

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
**«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»**
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России)

На правах рукописи

Камаев Алексей Андреевич

Влияние уровня матриксных металлопротеиназ и ионов магния на течение
варикозной болезни вен нижних конечностей.

14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинский наук,
профессор Калинин
Роман Евгеньевич

Рязань – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. Обзор литературы	10
1.1. Эпидемиология варикозной болезни вен нижних конечностей.....	10
1.2. Факторы риска и патогенез варикозного расширения вен нижних конечностей.....	11
1.3. Роль дисплазии соединительной ткани в развитии варикозной болезни.....	23
1.4. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии варикозной болезни.....	28
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования	35
2.1. Общая характеристика клинических наблюдений.....	35
2.2. Общая характеристика пациентов.....	36
2.3. Методы обследования.....	41
2.4. Методы определения концентрации ионов магния и матриксных металлопротеиназ.....	43
ГЛАВА 3. Результаты исследования	52
3.1. Биохимическая характеристика концентрации магния как показателя дисплазии соединительной ткани.....	52
3.2. Биохимическая характеристика матриксных металлопротеиназ и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ.....	61
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	90
ВЫВОДЫ	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	99

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВБВНК – варикозная болезнь вен нижних конечностей

ВТЭО – венозные тромбозэмболические осложнения

СЕАР – международная клиническая классификация хронических заболеваний вен

ХВН – хроническая венозная недостаточность

ХЗВ – хронические заболевания вен

ММП – матриксные металлопротеиназы

ТИМП – тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ

МТ-ММП – матриксные металлопротеиназы мембранного типа

Mg^{2+} – магний

Zn^{2+} – цинк

Ca^{2+} – кальций

K^{+} – калий

pH – водородный показатель

ГМК – гладкомышечные клетки

TGF β 1 – трансформирующий фактор роста фибробластов

TNF α – фактор некроза опухолей

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

IL - интерлейкин

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК – рибонуклеиновая кислота

TRPM - транзиторный рецепторный потенциалный канал ионов магния

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ВКМ – внеклеточный матрикс

ОП – оптическая плотность

ДСТ – дисплазия соединительной ткани

ПОЛ – перекисное окисление липидов

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

СТ – соединительная ткань

ННСТ – наследственные нарушения соединительной ткани

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

БПВ – большая подкожная вена

ПМК – пролапс митрального клапана

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГБУ РО ОККД – Государственное бюджетное учреждение Рязанской области
Областной клинический кардиологический диспансер

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Заболевания сердечно-сосудистой системы в настоящее время представляют собой одну из самых значимых медико-социальных проблем для населения: высокая распространенность, особенности клинического течения и последствия обуславливают снижение качества и продолжительности жизни человечества [8]. Варикозная болезнь вен нижних конечностей является одним из самых распространенных заболеваний периферических сосудов [47, 48, 186, 197]. Среди населения экономически развитых стран Европы и Северной Америки, варикозная болезнь встречается у 25-30% взрослого населения [148]. По данным ведущих российских флебологов [48, 27, 57, 68, 80, 84], хронической венозной недостаточностью, развивающейся на фоне ВБВНК, в нашей стране страдает более 35 млн. человек, у 15% из них зарегистрированы осложненные формы заболевания. Преимущественное поражение варикозной болезнью лиц трудоспособного возраста, постоянно прогрессирующее течение заболевания с развитием декомпенсированных форм ХВН – все это ведет к снижению качества жизни и инвалидизации пациентов [26, 83, 118, 129]. Также наблюдается постепенное омоложение данной патологии. В настоящее время у 10-15% школьников в возрасте 12-13 лет отмечают начальные признаки венозного рефлюкса [20].

Основное место в структуре венозной патологии, помимо варикозной болезни и развивающейся на ее фоне ХВН, занимают венозные тромбозы и их осложнения [74]. Венозные тромбоэмболические осложнения являются ведущей причиной смертности и инвалидизации населения в России, Европе и США с ежегодной частотой возникновения в популяции 1-3 случая на 1000 жителей. Среди причин летальности, ВТЭО занимают третье место, уступая только инфаркту миокарда и инсульту [62, 91, 116, 132, 140, 221]. Поэтому,

актуальность изучения проблемы заболеваний венозной системы крайне высока.

Как самостоятельное заболевание ВБВНК изучалась на протяжении ряда веков. Однако наиболее значимые аспекты данной патологии были раскрыты в течение последних десятилетий лет, когда, по сути, была создана новая медицинская специальность «клиническая флебология» [59]. Но, несмотря на достигнутые успехи в лечении и диагностике больных с ВБВНК, сохраняется много нерешенных проблем как теоретического, так и практического характера. Приходится констатировать, что до сих пор много неясного остается в этиопатогенезе ВБВНК, который, по сути, представлен определенным набором факторов риска, приоритетность и значимость которых может быть различна. До сих пор не существует универсальной теории патогенеза ВБВНК. Не в полной мере изучены морфофункциональные изменения, происходящие в стенке вены при ее варикозной трансформации. Также приходится отмечать, что до сих пор не разработана надежная программа профилактики ВБВНК.

Несколько лет назад была впервые высказана мысль об участии особых матричных ферментов — металлопротеиназ в развитии варикозной трансформации подкожных вен. В настоящее время принято рассматривать ХВН как относительно самостоятельное патологическое состояние, основной причиной которого является инициированный венозным стазом каскад патологических изменений на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях [7, 25, 74].

Также, согласно современным представлениям варикозное расширение вен относится к группе наследственных заболеваний, связанных непосредственно с нарушением синтеза или деградации волокнистых структур соединительной ткани, происходящих в эмбриональном и постнатальном периодах жизни. В конце XX века впервые предложили обозначать данную патологию термином "дисплазия соединительной ткани".

Поэтому проведение исследований, направленных на выяснение роли дисплазии соединительной ткани и матричных металлопротеиназ в патогенезе и клиническом течении варикозной болезни, представляется крайне актуальным.

