чего, фенол извлекали из верхней водной фазы путём добавления равного объёма хлороформа. Следующим этапом, к полученному раствору ДНК добавляли последовательно 40 мкл 3М ацетата натрия и 800 мкл охлажденного 96% этанола. Смесь перемешивали и центрифугировали в течении 15 мин. при 14000 об/мин., после чего выполняли промывание преципитата 1 мл. 70% этанола. Центрифугировали его повторно, полученный осадок высушивали после чего растворяли ДНК в ТЕ буфере (10 мМ Tris-HCl pH 7.4; 1 мМ EDTA, pH 8.0) в течение 12 часов при комнатной температуре. Измерение чистоты, а так же концентрации выделенной ДНК выполняли на спектрофотометре Nano Drop 2000 (США) при длине волны A260/280нм. Чистота образцов выделенной нами ДНК, которая определялась отношением A260/280, составила 1.7/1.8. Полученный результат указывает на очень незначительное содержание загрязняющих белков или других макромолекул в растворах выделенной нами ДНК, следовательно, эти образцы могут использоваться для проведения ПЦР без проведения дополнительной очистки. Раствор геномной ДНК 1 мг/мл, эквивалентный 20 о.е. ДНК, хранили в ТЕ при -20°C.

Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК.

Выделение изучаемых локусов проводили с помощью ПЦР с применением термоциклеров Gene Amp PCR-system 2720 (Applied Biosystems, США) и CG1-96 («Corbett Research» QUAGEN, Германия).

Для увеличения числа копий ДНК использовали реакционную смесь, объём которой составил 25 мкл. и содержащей 2,5 мкл. 1 OхTaq-буфера (67 мМ трис-HCl (pH 8.8), 16.6 мМ (NH₄)₂SO₄, 2.5 мМ MgCl₂, 0.01% Tween-20), 0.1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termusaquaticus* (производства фирмы «Силекс», г. Москва) и 5-10 пМ локус специфичных олиго нуклеотидных праймеров. После окончания ПЦР специфичность амплификации и количество амплификата проверяли методом электрофореза.

Электрофорез фрагментов ДНК в агарозном геле.

Полученные нами продукты ПЦР мы разделяли при используя электрофорез в 1-2% агарозном геле, который содержит бромистый этидий (EtBr). Перед нанесением исследуемый образец ДНК объём которого составил 10 мкл, смешивали с 2 мкл, раствора 10% бромфенолового синего. На гель наносили маркер Lader, с помощью которого определяли размер полос ДНК и контрольный образец, который был представленны мастермиксом без ДНК. После электрофореза гель анализировали при помощи УФ-трансиллюминатора с встроенной камерой.

Растворы для электрофореза: 10X TAE буфер; 242 г Трис основной; 57.1 мл уксусной кислоты; 100 мл 0.5 М EDTA, pH 8.5; H₂O до 1 л; 1%-ный агароза: 0.9 г агароза (SIGMA); 1.2 мл 10X TAE; 6 мкл EtBr; H₂O до 60 мл.

§2.3. Статистическая обработка и математические методы анализа.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Stat Soft Statistica 10.0 (США). Отклонения распределения генотипов изученных ДНК-полиморфизмов от нормального распределения Харди-Вайнберга оценивали с помощью компьютерной онлайн-программы генетического анализа данных Gene Pop ("Genetics of Population") (<http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop>).

Расчеты частот аллелей изучаемых генов проводили по следующей формуле: $p = (2np + npq) / 2N$, где N – объём выборки; np – численность гомозигот по аллели p; npq – численность гетерозигот.

Фактическая (наблюдаемая) гетерозиготность:

$$H_{\text{obs}} = N_0 / N, \text{ где } N_0 \text{ – численность гетерозигот.}$$

Теоретическая (ожидаемая) гетерозиготность:

$$H_{\text{exp}} = 1 - \sum p_i^2, \text{ где } p_i \text{ – частота } i \text{ аллели. } i=1$$

Коэффициент отклонений фактической гетерозиготности от теоретической рассчитывали по следующей формуле:

$$F = (H_{\text{exp}} - H_{\text{obs}}) / H_{\text{exp}}.$$

Для оценки степени возможного риска развития ХВН и при сравнении частот аллелей и генотипов у исследуемых больных и в группе контроля, мы использовали критерий χ^2 Пирсона и отношения шансов (OR) с 95%-ным доверительными интервалами. Для таблиц случайности 2×2 применяли критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность, если частота хотя бы в одной ячейке таблицы была меньше или равна 5.

Степень ассоциаций изучаемых показателей оценивали в значениях показателя отношения шансов odds ratio (OR) и его 95% доверительного интервала (95% ДИ), по формуле: $OR = (a \times d) / (b \times c)$, где a – частота аллеля (генотипа) в выборке больных, b – частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке, c – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больных, d – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке. Значение $OR = 1$ показывало отсутствие ассоциации. Значение $OR > 1$ рассматривали как фактор повышенного риска, $OR < 1$ – как фактор пониженного риска.

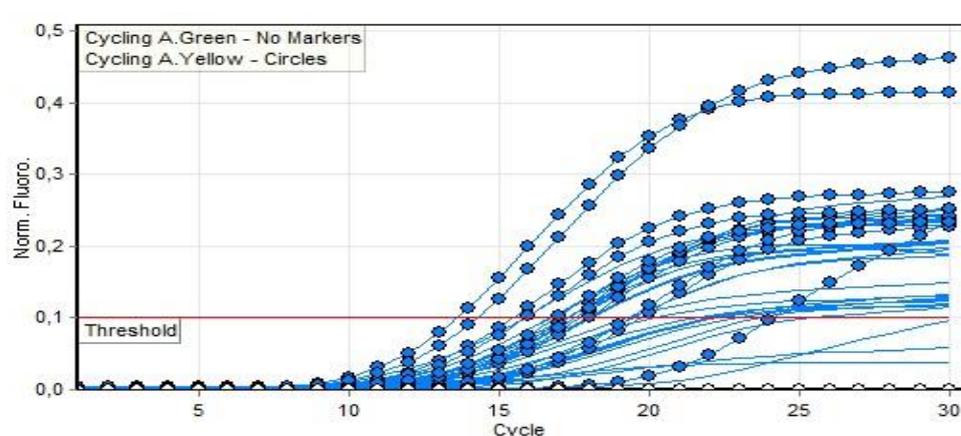


Рис. 2.2. Результат тестирования генетической мутации в формате ПЦР в режиме РВ

Мы использовали пакет прикладных программ «OpenEpi 2009, Version 2.3» в качестве инструмента статистических вычислений.

Работа выполнена в творческом и научном сотрудничестве с отделением молекулярной медицины и клеточных технологий и лабораторией медицинской генетики РСНПМЦГ МЗ РУз.

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО, ЛАБОРАТОРНО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

В данной главе монографии представлены результаты собственных клинических, лабораторно-инструментальных исследований у больных с ХВН (С3-С4), ХВН (С5-С6) и у лиц контрольной группы.

На первом этапе исследования у выявленных в результате объективного исследования анализа пациентов с патогенетически значимыми изменениями венозной системы нижних конечностей проведена оценка частоты встречаемости клинических и инструментальных признаков развития хронической венозной недостаточности. Клинически значимыми проявлениями хронической венозной недостаточности считали признаки, соответствующие С3–С6 классам по СЕАР, а именно: телеангиоэктазии, мышечные судороги ночью, отеки стоп, лодыжек и голеней, не исчезающие после кратковременного отдыха. К начальным признакам ХВН относили жалобы на тяжесть в ногах и быструю утомляемость, визуально определяемые сеточки вен и «сосудистые звездочки».

Половых различий по результатам проведенных нами клинических, лабораторно-инструментальных и молекулярно-генетических исследований выявлено не было.

§3.1 Результаты проведенных клинических исследований у больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей

В основу исследования положен анализ результатов комплексного клиничко-лабораторного и молекулярно-генетического обследования 98 больных, имеющих постоянное место проживания в Ферганской долине Республики Узбекистан, в период с 2021 по 2022 гг. находившихся на лечение в хирургическом отделении клиники Андижанского государственного медицинского института и соответствующих отделений Андижанского филиала Республиканского научного центра экстренной

медицинской помощи. Они составили основную группу, из которых, в зависимости от местных проявлений согласно клинической классификации СЕАР, были сформированы 2 подгруппы: 1 – 45 больных ХВН клинических классов С3-С4 по классификации СЕАР; 2 – 53 больных ХВН клинических классов С5-С6 по классификации СЕАР. В контрольную группу вошли 87 «условно-здоровых» лиц без клинических проявлений ХВН в момент обследования и в анамнезе, которые были представлены пациентами стационара, а также добровольцами, не имеющими у себя и близких родственников венозных заболеваний.

Диагностика хронической венозной недостаточности производилась согласно с критериями СЕАР 2020 года. Критериями включения в исследуемую группу было наличие у больных проявлений, соответствующих ХВН по классификации СЕАР (клинические классы С3-С6). Критериями исключения были пациенты с клиническими классами СЕАР С0-С2.

Все исследования в основной и контрольной группах проводились у больных в возрасте старше 18 лет и с согласия пациента на исследование. В исследование во всех подгруппах не были включены пациенты с возрастом меньше 18 лет, с беременностью и 6 недель после неё, а также пациенты с онкологическими заболеваниями.

В основной группе пациентов преобладали пациенты в возрастном диапазоне 46-55 лет – 41 (41,8%), тогда как больных в возрасте 20-35 лет составили наименьшую часть обследуемых - 11 (11,2%) человек. Лиц старшего возраста было 18 (18,4%) больных. Основная часть пациентов с ХВН тяжелых степеней была обнаружена у исследуемых в возрастном диапазоне 45-55 лет. Половое распределение пациентов показало, что в исследуемой группе из 98 пациентов 71 (72,5%) были женского, а 27 (27,5%) - женского пола.

Нами было отмечено, у наблюдаемых пациентов наиболее часто встречалось поражение левой нижней конечности: в 73,6% наблюдений у

больных с классом ХВН С3-С4 и у пациентов с классом ХВН С5-С6 в 79,4% случаев.

Клинические проявления хронических заболеваний вен полностью укладывались в симптоматику соответствующих классов по СЕАР. Клинические проявления хронической венозной недостаточности зависели от продолжительности заболевания. По мере нарастания длительности заболевания клиническая картина прогрессировала. Основными проявлениями заболевания в рассматриваемой группе пациентов, помимо варикозной трансформации поверхностных вен и отека нижних конечностей, были значительно выраженные и распространенные трофические расстройства, охватывающие большую часть голени.

Жалобы, соответствующие клинически значимым признакам ХВН, а именно телеангиоэктазии, мышечные судороги ночью, отеки стоп, лодыжек и голеней, не исчезающие после кратковременного отдыха наблюдались у 74 пациентов (75,5 %).

Таблица 3.1

Местные признаки хронической венозной недостаточности

№	Тип выявленного изменения	Частота выявлений в группе пациентов с ХВН (%)	Частота выявлений в группе относительно здоровых пациентов (%)
1	Трофические поражения кожи нижних конечностей	77%	не выявлено
2	Варикозные изменения поверхностных вен нижних конечностей	77%	не выявлено
3	Зажившая венозная язва голени	45%	не выявлено
4	Активная венозная язва	16%	не выявлено

№	Тип выявленного изменения	Частота выявлений в группе пациентов с ХВН (%)	Частота выявлений в группе относительно здоровых пациентов (%)
	голени		
5	Телеангиэктазии кожи нижних конечностей в зонах поражения	92%	не выявлено
6	Отечность нижних конечностей	87%	не выявлено

Анализ и оценка проведённых исследований у 77,0% исследуемых больных, смотрите таблицу 3.1, наблюдались трофические поражения кожи нижних конечностей с частичным вовлечением поверхностных вен нижних конечностей. Почти половина пациентов с ХВН имели зажившую венозную язву голени после лечения (45,0%) и только четверть язву в активной фазе (16,0%), которая лечилась в условиях стационара. Почти все обследуемые имели симптомы ХВН нижних конечностей со стороны кожного покрова (таб. 3.3): телеангиэктазии (92,0%), трофические поражения кожи (77,0%) и отечность подкожно-жировой клетчатки поражённых зон (87,0%).

На поздних стадиях наиболее важным проявлением ХВН является боль в нижних конечностях, обычно определяемая как тяжесть, дискомфорт или давление, усиливающаяся к концу дня.

Кроме оценки жалоб и осмотра с целью объективизации данных о наличии отека, проводилось измерение окружности стопы, голеностопного сустава и голени.

Принимая во внимание индивидуальные особенности пациентов, при оценке наличия отека поражённых конечностей мы учитывали клинически значимую разницу окружности со здоровой конечностью. У всех пациентов

отмечалась разница в окружности стопы в большей или меньшей степени, но она есть у всех. При разнице в окружности менее 1,5 см клинически отек незначимый, не отмечается пациентом (пациент не жалуется на отек). Поэтому за основу сравнения взята минимальная разница в окружности здоровой и больной нижней конечности в 1,5 см.

Рисунок 3.1.

Клинические проявления ХВН у исследованных больных



В нашем исследовании одиночные трофические язвы голени встречались у 29 (55,1%) пациентов клинического класса С5-С6. Из них 11 (38%) больных страдали варикозной болезнью, а 18 (62%) – посттромбофлебитической. Множественные трофические язвы наблюдались у 13 (44,83%) пациентов: 6 (41,1 %) больных с варикозной болезнью и 7 (58,9%) с посттромбофлебитическим синдромом. У 19 (67,2%) пациентов площадь трофической язвы не превышала 5 см². Время от появления первых симптомов хронической венозной недостаточности нижних конечностей до развития трофической язвы у больных с варикозной и посттромбофлебитической болезнями, соответственно, составило 9,2 и 6,4.

§3.2 Результаты проведенных лабораторно-инструментальных исследований у больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей

Был проведён анализ показателей, характеризующих реологические и коагуляционные свойства крови, а также функциональную активность тромбоцитов у больных групп при поступлении в стационар.

Результаты исследований основных показателей свёртывающей системы крови при поступлении больных в стационар в основной и контрольной группах, вне зависимости от имеющейся патологии, были сопоставимы и достоверно не различались между собой (см. табл. 3.2).

Таблица 3.2

Показатели свёртывающей системы крови в зависимости от клинического класса ХВН

Анализ	ХВН С3-С4	ХВН С5-С6	Р
Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), сек	32±0,03	36,0±0,02	p>0,05
ПТИ, %	99,8±1,4	103,0±0,95	p>0,05
Тромботест, степень	5,2±0,16	5,5±0,16	p>0,05
Концентрация фибриногена в плазме по Рутбергу, мг/л	4018±222,4	4448±232,8	p>0,05

Анализы	ХВН С3-С4	ХВН С5-С6	Р
Международное нормализованное отношение (МНО)	0,9±0,02	1,0±0,02	p>0,05
Свёртываемость крови, мин	2,9(±0,05) - 3,2(±0,02)	3,0(±0,04) - 3,2 (±0,02)	p>0,05

Как следует из таблицы 3.2, у больных основной группы наблюдается повышение показателей, характеризующих реологические и коагуляционные свойства крови.

У всех больных отмечалась склонность к гиперкоагуляции, несмотря на то, что некоторые из них до развития данного заболевания принимали антикоагулянты. Состояние гиперкоагуляции больше отмечалось в группе больных с ХВН С5-С6. Концентрация фибриногена в плазме по Рутбергу у больных с тяжёлыми формами хронической венозной недостаточности была на 15% выше, чем у больных со среднетяжёлыми формами ХВН.

При исследовании международного нормализованного отношения, тромботеста, время свёртываемости крови у больных двух исследуемых групп мы не выявили существенных различий.

Всем исследуемым больным проводили УЗДГ сосудов нижних конечностей с доплерографским картированием. У пациентов основной группы показатели артериального кровотока практически не отличались от показателей практически здоровых лиц. Но выявлялось заметное уменьшение линейных скоростей движения крови по магистральным венам.

Как следует из полученных данных проведенной ультразвукового доплеровского исследования (УЗДГ) глубоких и поверхностных вен нижних конечностей больных с ХВН, в основном преобладали гемодинамические

нарушения в системе глубоких вен с признаками расширением просвета, дилатации стенок, а также несостоятельность остиального клапана и клапанов перфорантных вен.

Таблица 3.3

Ультразвуковые признаки хронической венозной недостаточности нижних конечностей у исследуемых пациентов

№	Вариант ультразвукового признака	Показатель выявляемости в группе больных с ХВН	
		n	%
1	Снижение функциональности клапана сафено-фemorального перехода в комбинации с патологическим вертикальным рефлюксом гемоциркуляции в полости вены	5	5,1
2	Снижение функциональности клапана сафено-поплитеального перехода с патологическим вертикальным рефлюксом гемоциркуляции в полости вены	17	17,3
3	Снижение функциональности клапанов сафено-фemorального и сафено-поплитеального переходов с патологическими вертикальными рефлюксами гемоциркуляции в полости вены	16	16,4
4	Снижение функциональности клапанов перфорантных вен с горизонтальным рефлюксом гемоциркуляции в полости вены	22	22,5
5	Комбинация вертикальных и	38	38,7

№	Вариант ультразвукового признака	Показатель выявляемости в группе больных с ХВН	
		n	%
	горизонтальных патологических рефлюксов гемоциркуляции в полости вены		
Всего		98	100

В течение всего периода наблюдения при ультразвуковом исследовании пациентам проводилось измерение диаметра большой подкожной вены и малой подкожной вены. Данные УЗДГ функционального состояния венозной системы нижней конечностей приведены в таблице 3.3.

По результатам УЗДГ вен нижних конечностей у пациентов с диагностированной ХВН в обследуемой группе преобладали признаки комбинированной патологии патологических рефлюксов по вертикальному и горизонтальному типу обратного движения крови, которые были выявлены в 38.7% обследуемых. Снижение работоспособности ограничительной функции клапанов перфорантных вен преобладало у 22,5% пациентов с вариантом по типу горизонтального движения крови в сосудах. Более четверти случаев показало нарушение функции венозных клапанов сафено-поплитеального соустья с нарушением гемоциркуляции по вертикальному типу (17,3%). Снижение функциональности клапанов сафено-фemorального и сафено-поплитеального переходов с патологическими вертикальными рефлюксами гемоциркуляции в полостях вен было выявлено в 16.4% пациентов. Дисфункция венозной активности в виде снижения функциональности клапана сафено-фemorального перехода в комбинации с патологическим вертикальным рефлюксом гемоциркуляции в полости вены была распространена наименьше среди пациентов с ХВН (5,1%).