Цель исследования

Определение концентрации матричных металлопротеиназ и уровня ионов магния как показателя дисплазии соединительной ткани у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей для улучшения результатов лечения, оптимизации прогнозирования и диагностики данной патологии.

Задачи исследования

1. Оценить и сравнить концентрации матричных металлопротеиназ (ММП-1, ММП-9), тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (ТИМП-1), ионов магния (Mg^{2+}) у пациентов с варикозной болезнью и здоровых добровольцев.
2. Оценить изменение концентрации матричных металлопротеиназ на фоне лечения варикозной болезни нижних конечностей.
3. Оценить связи между концентрацией матричных металлопротеиназ, тканевым ингибитором металлопротеиназы-1, ионами магния и тяжестью варикозной болезни вен нижних конечностей.
4. Оценить влияние приема препаратов Mg^{2+} на течение варикозной болезни вен нижних конечностей.

Методы исследования

В исследование включили 124 пациента с ВБВНК классов С2-С6 (СЕАР), которых разделили на 4 группы. В I-й группе проводили

оперативное лечение с последующим назначением стандартного консервативного лечения (32 человека); во II-й группе после операции в дополнение к консервативному лечению назначали препараты магния (32 человека); в III-й группе проводили консервативное лечение без операции (30 человек); в IV-й группе пациенты получали стандартное консервативное лечение и препараты магния (30 человек). V-ю контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев, не страдающих варикозной болезнью. У всех пациентов определяли концентрацию ММП-9, ММП-1 и ТИМП-1 в сыворотке крови методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа. Концентрацию Mg^{2+} определяли колориметрическим методом.

Научная новизна

Впервые произведена комплексная биохимическая оценка маркеров дисплазии соединительной ткани (ионов магния, матриксных металлопротеиназ, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ) у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей. Также произведен анализ влияния препаратов магния в лечении данной патологии.

Научно-практическая значимость работы

1. Изучение изменения концентрации матриксных металлопротеиназ, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ, ионов магния, позволило расширить представления о некоторых звеньях патогенеза варикозной болезни нижних конечностей.

2. Отмечена важность динамического равновесия концентрации матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в развитии и прогрессировании варикозной болезни и необходимость коррекции его нарушений.

3. Подтверждена целесообразность применения препаратов магния у больных с ВБВНК на всех стадиях ХВН, в том числе и у больных, перенесших флебэктомию, с позиции влияния их на уровень матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов.

Положения, выносимые на защиту

1. Изменение концентрации матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов является важным звеном в развитии и прогрессировании варикозной болезни и их первостепенная коррекция лежит в основе улучшения эффективности лечения больных с данной патологией.

2. Применение препаратов магния оказывает положительное влияние на дисплазию соединительной ткани, снижает уровень матриксных металлопротеиназ.

3. Необходима исходная оценка уровня матриксных металлопротеиназ и ионов магния, их возможная коррекция в комплексном лечении пациентов с ВБВНК.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

1.1. Эпидемиология варикозной болезни вен нижних конечностей

Варикозная болезнь вен нижних конечностей – полиэтиологическое заболевание, в патогенезе которого имеют место особенности образа жизни, наследственность, нарушения гормонального статуса, ожирение, а также беременность. Заболевание проявляется варикозной трансформацией подкожных вен нижних конечностей с постепенным развитием синдрома хронической венозной недостаточности [74].

В настоящее время существует множество эпидемиологических исследований, посвященных ВБВНК, в которых подтверждаются различные факторы, которые играют важную роль в патогенезе ВБВНК.

Влияние образа жизни отмечается в исследовании, проведенном R. Beaglehole и соавт. [98] в 1996 г. Малоподвижный образ жизни, работа в положении сидя, потребление мучных и мясных блюд в ущерб растительной пище – сопутствуют развитию хронических заболеваний вен.

Множество известных исследований подтверждают взаимосвязь развития ВБВНК с женским полом. [109, 145, 196]. Схожие результаты наблюдаются и в России. Эпидемиологическое исследование, проведенное в 2004 году в Москве, продемонстрировало, что 67,5% женщин и 50,4% мужчин нашей страны страдают хроническим заболеванием вен нижних конечностей [26]. Исследование, проведенное в другом регионе Российской Федерации (Камчатка) продемонстрировало схожую ситуацию: ХВН чаще отмечалась у женщин (67,5%), чем у мужчин (41,3%) [34]. Важную роль в развитии ХВН играет возраст пациентов. Наиболее наглядно это подтверждают Эдинбургское венозное исследование (Edinburgh Vein Study) [122], Фремингемское венозное исследование (Framingham Vein Study) [106]. В некоторых исследованиях отмечается связь ВБВНК с этническими

различиями. Исследования, проведенные в Сан Диего, свидетельствуют о частом поражении данной патологией европейцев по сравнению с темнокожими и выходцами из Азии [117]. В большинстве известных исследований подтверждается достоверная связь развития ХЗВ с наследственной предрасположенностью, а также важную роль отводят беременности и родам, как провоцирующим факторам возникновения ВБВНК [92, 136, 192, 200].

Резюмируя представленное выше, следует согласиться с мнением И.А. Золотухина и соавт. (2016) [22], что, несмотря на кажущуюся изученность проблемы, разнородность известных на сегодняшний день данных не позволяет говорить о точных оценках эпидемиологии ХЗВ и требуется дальнейшее изучение данного вопроса.

1.2. Факторы риска и патогенез варикозного расширения вен нижних конечностей

В настоящее время не существует универсальной теории патогенеза ВБВНК. Это относится как макрогемодинамическим, так и микроциркуляторным изменениям. В литературе представлен целый ряд патогенетически значимых факторов, играющих определенную роль в развитии данного заболевания [84]. При этом их значимость и приоритетность оценивается неоднозначно [3]. Так, одни исследователи рассматривают ВБВНК, прежде всего, как наследственное, генетически обусловленное заболевание [88, 146], связывая возникновение варикозной трансформации со слабостью мышечных и эластических волокон сосудистой стенки [82], что в свою очередь может приводить к расширению просвета, изменению формы и консистенции вены [41]. Приверженцы теории «клапанной недостаточности» считают, что к развитию ВБВНК приводит отсутствие или недоразвитие венозных клапанов [13, 150]. Однако, несмотря на некоторые разногласия в оценке пусковых механизмах развития

варикозной болезни нижних конечностей, большинство исследователей в настоящее время являются сторонниками полиэтиологической теории заболевания [27, 57, 138, 169, 173, 174, 178].

Большинство авторов признают влияние патологического вено-венозного рефлюкса и венозной гипертензии, приводящих к затруднению венозного оттока и способствующих варикозной трансформации венозной стенки [67, 209, 216]. ВБВНК проявляется, прежде всего, в венах нижних конечностей, поэтому очевидна ее связь с прямохождением. Она не встречается у животных, а человеку присуще это заболевание в связи с циркуляцией большего объема крови ниже уровня сердца во время активной жизнедеятельности [13]. Факторы риска развития первичной ВБВНК, в отличие от вторичного варикоза, где ведущую роль играют последствия тромбоза глубоких вен, многочисленны и неоднородны. Исследователи их делят на предрасполагающие и производящие [11]. Предрасполагающие факторы риска варикозной болезни носят врожденный характер, они, как правило, не подлежат коррекции, и являются тем фоном, на котором при определенных условиях развивается варикозная трансформация. К особенностям анатомо-физиологического строения, играющим определенную роль в развитии ВБВНК, относят уровень редукции первичной венозной сети [15], вертикальное положение тела, отдаленность нижних конечностей от сердца, сравнительно небольшое количество клапанов в венах, действие на вены достаточно высокого гидростатического давления, внефасциальное расположение подкожных вен [3].

Результаты проведенных исследований европейских ученых показали, что наследственность, как фактор риска развития ВБВНК, выявлена у 38% обследованных по материнской линии, 8% – по отцовской и 6% – по обоим родителям [191]. Одним из основных контраргументов наличия генетической предрасположенности является различная частота появления варикозной болезни у этнических африканцев и их соплеменников, эмигрировавших в США и страны Западной Европы. При этом по сравнению с оседлыми

соплеменниками, частота ВБВНК, у которых не превышает 0,5%, у эмигрантов отмечается достоверный прирост заболеваемости 10-20%. В связи с этим очевиден вывод о превалировании в патогенезе ВБВНК факторов окружающей среды, особенностей образа жизни и питания [106, 118, 122]. Наследственная несостоятельность клапанного аппарата вен нижних конечностей приводит к тому, что с развитием варикозной трансформации относительная недостаточность клапанов увеличивается и сопровождается их деформацией [6], а затем и разрушением клапанных створок в процессе флебосклероза [4]. К разрешающим относят те факторы риска, которые способствуют развитию заболевания и приобретаются человеком на протяжении жизни, их патофизиологическая роль связана с развитием местной гиперволемии, венозной гипертензии или снижением тонуса венозной стенки [179, 205, 207]. К этим факторам относят наличие профессии или образа жизни, связанных с длительным пребыванием на ногах, беременность, дисгормональные нарушения и др. [2, 102, 172, 198]. С высоким риском ВБВНК связаны профессии парикмахера, хирурга, учителя, продавца, курьера, для них характерно систематическое длительное пребывание в ортостазе [27]. Застой крови в глубоких венах нижних конечностей в этом случае вызывает их дилатацию, приводящую к функциональной недостаточности клапанов коммуникантных вен, вследствие чего сброс крови в подкожные вены их растягивает и удлиняет [29]. Важным иницирующим фактором развития варикозной болезни является повышение внутрибрюшного давления, которое возникает при подъеме тяжестей, кашле, чиханье, хронических запорах, приводящие к длительному повышению внутрибрюшного давления, что служит причиной возникновения ретроградного кровотока из нижней полой вены в вены нижних конечностей. Ретроградный кровоток и обусловленная им гипертензия являются непосредственными причинами патологических изменений вен нижних конечностей при ВБВНК [9].

Доказанным фактором риска варикозной болезни является ожирение,

при этом увеличение индекса массы тела до 27 кг/м^2 и выше ведет к увеличению частоты заболевания на 33%. Нейроэндокринные перестройки в организме возрастного или патологического характера (половое созревание, беременность, послеродовой период, климакс) влияют на состояние вен нижних конечностей [42]. В эти периоды жизни женщины происходит изменение обменных процессов и перестройка гормональной системы, что влияет на состояние сосудистой стенки и может происходить манифестация варикозной болезни [28]. Кроме того, высокая частота ВБВНК у беременных объясняется возникновением в период гестации множества предрасполагающих факторов, к которым относится увеличение массы циркулирующей крови и минутного объема сердца с повышением венозного давления и замедлением скорости кровотока в нижних конечностях [80], гормональная перестройка организма, изменения микроциркуляции и гемостаза [19, 107]. Рассмотрев данные касающиеся факторов риска развития ВБВНК, можно утверждать, что среди них не выявлено ни одного имеющего абсолютное значение. Это позволяет подтвердить предположение о полиэтиологичности данного заболевания, причем конкретный набор факторов риска может отличаться у различных группах пациентов. Не случайно, что в современной литературе приводятся самые различные гипотезы о развитии ВБВНК: наследственное детерминированное заболевание [13], «расплата за прямохождение» [33], последствия гипертензии в системе нижней полой вене [67], «патология венозного возврата» [80].