Было обнаружено, что при ХВН в стадии декомпенсации возникали

значительные гемодинамические нарушения венозного оттока из нижних конечностей, которые заключались в снижении линейных скоростей и объемного кровотока по поверхностной и глубокой венозной системе, а также в компенсаторном увеличении объема оттока по системе мышечных и подкожных коллатералей.

При хронической венозной недостаточности клинических классов C5-C6, по данным УЗДГ, значительно ухудшалась венозная гемодинамика как в глубокой, так и поверхностной венозной системе. Это заключалось в уменьшении объема транспортируемой ими крови. Возрастала нагрузка на систему мышечных и подкожных коллатералей, отводящих 47,5% венозной крови. Эти данные были подтверждены так же соответствующими клиническими изменениями, возникающими параллельно с изменениями функциональной и анатомической функции венозной системы конечности.

У пациентов с ХВН клинических классов C5-C6 отмечали расширение подколенной вены (рисунок 3.2).

Рисунок 3.2

Допплерограмма подколенной вены при тяжёлых формах хронической венозной недостаточности нижних конечностей



Таким образом результаты УЗДГ нижних конечностей пациентов свидетельствуют в пользу преобладания в исследуемой когорте больных с ХВН стадий C4, C5 и C6.

Полученные результаты УЗДГ, а так же имеющиеся объективные признаки ХВН нижних конечностей свидетельствуют о преобладание тяжелых форм ХВН (клинические классы С4-С6 по классификации СЕАР).

Таким образом, была выявлена взаимосвязь с тяжестью клинического течения, степенью трофических венозных поражений, увеличением количественных показателей лабораторных анализов свертывающей системы, а так же функциональными и анатомическими нарушениями венозной системы, выявленными при проведении УЗДГ вен нижних конечностей.

Проведённые нами данные инструментальных исследований вен нижних конечностей больных с ХВН дополняли объективной оценкой состояния кожи, подкожной клетчатки и поверхностных вен обеих нижних конечностей согласно классификации СЕАР. Данное исследование не включало субъективные данные болевого синдрома и невралгических симптомов со стороны восприятия больных с ХВН.

Проведенное комплексное клиническое, инструментальное и лабораторной обследование больных хронической венозной недостаточностью нижних конечностей. клинически значимых классов (С3-С6 по СЕАР) выявило постепенно развивающийся характерный комплекс симптомов, включающий субъективные и объективные признаки, резкое снижение эвакуаторной функции венозной системы нижних конечностей, выраженный гиперкоагуляционный синдром, нарастающую клапанную недостаточность венозной системы, функциональную недостаточность нижних конечностей.

Клинико-лабораторные сведения подтверждают то, что ХВН развивается на фоне целого ряда предрасполагающих факторов, которые оказывают совместное воздействие с комплексом молекулярно-генетических предрасположенностей.

Полученные данные свидетельствуют о широком многообразии клинических, лабораторных и структурных изменений при ХВН, что

подчеркивает мультифакторную основу патогенеза данной патологии. Для определения генетических предикторов формирования и прогрессии ХВН, нами было проведена оценка роли полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ (MMP9), фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) и провоспалительного цитокина – фактора некроза опухоли – α (TNF- α) у больных с ХВН (С3-С4), ХВН (С5-С6) и у лиц контрольной группы.

ГЛАВА IV. РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

В данной главе монографии представлены результаты собственных исследований по сравнительной оценке частоты распределения аллелей и генотипов наиболее важных, связанных с развитием и прогрессией хронической венозной недостаточности нижних конечностей, однонуклеотидных полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ (MMP9), фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) и провоспалительного цитокина – фактора некроза опухоли – α (TNF- α) у больных с ХВН (С3-С4), ХВН (С5-С6) и у лиц контрольной группы

§4.1. Оценка влияния частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма генов MMP9 (Gln279Arg), VEGFA (C936T) и TNF- α (G308A) на риск развития и прогрессии хронической венозной недостаточности нижних конечностей

Изучение частотных распределений мутаций и полиморфизмов Gln279Arg в гене MMP9 в основной и контрольной группах.

Генетическим маркером Gln279Arg обозначается участок, кодирующий последовательность ДНК гена MMP9, в котором может происходить замена основания глутамин (Gln) на аргинин (Arg) в положении 279. Увеличение экспрессии MMP, приводит к ремоделированию компонентов клеточного матрикса и приводит к изменениям целостности и эластичности стенок вен, их расширению и образованию варикозно-расширенных участков. [137; 75–80, 143; 42-51].

Следовательно, любые изменения в уровне MMP9 могут привести к изменениям в венозной структуре, способствуя развитию венозной дилатации и других симптомов ХВН [135; 233–240].

Для полиморфизма Gln279Arg гена MMP9 рассчитанные отклонения между фактическим и ожидаемым распределением генотипов и аллелей в основной и контрольной группах выявили, что частота мажорного Gln и

минорного Arg аллелей этого полиморфизма в основной группе соответственно составили 0,64/0,36, а в группе контроля 0,69/0,31 (см.табл.4.1-4.2). Анализ распределения генотипических вариантов Gln279Arg в гене MMP9 показал, что для данного полиморфизма наблюдаемое распределение генотипов в группах пациентов с ХВН нижних конечностей и контроля соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p < 0,05$).

В основной группе наблюдаемая частота благоприятного гомозиготного генотипа Gln/Gln, означающая нормальную активность фермента, незначимо повышена по сравнению с теоретическим (0,44 и 0,41 соответственно; $\chi^2=0,25$; $p=0,168$).

Таблица 4.1

Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта Gln279Arg в гене MMP9 по РХВ в основной группе

Аллели	Частота аллелей			
С	0,64			
Т	0,36			
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	р
	<i>Наблюдаемая</i>	<i>Ожидаемая</i>		
Gln / Gln	0,44	0,41	0,25	0,168
Gln / Arg	0,4	0,46	0,87	
Arg / Arg	0,16	0,13	0,77	
Всего	1,0	1,0	1,89	

Таблица 4.2

Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта Gln279Arg в гене MMP9 по РХВ в контрольной группе.

Аллели	Частота аллелей			
Gln	0,69			
Arg	0,31			
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	р

Аллели	Частота аллелей			
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
Gln / Gln	0,51	0,48	0,17	0,183
Gln / Arg	0,37	0,43	0,74	
Arg / Arg	0,13	0,1	0,82	
Всего	1,0	1,0	1,72	

Вместе с тем, фактическое распределение гетерозиготного генотипа Gln/Arg статистически незначимо ниже по сравнению с ожидаемой (0,4 и 0,46 соответственно; $\chi^2=0,87$; $p=0,168$) (см. табл.3.5). Относительное отклонение N_{obs} и N_{exp} оказалось отрицательным и составило $D= - 0,14$ (см. табл.4.3). Неблагоприятный гомозиготный генотип Arg/Arg, означающий сниженную активность фермента, в исследуемой группе встречался чаще, по сравнению с контрольной – 0,16 против 0,13 ($\chi^2=1,89$; $p=0,168$).

В контрольной выборке показатели наблюдаемой и ожидаемой частоты неблагоприятного гетерозиготного генотипа Gln/Arg и гомозиготного генотипа Arg/Arg достоверно не отличались. Показатели N_{obs} и N_{exp} частоты гомозиготного генотипа Gln /Gln соответствовали $N_{obs}=0.51$ и $N_{exp}=0,48$ ($\chi^2=0,12$ и $p=0,17$), гетерозиготного генотипа Gln/Arg - $N_{obs}=0,37$ против $N_{exp}=0,43$ ($\chi^2=0,74$ и $p=0,183$). Гомозиготный генотип Arg/Arg - $N_{obs}=0,13$ против $N_{exp}=0,1$ ($\chi^2=0,82$ и $p=0,183$). Относительное отклонение N_{obs} и N_{exp} в этой группе оказалось отрицательным $D= - 0,14$ (см. табл. 4.4).

Таблица 4.3

Уровень гетерозиготности полиморфного варианта Gln279Arg в гене MMP9

Исследуемые группы	n	Уровень гетерозиготности		Коэффициент отклонения D*
		N_{obs}	N_{exp}	
Основная группа	98	0,4	0,46	-0,14
Контрольная группа	87	0,37	0,43	-0,14

Это свидетельствует о менее высоких частотах выявленных фактических гетерозигот по сравнению с рассчитанными теоретически, что подтверждает и положительное значение индекса фиксации и довольно высокий уровень гетерозиготности данного локуса в исследуемых группах ($H_{exp} > 0,06$).

В контрольной группе наблюдаемые количества гетерозигот (H_{obs}) данного полиморфизма оказались одинаковыми с ожидаемыми – 0,4 и $D = -0,14$ соответственно (см. табл.4.3). Эти данные свидетельствуют о более высоких частотах выявленных фактических гетерозигот по сравнению с рассчитанными теоретически. Об этом свидетельствуют и отрицательное значение индекса фиксации ($D = -0,14$ и $D = -0,14$) и значительный уровень гетерозиготности данного локуса в исследуемых группах.

Результаты анализов, полученные в ходе данного исследования, по полиморфизму Gln279Arg в гене MMP9 являются презентабельными. Данные исследования показали, что в обеих группах отмечена гетерогенность между наблюдаемыми и ожидаемыми значениями генотипов полиморфного варианта Gln279Arg в гене MMP9. В исследуемой группе частота неблагоприятного генотипа Arg/Arg превышала его частоту контрольной группе. Частота выявления дикого Gln/Gln и неблагоприятного Gln/Arg генотипов данного локуса в исследованных выборках соответствовало ожидаемому, т.е. в обоих случаях выполняется равновесие Харди-Вайнберга.

Оценка частоты выявления аллелей и генотипов полиморфизма C936T в гене VEGFA и их влияния на угрозу возникновения хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Генетическим маркером C936T обозначается участок ДНК гена сосудистого эндотелиального фактора роста А (VEGFA), в котором происходит замена цитозина (С) в позиции 936 на тимин (Т). VEGFA - это физиологический и патологический регулятор ангиогенез, который играет ключевую роль в поддержании реактивности и целостности сосудов. Он является селективным митогеном эндотелиальных клеток, который

способствует их пролиферации, миграции и дифференцировке [136; 52–56, 111; 3239]. Изменения концентрации VEGFA могут дать объяснения клиническим симптомам заболевания и могут предрасполагать к прогрессированию ХВН [125; 29].

Распределение генотипических вариантов С936Т (rs3025039) в гене VEGFA как в контрольной группе, так и в группах исследованных пациентов достигло равновесия Харди-Вайнберга (РХВ) ($p < 0,05$). Полученные результаты показали, что С и Т аллели генетического маркера VEGFA (rs3025039) в основной группе выявлены с частотой соответственно 0,78/0,22. В контрольной группе это распределение было 0,87/0,13 соответственно (см. табл.4.4-4.5).

Таблица 4.4

Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта С936Т в гене VEGFA по РХВ в основной группе.

Аллели	Частота аллелей			
	С	0,78		
Т	0,22			
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	р
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
С/С	0,62	0,6	0,07	0,225
С/Т	0,31	0,35	0,5	
Т/Т	0,07	0,05	0,86	
Всего	1,0	1,0	1,43	

Результаты показали, что в обследованной группе больных фактическое распределение благоприятного генотипа С936Т незначимо повышено по сравнению с теоретическим (0,62 против 0,6 соответственно; $\chi^2=0,07$; $p=0,225$). Вместе с тем, наблюдаемая частота гетерозиготного генотипа С936Т статистически незначимо ниже по сравнению с ожидаемой (0,31 и 0,35 соответственно; $\chi^2=0,5$; $p=0,225$). Анализы исследования показали что, неблагоприятный гомозиготный генотип Т936Т в основной

группе был обнаружен в незначительных количествах – 0,07 против 0,05; $\chi^2=0,86$. Относительное отклонение N_{obs} и N_{exp} оказалось отрицательным и составило $D= -0,12$ (см. табл. 4.5).

В контрольной выборке показатели фактической и теоретической частоты распределения гомозиготного генотипа С936С мало отличались друг от друга и различия эти недостоверны. В контрольной выборке показатели наблюдаемой и ожидаемой частоты гомозиготного генотипа С936С соответствовали $N_{obs}=0,77$ и $N_{exp}=0,75$ ($\chi^2=0,03$ и $p=0,166$), гетерозиготного генотипа С936Т - $N_{obs}=0,2$ против $N_{exp}=0,23$ ($\chi^2=0,44$ и $p=0,166$). Гомозиготный генотип Т936Т - $N_{obs}=0,03$ против $N_{exp}=0,02$ ($\chi^2=1,44$ и $p=0,166$). Относительное отклонение N_{obs} и N_{exp} в этой группе также оказалось отрицательным: $D=- 0,15$ (см. табл. 4.6).

Эти данные свидетельствуют о более низких частотах выявленных фактических гетерозигот по сравнению с рассчитанными теоретически. Об этом свидетельствует и отрицательное значение индекса фиксации ($D= - 0.12$ и $D= -0.15$) и довольно высокий уровень гетерозиготности данного локуса в исследуемых группах ($N_{exp}>0.07$).

Таблица 4.6

Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта С936Т в гене VEGFA по РХВ в контрольной группе

Аллели	Частота аллелей			
	0,87			
Т	0,13			
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	р
	<i>Наблюдаемая</i>	<i>Ожидаемая</i>		
С/С	0,77	0,75	0,03	0,166
С/Т	0,2	0,23	0,44	
Т/Т	0,03	0,02	1,44	
Всего	1,0	1,0	1,91	

Таблица 4.7

**Уровень гетерозиготности полиморфного варианта С936Т в гене VEGFA
в основной и контрольной группах**

Исследуемые группы	n	Уровень гетерозиготности		Коэффициент отклонения D*
		H _{obs}	H _{exp}	
Основная группа	98	0,31	0,35	- 0,12
Контрольная группа	87	0,2	0,23	- 0,15

Из этого следует, что полученные популяционно-генетические данные по полиморфизму С936Т в гене VEGFA являются взаимно совокупными. В группе больных с ХВН нижних конечностей и контрольной выборке отмечена гетерогенность между фактически-наблюдаемыми и теоретически-ожидаемыми значениями генотипов полиморфного варианта С936Т в гене VEGFA. В контрольной группе частота встречаемости гетерозиготного генотипа С936Т и мутантного генотипа Т936Т превышала частоту их выявления в контрольной группе. Обнаружение генотипов данного локуса в исследованных выборках соответствовало ожидаемому и не отклонялось от равновесия Харди-Вайенберга.

Изучение влияния частотных распределений аллелей и генотипов полиморфизма G308A в гене TNF- α на трофические осложнения ХВН.

Генетическим маркером G308A обозначается участок ДНК гена TNF-α, где гуанин (G) заменяется на аденин (A) в позиции 468. TNF-α - многофункциональный провоспалительный цитокин, он участвует в патогенезе как острых, так и хронических воспалительных заболеваний, обладает способностью взаимодействовать с другими цитокинами и стимулировать секрецию интерлейкинов, хемокинов, активирует лейкоциты, усиливает продукцию других цитокинов. Исследование данного

полиморфизма позволяет выявить генетическую предрасположенность к прогрессированию воспалительных и некротических процессов [28; 523-527].

Полученные результаты показали, что у пациентов частота G и A аллелей соответственно составили: 0,9/0,1, а в контрольной группе-0,95/0,05 (см. табл.4.8-4.9). Статистический анализ распределения генотипических вариантов полиморфизма G308A в гене TNF-а показал, что для данного полиморфизма фактическое распределение генотипов в группах пациентов с тромбозами различных локализаций и контрольной группой согласуются с ожидаемыми частотами их распределения и не отклоняется от канонического равновесия Харди-Вайнберга ($p < 0.05$).

Таблица 4.8

Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта G308A в гене TNF-а по РХВ в основной группе

Аллели	Частота аллелей			
	G	0,9		
A	0,1			
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	P
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
G/G	0,8	0,81	0,01	0,253
G/A	0,2	0,18	0,23	
A/A	0	0,01	1,02	
Всего	1,0	1,0	0,03	

Как видно из таблицы 4.8, в группе больных фактическое распределение гомозиготного генотипа G/G было незначимым и одинаковым по сравнению с теоретическим (0,8 и 0,81 соответственно; $\chi^2=0,01$; $p=0,253$). Вместе с тем, наблюдаемая частота гетерозиготного генотипа G/A также было статистически незначительным и одинаковым по сравнению с ожидаемой (0,2 и 0,18 соответственно; $\chi^2=0,23$; $p=0,253$). Мутантный генотип A/A в исследованных группах обнаружен не был. В контрольной выборке

(см. табл.4.9) наблюдаемое распределение генотипов G308A в гене TNF-а согласуется с ожидаемыми частотами распределения.

Таблица 4.9

Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта G308A в гене TNF-а по РХВ в контрольной группе

Аллели	Частота аллелей			
G	0,95			
A	0,05			
Генотипы	Частота генотипов		χ^2	p
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
G/G	0,91	0,91	0,00	0,625
G/A	0,09	0,09	0,02	
A/A	0,00	0,00	0,18	
Всего	1,0	1,0	0,2	

В основной группе наблюдаемое количество гетерозигот (H_{obs}) данного полиморфизма оказалось выше, чем в контрольной (0,2 и 0,09), а относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой составили: $D=0,11$ и $D=0,05$ соответственно (см. табл. 4.10).

Таблица 4.10

Уровень гетерозиготности полиморфного варианта G308A в гене TNF-а в основной группе.

Исследуемые группы	n	Уровень гетерозиготности		Коэффициент отклонения D^*
		H_{obs}	H_{exp}	
Основная группа	98	0,2	0,18	0,11
Контрольная группа	87	0,09	0,09	0,05

Эти данные свидетельствуют о равных частотах выявленных фактических гетерозигот по сравнению с рассчитанными, о чём

свидетельствуют и отрицательное значение индекса фиксации и довольно высокий уровень гетерозиготности данного локуса в контрольной группе ($H_{\text{exp}} > 0.1$).

Полученные результаты статистических данных по полиморфному варианту G308A в гене TNF-а являются репрезентативными. У обследованных пациентов выявлена гетерогенность между фактически-наблюдаемыми и теоретически-ожидаемыми значениями генотипов полиморфного варианта G308A в гене TNF-а. Распределение предкового G/G и неблагоприятного G/A генотипов данного локуса в исследованных выборках соответствовало ожидаемому, т.е. в обоих случаях выполняется равновесие Харди-Вайнберга.

§4.2. Анализ ассоциативной связи полиморфизма генов матричных металлопротеиназ, фактора роста эндотелия сосудов и цитокина фактора некроза опухоли - α с генетической предрасположенностью к формированию и прогрессии хронической венозной недостаточностью нижних конечностей

Ассоциативная связь между полиморфизмом Gln279Arg в гене MMP9 в исследуемых группах и их роль в риске развития хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Ген матричной металлопротеиназы – 9 (MMP9) расположен на длинном плече хромосомы 20 в локусе 20q13.12. Полиморфизм Gln279Arg - это однонуклеотидная замена глутамина на аргенин в промоторной области гена MMP9. MMP9 влияет на эндотелий, гладкомышечные и внеклеточные матриксные белки стенки вены [41;419–430, 49;380–393]. MMP9, ответственен за деградацию волокон денатурированного коллагена также базальной мембраны и других структурных компонентов внеклеточного матрикса в стенке вены при патологических состояниях [100; 1645-1657]. MMP9 присутствует в больших количествах в гранулах нейтрофилов. Он

играет основную роль в притоке лейкоцитов к очагу инфекции или поврежденной ткани при воспалительных процессах [42;198-200].

Для оценки коррелятивной связи аллелей и генотипов полиморфизма Gln279Arg в гене MMP9 с риском развития ХВН нижних конечностей использовали критерий χ^2 . В основной группе пациентов и контроля доля дикого Gln аллеля составила 63,8% и 69% соответственно (см. табл.4.11). А мутантный аллель Arg у больных с ХВН нижних конечностей был выявлен соответственно в 36,2% против 31% случаях.

Таблица 4.11

Распределение аллелей и генотипов полиморфизма Gln279Arg в гене ММП 9 в основной и контрольной группах

№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		Gln		Arg		Gln/ Gln		Gln/ Arg		Arg/ Arg	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Основная группа n = 98	125	63,8	71	36,2	43	43,9	39	39,8	16	16,3
1.1	ХВН С3-С4 n = 45	59	65,6	31	34,4	21	46,6	17	37,8	7	15,6
1.2	ХВН С5-С6 n = 53	66	62,3	40	37,8	22	41,5	22	41,5	9	17
2	Контрольная группа n = 87	120	69	54	31	44	50,6	32	36,8	11	12,6

При статистической обработке анализов было выявлено снижение частоты носительства положительного аллеля Gln и увеличение числа «мутантного» аллеля Arg в гене MMP9 (Gln279Arg) у больных в основной группе по сравнению с контрольной группой.

Присутствие мажорного аллеля Gln, отсутствует шанс обнаружения ХВН ($\chi^2=1,1$; P=0,3; OR=0,8; 95%CI: 0,51 - 1,22). По сравнению с контролем,

в основной группе больных выявлена тенденция к увеличению содержания неблагоприятного аллеля Arg в гене MMP9 ($\chi^2=1,1$; $p=0,3$; OR=1,3; 95%CI:0,82-1,95), что представляет собой риск развития ХВН. При наличии неблагоприятного аллеля Arg, шанс формирования ХВН повышается на 1,3 раза по сравнению с группой контроля (табл. 4.12).

Обнаружено незначимое уменьшение частоты распределение благоприятного гомозиготного генотипа Gln/Gln в основной группе по сравнению с группой контроля (43,9% против 50,6% соответственно при $\chi^2=0,9$; OR=0,8; 95% CI:0,43-1,36; $p=0,4$). (табл.3.14)

Таблица 4.12

Ассоциативная связь между полиморфизмом Gln279Arg в гене MMP9 в группах пациентов и контроля

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие в отношении контрольной группы					
		Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
		RR	95% CI:	OR	95% CI:		
Основная группа (n=98)	Gln	0,9	0,63 – 1,36	0,8	0,51 - 1,22	1,1	0,3
	Arg	1,1	0,68 – 1,72	1,3	0,82 - 1,95		
	Gln/ Gln	0,9	0,51 - 1,49	0,8	0,43 - 1,36	0,8	0,4
	Gln/ Arg	1,1	0,63 - 1,86	1,1	0,63 - 2,06	0,2	0,7
	Arg/ Arg	1,3	0,65 - 2,55	1,3	0,59 - 3,08	0,5	0,5
ХВН С3-С4 n = 45	Gln	1,0	0,48 – 1,89	0,9	0,5 - 1,47	0,3	0,6
	Arg	1,1	0,72 – 1,53				
	Gln/ Gln	0,9	0,36 – 2,35	0,9	0,42 - 1,76	0,2	0,7
	Gln/ Arg	1,0	0,39 – 2,67	1,0	0,5 - 2,2	0,0	0,95
	Arg/ Arg	1,2	0,35 – 4,27	1,3	0,46 - 3,54	0,2	0,7
ХВН С5-С6 n = 53	Gln	0,9	0,5 – 1,64	0,7	0,45 - 1,23	1,3	0,3
	Arg	1,1	0,74 – 1,65				
	Gln/ Gln	0,8	0,35 – 1,92	0,7	0,35 - 1,38	1,1	0,3
	Gln/ Arg	1,1	0,49 - 2,61	1,2	0,61 - 2,45	0,3	0,6
	Arg/ Arg	1,3	0,47 – 3,86	1,4	0,54 - 3,67	0,5	0,5

Анализы расчётов показали, что частота неблагоприятного гетерозиготного генотипа Gln/Arg была незначительно выше среди исследуемых пациентов по сравнению с контрольной группой (39,8% против 36,8% соответственно, при $\chi^2=0,2$; OR=1,1; 95%CI:0,63-2,06; p=0,7). Это указывает на отсутствие корреляции шанса выявления ХВН.

Расчитанный коэффициент отношения шансов показал, что в основной группе больных выявлена тенденция к увеличению доли мутантного гомозиготного генотипа Arg/Arg в гене MMP9 ($\chi^2=0,5$; p=0,5; OR=1,3; 95%CI:0,59-3,08). При наличии мутантного гомозиготного генотипа Arg279Arg в гене MMP9 в основной группе больных шанс выявления и прогрессии ХВН в 1,3 раза выше, чем в группе контроля (рис. 4.1).

Оценка уровня ассоциированности полиморфизма Gln279Arg в гене MMP9 у больных с ХВН С3-С4 и контроля показала, что доля аллелей Gln и Arg в сравниваемых группах несколько отличалась друг от друга и составила 65,6% и 34,4% против 69,0% и 31,0% соответственно. При статистической обработке данных выявлено незначительное уменьшение частоты мажорного аллеля Gln и незначимое увеличение минорного аллеля Arg у больных с ХВН С3-С4 по сравнению с условно-здоровыми лицами.

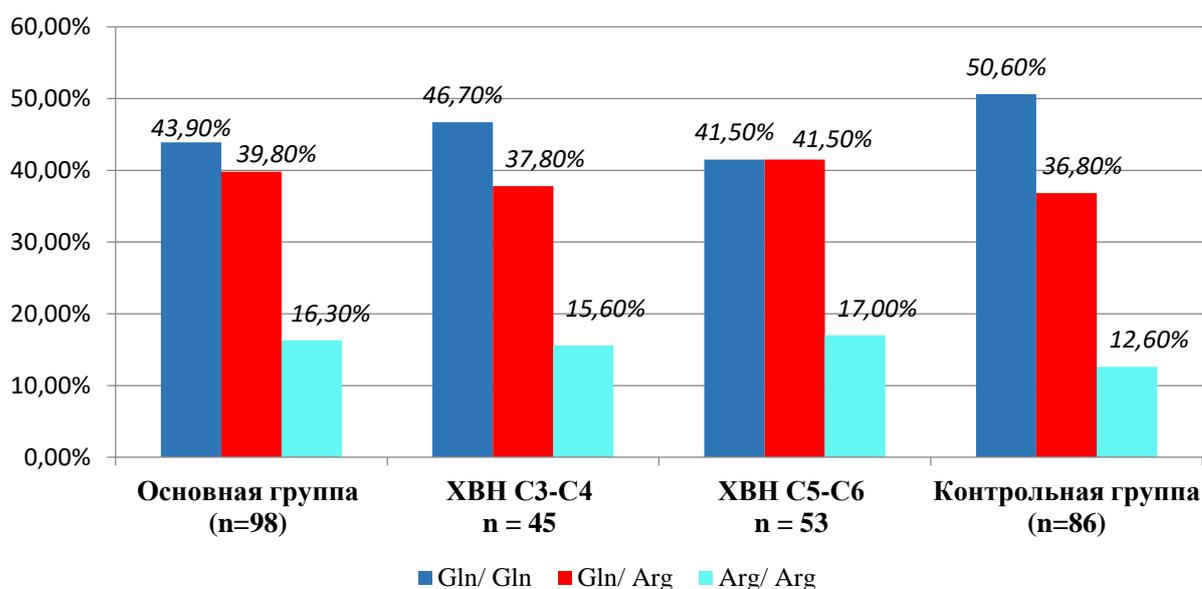


Рис. 4.1. Распределение генотипов полиморфизма Gln279Arg в гене MMP9 в основной выборке пациентов (n=98) и в контрольной группе (n=86).

Рассчитанный коэффициент отношения шансов показал, что обнаружение дикого аллеля Gln и не благоприятного аллеля Arg у больных не повышал риск развития ХВН по сравнению с представителями контрольной группы ($\chi^2=0,3$; $P=0,6$; $OR=0,9$; $95\%CI:0,5-1,47$ и $\chi^2=0,3$; $P=0,6$; $OR=1,2$; $95\%CI:0,68-2,0$). Частоты Gln/Gln, Gln/Arg, Arg /Arg генотипов Gln279Arg в гене MMP9 в исследованных группах пациентов с С3-С4 и контроля составили: 46,7%, 37,8% и 15,6% против 50,6%, 36,8% и 12,6%, соответственно. Как видно, частота дикого генотипа Gln/Gln среди пациентов с ХВН С3-С4 оказалась незначимо ниже, чем в контрольной группе (46,7% и 50,6% соответственно, при $\chi^2=0,2$; $P=0,7$; $OR=0,9$; $95\%CI:0,42-1,76$). Выявлено незначимое увеличение количества гетерозиготного генотипа Gln/Arg (37,8% против 36,8%, при $\chi^2=0,0$; $P=0,95$; $OR=1,0$; $95\%CI:0,5-2,2$) в исследуемой группе. Это означает, что у носителей данного генотипа отсутствует риск в отношении формирования ХВН С3-С4. Анализы расчетов показали, неблагоприятный маркер Arg/Arg был незначимо выше, в чем контрольной группе. В ходе исследования было выявлено, что в основной группе при обнаружении маркера Arg /Arg, риск развития ХВН С3-С4 возрастал в 1.3 раза больше, чем в группе контроля (15,6% против 12,6%, при $\chi^2=0,2$; $P=0,7$; $OR=1,3$; $95\%CI:0,46-3,54$).

Оценка уровня ассоциированности полиморфизма с ХВН С5-С6 и в группе контроля частота дикого Gln аллеля составила 62,3% против 69,0%. А доля мутантного Arg аллеля составила 37,7% и 31,0% соответственно. Результаты исследования показали незначимое уменьшение частоты благоприятного аллеля Gln (при $\chi^2=1,3$; $P=0,3$; $OR=0,7$; $95\%CI:0,45-1,64$) и обнаружена тенденция к увеличению доли мутантного аллеля Arg у больных с ХВН С5-С6 по сравнению с условно-здоровыми донорами (при $\chi^2=1,3$; $P=0,3$; $OR=1,3$; $95\%CI:0,81-2,24$). При выявлении неблагоприятного маркера Arg риск развития ХВН С5-С6 увеличивался в 1,3 раза. В подгруппе с больными ХВН С5-С6 и в группе контроля распределение Gln/Gln, Gln/Arg, Arg /Arg генотипов Gln279Arg в гене MMP9 составили: 41,5%, 41,5% и 17,0%

против 50,6%, 36,8% и 12,6% соответственно. Данные исследования показали незначимое уменьшение доли дикого генотипа Gln/Gln 41,5% против 50,6% по сравнению с группой контроля (при $\chi^2=1,1$; $P=0,3$; $OR=0,7$; 95% CI: 0,35–1,38). Обнаружена тенденция к увеличению частоты неблагоприятного маркера Gln/Arg ($\chi^2=0,3$; $P=0,6$; $OR=1,2$; 95% CI: 0,90–4,65) в подгруппе пациентов с ХВН С5-С6 по сравнению с контрольной группой. При обнаружении неблагоприятного маркера Gln/Arg риск развития ХВН С5-С6 увеличивался в 1,2 раза и это свидетельствует, что при носительстве неблагоприятного гетерозиготного маркера Gln/Arg риск развития тяжелых форм ХВН С5-С6 умеренно возрастает.

Обнаружено незначимое увеличение мутантного маркера Arg /Arg ($\chi^2=0,5$; $P=0,5$; $OR=1,4$; 95% CI: 0,47–3,86) в подгруппе пациентов с ХВН С5-С6 по сравнению с контрольной группой. При носительстве мутантного генотипа Arg /Arg риск формирования ХВН С5-С6 возрастал в 1,4 раза.

Как показывает оценка ассоциативной связи между полиморфизмом Gln279Arg в гене MMP9 в исследуемых группах рассчитанный относительный риск развития ХВН отсутствовал при выявлении генотипов Gln/Gln, таким образом он имеет защитную функцию в предупреждение развития тяжелых форм ХВН нижних конечностей. Наличие неблагоприятного аллеля Arg, повышает шанс формирования ХВН в 1,3 раза, по сравнению с группой контроля. При обнаружении гетерозиготного генотипа Gln/Arg у больных с ХВН С5-С6 и дикого генотипа Arg /Arg у больных в исследуемых группах с ХВН С3-С4 и ХВН С5-С6 риск развития и прогрессии ХВН нижних конечностей возрастал, из-за усугубления процесса ремоделирования венозной стенки и нарастания клапанной недостаточности.

Оценка вклада генетического полиморфизма С936Т в гене VEGFA на риск развития хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Ген фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) располагается на коротком плече 6-й хромосомы (6p21.3) и состоит из 8 экзонов,

разделенных 7 интронами [118; 142-148]. Однонуклеотидный полиморфизм С936Т, находящийся в 3' нетранслируемой области (3'UTR) указанного гена считается наиболее клинически значимым. VEGFA участвует в процессах, направленных на поддержании структуры стенки вен. Повышение уровня VEGFA ведет к активизации активности синтазы NO, что повреждает структурную целостность венозной стенки. Это происходит из-за её повреждения свободными радикалами O₂, так же снижается тонус венозных сосудов, что предрасполагает к развитию венозной недостаточности. [42; 419–430, 70; 2869–2880].

Полученные результаты детекции полиморфизма С936Т в гене фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) указывают на наличие вклада неблагоприятного аллеля Т и связанного с ним гетерозиготного генотипа С/Т и неблагоприятного гомозиготного генотипа Т/Т в формирование и прогрессии ХВН нижних конечностей.

У исследуемых больных распределение аллелей С и Т генетического маркера VEGFA (С936Т) составила 77,6% и 22,4% (см. табл.4.13). Частота этих аллелей в группе контроля соответствовала 86,8% и 13,2%. При статистической обработке данных, обнаружено уменьшение частоты дикого аллеля С, это говорит о положительном защитном эффекте этого генотипа в отношении формирования ХВН (OR=0,5; 95% CI:0,3–0,91, $\chi^2=5,3$; P=0,025).

Таблица 4.13

Носительство аллелей и генотипов полиморфизма С936Т в гене фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) в основной и контрольной группах.

№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		С		Т		С/С		С/Т		Т/Т	
		п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
1	Исследуемая группа из них: n=98	152	77,6	44	22,4	61	62,3	30	30,6	7	7,1
1.1	ХВН (С3-С4) n=45	67	74,4	23	25,6	26	57,8	15	33,3	4	8,9

№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		С		Т		С/С		С/Т		Т/Т	
		п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
1.2	ХВН (С5-С6) n=53	85	80,2	21	19,8	35	66,0	15	28,3	3	5,7
2	Контрольная группа: n=87	151	86,8	23	13,2	67	77,0	17	19,5	3	3,5

Таким образом анализы расчётов показывает значительное увеличение неблагоприятного аллеля Т у больных с ХВН нижних конечностей по сравнению условно-здоровыми донорами. Статистически рассчитанный ОР показал, что шанс обнаружения неблагоприятного аллеля Т у пациентов с ХВН значительно повышал риск развития патологии в 1,9 раза по сравнению с контрольной группы (OR=1,9; 95% CI:1,1-3,28, $\chi^2=5,3$; P=0,025).

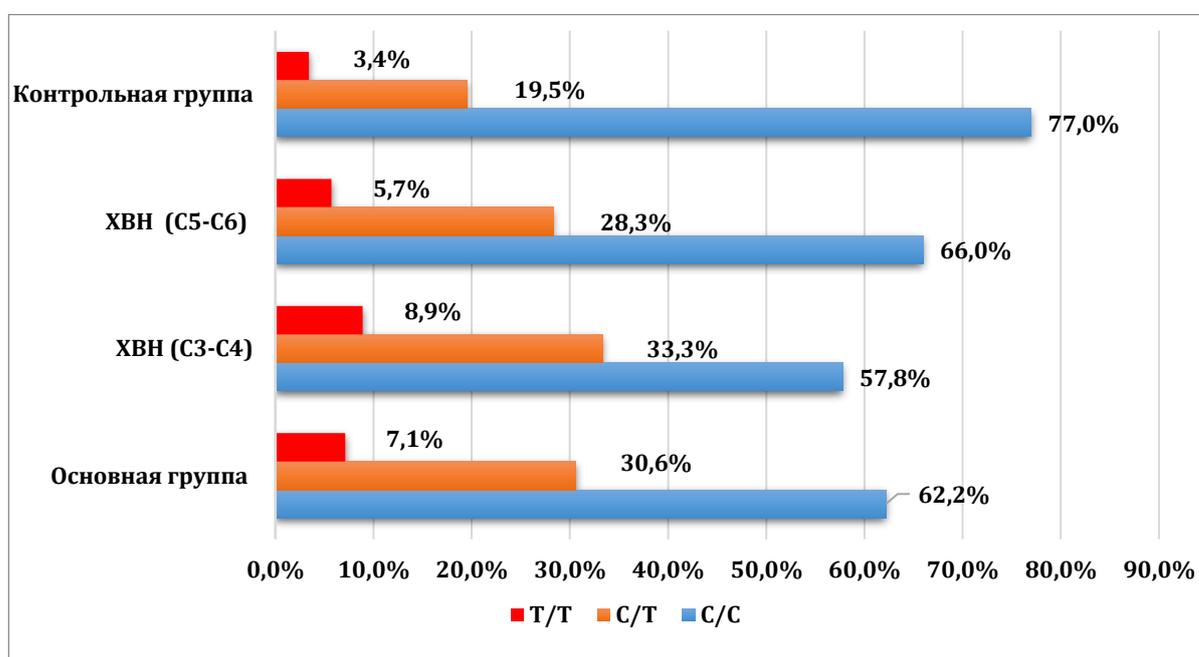


Рис.4.2. Распределение генотипов полиморфизма C936T в гене VEGFA в основной выборке пациентов (n=98) и в контрольной группе (n=87).