Безусловно, патогенез ВБВНК сложен, многогранен, и также неоднозначно оценивается различными исследователями, прежде всего это касается пусковых механизмов развития гемодинамически значимых нарушений венозного оттока, а также последовательности возникновения патофизиологических изменений, приводящих к формированию ХВН [66, 95, 100]. Одной из основных гипотез развития ВБВНК считается флебогипертензия, приводящая к растяжению стенок поверхностных вен, в

том числе и глубоких, и возникновению функциональной клапанной недостаточности в поверхностных венозных магистральных, прежде всего остиального клапана (вертикальный рефлюкс–кровоток) и/или недостаточность перфорантных вен (горизонтальный рефлюкс) [74]. Возникновение ВБВНК, по мнению Л.В. Полуэктова [49], можно представить как результат несоответствия воздействия венозного давления на стенки сосуда и их противодействия этому давлению. При этом врожденная слабость мышечного слоя стенки вены, недоразвитие или поражение клапанов подкожных вен под влиянием ортостатического воздействия и физических нагрузок способствует их дилатации, приводит к стойкому расширению просвета вен, а присоединяющаяся функциональная несостоятельность клапанов магистральных подкожных вен становится причиной возникновения в пораженной конечности патологических кругов венозного кровообращения [53, 58, 85]. Избыточная нагрузка в таких условиях ложится на глубокие, а затем и на перфорантные вены, что приводит к их вовлечению в патологический процесс. Одну из ключевых ролей в патофизиологии гемодинамических нарушений играют перфорантные вены внутренней поверхности голени (вены Кокетта), однако достаточно часто можно наблюдать патологический рефлюкс крови и через другие коммуникантные вены голени и бедра [74]. Вопрос о роли венозной гипертензии в развитии ВБВНК продолжает обсуждаться в литературе, при этом ряд авторов считают, что гипертензия может инициировать клинические проявления венозной недостаточности [6,32]. По мнению В.Ю. Богачева и соавт. (2008) с развитием недостаточности клапанов в перфорантных венах высокое давление, генерируемое в мышечных синусах и глубокой венозной системе, передается на поверхностные вены и микроциркуляторное русло кожи. В связи с этим отмечается, что основной гемодинамической характеристикой хронических заболеваний вен служит динамическая флебогипертензия (высокий уровень венозного давления в состоянии ортостаза), которая сохраняется длительное время [170]. Отличное

мнение о значимости венозной гипертензии в патогенезе ВБВНК высказывает П.Г. Швальб (2009) [80], ссылаясь на исследования Думпе Э.П. (1982) [19], наличие венозной гипертензии не подтверждается данными изменения давления и не коррелирует со степенью венозной недостаточности; при измерении венозного давления по общепринятой методике, как у здоровых лиц, так и у больных определяется его прямая зависимость от показателей роста субъекта. При повышенном внутрисосудистом давлении в здоровых венах происходит гипертрофия их стенки, но не дилатация, что можно подтвердить по результатам наблюдения за венами использованными в артериальных реконструкциях. Определяя ремоделирование русла системы нижней полой вены в виде «патологического венозного континуума» при венозной недостаточности, П.Г. Швальб (2009) [80] выделяет две формы его возникновения и формирования: диспластически-дегенеративная и тромботическая.

Диспластически-дегенеративные изменения характерны именно для ВБВНК и приводят к потере вязкоэластических свойств стенки вен, возникновению последующей гиперволемии и ремоделированию венозной системы от узловатых расширений самой вены до развития ХВН. Рассматривая патогенез ВБВНК, становится ясно, что анализ патофизиологических и морфологических изменений, происходящих в стенке вены при ВБВНК, не возможен без описания некоторых особенностей венозного кровообращения в венах нижних конечностей. Известно, что венозная стенка, как артериальная, имеет три оболочки (интима, медиа, адвентиция) при этом по мнению Б.И. Ткаченко (1979) [69] их разграничение является достаточно условным. Структура стенки в отдельных венах, и даже в различных участках одной и той же вены может быть изменчивой. Большинство исследователей к интиме относят эндотелий, субэндотелиальный слой и внутреннюю эластическую мембрану, к медию – мышечный слой. По результатам исследования В.Н. Ванкова (1974) [10] в венах нижних конечностей преимущественно развит циркулярный

мышечный слой, за счет которого обеспечивается сосудистый тонус и вазомоторные реакции. При этом в подкожных венах хорошо развиты продольные гладкомышечные слои во всех трех оболочках [60]. Наружная оболочка вены (адвентиция) представляет собой соединительнотканый каркас за счет переплетения эластических и коллагеновых волокон, не резко переходящий без четкой границы в соединительнотканые структуры окружающих тканей [70]. При этом вазомоторные реакции вен не играют решающей роли в транспортировке крови против силы тяжести, а большее значение играет внешняя компрессия, создаваемая окружающими тканями, прежде всего скелетной мускулатурой [46], что характерно прежде всего для глубоких вен. Существует ряд особенностей строения вен и венозного кровообращения, которые имеют значение в развитии варикозной болезни [105, 114, 115, 120]. По мнению Б.И. Ткаченко и С.А. Поленова (1992) [70], наиболее важными отличиями венозных сосудов от артериальных являются: наличие клапанов; меньшее соотношение толщины стенки к диаметру; значительная зависимость модуля упругости от степени растяжения; резкое изменение ширины просвета и емкости при небольших изменениях венозного давления; выраженное влияние экстравазального давления на кровоток. С этих позиций, рассматривая патогенез ВБВНК, можно предположить, что при наличии комплекса факторов риска развития венозного застоя и/или венозной гипертензии в венах таза и нижних конечностей, происходит возникновение рефлюкс кровотока чаще вертикального [56], вследствие дилатации просвета и функциональной клапанной недостаточности. В этих условиях происходит гипертрофия мышечного слоя вены, что, по мнению И.К. Есиповой (1971) [44], связано с реакцией Бейлиса-Остроумова (сокращение стенок вены в ответ на растяжение просвета) при этом наблюдается врастанием мышечного слоя в интиму и даже с парадоксальным сегментарным сужением просвета. В условиях хронического венозного застоя и асептического воспаления происходит развитие флебодистрофии. А.П. Авцын (1979) [1] выделяет 3