Обнаружено, что частота предкового генотипа С/С среди пациентов с ХВН нижних конечностей оказалась значительно ниже, чем в группе контроля (см. рис.3.2). Это говорит о возможном защитном эффекте данного

генотипа в отношении формирования ХВН (62,2% и 77,0% соответственно, при OR=0,5; 95% CI:0,26-0,93, $\chi^2=4,7$; P=0,05) (см. табл.4.14). Также обнаружено увеличение частоты «неблагоприятного» генотипа С/Т среди больных по сравнению с группой контроля (30,6% и 19,5% соответственно). При наличии данного генотипа риск развития ХВН увеличивается в 1,8 раз ($\chi^2=3,0$; P=0,1; OR=1,8; 95% CI:0,92-3,58). Выявлена тенденция к увеличению количества мутантного маркера Т/Т в основной группе (7,1% и 3,4% соответственно, при $\chi^2=1,2$; P=0,3; OR=2,2; 95% CI:0,56-8,36), что свидетельствует о небольшом риске развития данной патологии.

На следующем этапе нашей работы была изучена коррелятивная связь между обнаружением полиморфизма С936Т в гене фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) с развитием и прогрессией ХВН у пациентов различной степени тяжести в отдельности

Таблица 4.14

Ассоциативная связь между полиморфизма С936Т в гене фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) в группах пациентов и контроля.

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие в отношении контрольной группы					
		Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
		RR	95% CI:	OR	95% CI:		
Основная группа (n=98)	С	0,9	0,6 – 1,34	0,5	0,3 – 0,91	5,3	0,025
	Т	1,1	0,56 – 2,22	1,9	1,1 – 3,28		
	С/С	0,8	0,48 – 1,35	0,5	0,26 – 0,93	4,7	0,05
	С/Т	1,6	1,92 – 2,68	1,8	0,92 – 3,58	3,0	0,1
	Т/Т	2,1	0,89 – 4,81	2,2	0,56 – 8,36	1,2	0,3
ХВН (С3-С4) n=45	С	0,9	0,43 – 1,71	0,4	0,23 – 0,84	6,3	0,025
	Т	1,2	0,64 – 2,11	2,3	1,19 – 4,26		
	С/С	0,8	0,31 – 1,84	0,4	0,19 – 0,88	5,3	0,025

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие в отношении контрольной группы					
		Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
		RR	95% CI:	OR	95% CI:		
	C/T	1,7	0,67 – 4,33	2,1	0,92 – 4,62	3,1	0,1
	T/T	2,6	0,67 – 9,94	2,7	0,62 – 12,12	1,7	0,2
ХВН (C5-C6) n=53	C	0,9	0,46 – 1,85	0,6	0,32 – 1,17	2,2	0,2
	T	1,1	0,6 – 1,94	1,6	0,85 – 3,09		
	C/C	0,9	0,37 – 1,99	0,6	0,27 – 1,23	2,0	0,2
	C/T	1,4	0,6 – 3,49	1,6	0,73 – 3,6	1,4	0,3
	T/T	1,6	0,32 – 8,34	1,7	0,33 – 8,51	0,4	0,6

У больных с ХВН (C3-C4) и контроля доля C и T аллелей составила 74,4% и 25,6% против 86,8% и 13,2% соответственно. При статистической обработке несмотря на значимые различия, выявлено уменьшение частоты дикого аллеля C (с высокими отношениями шансов) и обнаружено значительное увеличение неблагоприятного аллеля T у больных с ХВН (C3-C4) по сравнению условно-здоровыми донорами. Определенный коэффициент OR показал, что выявление неблагоприятного аллеля T у респондентов с ХВН (C3-C4) повышал риск развития данной патологии в 2,3 раза ($\chi^2=6,3$; $P=0,025$; $OR=2,3$; $95\%CI:1,19-4,26$). Результаты анализов показали, что при наличии благоприятного аллеля C у респондентов наблюдался защитный эффект против развития ХВН нижних конечностей ($\chi^2=6,3$; $P=0,025$; $OR=0,4$; $95\%CI:0,23-0,84$).

Частота дикого генотипа C/C у пациентов с ХВН (C3-C4) и контроля составили 57.8% против 77.0% соответственно. Как видно, частота дикого генотипа C/C среди пациентов с ХВН (C3-C4) оказалась значимо ниже, чем в контрольной группе ($\chi^2=5,3$; $P=0,025$; $OR=0,4$; $95\%CI:0,19-0,88$). Это говорит о защитном эффекте данного генотипа в отношении развития ХВН. Детекция обнаружения гетерозиготного генотипа C/T у данной категории больных

была 33,3% против 19,5% в контрольной группе при $\chi^2=3,1$; $P=0,01$; $OR=2,1$; $95\%CI:0,92-4,62$. Это значимо повышает риск развития ХВН (С3-С4) в 2,1 раза. Выявлена тенденция к увеличению количества неблагоприятного генотипа Т/Т у этих пациентов, что свидетельствует о влиянии данного генотипа в отношении развития ХВН (С3-С4) (8,9% против 3,4% при $\chi^2=1,7$; $P=0,2$; $OR=2,7$; $95\%CI:0,62-12,12$).

При анализе расчётов распределения аллелей С и Т полиморфного маркера С936Т в гене VEGFA у больных с ХВН (С5-С6) и в группе контроля выявлены статистически незначимые различия в частоте встречаемости нормального аллеля С (80,2% и 86,8 % соответственно, при $\chi^2=2,2$; $P=0,2$; $OR=0,6$; $95\%CI:0,32-1,17$). Выявлена тенденция к увеличению количества мутантного аллеля Т среди больных с ХВН по сравнению с контрольной группой (19,8% и 13,2% соответственно). Это говорит о том, что при выявлении данного аллеля риск прогрессирования ХВН нижних конечностей увеличивается в 1.6 раза ($\chi^2=2,2$; $P=0,2$; $OR=1,6$; $95\%CI:0,85-3,09$).

Частоты обнаружения дикого гомозиготного генотипа С/С у пациентов с ХВН (С5-С6) и контроля составили: 66,0% и 77,0% соответственно. Как видно, носительство благоприятного генотипа С/С среди больных с ХВН (С5-С6) было незначимо ниже, чем в контрольной группе ($\chi^2=2,0$; $P=0,2$; $OR=0,6$; $95\%CI:0,27-1,23$). Частота обнаружения неблагоприятного гетерозиготного генотипа С/Т у больных с ХВН (С5-С6) была несколько выше, чем контрольной группе (28,3% против 19,5% при $\chi^2=1,4$; $P=0,3$; $OR=1,6$; $95\%CI:0,73-3,6$). Это показывает что, при наличии данного маркера риск развития ХВН (С3-С4) увеличивается в 1,6 раза.

Выявлена слабая тенденция к увеличению количества неблагоприятного генотипа Т/Т в группе больных, что свидетельствует о влиянии данного генотипа в отношении развития ХВН (С5-С6) и это означает, что риск прогрессирования ХВН нижних конечностей и ее переход

в ХВН (С5-С6) при наличии данного генотипа увеличивается в 1,7 раза (5,7% против 3,4% соответственно, при $\chi^2=0,4$; P=0,6; OR=1,7; 95% CI:0,33–8,51).

Таким образом, рассчитанный относительный риск развития ХВН (С3-С4), также как и ХВН (С5-С6) возрастал при обнаружении минорного аллеля Т и генотипов С/Т и Т/Т, что показывает оценка ассоциативной связи между полиморфизмом С936Т в гене фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) в группах пациентов и контроля. Причиной тому служило то, что при выявлении гетерозиготной формы полиморфизма и детекции мутантного варианта полиморфизма происходит снижение активности фермента VEGFA, что является пусковым механизмом к возникновению эндотелиальной дисфункции и сосудистым нарушениям, что повышало угрозу развития и прогрессирования ХВН нижних конечностей.

Особенности ассоциативной связи между полиморфизмом G308A в гене TNF - α и развитием ХВН

В данном исследовании мы проводили анализ генетического маркера гена фактора некроза опухоли TNF - α . Ген цитокина TNF - α расположен на коротком плече 6 хромосомы в локусе 6p21.3. Однонуклеотидный полиморфизм 4682 A>G представляет собой замену гуанина на аденин в позиции 4682. TNF - α оказывает так же влияние на выработку NO –синтазы запускает процесс воспаления через образование активных форм кислорода, уменьшая при этом биодоступность оксида азота, что в свою очередь приводит к развитию эндотелиальной дисфункции. [84; 649–661, 155; 515–26].

Результаты детекции локуса G308A в гене фактора некроза опухоли - α (TNF - α) показали, что наличие неблагоприятного аллеля А и связанного с ним генотипа G/A оказывают влияние на формирование и прогрессию хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

Частоты, как аллелей, так и генотипов G308A в гене TNF - α представлены в виде абсолютных чисел и процентов. Соответственно,

различия между группами оценивали с помощью критерия χ^2 . Более того, чтобы количественно оценить влияние каждого варианта на риск заболевания, были рассчитаны одномерные отношения шансов (OR) с соответствующими 95% доверительными интервалами (95% CI). В исследованных групп пациентов и контроля доля G и A аллелей составила 89,8% и 10,2% против 95,4% и 4,6% соответственно (см. табл.4.15).

Таблица 4.15

Носительство аллелей и генотипов полиморфизма G308A в гене фактора некроза опухоли - α (TNF - α) в исследуемой и контрольной группах

№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		G		A		G/G		G/A		A/A	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1	Исследуемая группа n=98 из них:	176	89,8	20	10,2	78	79,6	17	20,4	0	0
1.1	ХВН (С3-С4) n=45	81	90	9	10	36	80	9	20	0	0
1.2	ХВН (С5-С6) n=53	95	89,6	11	10,4	42	79,3	11	20,8	0	0
2	Контрольная Группа n=87	166	95,4	8	4,6	79	90,8	8	9,2	0	0

При статистической обработке выявлено незначительное уменьшение частоты дикого аллеля G ($\chi^2=4.1$; P=0.05; OR=0.4; 95%CI:0.19–0.97) и обнаружена тенденция к увеличению мутантного аллеля A у больных с ХВН по сравнению условно-здоровыми лицами. Вычисление OR показало, что частота обнаружения «неблагоприятного» аллеля A у больных увеличивался в 2.4 раза по сравнению с контрольной группой (OR=2.4; 95%CI:1.03–5.39, $\chi^2=4.1$; P=0.05) (см. табл.4.15). Как видно (см. рис.4.3), дикий генотип G/G в исследуемой группе обнаружен незначительно меньше по сравнению с группой контроля ($\chi^2=4.5$; P=0.4; OR=0.4; 95%CI:0.17–0.96). Не выявлено

наличие неблагоприятного генотипа А/А среди пациентов с ХВН нижних конечностей и в группе контроля.

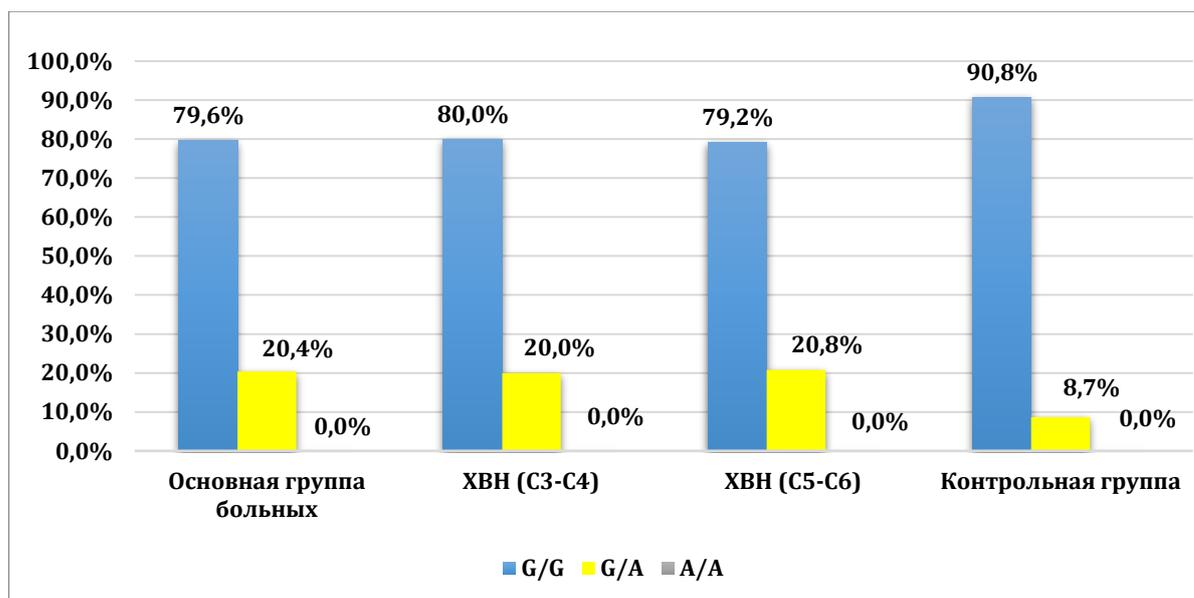


Рис.4.3. Распределение генотипов полиморфизма G308A в гене фактора некроза опухоли - α (TNF - α) в выборке пациентов (n=98) и в контрольной группе (n=87)

Это означает об отсутствии ассоциации данных генотипов (G/G, A/A) в отношении формирования и прогрессии ХВН. Одновременно обнаружена тенденция к повышению доли носителей неблагоприятного генотипа G/A среди исследуемой группы по сравнению с группой контроля (20,4% и 9,2% соответственно). При наличии данного генотипа риск развития сосудистых тромбозов увеличивается в 2,5 раза ($\chi^2=4,5$; $P=0,05$; $OR=2,5$; $95\%CI:1,28-3,86$) (см. табл.4.16).

При сравнительном анализе полиморфизма G308A в гене TNF - α в подгруппах пациентов с хронической венозной недостаточностью получены следующие результаты.

При статистической обработке выявлено достоверное уменьшение частоты благоприятного аллеля G в исследуемой группе пациентов с ХВН (С3-С4) (90% против 95,4% в контрольной группе при $\chi^2=2,9$; $P=0,1$; $OR=0,4$; $95\%CI:0,17-1,14$). При наличии данного аллеля риск развития хронической венозной недостаточности отсутствует, соответственно наличие дикого аллеля G свидетельствует о возможном защитном эффекте в отношении

формирования хронической венозной недостаточности. Выявлено значимое увеличение доминирующего, мутантного аллеля А у больных с ХВН (С3-С4) по сравнению условно-здоровыми лицами (10% против 4,6%). Рассчитанный коэффициент OR показал, что вероятность обнаружения функционального неблагоприятного аллеля А у пациентов с ХВН (С3-С4) повышалась в 2,3 раза по сравнению с представителями группы контроля ($\chi^2=2,9$; $P=0,1$; $OR=2,3$; 95% CI:0,88–6,06).

Таблица 4.16

Ассоциативная связь между полиморфизмом G308A в гене фактора некроза опухоли - α (TNF - α) в группах пациентов и контроля.

Исследуемые группы	Аллели и генотипы	Статистическое различие в отношении контрольной группы					
		Relative risk		Odds ratio		χ^2	p-value
		RR	95% CI:	OR	95% CI:		
Основная группа (n=98)	G	0,9	0,57 – 1,55	0,4	0,19 – 0,97	4,1	0,05
	A	1,1	0,33 – 3,41	2,4	1,33 – 3,41		
	G/G	0,9	0,54 – 1,52	0,4	0,17 – 0,93	4,5	0,05
	G/A	2,2	1,28 – 3,86	2,5	1,07 – 5,97	4,5	0,05
ХВН (С3-С4) n=45	G	0,9	0,37 – 2,43	0,4	0,17 – 1,14	2,9	0,1
	A	1,1	0,39 – 2,89	2,3	0,88 – 6,06		
	G/G	0,9	0,32 – 2,46	0,4	0,15 – 1,11	3,1	0,1
	G/A	2,2	0,78 – 6,07	2,5	0,9 – 6,77	3,1	0,1
ХВН (С5-С6) n=53	G	0,9	0,42 – 2,12	0,4	0,17 – 1,05	3,5	0,1
	A	1,1	0,37 – 3,04	2,4	0,96 – 6,04		
	G/G	0,9	0,36 – 2,13	0,4	0,15 – 1,01	3,8	0,1
	G/A	2,3	0,93 – 5,5	2,6	0,99 – 6,76	3,8	0,1

Как следует из приведённых данных, частоты G/G, G/A генотипов G308A в гене TNF - α в исследованных группах пациентов с ХВН (С3-С4) и контроля составили: 80,0%, 20,0% против 90,8% и 9,2%, соответственно. Как

видно, частота дикого генотипа G/G среди пациентов с ХВН (С3-С4) оказались в незначимых количествах, чем в группе контроля ($\chi^2=3,1$; $P=0,1$; $OR=0,9$; $95\%CI:0,32-2,46$). Выявлена тенденция к увеличению количества гетерозиготного генотипа G/A у пациентов с ХВН (С3-С4) (20,0% против 9,2% при $\chi^2=3,1$; $P=0,1$; $OR=2,5$; $95\%CI:0,9-6,77$). Рассчитанный относительный риск развития ХВН (С3-С4) при наличии неблагоприятного маркера G/Аповышается в 2,5 раза.

Расчеты анализов показали, что у больных с ХВН (С5-С6) дикий аллель G (89,6% против 95,4%) и благоприятный генотип G/G (79,2% против 90,8%), были обнаружены в незначительных количествах (при $\chi^2=3,5$; $P=0,1$; $OR=0,4$; $95\%CI:0,17-1,05$ и $\chi^2=3,8$; $P=0,1$; $OR=0,45$; $95\%CI:0,15-1,01$).

Выявлена тенденция к увеличению количества неблагоприятного аллеля А (10,4% против 4,6%) и неблагоприятного генотипа G/A (20,8% против 9,2%) у пациентов с ХВН (С5-С6) (при $\chi^2=3,5$; $P=0,1$; $OR=2,4$; $95\%CI:0,96-6,04$ и $\chi^2=3,8$; $P=0,1$; $OR=2,6$; $95\%CI:0,99-6,76$) (см. табл.3.18). Рассчитанный относительный риск прогрессирования ХВН при наличии неблагоприятного аллеля А повышается в 2,4 раза, а также при обнаружении неблагоприятного маркера G/A гена TNF - α повышается в 2,6 раза.

В ходе исследования в подгруппе больных с ХВН (С3-С4) и ХВН (С5-С6) генотип А/А не был обнаружен. Это может объясняться небольшой выборкой в данной популяции. Таким образом, у пациентов с ХВН выявление неблагоприятного аллеля А и связанного с ним неблагоприятного генотипа G/A гена TNF - α ассоциировалось с риском развития и прогрессирования хронической венозной недостаточности как следствие прогрессирования воспалительного процесса и трофических изменений в тканях нижних конечностей.

Способность регулярно выявлять наследственную генетическую предрасположенность к хронической венозной недостаточности может значительно способствовать раннему прогнозированию и сделать возможным раннее вмешательство и предотвращение прогрессии ХВН.

Молекулярная диагностика и профилактика ХВН нижних конечностей принесут большую пользу, если будет лучше изучен относительный вклад каждого связанного с эндотелиальной дисфункцией и ремоделированием венозной стенки полиморфизма ДНК в развитие и прогрессирование венозной патологии.

Исходя из выше изложенного, нами определены основные критерии прогнозирования риска развития хронической венозной недостаточностью нижних конечностей. В основу их заложены полученные данные проведённого нами исследования частоты выявления полиморфизмов и неблагоприятных генотипов генов матриксной металлопротеиназы MMP9, эндотелиального фактора роста сосудов VEGFA а также провоспалительного цитокина TNF - α

При обнаружении гетерозиготного генотипа Gln/Arg гена MMP9(Gln279Arg) у больных с ХВН C5-C6 и дикого генотипа Arg /Arg гена MMP9(Gln279Arg) у больных с ХВН C3-C4 в исследуемых группах риск развития и прогрессии ХВН возрастал, из-за усугубления процесса ремоделирования венозной стенки и нарастания клапанной недостаточности.

Рассчитанный относительный риск развития ХВН (C3-C4), также как и ХВН (C5-C6) возрастал при обнаружении минорного аллеля T и генотипов C/T и T/T гена VEGFA (C936T). Причиной тому служило то, что при выявлении гетерозиготной формы полиморфизма происходило повышение активности фермента, а при детекции мутантного варианта полиморфизма – значительное повышение активности фермента VEGFA и как следствие формирование эндотелиальной дисфункции, что повышало угрозу развития и прогрессирования хронической венозной недостаточности.

У больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей выявление неблагоприятного аллеля A и связанного с ним неблагоприятного генотипа G/A гена TNF – α (G308A) ассоциировалось с риском развития и прогрессии ХВН как следствие прогрессирования

воспалительного процесса и трофических изменениях в тканях нижних конечностей.

Для установления у пациентов наследственной предрасположенности риска развития и прогрессии ХВН рекомендуются проведение молекулярно-генетического исследования по выше указанным маркерам, что является патогенетически обоснованным и достоверным.

Определённые по результатам исследования критерии определения риска развития и прогрессии ХВН, служат для разработки персонализированных методов профилактики этой патологии и определения индивидуализированного комплекса лечебных мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При работе над данной монографией была поставлена цель изучения вопросов, связанных с изучением патогенеза ХВН, являющейся одним из самых распространенных сосудистых заболеваний современности.

ХВН это патологический процесс, обусловленный морфо-функциональными изменениями в венозной системе конечностей, который проявляется развитием отека, изменениями со стороны кожи и подкожной клетчатки, венозными трофическими язвами [102; с. 1669]. ХВН является одним из наиболее распространенных состояний в повседневной врачебной практике [130; с. 358-366, 151; с. 99-104].

ХВН представляет собой инвалидизирующее заболевание, распространенность которого составляет 10-20% у мужчин и 25-40% у женщин [13; с. 15-30]. «Количество больных с хроническими заболеваниями вен только постоянно увеличивается, и отмечается резкое омоложение контингента пациентов» [13; с. 15-30,167; с. 752-758]. Однако, в настоящее время медицина не владеет эффективными методами и средствами ранней профилактики ХВН, а «несвоевременная диагностика и лечение приводят к большому числу запущенных форм в пожилом возрасте» [26; с.69-74, 7; с. 74-79].

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении влияний различных молекулярно-генетических факторов на развитие ХВН, продолжение исследование генетической составляющей данной патологии в различных популяциях и регионах продолжает оставаться актуальной темой [34; 94-98]. Учитывая многофакторность этапов патогенеза ХВН, понимание важности генетических факторов и влияния окружающей среды, которые способствуют развитию ХВН и ее осложнениям, согласно Raffetto J.D., ограничено [122; 3-17]. Известные и научно-доказательные факторы риска развития ХВН включают пожилой возраст, тромбоз и тромбофлебит в анамнезе, наследственность, повышенный индекс массы тела и женский пол [122; 3-17, 111; 32-39, 37;567-581.].

Исследование однонуклеотидных полиморфизмов на сегодняшний день являются одними из многочисленных генетических способов, с помощью которых можно выявлять экспрессию конкретных видов генов [88; 202-212].

Нами были исследованы 98 больных, проживающих в Андижанской области, с хроническими заболеваниями вен нижних конечностей клинических классов (по классификации CEAP) C3 – C6, что соответствует ХВН средней и тяжелой степеней тяжести. В данной когорте проведено исследование, направленное на поиск клинических и генетических предикторов формирования и прогрессии ХВН нижних конечностей. В ходе нашего исследования пациентов основной группы было решено разделить на 2 подгруппы в зависимости от клинических классов CEAP и рассматривать их отдельно в взаимосвязи с выявленными клиническими и генетическими показателями. Так была выделена группа пациентов с клиническими классами ХВН C3-C4 (45 больных – 45,9%) и ХВН C5-C6 (53 пациента – 54,1%). На первом этапе всем больным исследуемых групп проводились клинические, лабораторные и инструментальные методы обследования. Были выполнены обще клинические исследования (в том числе сбор анамнестических данных), оценка местного статуса, лабораторные анализы, а так же УЗДГ с цветным доплеровским картированием. На втором этапе данной работы изучались полиморфизмы генов, оказывающих влияние на ремоделирования венозной стенки, развитие эндотелиальной дисфункции и воспалительные процессы. Были исследованы генетические ДНК-полиморфизмы генов матриксной металлопротеиназы MMP9 (Gln279Arg), эндотелиального фактора роста сосудов VEGFA (C936T) и фактора некроза опухоли TNF – α (G308A). Представлены результаты их влияния на формирование и прогрессию ХВН.

В зависимости от местных проявлений больные были разделены на 2 группы согласно клинической классификации CEAP: ХВН C3-C4 и ХВН C5-C6. В основной группе пациентов преобладали пациенты в возрастном

диапазоне 46-55 лет – 41 (41,8%), тогда как больных в возрасте 20-35 лет составили наименьшую часть обследуемых - 11 (11,2%) человек, Лиц старшего возраста было 18 (18,4%) больных. ХВН тяжелых степеней была обнаружена в основном у пациентов в возрастном диапазоне 45-55 лет. Половое распределение пациентов показало, что в исследуемой группе из 98 пациентов 71 (72,5%) были женского, а 27 (27,5%) - мужского пола. Длительность заболевания составила у пациентов с ХВН С3-С4 $5,6 \pm 4,1$ лет, а у больных с ХВН С5-С6 - $11,8 \pm 4,6$ года.

У всех больных отмечалась склонность к гиперкоагуляции, несмотря на то, что некоторые из них до развития данного заболевания принимали антикоагулянты. Состояние гиперкоагуляции больше отмечалось в группе больных с ХВН С5-С6 ($p > 0,05$).

Далее было проведено ультразвуковое сканирование с цветным доплерографским картированием глубоких и поверхностных вен нижних конечностей. Во время выполнения УЗДГ (ультразвуковой сканер SonoAce R3, Medison, Корея) использовали общепринятый протокол исследования венозной системы. Были изучены параметры, которые позволяли оценить ангиоархитектонику и флебогемодинамику в венах нижних конечностях при ХВН. По данным УЗДГ глубоких и поверхностных вен нижних конечностей больных с ХВН, выполненных в настоящем исследовании, в основном преобладали гемодинамические нарушения в системе глубоких вен с признаками расширением просвета, дилатации всех слоев венозных стенок, а также несостоятельность остиального клапана и клапанов перфорантных вен. По результатам УЗДГ вен нижних конечностей у пациентов с диагностированной ХВН в обследуемой группе преобладали признаки комбинированной патологии патологических рефлюксов по вертикальному и горизонтальному типу обратного движения крови, которые были выявлены в 38,7% обследуемых. Снижение работоспособности ограничительной функции клапанов перфорантных вен преобладало у 22,5%

пациентов с вариантом по типу горизонтального движения крови в сосудах. Более четверти случаев показало нарушение функции венозных клапанов сафено-поплитеального соустья с нарушением гемоциркуляции по вертикальному типу (17,3%). Снижение функциональности клапанов сафено-фemorального и сафено-поплитеального переходов с патологическими вертикальными рефлюксами гемоциркуляции в полостях вен было выявлено в 16,4% пациентов. Дисфункция венозной активности в виде снижения функциональности клапана сафено-фemorального перехода в комбинации с патологическим вертикальным рефлюксом гемоциркуляции в полости вены была распространена наименьше среди пациентов с ХВН (5,1%). Полученные результаты УЗДГ подтверждают преобладание тяжелых форм ХВН по классификации CEAP вместе с объективными признаками поражения нижних конечностей.

У 77,0% исследуемых больных наблюдались трофические поражения кожи нижних конечностей с частичным вовлечением поверхностных вен нижних конечностей. Почти половина пациентов с ХВН имели зажившую венозную язву голени после лечения (45,0%) и только четверть язву в активной фазе (16,0%), которая лечилась в условиях стационара. Почти все обследуемые имели симптомы ХВН нижних конечностей со стороны кожного покрова: телеангиэктазии (92,0%), трофические поражения кожи (77,0%) и отечность подкожно-жировой клетчатки пораженных зон (87,0%). Таким образом результаты УЗДГ нижних конечностей пациентов с ХВН свидетельствуют в пользу преобладания стадий С4, С5 и С6 в исследуемой нами когорте больных. Следует отметить, что спектр аномальных ультразвуковых находок, выявленных у обследованных пациентов, как правило, превышает объем клинических проявлений заболевания.

Следующим этапом было проведено генетическое картирование больных, включенных в наше исследование. Определение генетических корреляций в ряде случаев позволили выявить связи между изменениями

полиморфизма ДНК в генах, которые кодируют факторы системы гемостаза и заболеваниями, связанными с развитием тромбоза.

Исследованиями генетических ассоциаций в отдельных случаях выявлены связи между вариациями полиморфизма ДНК в исследуемых генах и развитием ХВН. Установлено, что некоторые вариантные аллели и генотипы этих генов, которые могут оказать влияние либо на функцию кодируемого белка или на экспрессию гена, считаются генетическими факторами риска развития ХВН [139; с. 19–27].

При выявлении у больного одновременно нескольких генетических факторов, оказывающих влияние на различные звенья патогенеза ХВН, риск развития тромботических осложнений резко повышается. При носительстве нескольких генетических факторов риска развития ХВН или при сочетании наследственных и приобретённых факторов, риск развития венозной патологии бывает значительно выше, чем у лиц с выявленным одним генетическим полиморфизмом.

Проведённое нами молекулярно-генетическое исследование позволяет выявить в определённом участке ДНК замену нуклеотида, который приводит к замене аминокислотного состава белка и, вследствие этого, изменению биохимических свойств изучаемого фермента. В результате нуклеотидных замен в кодирующем гене фермента происходит снижение его функциональной активности.

В данном исследовании проведена оценка риска развития ХВН путём сравнения частоты носительства полиморфных вариантов выше указанных генов у больных и здоровых людей. Если выявление полиморфных вариантов изучаемого гена в исследуемой группе была значительно выше, чем в контрольной, то это расценивали как повышенный риск развития ХВН. В этом случае, значительный результат ассоциации свидетельствовал о том, что изучаемый полиморфизм ДНК либо напрямую влияет на риск развития ХВН или действует как генетический маркер для связанного генетического

варианта, который оказывает воздействие на угрозу развития или рецидива данной патологии.

Для исключения ложных положительных и ложных отрицательных результатов исследования генетических полиморфизмов изучаемых генов мы проводили основываясь на соблюдении таких критериев как адекватное количество обследованных лиц в исследуемых группах, соотношение полов, возраста и этнической совместимости больных и здоровых людей из контрольной группы. Изученные частоты генотипов считали репрезентативными для группы пациентов или здоровых людей, если они были совместимы с равновесием Харди–Вайнберга. Высоко значимые ассоциации, которые были получены в ходе данного исследования, могут быть полезными для прогноза и профилактики ХВН.

Среди многих медицинских достижений последнего времени следует отметить определение роли матриксных металлопротеиназ (ММП) как одних из ключевых медиаторов дегенеративного процесса, связанного с формированием и прогрессией венозной недостаточности нижних конечностей [95; с. 107]. Структура и функция стенки вены частично регулируются разными типами ММП, которые представляют собой семейство цинк-зависимых металлоэндопептидаз, согласно исследованиям Laronha H. и Raffetto J.D. [95; с. 107, 122; с. 36]. Функция ММП состоит в расщеплении компонентов внеклеточного матрикса и молекул, не входящих в состав внеклеточного матрикса, таких как рецепторы, факторы роста, цитокины и хемокины, все из которых являются детерминантами тканевого микроокружения [95; с. 107]. Согласно исследованиям Laronha H., экспрессия ММП может моделироваться влиянием венозного гидростатического давления, состоянием гипоксии и воспалительными реакциями. Кроме этого, ММП могут инициировать ремоделирование стенки венозных сосудов путем протеолитического расщепления компонентов внеклеточного матрикса или же влиять на пролиферацию, запрограммированную смерть и перемещение гладких миоцитов среднего

слоя стенок вен. MMP9 (матриксная металлопротеиназа 9) является представителем семейства энзимов MMP, которая принимает участие в remodelировании внеклеточного пространства путем дезорганизации денатурированного коллагена, что исследовалось S. Khizriev и соавторами [88; с. 202-212, 161; с. 951-961].

Ген матриксной металлопротеиназы – 9 (MMP9) расположен на длинном плече хромосомы 20 в локусе 20q13.12 [164; с. 200-205]. В ходе исследования гена MMP9 проверяли на предмет наличия генетического маркера Gln279Arg.

Полученные в ходе исследования результаты показали, что частота распределения генотипов Gln/Gln, Gln/Arg и Arg/Arg полиморфизма Gln279Arg гена MMP9 составила в основной группе 41,5%, 41,5% и 17,0% соответственно. Частота распределения генотипов Gln/Gln, Gln/Arg и Arg/Arg полиморфизма Gln279Arg гена MMP9 в контрольной группе составила 50,6%, 36,% и 12,6% соответственно. Как можно заключить из полученных данных комбинации генотипов Gln/Arg и Arg/Arg полиморфизма Gln279Arg в гене MMP9 в пациентов с ХВН указывают на более высокий риск развития тяжелых форм ХВН (СЕАР класс С5 и С6): OR=1,2 и 1,4; 95% CI=0,49-2,61 и 0,47–3,86; p=0,5. Наличие генотипа Gln/Gln полиморфизма Gln279Arg в гене MMP9 наоборот имеет противоположную, защитную функцию с точки зрения предупреждения развития тяжелых форм ХВН (СЕАР класс С5 и С6): OR=0,7; 95 % CI=0,35-1,38; p=0,3.

Проведенное нами исследование показывает, что полиморфизм Gln279Arg в гене MMP9 характеризуется аллельным разнообразием: функционально неблагоприятные генотипы Gln/Arg и Arg/Arg достоверно вносят вклад в развитие и прогрессию ХВН, особенно ее осложненных форм на уровне класса С5 и С6. Полученные статистические данные на основе результатов генетического исследования пациентов с ХВН достоверно свидетельствуют о наличии ассоциации носительств аллеля Arg и генотипов Gln/Arg и Arg/Arg полиморфизма Gln279Arg в гене MMP9 с риском развития

осложненных форм ХВН нижних конечностей начиная со стадии С4 по СЕАР, что подтверждает теорию о влиянии специфических типов полиморфизмов в генах ММР9 на повышение риска развития ХВН. Данные исследования показывают увеличение экспрессии ММР9 и при ХВН нижних конечностей, которая является статистически значимой ($p < 0,05$).

Ассоциация полиморфизмов ММР9 и ХВН в научных исследованиях последнего времени не однозначна и является иногда спорной. Проведенное в Польше исследование авторства М. Feldo и др. в 2019 году было посвящено изучению уровней ММП9 и нескольких факторов роста у пациентов с ХВН [67; с. 7-13.]. Несмотря на меньшую выборку исследуемых пациентов с ХВН, результаты показали высокие индексы ММП9 у пациентов с ХВН класса С2, С3, С4 и С5 по СЕАР. Данные результаты созвучны с полученными в нашем исследовании, так как ММР9 был связан с тяжелыми стадиями развития ХВН в разных категориях. Также существуют публикации, указывающие на то, что аллель Т связан с повышенным уровнем ММП9 в плазме крови пациентов с ХВН [104; 443.]. Данное исследование, проведенное на словацкой популяции J. Mazuchova и большой группой соавторов в 2020 году, было сфокусировано на анализе полиморфизмов не только гена ММП9, но и ММП8, ММП2 и ТИМР2. Авторами было заключено, что полиморфизмы по типу комбинации СС/ТТ rs11225395 и rs3918242 статистически коррелируют с более высоким риском развития ХВН класса С4 и С5 по классификации СЕАР, но полученные цифры не позволили авторам определить ММП9 как влиятельный предикторный фактор развития осложнений у пациентов с ХВН исследуемой популяции. Ассоциация полиморфизмов ММП9 с ХВН класса С4 и С5 созвучна с результатами проведенного исследования, где классы С4, С5 и С6 преобладали над другими вариантами и показали связь с наличием полиморфизмов по гену ММП9.

Основной причиной увеличения показателей ММР9 у пациентов с ХВН может служить дисбаланс между активностью ММР и ТИМП, что приводит

к накоплению компонентов деградированного внеклеточного матрикса в стенке ремоделированных вен, таким образом делая генетические полиморфизмы гена MMP9 важным предрасполагающим фактором для нарушения гемостаза в системе глубоких и поверхностных вен.

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGFA) - это регулятор ангиогенез, который играет ключевую роль в поддержании реактивности и целостности сосудов. Он является селективным митогеном эндотелиальных клеток, который способствует их пролиферации, миграции и дифференцировке [136; с. 60-69]. VEGFA участвует в процессах, направленных на поддержание целостности венозной стенки [41; с. 419–430, 70; с. 2968-2880]. Изменения концентрации VEGFA могут дать объяснения клиническим симптомам заболевания и могут предрасполагать к прогрессированию ХВН [137; с. 75-80]. Ген фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) располагается на коротком плече 6-й хромосомы (6p21.3) и состоит из 8 экзонов, разделенных 7 интронами [118; с. 142-148]. Однонуклеотидный полиморфизм С936Т, находящийся в 3' нетранслируемой области (3'UTR) указанного гена считается наиболее клинически значимым.