стадии их развития: 1–я стадия – эндофлебогипертрофии, характеризуется пролиферацией эластических коллагеновых и мышечных волокон, в которой участвуют ретикулиновые волокна, а также гликопротеины базальной мембраны. Этот процесс не относится к сфере патологического и не сопровождается клеточными инфильтратами и отложением жировых субстанций, толщина интимы вен в этой стадии может достигать толщины их меди; 2–я стадия – дезорганизации, в образовавшемся местном утолщении интимы наступают значительные изменения в расположении мышечных, соединительных и эластических волокнах; 3–я стадия – эндофлебосклероза, наступает в более пожилом возрасте и характеризуется регрессивными изменениями, в частности базофилией и вакуолизацией основного вещества, распадом и исчезновением эластических волокон, замещением их коллагеновыми. Подобные изменения в венах могут иметь инволютивный характер и наблюдаться у лиц пожилого возраста. При развитии ВБВНК можно проследить полную аналогию в механизме развития процессов, однако это происходит в более молодом возрасте и характеризуется быстро прогрессирующим течением, что приводится в целом ряде публикаций [9, 15]. Патологические механизмы, лежащие в основе развития варикозного расширения вен нижних конечностей, связаны с изменениями гемодинамической силы воздействия на стенку вены, в том числе напряжения сдвига и давления, что в последующем вызывает ремоделирование стенки и венозных клапанов [163, 170]. Основой патологической гемодинамики при ВБВНК являются нарушения основных структур венозной стенки [78], а с точки зрения биомеханики, поражаемая флебосклерозом вена не в состоянии удерживать даже нормальное гидростатическое давление [79], что и обуславливает дальнейшее прогрессирование болезни. Дальнейшая дилатация новых участков вен способствует развитию на уже большем протяжении клапанной недостаточности и патологических рефлюкс кровотоков, а далее вовлекаются в процесс коммуникантные вены, депонируются значительные объемы

крови, нарушается работа мышечно-венозной помпы, поражаются глубокие вены и их клапаны. Сочетание этих процессов порождает, так называемые «порочные круги», о чем свидетельствует течение заболевания [39, 66, 73].

Рассматривая нарушения основных структур венозной стенки при ВБВНК следует отметить, что эти данные не смотря на свою многочисленность в определенной мере не однозначны, прежде всего это связано с тем, что зачастую они проводились без четкой корреляции с клиническим проявлением заболевания (давность, степень выраженности, стадия ХВН и т.д.), факторами риска, возрастными и гендерными особенностями изучаемой группы. При этом нет однозначного ответа на основной вопрос, какие изменения в стенке вены при ВБВНК являются врожденными, какие связаны с процессом старения, а какие с варикозной трансформацией вен. Не существует единого мнения на изменения венозной стенки при варикозной болезни, противоречивы сведения о концентрации и расположении соединительной ткани при данном заболевании. При гистологическом изучении стенки варикозной вены выявлены разнообразные изменения: неравномерное утолщение интимы, фиброз интимы и адвентиции [94], атрофия или утолщение отдельных волокон 26 коллагена [108, 187] и дезорганизация мышечных слоев [176], гипертрофия стенки вены с повышенным содержанием коллагена и нарушением упорядоченности гладкомышечных клеток и эластичных волокон [101], нарушением архитектоники гладкой мускулатуры и эластических волокон [87]. Более заметными данные изменения становятся на поздних стадиях заболевания, причем в некоторых образцах были выявлены дестабилизация и фрагментация внутренней мембраны, а наличие соединительной ткани также было отмечено между гладкомышечными клетками во внутреннем и медиальном слоях стенки большой подкожной вены [142]. Было выявлено два вида расположения гладкомышечных клеток в стенке вены: плотное и свободное [172]. При плотном расположении ГМК интимно прилежали друг к другу, а при свободном – между ГМК наблюдали пространство из-за

гиперпролиферации соединительной ткани. Свободное расположение гладкомышечных клеток наблюдается чаще всего на поздних стадиях заболевания [142]. Выявлена неоднородность повреждения стенки при варикозном расширении: гипертрофические сегменты могут чередоваться с более тонкими атрофическими сегментами с меньшим количеством гладкомышечных клеток и снижением внеклеточного матрикса [76]. Деградация внеклеточного протеинового матрикса обусловлена действием множества протеолитических ферментов, в том числе матричных металлопротеиназ и сериновых протеиназ, которые производятся клетками сосудов и воспалительными клетками такими как макрофаги [101]. Также отмечено, что при ВБВНК в стенке сосуда выявляется повышенная экспрессия ММП-1 и ММП-9, которые были неравномерно распределены в пределах венозной стенки [96, 223]. Недавние исследования свидетельствуют о клеточной инфильтрации стенок венозных сосудов при ВБВНК моноцитами и макрофагами [189, 202] связывая это с тем, что венозная гипертензия вызывает лейкоцитарный и эндотелиальный воспалительный каскад при помощи механизма, который сочетает в себе гипоксию венозной стенки и замедление кровотока [125, 164]. Этот механизм индуцирует экспрессию адгезии лейкоцитов, что приводит к инфильтрации стенок вен и клапанов мононуклеарными клетками (моноцитами и тучными клетками), отвечающими за производство факторов роста, в том числе трансформацию фактора роста $\beta 1$. TGF $\beta 1$ является важным модулятором ММП/ТИМП баланса и участвует в регуляции клеточного апоптоза и пролиферации, также, является ключевым элементом в ремоделировании сосудов [104, 141, 166, 168, 171, 175, 213]. Andreotti L. с соавторами (1978) [93] обнаружили значительное уменьшение эластина в стенке вены и повышение общего сахара. Предлагая, что первичный дефект в коллагене и эластине, поддерживающих эндотелий снаружи, способствует снижению сопротивления стенки вены внутрипросветному давлению и, вероятно, приводит к дилатации. Результаты работы исследователей Rose S.S., Ahmed

А. (1986) [180] показали, что стенки варикозно расширенных вен имеют более высокое содержание коллагена, в то время как Travers, J.P. et al., (1992) [208] не обнаружили различий в соотношении коллагена между контролем и варикозным расширением вен. Изучение эндотелия варикозных вен с помощью электронной микроскопии показало, что эндотелиальный слой большой подкожной вены при ВБВНК имел морщинистую структуру и инвагинации, при этом данные изменения были более выраженными в области дистального отдела [150]. По мнению Becker С., Zijistra J.A (2001) [99] активация эндотелия инициирует появление медиаторов воспаления, что ведет к притоку, адгезии и активации полиморфно-ядерных нейтрофилов и тромбоцитов. Наиболее очевидные нарушения как морфологического, так и функционального характера происходят в меди, прежде всего в гладкомышечных клетках стенок вен [144].

При ультраструктурных и гистологических исследованиях у больных с ХЗВ отмечается гипертрофия стенки варикозных вен с увеличением количества коллагена, а также одновременным нарушением архитектоники гладкомышечных клеток и эластиновых волокон. Исследования стенок варикозных вен показали, что заметные изменения в сосудах первоначально появляются в экстрацеллюлярном матриксе в виде дисбаланса между типами коллагена I и III [97]. Отмечено, что нарушенный синтез коллагена приводит к перепроизводству коллагена типа I и сниженному синтезу коллагена типа III. Высказывается предположение, что коллаген типа I придает жесткость, а коллаген типа III – растяжимость, что может способствовать слабости и снижению эластичности стенки при варикозном расширении вен [183]. Последующие наиболее очевидные нарушения в стенках вен как морфологические, так и функциональные происходят в гладкомышечных клетках, при этом со временем их цитоскелет подвергается реорганизации [103] с клеточной инфильтрацией стенок венозных сосудов моноцитами и макрофагами [201]. При этом исходом данных изменений является флебосклероз, выявляемые поражения наружного слоя свидетельствует о

распространении процесса снаружи внутрь. При этом сообщается, что снижение эластичности вен вследствие склероза обнаружено не только в конечностях с явным проявлением заболевания, но и в тех конечностях, которые не имеют варикозно расширенных вен, но при высоком риске развития данного заболевания [128]. Выраженные морфологические изменения в стенке вены при ВБВНК приводят к значительным нарушениям ее свойств и функций, поскольку страдают и опорные, и упругоэластические структуры. Дилатированная вена становится плотной, ригидной, мало восприимчивой к экстравазальным воздействиям поражение гладкомышечных клеток приводят к нарушениям спонтанной сократимости венозной стенки, что нашло подтверждение в ряде работ посвященной этой проблеме [81]. Таким образом, ВБВНК является не только заболеванием стенок вен, но и ведущим признаком патологической венозной гемодинамики, которая охватывает поверхностную, но и не редко глубокую венозную систему.

Деградация протеинов, формирующих внеклеточный матрикс, происходит в результате воздействия протеолитических ферментов, синтезируемых эндотелиоцитами и макрофагами, в первую очередь, матриксных металлопротеиназ. При этом обнаруживается увеличение уровня цитокинов, в частности трансформирующего фактора роста фибробластов. Взаимодействие протеолитических энзимов, их ингибиторов и цитокинов позволяет понять механизм изменений в стенке варикозных вен, где обнаруживают большое количество мастоцитов, ферменты которых активируют ММП, разрушающие внеклеточный матрикс. Даже при отсутствии рефлюкса венозный стаз вызывает формирование на поверхности эндотелия зон с низкой или нулевой силой сдвига, что приводит к структурным изменениям венозной стенки. Все эти события, возможно, инициируют воспалительные реакции с участием лейкоцитов и эндотелиоцитов с последующими патологическими изменениями в венозной стенке и клапанах. Косвенным подтверждением участия лейкоцитов в

процессе варикозной трансформации может служить их обнаружение в венозной стенке при гистохимических исследованиях [206, 214, 215, 218]. При ВБВНК наблюдается дисбаланс между ММП и их тканевыми ингибиторами в сочетании с прерыванием коллагеновых волокон, потерей эластина, а также пролиферацией, реорганизацией и миграцией гладкомышечных клеток в интиму. В стенках варикозно расширенных вен гладкомышечные клетки теряют дифференцировку и способность к взаимодействию. Все эти феномены вносят вклад в дилатацию вен, релаксацию стенки и потерю венозного тонуса. Описанные процессы в стенке вены могут являться пусковым моментом повреждения эндотелия, в результате чего запускается эндотелиальная и лейкоцитарная активация, являющаяся стартовой точкой венозного воспаления. Повторные эпизоды воспаления в эндотелии приводят к хроническому рецидивирующему повреждению венозной стенки, что поддерживает воспалительное состояние на уровне вены. Наряду с этим в анализах крови из вен нижних конечностей обнаруживают свободные радикалы и активированные лейкоциты, количество которых непосредственно связано со стадией заболевания. Синтез ММП и ТИМП происходит у всех пациентов в зоне нарушенной трофики. Их соотношение и роль в патологическом процессе до конца не ясны. Синтез ММП увеличивается в результате стаза крови. Непосредственно вокруг трофической язвы синтезируется ММП-9, а в самих, обычно не заживающих венозных трофических язвах обнаружены ММП-1 и ММП-8.

1.3. Роль дисплазии соединительной ткани в развитии варикозной болезни

Предрасполагающие факторы риска ВБВНК носят врожденный характер, они, как правило, не подлежат коррекции, и являются тем фоном, на котором при определенных условиях развивается варикозная

трансформация. Среди них следует выделить наследственные особенности строения соединительной ткани стенки вен [12, 37, 77, 182, 189]. Наследственная дисплазия соединительной ткани отмечается у значительного числа пациентов с ВБВНК. В связи с этим у 70% больных ВБВНК сочетается с грыжами различной локализации, геморроем, деформациями позвоночника и конечностей, плоскостопием, близорукостью и др. [50].

Дисплазия соединительной ткани – распространенное патологическое состояние, которое включает различные фенотипические и висцеральные проявления, характеризуется особенностями метаболизма и может быть фоном для развития воспалительных, аутоиммунных, дегенеративных изменений в различных органах [21, 43].