Генетическим маркером С936Т обозначается участок ДНК гена сосудистого эндотелиального фактора роста А (VEGFA), в котором происходит замена цитозина (С) в позиции 936 на тимин (Т).

Обнаружено, что частота предкового генотипа С/С полиморфизма С936Т гена VEGFA среди пациентов с ХВН нижних конечностей оказалась значительно ниже, чем в контрольной группе. Это говорит о возможном защитном эффекте данного генотипа в отношении формирования ХВН нижних конечностей (62,2% и 77,0% соответственно, при $\chi^2=4,7$; $P=0,05$; $OR=0,5$; $95\%CI:0,26-0,93$). Также выявлена тенденция к росту числа пациентов, носителей неблагоприятного генотипа С/Т среди пациентов по сравнению с группой контроля (30,6% и 19,5% соответственно). При наличии данного генотипа риск развития ХВН увеличивается в 1,8 раз ($\chi^2=3,0$; $P=0,1$; $OR=1,8$; $95\%CI:0,92-3,58$). Выявлена тенденция к увеличению количества

мутантного маркера Т/Т в основной группе (7,1% и 3,4% соответственно, при $\chi^2=1,2$; $P=0,3$; $OR=2,2$; $95\%CI:0,56-8,36$), что свидетельствует о риске развития данной патологии, который возрастает в 2,2 раза. Выявлена слабая тенденция к увеличению количества неблагоприятного генотипа Т/Т в группе больных с ХВН С5-С6, означает, что риск прогрессирования хронической венозной недостаточности и ее переход в ХВН (С5-С6) при наличии данного генотипа увеличивается в 1,7 раза (5,7% против 3,4% соответственно, при $\chi^2=0,4$; $P=0,6$; $OR=1,7$; $95\%CI:0,33-8,51$).

Мы сравнили полученные нами данные с рядом научных работ. Kowalewski A. et al [129; CD012841] показали, что экспрессия цитокина фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) и рецептора VEGF R2 была повышена в стенке варикозных вен и была более выражена при сопутствующем тромбофлебите. Аналогично, Hollingsworth R. et al [147; с.590-597] отметили, что VEGFA участвует в поддержании целостности стенки сосуда, а повышенная экспрессия VEGFA или его рецептора R2 способствует активации синтазы оксида азота, снижает сосудистый тонус и делает стенку сосуда более восприимчивой к повреждению свободными радикалами кислорода. Кроме того, VEGF играет важную роль в ангиогенезе, а полиморфизмы в гене VEGF (идентифицированные как С936Т и -1780 Т/С) являются признанными факторами риска ухудшения заживления ран и венозных язв [77; с. 42-47, 55; с. 307-321]. В 2018 году Shadrina A. S. et al [1,140; с. 27-35] изучила 448 пациентов с ХВН и сообщила, что полиморфизм rs2010963, расположенный в 5' нетранслируемой области гена VEGFA, может влиять на генетическую предрасположенность к хронической венозной патологии. Таким образом, рассчитанный относительный риск развития ХВН (С3-С4), также как и ХВН (С5-С6) возрастал при обнаружении минорного аллеля Т и генотипов С/Т и Т/Т, что показывает оценка ассоциативной связи между полиморфизмом С936Т в гене фактора роста эндотелия сосудов (VEGFA) в группах пациентов и контроля. Причиной тому служило то, что при выявлении гетерозиготной формы полиморфизма

происходило понижение активности фермента, а при детекции мутантного варианта полиморфизма – значительное повышение активности фермента VEGFA и как следствие возникновения эндотелиальной дисфункции, что повышало угрозу развития и прогрессирования хронической венозной недостаточности.

В данном исследовании провели анализ генетического маркера гена фактора некроза опухоли TNF - α . Ген цитокина TNF - α расположен на коротком плече 6 хромосомы в локусе 6p21.3. Однонуклеотидный полиморфизм 308 A>G представляет собой замену гуанина на аденин в позиции 308. TNF - α запускает процесс воспаления через образование активных форм кислорода, оказывает влияние на выработку NO –синтазы, уменьшая при этом биодоступность оксида азота, что в свою очередь приводит к развитию эндотелиальной дисфункции. [84; с.649–61, 155; с.515–26.].

Генетическим маркером G308A обозначается участок ДНК гена TNF- α , где гуанин (G) заменяется на аденин (A) в позиции 468. TNF- α - многофункциональный провоспалительный цитокин, он участвует в патогенезе как острых, так и хронических воспалительных заболеваний, обладает способностью взаимодействовать с другими цитокинами и стимулировать секрецию интерлейкинов, хемокинов, активирует лейкоциты, усиливает продукцию других цитокинов. Исследование данного полиморфизма позволяет выявить генетическую предрасположенность к прогрессированию воспалительных и некротических процессов [28; с.523-527].

Проведенный статистический анализ OR показал, что при носительстве функционального неблагоприятного аллеля А полиморфизма G308A гена TNF- α шанс формирования ХВН у больных исследуемой группы возрастал в 2,4 раза по отношению к контрольной группе ($\chi^2=4,1$; P=0,05; OR=2,4; 95%CI:1,03–5,39). Обнаружена тенденция к повышению доли носителей неблагоприятного генотипа G/A среди пациентов по сравнению с группой

контроля (20,4% и 9,2% соответственно). При наличии данного генотипа риск развития ХВН увеличивается в 2,5 раза ($\chi^2=4,5$; $P=0,05$; $OR=2,5$; $95\%CI:1,28-3,86$). При статистической обработке выявлено достоверное уменьшение частоты благоприятного аллеля G в исследуемой группе пациентов с ХВН (С3-С4) (90% против 95,4% в контрольной группе при $\chi^2=2,9$; $P=0,1$; $OR=0,4$; $95\%CI:0,17-1,14$). При наличии данного аллеля риск развития хронической венозной недостаточности отсутствует, соответственно наличие дикого аллеля G свидетельствует о возможном защитном эффекте в отношении формирования хронической венозной недостаточности.

Таким образом, у пациентов с ХВН выявление неблагоприятного аллеля A и связанного с ним неблагоприятного генотипа G/A полиморфизма G308A гена TNF - α ассоциировалось с риском развития и прогрессии ХВН как следствие прогрессирования воспалительного процесса и трофических изменениях в тканях нижних конечностей.

Результаты исследования проведенные у 150 женщин словацкой популяции Slonkova V. и соавт. [147; с.590–597] показали зависимость тяжести проявлений ХЗВ от распределения генотипов TNF – α . Значение провосполительного цитокина TNF- α в патогенезе ХВН было рассмотрено в некоторых научных работах. Так Takase S. и соавт. [3; с.117-126] с помощью иммунохимического анализа при исследовании удаленных во время операции варикозно расширенных вен обнаружили, что усиление экспрессии ICAM-1 и TNF- α на створках клапана и стенке вены проксимальнее клапана была выше, чем дистальнее клапана.

Полученные нами данные показали, что угрозу развития ХВН повышает не только общее количество присутствующих генов, но и отдельные мутации, оказывающие значительное воздействие на развитие данной патологии, такие как мутантный неблагоприятный генотип G/A полиморфизма G308A гена TNF - α . Кроме этого у всех исследуемых

больных наблюдалось у сочетание генов MMP9 и VEGFA, находящихся в гетерозиготном состоянии.

Результаты проведенных исследований позволили установить, что значительное количество пациентов с ХВН, у которых были выявлены мутации исследуемых нами генов, также имели ближайших родственников с ХВН. Это даёт основание включить этих людей в группу лиц с повышенным риском развития возникновения ХЗВ, а также рецидивов заболевания. Если своевременно не предпринять необходимые профилактические меры, наличие наследственной склонности к ХЗВ может в дальнейшем у этих больных перейти в более тяжелые формы ХВН (С5-С6).

Таким образом, проведённое исследование показало, что на индивидуальную предрасположенность к формированию и прогрессии хронической венозной недостаточности нижних конечностей влияет не только образ жизни, но и генетический фактор. Профилактика ХВН является обязательной, поскольку эта патология очень распространёна и имеет тяжелые осложнения, напрямую влияя на качество жизни пациента.

Генетическое консультирование и предсимптомное тестирование ДНК особенно важно для людей с положительным семейным анамнезом ХВЗ. Предварительное генетическое консультирование может помочь уменьшить беспокойство и заблуждение относительно хронической венозной недостаточности. Молекулярно-генетическое исследование может сыграть значительную роль в профилактике ХВН, если во время обычного сбора данных семейного анамнеза во время консультирования по другим заболеваниям это позволит распознать людей, подверженных риску ХВЗ, и проинформировать их о профилактических мерах, включая доступные молекулярные тесты [20; с.133-148, 62; с.614-620].

Если своевременно не принять необходимые меры по профилактике, носительство генетической наследственной склонности может в дальнейшем стать причиной развития и прогрессии ХВН. Угрозу развития хронической венозной патологии повышает не только общее количество задействованных

генов, но важное значение имеют и отдельные генетические мутации, способные оказать большое влияние на развитие таких патологических состояний.

Способность регулярно выявлять наследственную генетическую предрасположенность к ХВЗ может значительно способствовать ранней диагностике и сделать возможным раннее вмешательство и предотвращение тромботических инцидентов. Людей с повышенным риском ХВН лучше всего направить к флебологам, сосудистым хирургам которые могут посоветовать некоторым из них пройти профилактическую терапию.

Молекулярная диагностика и профилактика ХВН принесут большую пользу, если будет лучше изучен относительный вклад каждого связанного с данной патологией полиморфизма ДНК в сосудистые заболевания, возможно, с помощью крупномасштабных эпидемиологических исследований. Только тогда в профилактических целях может потребоваться проверка всего населения. На этом этапе первоначальная информация о распространённости основных полиморфизмов ДНК рекомендуется для каждой популяции, чтобы сформировать местную политику в области здравоохранения для предотвращения ХВЗ путём выявления лиц, подверженных риску.

Поскольку генетическое тестирование становится рутинным подходом, ожидается, что оно будет широко использоваться как в больничной, так и в общественной профилактической медицине. Соответственно, можно предусмотреть, что ХВН, которая в настоящее время является таким серьёзным глобальным бременем, можно будет регулярно предотвращать в будущем с помощью генетического тестирования и надлежащего лечения антикоагулянтами и флеботониками, тем самым сохраняя жизнь и состояние здоровья бессимптомных лиц, находящихся в группе риска. Процесс выявления внешне здоровых людей с предрасположенностью к ХВН нуждается в дальнейшей корректировке путём исследования новых наследственных факторов.

Поэтому дальнейшее изучение распространённости носительства генетических мутаций, оказывающих влияние на патогенетические факторы формирования и прогрессии ХВН с учётом популяционных и региональных особенностей представляет большой научный и практический интерес.

ВЫВОДЫ

На основе проведенных исследований при работе над данной монографией на тему: «Клинико-генетические предикторы формирования и прогрессии хронической венозной недостаточности нижних конечностей» сформулированы следующие выводы:

1. На частоту возникновения хронической венозной недостаточности влияют давность заболевания, женский пол, возраст пациента, семейный анамнез. У женщин вероятность развития ХВН выше в 1,3 раза, чем у мужчин. Выявление при УЗДГ патологических венозных рефлюксов по вертикальному и горизонтальному типу, а так же снижение ограничительной функции клапанов перфорантных вен, свидетельствовали о риске дальнейшего прогрессирования ХВН.

2. Установлено, что в патогенезе ХВН значимый вклад вносит неблагоприятный гетерозиготный генотип Gln/Arg и дикий генотип Arg/Arg полиморфизма Gln279Arg гена MMP9 (OR=1,1 при $\chi^2=0,2$; $p=0,7$ и OR=1,3 при $\chi^2=0,5$; $p=0,5$). Это связано с усугублением процессов ремоделирования венозной стенки и нарастания клапанной недостаточности по мере прогрессирования ХВН

3. Доказано, что присутствие функционально неблагоприятных генотипов C/T и T/T полиморфизма C936T гена VEGFA (OR=1,8 при $\chi^2=3,0$; $P=0,1$ и OR=2,2 при $\chi^2=1,2$; $P=0,3$) является генетическим предиктором развития ХВН. Генотип C/C полиморфизма C936T гена VEGFA оказывает протективный эффект развития ХВН (OR=0,5 при $\chi^2=4,7$; $P=0,005$)

4. Выявление неблагоприятного гетерозиготного генотипа G/A гена цитокина TNF – α (G308A) ассоциировалось с риском развития ХВН (OR=2,5 при $\chi^2=4,5$; $P=0,05$), что является следствием прогрессирования воспалительного процесса и трофических изменений в тканях нижних конечностей.

5. Прогностическими критериями риска формирования ХВН являются наследственная предрасположенность, которая основывается на

мутации генов MMP-9 (Gln279Arg), VEGFA (C936T) и TNF- α (G308A). Неблагоприятные генотипы этих локусов являются самостоятельными предикторами риска формирования и прогрессии хронической венозной недостаточности нижних конечностей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Выявление у носителя одновременно нескольких генетических полиморфизмов в генах, оказывающих влияние на ремоделирование венозных сосудов, развитие эндотелиальной дисфункции и воспалительные процессы значительно увеличивает риск формирования и прогрессии хронической венозной недостаточности.

2. Для прогнозирования риска развития ХВН рекомендуется проводить тестирование неблагоприятного гетерозиготного генотипа Gln/Arg и дикого генотипа Arg/Arg гена MMP9 (Gln279Arg).

3. Для раннего прогнозирования риска развития ХВН, необходимо ДНК тестирование генетического маркера неблагоприятных генотипов C/T и T/T полиморфизма VEGFA (C936T)

4. Необходимо проведение исследование на носительство неблагоприятного генотипа G/A гена TNF – α (G308A), как предиктора формирования ХВН

5. Необходимо проводить генотипирование пациентов не по одному, а по нескольким маркерам, влияющим на патогенетические звенья формирования и прогрессии ХВН. Оценка наличия полиморфизма не только отдельных, а нескольких генов, оказывающих влияние на ремоделирование венозных сосудов, развитие эндотелиальной дисфункции и воспалительные процессы, является наиболее патогенетически обоснованным подходом к изучению ХВН.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов В.С. Геномика и предиктивная медицина. //Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.- 2021.-Том 36 (4).- С. 14-28
2. Бражник В.А. Вопросы диагностики острых и хронических заболеваний вен нижних конечностей в амбулаторной практике. Роль ультразвукового исследования в постановке правильного диагноза//Справочник поликлинического врача. – 2017. – №2. – С. 49–52.
3. Головина В.И., Селиверстов Е.И., Ефремова О.И. Роль цитокинов в патогенезе варикозной болезни. //Флебология.–2021.–15(2) – С.117-126.
4. Градусов Е.Г. Лечение трофических язв венозной этиологии и профилактика рецидива в условиях поликлиники // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2019. - №2, S2. – С.122-123.
5. Дибиров М.Д., Шиманко А.И. и соавт. Радиочастотная облитерация в комплексном хирургическом лечении больных с варикозной болезнью нижних конечностей//Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24. – № 1. – С. 92–96.
6. Золотухин И., Селиверстов Е., Шевцов Ю. и др. Распространенность хронических заболеваний вен: результаты популяционного эпидемиологического исследования // Флебология. –2016. – №4. –С.119–125.
7. Золотухин И.А., Илюхин Е.А., Мирахмедова С.А. Протокол проспективного наблюдательного когортного исследования заболеваемости и особенностей течения варикозной болезни и хронических заболеваний вен (VINCI) //Флебология. –2021. –15(2). –74–79. doi.org/10.17116/flebo20211502174
8. Золотухин И.А., Порембская О.Ю., Сметанина М.А. и соавт. Варикоз: в поисках причины? // Летопись РАМН. – 2020. –№ 75. –36-45.

9. Золотухин И.А., Порембская О.Я., Сметанина М.А. и соавт. Варикозная болезнь: на пороге открытия причины?//Вестник РАМН. – 2020. –75(1)- С.36–45. <https://doi: 10.15690/vramn1213>
10. Иванов Е.В. Липодерматосклероз при хронической венозной недостаточности и его влияние на качество жизни // Флебология. - 2018. - №2, S2. –С. 5.
11. Иванов Е.В. Трудности диагностики осложнённых форм хронических заболеваний вен // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2019. - №2, S2. – С.164-165
12. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Шанаев И.Н. Гемодинамические нарушения при варикозной болезни//Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2021. – Т. 9. – № 1. – С. 68–76.
13. Конева М. И., Ватолина А. А., Стяжкина С. Н. Анатомо-физиологические особенности варикозной болезни вен нижних конечностей. классификация. диагностика. Лечение// StudNet, vol. 4.- 2021. - № 5.-С.15-30.
14. Короленя В. А., Гаврилов К. А., Севостьянова К. С. Изменение экспрессии гена АСТА1, связанное с патологическим рефлюксом при варикозной болезни нижних конечностей // Флебология. – 2022. – Т. 16, № 2-2. – С. 41. <https://doi 10.17116/flebo2022160225>.
15. Кудыкин М.Н. Современное состояние проблемы хронических заболеваний вен нижних конечностей. // Consilium Medicum. –Хирургия. – 2017. – №1. – С.52-56.
16. Курбазиянов З.Б., Сайинаев Ф. Хирургическое лечение хронической венозной недостаточности нижних конечностей//Журнал вестник врача. – 2020. - №1(4). – С. 27-30.
17. Лишов Д.Е., Бойко Л.В., Золотухин И.А. и соавт. Ультразвуковое исследование вен нижних конечностей. Рекомендации

экспертов Ассоциации флебологов России. //Флебология. –2021.–№15(4)– С.318-340.

18. Мазайшвили К.В., Киян К.А., Суханов А.В. и соавт. Распространенность и сочетаемость хронических венозных расстройств нижних конечностей, синдрома беспокойных ног, тревоги и депрессивных состояний среди работников предприятий Московского региона // Флебология. 2019. – №1. –С. 12-21.

19. Максимов М.Л., Ермолаева А.С., Вознесенская А.А. Хронические заболевания вен: особенности патогенеза и рациональные подходы к терапии // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2018. – Т. 2. – № 4. – С. 25–29.

20. Небылицин, Ю.С., Назарук А.А. Флебология: настоящее и будущее // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова.- 2017.- Т. 25, № 1.- С. 133-148.

21. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен //Флебология. – 2018 - №3, том 12 - 96 с. 146-240.

22. Селиверстов Е.И., Авакьянц И.П., Никишков А.С. и соавт. Эпидемиология хронических заболеваний вен. //Флебология. – 2016. - 10(1). – С.35-43.