В данный момент дисплазия соединительной ткани рассматривается как нарушение структуры соединительной ткани в эмбриональный и постнатальный периоды, первопричиной которого является генетически измененный фибриллогенез внеклеточного матрикса, который в последствие ведет к нарушению гомеостаза на тканевом, органном, организменном уровнях [65]. Соединительная ткань представляет собой совокупность различных видов тканей, объединенных общим происхождением и строением. Образуя опорный каркас (скелет), связки, сухожилия, хрящи, строму органов, наружные покровы, а также формируя внутреннюю среду организма, через которую осуществляется получение питательных веществ структурными элементами и отдача продуктов метаболизма, она составляет около 50 % всей массы тела. Соединительная ткань подразделяется на собственно соединительную ткань, костную и хрящевую. Собственно соединительная ткань, в свою очередь, делится на волокнистую ткань и соединительные ткани, обладающую определенными свойствами. Волокнистая соединительная ткань, учитывая наличие в ней волокнистых структур подразделяется на рыхлую и плотную. В плотной соединительной ткани преобладают волокнистые структуры и прежде всего коллагеновые

волокна. Делится на оформленную и неоформленную, в зависимости от ориентации в пространстве коллагеновых волокон. Рыхлая соединительная ткань состоит из клеток и межклеточного вещества. К клеточным элементам рыхлой соединительной ткани относятся плазмоциты, фибробласты, адипоциты, макрофаги, пигментоциты, тканевые базофилы, клетки адвентиция, а также лейкоциты, которые мигрируют из крови. К соединительным тканям со специальными свойствами относятся жировая, слизистая, пигментная и ретикулярная ткани [18].

По данным Т.И. Кадуриной (2000), ДСТ – это полисистемная и полиорганная патология с проградентным течением, в основе которой лежит генетический дефект синтеза или/и катаболизма компонентов внеклеточного матрикса [24]. В биохимическом аспекте высокая степень организованности и упорядоченности межклеточного матрикса выражается специфическими количественными соотношениями образующих его биополимеров. Представляет интерес изучение механизмов гомеостаза магния, который оказывает серьезное влияние на компоненты внеклеточного матрикса. Среди катионов, присутствующих в организме человека, ион магния находится на четвертом месте по распространенности (после калия, натрия и кальция). Магний необходим для адгезии и миграции клеток, транскрипции ДНК, стабильности РНК, энергетического метаболизма, белкового синтеза. Магний является коферментом более чем в трехстах белковых структурах. В организме человека 90% магниевых ионов концентрируется внутри клеток в форме Mg^{2+} -АТФазы (50% в цитозоле, 30% в митохондриях и 10% в ядре) и лишь 10% всего находится вне клеток [192]. Биодоступность магния в организме регулируется рядом генов, среди которых наиболее важны TRPM6 и TRPM7. Белок TRPM6 является ионным потенциальным каналом, отвечающим за транспорт двухвалентных катионов магния. Происходит специфическое взаимодействие TRPM6 с другим магнием-проницаемым каналом — TRPM7, что приводит к сборке функциональных комплексов TRPM6/TRPM7 на поверхности клетки [17].

Мутации в TRPM6 могут приводить к гипомагниемии и вторичной гипокальциемии [113]. TRPM7 ответственен за дефицит магния, связанный с эмоциональным стрессом под действием катехоламинов [188].

В литературном обзоре Wang Z. [219] достаточно детально и убедительно представлена роль дефицита магния в формировании недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Клинико-морфологические проявления синдрома ДСТ весьма разнообразны, сопровождаются изменениями со стороны костного скелета (деформация грудной клетки, опорно-двигательного аппарата – склонность к подвывихам, плоскостопие, сколиоз позвоночника, непропорционально длинные конечности), мышечной ткани (предрасположенность к бронхолегочной, васкулярной патологии и нарушениям функции ЖКТ), нервной ткани и сердечно-сосудистой системы. По результатам исследований, выявлено, что у животных с дефицитом магния увеличивается чувствительность к оксидативному стрессу, чувствительность тканей к окислению, что сопровождается увеличением продуктов перекисного окисления липидов, накопление которых способствует раннему «старению» клеток (в частности эндотелиальные клетки). Ионы магния в организме необходимы для стабилизации некодирующих РНК, и в этом заключается основной эффект воздействия магния на любую ткань. Снижение концентрации магния ведет к увеличению количества дисфункциональных молекул тРНК, тем самым замедляя и снижая общую скорость белкового синтеза. Помимо тРНК магний также стабилизирует небольшие ядерные РНК [16]. Таким образом, дефицит магния в соединительной ткани постепенно ведет к снижению синтеза всех структурных молекул (включая протеогликаны, гликозаминогликаны, коллагены и эластин). Так как синтез структурных молекул, чрезвычайно необходимых для регенерации и восстановления соединительной ткани, тормозится, то процессы восстановления также замедляются, и, в дальнейшем, это приводит к ухудшению механических свойств ткани.

По данным исследования W.J. Van Venrooij, отмечается, что применяя препараты сульфата магния и оротата магния в лечении пациентов с острым инфарктом миокарда, тормозится повреждение миокарда. Отмечается возрастание максимальных уровней ММП-1 и интерлейкина-6 в крови пациентов при остром инфаркте миокарда, но на фоне магний-терапии данные уровни остаются на сравнительно низком уровне. Увеличение концентрации интерлейкина-6 может приводить к возрастанию общей активности ММП-1, ведя к повреждению тканей, в то время как увеличение концентрации Mg^{2+} в сыворотке крови уменьшает уровни интерлейкина-6 и ММП-1 [212].

Таким образом, пониженное содержание магния в организме приводит к усилению суммарной активности ММП и, тем самым, более агрессивной деградации коллагеновых волокон, что в дальнейшем ведет к снижению механической прочности соединительной ткани.

Эксперименты на животных подтверждают влияние магния на биологическую активность ММП. Было выполнено сравнение толщины стенки аорты у мышей, которым искусственно создавали дефицит магния, и группой контроля. Отмечается истончение стенки аорты у мышей с дефицитом магния по сравнению с животными контрольной группы. Также данные изменения коррелировали с повышением общей активности ММП-2 и ММП-9 [210].

Pages N. и соавт. предполагают, что эффект магния в снижении активности ММП-2 блокируется двумя тирозинкиназными ингибиторами – генистеином и гербимицином. Таким образом, существует определенный сигнальный внутриклеточный каскад, через который внеклеточный магний способен снижать выработку ММП посредством тирозинкиназы [167]. Добавление фолиевой диеты и солей магния снижает секрецию ММП-2 [131].