23. Сметанина М. А., Сипин Ф. А., Севостьянова К. С. Экспрессия генов внеклеточного матрикса и генов сигнальных путей, задействованных в патогенезе варикозного расширения вен // Биотехнология - медицине будущего : Материалы всероссийской конференции с международным участием, Новосибирск. – 24–26 июля 2017 года. – Новосибирск: ООО «Офсет-ТМ», 2017. – С. 100.

24. Сметанина М.А., Сипин Ф.А., Селиверстов Е.И. и соавт. Дифференциально экспрессирующиеся гены при варикозной болезни

нижних конечностей// Флебология. – 2020. –№14 (2). – С. 122-134.
<https://doi.org/10.17116/flebo202014021122>

25. Сметанина М.А., Шадрина А.С., Золотухин И.А. Генетическая основа хронической болезни вен: обзор современных представлений. //Флебология. – 2016 – №10. –199.

26. Студенникова В.В., Севергина Л.О., Синявин Г.В. и соавт. Патогенез несостоятельности стенки вены при варикозной болезни. //Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. –2019. – (10). – С.69-74.

27. Темрезов, М.Б. Хирургическое лечение пациентов с варикозной болезнью класса С5-С6//Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2018. – Т. 13. – №3. – С. 38–42.

28. Терещенко И.В., Каюшев П.Е. Фактор некроза опухоли α и его роль в патологии. РМЖ. //Медицинское обозрение. – 2022. –№6(9). С.523-527. <https://doi: 10.32364/2587-6821-2022-6-9-523-527>

29. Указ Президента Республики Узбекистан от 28.01.2022 г.№ УП - 60 «О стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы». Сборник законодательных актов.

30. Черных К.П., Кубачев К.Г., Семенов А.Ю. Лечение пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.// Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2019. - №5.- С.88-93.

31. Шадрина А. С., Сметанина М. А., Севостьянова К. С. Полиморфизм генов матриксных металлопротеиназ mmp1, mmp2, mmp3 и mmp7 и риск варикозной болезни нижних конечностей//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 163, № 5. – С. 608-612.

32. Шадрина А.С., Золотухин И.А., Филипенко М.Л. Молекулярные механизмы развития варикозной болезни нижних конечностей //Флебология. –2017. –№11(2). С.71-75.

33. Яриев А. А., Бобоев К. Т., Асмо М. Д. и др. Полиморфный вариант гена TGF-В1 - предиктор развития варикозной болезни и её тромботических осложнений?//Приоритетные направления развития науки и образования: сборник статей XX Международной научно-практической конференции, Пенза, 25 декабря 2021 года. – Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.) – 2021. – С. 196-198.

34. Яриев А. А., Худойбердиев С. С., Абдуллаев Ш. М. и др. Ассоциации полиморфизмов генов MMP1, TGF-В1 и VEGF-а с развитием венозных тромбозов при варикозной болезни нижних конечностей//Журнал теоретической и клинической медицины. – 2022. – № 3. – С. 94-98.

35. Ahmed W.U., Kleeman S., Ng M. et al. Genome-wide association analysis and replication in 810,625 individuals with varicose veins// Nat Commun. – 2022. –№13. – P.3065. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30765-y>

36. Akar I., Ince I., Aslan C. et al. Oxidative Stress And Prolidase Enzyme Activity In The Pathogenesis Of Pri-mary Varicose Veins//Vascular. – 2018. – №26(3). – P.315-321.

37. Alsaigh T., Fukaya E. Varicose veins and chronic venous disease // Cardiology Clinics.– 2021. – №39(4). – P.567-581.

38. Amato R., Dattilo V., Brescia C. et al. Th17-Gene Expression Profile in Patients with Chronic Venous Disease and Venous Ulcers: Genetic Modulations and Preliminary Clinical Evidence // Biomolecules.–2022. – №12. –P.902. <https://doi: 10.3390/biom12070902>.

39. Arase H., Sugasawa N., Kawatani Y., Sugano M et al.. Appropriate Surgical Treatment of Symptomatic Primary Varicose Veins Decreases

Systemic Inflammatory Biomarkers//Ann.Vasc.Dis.–2019.–№12.–P.367–371.
[https://doi: 10.3400/avd.oa.19-00011](https://doi.org/10.3400/avd.oa.19-00011).

40. Aslam M. R., Muhammad Asif H., Ahmad K. et al.. Global impact and contributing factors in varicose vein disease development//SAGE open medicine.–2022.–№10.–P.205-216. doi.org/10.1177/20503121221118992

41. Barallobre-Barreiro J., Oklu R., Lynch M. et al. Extracellular matrix remodelling in response to venous hypertension: Proteomics of human varicose veins //Cardiovasc. Res. –2016. – №10. – P.419–430. [https://doi:10.1093/cvr/cvw075](https://doi.org/10.1093/cvr/cvw075).

42. Baylis R.A, Smith N.L, Klarin D. Epidemiology and Genetics of Venous Thromboembolism and Chronic Venous Disease //Circ Res. – 2021. – 128(12). – P.198 -200.

43. Bergant Suhodolčan A., Luzar B, Kecelj Leskovec N. Matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-2, but not COX-2 serve as additional predictors for chronic venous ulcer healing// Wound Repair Regen. –2021. – 29(5). – P.725-731. [https://doi: 10.1111/wrr.12915](https://doi.org/10.1111/wrr.12915)

44. Bilancini S., Lucchi M., Ciacciarelli M. Stasis microangiopathy: From pathogenesis to treatment//Vessel Plus. – 2021.– №5. –P.39. [https://doi:10.20517/2574-1209.2021.14](https://doi.org/10.20517/2574-1209.2021.14).

45. Birdina J., Pilmane M., Ligera A. The Morphofunctional Changes in the Wall of Varicose Veins // Ann. Vasc. Surg. –2017. – №42 – P.274–284. [https://doi: 10.1016/j.avsg.2016.10.064](https://doi.org/10.1016/j.avsg.2016.10.064).

46. Bruczko-Goralewska M., Romanowicz L., Baczyk J., Wolańska M., Sobolewski K., Kowalewski R. Peptide growth factors and their receptors in the vein wall//J. Investig. Med. -2019.- Vol.67.-P.1149–1154.

47. Burian, E. A., Sabah, L., Karlsmark, T. Cytokines and Venous Leg Ulcer Healing-A Systematic Review.//International journal of molecular sciences. – 2022. – №23(12) – P.65-79. <https://doi.org/10.3390/ijms23126526>

48. Carman T.L., Al-Omari A. Evaluation and Management of Chronic Venous Disease Using the Foundation of CEAP. //Curr. Cardiol. Rep.-2019.- Vol.21.- P.1–8.
49. Castro-Ferreira R., Cardoso R., Leite-Moreira A. The Role of Endothelial Dysfunction and Inflammation in Chronic Venous Disease // Ann. Vasc. Surg. –2018. – №46. – P.380–393. <https://doi:10.1016/j.avsg.2017.06.131>.
50. Cavezzi A. Medicine and Phlebology: Time to Change? // J. Clin. Med. – 2020 – №9. – P.91-99. <https://doi:10.3390/jcm9124091>.
51. Chen L., Deng H., Cui H. et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs // Oncotarget. –2017. – №9. – P.7204–7218. <https://doi:10.18632/oncotarget.23208>.
52. Chen Y., Peng W., Raffetto J.D., Khalil R.A. Matrix Metalloproteinases in Remodeling of Lower Extremity Veins and Chronic Venous Disease // Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. – 2017. – P.147:267–299. <https://doi:10.1016/bs.pmbts.2017.02.003>.
53. Choonhakarn C., Chaowattanapanit S., Julanon N. Lipodermatosclerosis: A clinicopathologic correlation //Int J Dermatol. –2016. – №55. – P.303–308.
54. Costa, D.; Andreucci, M.; Ielapi, N. et al. Molecular Determinants of Chronic Venous Disease: A Comprehensive Review // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – № 24. – P.1928. <https://doi.org/10.3390/ijms24031928>
55. Cyr A.R., Huckaby L.V., Shiva S.S., Zuckerbraun B.S. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction // Crit. Care Clin. – 2020. – №36. – P.307–321. <https://doi:10.1016/j.ccc.2019.12.009>.
56. Davies A. H. The Seriousness of Chronic Venous Disease: A Review of Real-World Evidence //Advances in therapy. –2019. – №36(Suppl 1). – P. 5–12. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-0881-7>

57. de Almeida I., Figueiredo P., Silva W.T. et al. Reliability and validity of specific quality of life assessment questionnaires related to chronic venous insufficiency: a systematic review. // *J Vasc Bras.* – 2022. – 24(21). – P. 229. [https://doi: 10.1590/1677-5449.202102292](https://doi.org/10.1590/1677-5449.202102292).
58. de Franciscis S., Metzinger L., Serra R. The Discovery of Novel Genomic, Transcriptomic, and Proteomic Biomarkers in Cardiovascular and Peripheral Vascular Disease: The State of the Art // *BioMed Res. Int.* –2016. – P.1-10. [https://doi: 10.1155/2016/7829174](https://doi.org/10.1155/2016/7829174).
59. de Mello Porciunculla M., Braga D. Leiderman D., et al Clinical, ultrasonographic and histological findings in varicose vein surgery // *Rev. Assoc. Med. Bras. Associacao Medica Brasileira.* – 2018. –Vol. 64. –N 8. –P. 729-735
60. Decarlo C., Boitano L.T., Waller H.D. et al. Pregnancy conditions and complications associated with the development of varicose veins. // *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.*-2022.-Vol/10(4). – P.872–878.
61. De Popas E, Brown M. Varicose veins and lower extremity venous insufficiency // *Semin Intervent Radiol.* – 2018. – № 35. – P. 56–61.
62. Dissemmond, J. Chronic leg ulcers // *Hautarzt.* – 2017 – №68(8). – P.614-620
63. Dorland Y.L., Huveneers S. Cell–cell junctional mechanotransduction in endothelial remodeling // *Cell. Mol. Life Sci.* –2016. – №74. – P.279–292. [https://doi: 10.1007/s00018-016-2325-8](https://doi.org/10.1007/s00018-016-2325-8)
64. Ellinghaus E., Ellinghaus D., Krusche P. et al. Genome-wide association analysis for chronic venous disease identifies EFEMP1 and KCNH8 as susceptibility loci. // *Scientific reports.* – 2017. – №7. – P.456-468. doi: 10.1038/srep45652.
65. Esse R., Barroso M., Tavares de Almeida I. The Contribution of Homocysteine Metabolism Disruption to Endothelial Dysfunction: State-of-the-Art. // *Int. J. Mol. Sci.* –2019. – №20. – P.867. [https://doi: 10.3390/ijms20040867](https://doi.org/10.3390/ijms20040867)

66. Faringthon R., Sosa V. Chronic venous insufficiency and structural changes in the walls of the veins // *Rev. Méd. Sinerg.* –2019 – №4. P.:3–20.
67. Feldo M., Wójciak-Kosior M., Sowa I. et al. Monitoring of endostatin, TNF-a VEGFs, MMP-9, and cathepsin-L during three months of diosmin treatment in patients with chronic venous disease (CVD) // *Acta Angiologica.* – 2019. –№ 25(1). –7-13.
68. Fokou M., Moifo B., Fongang E. et al. Characteristics of patients and patterns of chronic venous disease of the lower limbs in a referral hospital in Cameroon// *J. Vasc. Surg. Venous. Lymphat. Disord.* –2018 – №6(1). – P.90-95. <https://doi: 10.1016/j.jvsv.2017.08.012>.
69. Foote C.A., Soares R.N., Ramirez-Perez F.I et al.. Endothelial Glycocalyx // *Compr. Physiol.* – 2022. – №12. – P.3781–3811.
70. Fukaya E., Flores A. M., Lindholm D. et al. Clinical and Genetic Determinants of Varicose Veins // *Circulation.* – 2018 – №138(25). – P.2869–2880. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035584>
71. Graças C de Souza M., Cyrino F.Z., de Carvalho J.J. et al. Protective Effects of Micronized Purified Flavonoid Fraction (MPFF) on a Novel Experimental Model of Chronic Venous Hypertension // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* – 2018. – №55. – P.694-702.
72. Grudzińska E. Chemokines and Growth Factors Produced by Lymphocytes in the Incompetent Great Saphenous Vein // *Mediators Inflamm.* – 2019. – Vol.2019 - ID7057303. <https://doi: 10.1155/2018/7161346>.
73. Guest J.F., Fuller G.W., Vowden P. Venous leg ulcer management in clinical practice in the uk: Costs and outcomes.// *Int Wound J.*- 2018.-№5. – P.29–37
74. Gurevich D.B., David D.T., Sundararaman A. et al. Endothelial Heterogeneity in Development and Wound Healing // *Cells.* – 2021. – Vol.10, №9. – P. 23-38.

75. Guss L.G., Javvaji S., Case J., Barrick B., Schaefer K.N. Differences in Inflammatory Cytokine Levels between Patients with Varying Severity of Chronic Venous Insufficiency // *J. Vasc. Med. Surg.* – 2018. – №6. –P.363. <https://doi:10.4172/2329-6925.1000363>.
76. Hall H., Lauche R., Adams J. et al. Healthcare utilisation of pregnant women who experience sciatica, leg cramps and/or varicose veins: a cross-sectional survey of 1835 pregnant women. // *Women Birth.*–2016.- Vol.29(1).-P. 35–40.
77. Hodde J.P., Hiles M.C., Metzger D.W. Characterization of the local wound environment following treatment of chronic leg ulcers with SIS wound matrix // *J. Tissue Viability.* – 2020. – №29. – P.42–47. <https://doi:10.1016/j.jtv.2019.12.003>.
78. Horecka A., Hordyjewska A., Biernacka J. et al. Intense remodeling of extracellular matrix within the varicose vein: the role of gelatinases and vascular endothelial growth factor // *Ir J Med Sci.* –2021. – Vol.190. – P.255–259 <https://doi.org/10.1007/s11845-020-02289-1>
79. Horvei L.D., Braekkan S.K. Joint effects of prothrombotic genotypes and body height on the risk of venous thromboembolism: The tromso study // *Journal of thrombosis and haemostasis.* – : 2018. – №16. – P.83– 89
80. Hu X., Hu F., Xu Y. et al. Disequilibrium in MMPs and the tissue inhibitor of metalloproteinases in different segments of the varicose great saphenous vein wall. // *Int Angiol.* –2019. – №38. – P.185–193.
81. Iring A., Jin Y.-J., Albarrán-Juárez J.al. Shear stress–induced endothelial adrenomedullin signaling regulates vascular tone and blood pressure // *J. Clin. Investig.* –2019. – Vol.129. – P.2775–2791. <https://doi:10.1172/JCI123825>.
82. Jedlicka J., Becker B.F., Chappell D. Endothelial Glycocalyx // *Crit. Care Clin.* –2020. – №36. – №217–232. <https://doi:10.1016/j.ccc.2019.12.007>.

83. Kaima P, Reanpang T, Kulprachakarn K, Pongtam S, Rerkasem K. Chronic venous disease among nurses in operating room and outside operating room. //Vessel Plus.-2020.-N.4.-P.37.
84. Kamata H., Honda S.I., Maeda S. et al. Reactive oxygen species promote TNF alpha-induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases // Cel. –2017. – 120(5). – P.649–661.
85. Kanta J., Zavadakova A. Role of fibronectin in chronic venous diseases: A review //Vascular Medicine. – 2020. – №25(6). – P.588-597. <https://doi:10.1177/1358863X20947789>
86. Kemp M.T., Obi A.T., Henke P.K., Wakefield T.W. A narrative review on the epidemiology, prevention, and treatment of venous thromboembolic events in the context of chronic venous disease // J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.–2021. – №9(6). – P.1557-1567. <https://doi:10.1016/j.jvsv.2021.03.018>.
87. Keser İ., Özdemir K., Erer D et al. Differences in pain, fatigue, and quality of life in patients with chronic venous insufficiency based on physical activity level // Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg. – 2020. – №28. – № 76-83.
88. Khizriev S., Mikhailichenko V. Y., Zhadko S. I... Features of expression of growth mediators and matrix metalloproteinases at the local level in patients with lower limb varicose veins, clinical class C4-C6 // Archiv EuroMedica. – №12(5). – P.202-212
89. Kim Y., Png C. M., Sumpio B. J. et al. Defining the human and health care costs of chronic venous insufficiency // In Seminars in Vascular Surgery. - 2021. - 34 (1). – P.59-64
90. Kolluri R., Lugli M., Villalba L. et al. An estimate of the economic burden of venous leg ulcers associated with deep venous disease // Vasc. Med. – 2022. – №27. – P.63–72. <https://doi:10.1177/1358863X211028298>

91. Krüger-Genge A., Blocki A., Franke R.-P. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – №20. – 4411. [https://doi: 10.3390/ijms20184411](https://doi.org/10.3390/ijms20184411).
92. Kumar B.V., Connors T.J., Farber D.L. Development, Localization, and Function throughout Life // *Immunity.* – 2018. – №48. – 202–213. [https://doi: 10.1016/j.immuni.2018.01.007](https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.01.007).
93. Kunt A.T., Isbir S., Görmüş U., et al. Polymorphisms of MMP9 and TIMP2 in Patients with Varicose Veins // *Vivo.* – 2015. – №29. – P.461–465.
94. Labropoulos N. How Does Chronic Venous Disease Progress from the First Symptoms to the Advanced Stages? A Review // *Adv. Ther* – 2019. – №36. – P.13–19. [https://doi: 10.1007/s12325-019-0885-3](https://doi.org/10.1007/s12325-019-0885-3).
95. Laronha H., Caldeira J.. Structure and function of human matrix metalloproteinases // *Cells.* – 2020. – №9(5). – 1076.
96. Lattimer C.R., Kalodiki E., Geroulakos G. et al. Are Inflammatory Biomarkers Increased in Varicose Vein Blood? // *Clin. Appl. Thromb.* – 2016. – №22. – P.656–664. [https://doi:10.1177/1076029616645330](https://doi.org/10.1177/1076029616645330).
97. Lee M.-L., Liang C., Chuang C.-H. et al. A genome-wide association study for varicose veins // *Phlebology.* – 2022. – №37. – 267–278. [https://doi: 10.1177/02683555211069248](https://doi.org/10.1177/02683555211069248).
98. Leren L., Johansen E., Eide H. et al. Pain in persons with chronic venous leg ulcers: A systematic review and meta-analysis // *Int. Wound J* – 2020. – №17. – P.466–484. [https://doi:10.1111/iwj.13296](https://doi.org/10.1111/iwj.13296).
99. Ligi D., Croce L., Mannello F. Chronic venous disorders: The dangerous, the good, and the diverse // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – №19. – P.2544. [doi: 10.3390/ijms19092544](https://doi.org/10.3390/ijms19092544).
100. Lindstrom S., Wang L., Smith E.N. Genomic and transcriptomic association studies identify 16 novel susceptibility loci for venous thromboembolism // *Blood.* – 2019. – 134. – P.1645–1657;

101. Lurie Fedor et al. "The 2020 update of the CEAP classification system and reporting standards." // Journal of vascular surgery. Venous and lymphatic disorders. - 2020. -Vol.8,3. -P.342 -352. doi:10.1016/j.jvsv.2019.12.075
102. Mansilha A., Sousa J. Pathophysiological mechanisms of chronic venous disease and implications for venoactive drug therapy // Int J Mol Sci. – 2018. – №19(6) –E1669
103. Martinengo L., Olsson M., Bajpai R. Prevalence of chronic wounds in the general population: Systematic review and meta-analysis of observational studies. //Ann. Epidemiol. – 2019 – №29. – P.8–15. <https://doi:10.1016/j.annepidem.2018.10.005>.
104. Mazuchova J., Halašová E., Mazuch A. et al. Investigation of Association between Genetic Polymorphisms of MMP2, MMP8, MMP9 and TIMP2 and Development of Varicose Veins in the Slovak Population–Pilot Study // Physiological Research. – 2020. –69(Suppl 3). – P. 443
105. McQuilling J. P., Carter M. J., Fulton J. A et al. A prospective clinical trial evaluating changes in the wound microenvironment in patients with chronic venous leg ulcers treated with a hypothermically stored amniotic membrane. //International wound journal. –2022. – №19(1). – P. 144–155. <https://doi.org/10.1111/iwj.13606>
106. Mouton W.G, Wagner M.O, Haenni B. et al. The influence of age on valve disease in patients with varicose veins analysed by transmission electron microscopy and stereology// Vasa.–2018.–№29. – P.1-7. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000714>
107. Mouton W.G., Amonn C. Factors Determining Seasonal Variations in Varicose Vein Surgery. // EJVES Short Rep. – 2019. – №44. – P.1-4.
108. Musil D. What's new in the 2020 update of the CEAP classification system of chronic venous disease? //Vnitr Lek. – 2021. – Vol.67(3).-P.143-148.

109. Naik B., Kumar M., Khanna A.K. et al. Clinico-histopathological study of varicose vein and role of matrix metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in varicose vein formation.// Indian J Pathol Microbiol. – 2016. - 59(1). – P.25-30. <https://doi: 10.4103/0377-4929.178217>
110. Nicolaides A., Kakkos S., Baekgaard N et al. Management of chronic venous disorders of the lower limbs. Guidelines According to Scientific Evidence. Part I. // Int Angiol. –2018. – №37. –181-254.
111. Ortega M. A., Fraile-Martínez O., García-Montero C. Understanding Chronic Venous Disease: A Critical Overview of Its Pathophysiology and Medical Management //Journal of clinical medicine. – 2021. - 10(15). – P.32-39. <https://doi.org/10.3390/jcm10153239>
112. Ortega M.A., Asúnsolo Á., Leal J., Romero B. et al. Implication of the PI3K/Akt/mTOR pathway in the process of incompetent valves in patients with chronic venous insufficiency and the relationship with aging// Oxid. Med. Cell. Longev. – 2018. – Vol.31. – P.149-158. doi: 10.1155/2018/1495170
113. Ortega M.A., Romero B., Asúnsolo Á. et al. Behavior of smooth muscle cells under hypoxic conditions: Possible implications on the varicose vein endothelium.//BioMed Res. Int. – 2018. - Vol.8(12) – P.715-729. <https://doi: 10.1155/2018/7156150>.
114. Ortega M.A., Romero B., Asúnsolo Á. et al. Patients with incompetent valves in chronic venous insufficiency show increased systematic lipid peroxidation and cellular oxidative stress markers.//Oxid. Med. Cell. Longev. –2019. –P.516-528. <https://doi: 10.1155/2019/5164576>.
115. Ortega M.A., Sánchez-Trujillo L., Bravo C., et al. 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. //Antioxidants.- 2021.- №10. –P.980.

116. Patel J., Shah P., Gandhi F. A study of chronic venous insufficiency in relation with body mass index and diameter of saphenofemoral junction and great saphenous vein. //Indian J. Vasc. Endovasc. Surg. -2021.-№8.-P.58.
117. Prochaska J. H., Arnold N., Falcke A. et al. Chronic venous insufficiency, cardiovascular disease, and mortality: a population study//European Heart Journal. - 2021. - 42(40). – P. 4157-4165.
118. Qu Y. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and risk of neovascular age related macular degeneration in a Chinese cohort // Ophthalmic Res. –2016. –Vol. 45 . – P. 142-148. <https://doi:10.1159/000319543>
119. Quintero-Fabián S., Arreola R., Becerril-Villanueva E. et al. Role of matrix metalloproteinases in angiogenesis and cancer. //Front Oncol. –2019. – № 9. – P.1370
120. Rabe E., Berboth G., Pannier F.. Epidemiologie der chronischen Venenkrankheiten [Epidemiology of chronic venous diseases]. //Wien Med Wochenschr. – 2016. - 166(9-10). P.260-263. German. <https://doi:10.1007/s10354-016-0465-y>
121. Radhakrishnan N. Chapter 5–The pathophysiology of varicose veins of the lower limb. In: Radhakrishnan N., editor. Genesis, Pathophysiology and Management of Venous and Lymphatic Disorders. Academic Press; London, UK/. –2022. –P. 95–137.
122. Raffetto J. D., Khali, R. A. Pathophysiology of chronic venous disease: genetic, molecular, and biochemical mechanisms. //Venous Ulcers. – 2023. – №23. – P.3-17
123. Raffetto J.D. Pathophysiology of Chronic venous disease and venous ulcers // Surg Clin North Am. - 2018. - № 98(2). - P.337– 347. <https://doi:10.1016/j.suc.2017.11.002>.
124. Raffetto J.D., Khalil R.A. Mechanisms of Lower Extremity Vein Dysfunction in Chronic Venous Disease and Implications in Management of

Varicose Veins. //Vessel Plus. – 2021. - №5 . – P.36. doi: 10.20517/2574-1209.2021.16.

125. Raffetto J.D., Ligi D., Maniscalco R., Khalil R.A. et al. Why Venous Leg Ulcers Have Difficulty Healing: Overview on Pathophysiology, Clinical Consequences, and Treatment. //J. Clin. Med. –2020. – №10. – P.29. <https://doi: 10.3390/jcm10010029>

126. Raju S., Knepper J., May C. et al. Ambulatory venous pressure, air plethysmography, and the role of calf venous pump in chronic venous disease. // J. Vasc. Surg. Venous Lymphat. Disord. – 2019. – №7. – P.428–440. <https://doi: 10.1016/j.jvsv.2018.08.009>.

127. Raju S., Knepper J., May C., et al. Ambulatory venous pressure, air plethysmography, and the role of calf venous pump in chronic venous disease. J.//Vasc. Surg. Venous Lymphat. Disord. – 2019. – №7. – P.428–440. <https://doi: 10.1016/j.jvsv.2018.08.009>

128. Ropacka-Lesiak M., Bręborowicz G.H., Kasperczak J. Risk factors for the development of venous insufficiency of the lower limbs during pregnancy--part 1. //Ginekol. Pol. –2017. – Vol.83. – P.939–942.

129. Saberianpour S., Modagheh M.H.S., Rahimi H. Role of mechanosignaling on pathology of varicose vein. //Biophys. Rev. –2021. – №13. – P.139–145. <https://doi: 10.1007/s12551-021-00783-z>.

130. Sachdev U. Suppressed networks of inflammatory mediators characterize chronic venous insufficiency// J Vasc Surg Venous Lymphat Disord. –2018. – №6(3). – P.358-366

131. Salim S., Machin M., Patterson B. O. et al. Global Epidemiology of Chronic Venous Disease: A Systematic Review With Pooled Prevalence Analysis.//Annals of surgery. –2021. – Vol.274(6). – P.971–976. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000004631>

132. Santler B., Goerge T. Chronic venous insufficiency—A review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. //JDDG J. Dtsch. Soc. Dermatol. - 2017.-№15. P.538–556. doi: 10.1111/ddg.13242
133. Sen C.K. Human Wound and Its Burden: Updated 2020 Compendium of Estimates. //Adv. Wound Care. –2021. – №10. – P.281–292. <https://doi: 10.1089/wound.2021.0026>.
134. Serra R., Bracale U.M., Chilà C. al. Clinical and Pathological Correlations in Chronic Venous Disease. //Ann. Vasc. Surg. – 2021. – Vol.78. – P.19–27. <https://doi: 10.1016/j.avsg.2021.06.041>.
135. Serra R., Gallelli L., Butrico L. et al. From varices to venous ulceration: The story of chronic venous disease described by metalloproteinases. // Int. Wound J. –2017. – №14. – P.233–240. <https://doi: 10.1111/iwj.12594>.
136. Serra R., Ielapi N., Barbetta A. et al. Chronic leg ulcers: The role of fibrosis, stem cells, and tissue regeneration. //Acta Phlebol. – 2019. – Vol.20. – P.61–66. <https://doi: 10.23736/S1593-232X.19.00438-7>.
137. Serra R., Ssempijja L., Provenzano M. Genetic biomarkers in chronic venous disease. //Biomark Med. –2020 №14(2). – P.:75-80. <https://doi: 10.2217/bmm-2019-0408>. Epub 2020 Feb 13. PMID: 32053001.
138. Serralheiro P., Novais A., Cairrão E. et al. Variability of MMP/TIMP and TGF-β1 Receptors throughout the Clinical Progression of Chronic Venous Disease //Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol.19. – P.6. <https://doi: 10.3390/ijms19010006>.
139. SerraR., Bracale U. M., Chilà C. et al. Clinical and Pathological Correlations in Chronic Venous Disease. //Annals of vascular surgery. – 2022. – Vol.78. – P.19–27. <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2021.06.041>
140. Shadrina A. S., Smetanina M. A., Sokolova E. A. Allele rs2010963 C of the VEGFA gene is associated with the decreased risk of primary varicose veins in ethnic Russians // *Phlebology*. – 2018. – Vol. 33, No. 1. – P. 27-35. <https://doi 10.1177/0268355516683611>.

141. Shadrina A., Tsepilov Y., Sokolova E., et al. Genome-wide association study in ethnic Russians suggests an association of the MHC class III genomic region with the risk of primary varicose veins//Gene. –2018. – Vol. 659. – P. 378-393.
142. Shadrina A., Voronina E., Smetanina M. et al. Polymorphisms in inflammation-related genes and the risk of primary varicose veins in ethnic Russians.//Immunologic research. –2018. – Vol.66(1). – P. 141–150. <https://doi.org/10.1007/s12026-017-8981-4>
143. Shadrina A.S., Sharapov S.Z., Shashkova T.I. Varicose veins of lower extremities:Insights from the first large-scale genetic study// PLoSGenet. -2019.- Vol.15. – P.42-51.
144. Shao Y., Saredy J., Yang W.Y. et al. Vascular Endothelial Cells and Innate Immunity. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. –2020. – Vol.40. – P.138–152. [https://doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314330](https://doi:10.1161/ATVBAHA.120.314330)
145. Shayo S.C., Kawade S., Ogiso K. Strategies to ameliorate endothelial dysfunction associated with metabolic syndrome, where are we? //Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev. – 2019. №13. – P.2164–2169. [https://doi: 10.1016/j.dsx.2019.05.005](https://doi:10.1016/j.dsx.2019.05.005).
146. Shevela A.I., Gavrilov K.A., Plotnikova E.Y. et al. Altered expression of the extracellular matrix related genes COL15A1, CHRDL2, EFEMP1, and TIMP1 in Varicose Veins. //Eur J Vasc Endovasc Surg. – 2020. – Vol.60. – P. 75-81.
147. Slonková V., Vašků A., & Vašků V. (). Polymorphisms in some proinflammatory genes (TNF α and β , IL-1 β , IL-6, ADAM17) in severe chronic venous disease. //Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology JEADV. – 2023. – Vol.37(3). – Vol. 590–597. <https://doi.org/10.1111/jdv.18770>
148. Smetanina M.A., Shevela A.I., Gavrilov K.A.The genetic constituent of varicose vein pathogenesis as a key for future treatment option

development. //Vessel Plus. – 2021. – №5. – P.19.
<https://dx.doi.org/10.20517/2574-1209.2021.17>

149. Spath P., Tisato V., Giancesini S. et al. The calendar of cytokines: Seasonal variation of circulating cytokines in chronic venous insufficiency // JRSM Cardiovasc Dis. –2017. – №6. – P.204-212.

150. Surendran S., Ramegowda K.S., Suresh A. et al. Arterialization and anomalous vein wall remodeling in varicose veins is associated with upregulated FoxC2-Dll4 pathway. //Lab. Investig. – 2016. – Vol.96. – P.399–408. [https://doi: 10.1038/labinvest.2015.167](https://doi:10.1038/labinvest.2015.167).

151. Tolu I., Durmaz M.S. Frequency and significance of perforating venous insufficiency in patients with chronic venous insufficiency of lower extremity // Eurasian J Med. –2018. – Vol.50(2). – P.99-104

152. Torres C. Flow cytometric characterization of the saphenous veins endothelial cells in patients with chronic venous disease and in patients undergoing bypass surgery: an exploratory study // Heart Vessels. – 2020. – Vol. 35 (1). – P. 1–13

153. Tsukanov Y.T., Nikolaichuk A.I. Orthostatic-loading-induced transient venous refluxes (day orthostatic loading test), and remedial effect of micronized purified flavonoid fraction in patients with telangiectasia and reticular vein. //Int Angiol. –2017. – №36. – №189-196.

154. Villalba N., Baby S., Yuan S.Y. The Endothelial Glycocalyx as a Double-Edged Sword in Microvascular Homeostasis and Pathogenesis. //Front. Cell Dev. Biol. – 2021. – №9. – P.711003. [https://doi: 10.3389/fcell.2021.711003](https://doi:10.3389/fcell.2021.711003).

155. Vlachopoulos C., Gravos A., Georgiopoulos G. et al. The effect of TNF – α antagonists on aortic stiffness and wave reflections: a meta- analysis. // Clin. Rheumatol. –2018. – Vol. 37(2). – P. 515–26

156. Vuylsteke M.E., Colman R., Thomis S. et al. An Epidemiological Survey of Venous Disease Among General Practitioner Attendees in Different

Geographical Regions on the Globe: The Final Results of the Vein Consult Program. //Angiology. – 2018.-69(9).-779-785. doi:10.1177/0003319718759834

157. Walsh S.N., Santa Cruz D.J. Lipodermatosclerosis: A clinicopathological study of 25 cases. //J Am Acad Dermatol. –2017.-62, p.1005–1012.

158. Wei J., Zhu H., Zhang Q. Prediction of Functional Genes in Primary Varicose Great Saphenous Veins Using the lncRNA-miRNA-mRNA Network. // Comput. Math. Methods Med. – 2022 – P.472-483. doi: 10.1155/2022/4722483.

159. Westby M.J., Dumville J.C., Stubbs N. et al. Protease activity as a prognostic factor for wound healing in venous leg ulcers //Cochrane Database Sys.Rev.–2018–№9.- P.128 - 141.

160. Xiaochun Liu. Factors related to the size of venous leg ulcers. A cross-sectional study // Medicine. – 2019. – vol. 98, №5. – P.1-6

161. Xu S., Jin T., Weng J. Endothelial Cells as a Key Cell Type for Innate Immunity: A Focused Review on RIG-I Signaling Pathway //Front. Immunol. 2022. – №13. – P.951-961. doi: 10.3389/fimmu.2022.951614.

162. Xu Y., Bei Y., Li Y., Chu H. Phenotypic and functional transformation in smooth muscle cells derived from varicose veins //J. Vasc. Surg. Venous Lymphat. Disord.–2017. – №5. – P.723–733. https://doi: 10.1016/j.jvsv.2017.04.009.

163. Yariev A. A., Boboev K. T. Association of VEGF-A gene rs2010963 polymorphism with the development of varicose veins of the lower extremities and phlebothrombosis // Современная наука: актуальные вопросы, достижения и инновации : Сборник статей XXVII Международной научно-практической конференции. В 2-х частях, Пенза, 05 ноября 2022 года. Vol. Часть 1. – Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022. – P. 168-169.

164. Yariev A. A.; Boboev K. T. Research of the Involvement of Rs2276109 Polymorphism of the Mmp-12 Gene in the Development of Varicose Vein Disease of the Lower Extremities and Deep Vein Thrombosis of the Lower Extremities // CAJMNS. –2021. – №2. – P. 200-205.

165. Yuan C., Ni L., Zhang C., Hu X., Wu X. Vascular calcification: New insights into endothelial cells // Microvasc. Res. –2021. –134. – P.104-105. doi: 10.1016/j.mvr.2020.104105.

166. Zhang C., Li H., Guo X. FOXC2-AS1 regulates phenotypic transition, proliferation and migration of human great saphenous vein smooth muscle cells //Biol. Res. – 2019 –52:59. doi: 10.1186/s40659-019-0266-z.

167. Zolotukhin I.A., Seliverstov E.I., Shevtsov Y.N. et al. Prevalence and risk factors for chronic venous disease in the general Russian population. //Eur J Vasc Endovasc Surg. –2017. – №54(6). – P.752–758. [https://doi: 10.1016/j.ejvs.2017.08.033](https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2017.08.033)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ВБНК** - варикозная болезнь нижних конечностей
- ВТЯ** – венозная трофическая язва
- МКБ-10** - Международная классификация болезней 10 пересмотра
- СПС** - сафено-поплитеальное соустье
- СФС** - сафено-фemorальное соустье
- ТАЭ** - телеангиэктазии (телеангиэктазы)
- ТГВ** - тромбоз глубоких вен
- ТГВНК** –тромбоз глубоких вен нижних конечностей
- ТПВНК** - тромбофлебит поверхностных вен
- ТЭЛА** - тромбоэмболия легочной артерии
- ХВН** - хроническая венозная недостаточность
- ХЗВ** - хронические заболевания вен
- СЕАР** (Clinical, Etiological, Anatomical, Pathophysiological) - классификация хронических заболеваний вен
- OR** – отношение шансов
- RR** – отношение рисков
- SNP** (single nucleotide polymorphism) - однонуклеотидный полиморфизм
- TNF- α** (Tumor necrosis factor) - фактор некроза опухоли — α
- VEGFA** (vascular endothelial growth factor) – фактор роста эндотелия сосудов
- MMP-9** – матриксная металлопротеиназа -9