Рассматривая вышеуказанные данные, можно предположить, что дефицит ионов магния должен, вероятно, приводить к повышению

активности матричных металлопротеиназ, которые начинают разрушать структурные компоненты ВКМ (особенно коллаген) с более высокой скоростью. По всей видимости, существует определенный сигнальный каскад, через который происходит данное воздействие магния. Также пока нельзя исключать аллостерические взаимодействия магния с ММП или возможность прямого ингибирования ионами магния различных ММП путем конкурентного связывания двухвалентных катионов в активном центре.

1.4. Роль матричных металлопротеиназ в развитии варикозной болезни

Ремоделирование (то есть деградация или протеолиз) коллагеновых волокон ВКМ осуществляется посредством матричных металлопротеиназ. Активность различных ММП имеет чрезвычайно широкий спектр биологических последствий, так как они участвуют в деградации большинства компонентов внеклеточного матрикса: коллагены базальной мембраны и интерстициальные коллагены, декорин, фибронекти, протеогликаны, фибромодулин и т.д. [110, 224]. В сохранении металлопротеиназ в латентной форме и предотвращении их избыточной активации существенную роль играют тканевые ингибиторы металлопротеиназ. Для нормального протекания процессов реорганизации внеклеточного матрикса необходимо сохранение равновесия между активностью металлопротеиназ и их ингибиторов [45, 151].

Матричные металлопротеиназы принадлежат к семейству Zn^{2+} - и Ca^{2+} -зависимых эндопептидаз, которые принимают участие в ремоделировании соединительной ткани путем разрушения ее органических компонентов при физиологических значениях pH. Свое название ММП получили за способность специфически гидролизовать основные белки межклеточного матрикса [75].

Структура всех ММП представляет собой каталитический домен, который имеет координационные связи с шарнирным регионом и катионом цинка каталитического центра. В каталитический домене имеются два иона Zn^{2+} и четыре иона Ca^{2+} . Также в состав ММП входят пропептидный участок, при отщеплении которого ММП активируется и сигнальный пептид, необходимый для успешной секреции из клетки (рис. 1).

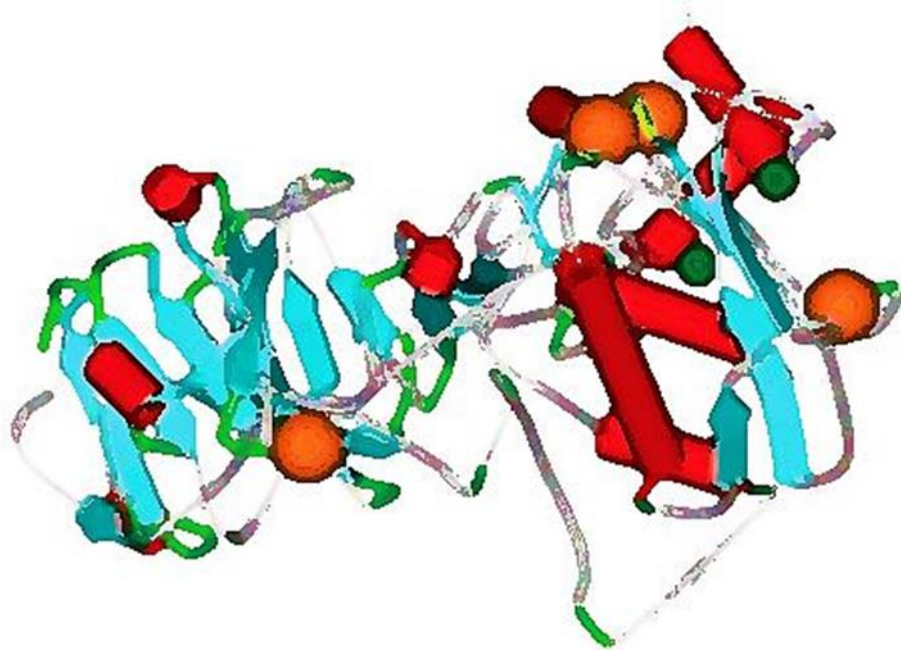


Рис. 1. Трехмерная структура профермента ММП1 человека.

Глобула состоит из двух структурных доменов, N-концевого каталитического (справа) и C-концевого регулирующего (слева). C-концевой домен определяет субстратную специфичность протеиназы, а также взаимодействует с ТИМП белками (ингибиторами ММП). Четыре иона Ca^{2+} (большие оранжевые сферы) и два иона Zn^{2+} (малые зеленые сферы) необходимы для катализа и стабилизации глобулы ММП.

Во всех ферментах, кроме ММП-7, имеется гемопексинподобный концевой домен, в котором содержится центр связывания субстрата. У желатиназ ММП-2 и ММП-9 имеются определенные особенности в строении: существует дополнительный участок активации в каталитическом домене, схожий с фибронектином 2-го типа, за счет которого, по всей

видимости, обеспечивается повышенное сродство желатиназ к мембранным компонентам [161]. Классификация ММП представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Классификация матриксных металлопротеиназ.

Фермент (название)	Аббревиатура (ММП)	Субстрат, с которым происходит взаимодействие
I. ММП секреторного типа (свободные, классические, растворимые)		
1. Коллагеназы		
Коллагеназа внутренних органов	ММП-1	Коллаген I, II, III, VII, X типов, желатин, ММП-2, -9
Коллагеназа нейтрофилов	ММП-8	Коллаген I, II, III, V, VII, X типов, желатин
Коллагеназа 3	ММП-13	Коллаген I, II, III, IV типов, желатин, фибронектин, ламинин
2. Желатиназы		
Желатиназа А	ММП-2	Желатин, коллаген I, IV, V, VII, X, XI типа, фибронектин, ламинин, эластин
Желатиназа В	ММП-9	Желатин, коллаген III, IV, V, VII, X типа, эластин, витронектин
3. Стромелизины		
Стромелизин-1	ММП-3	Коллаген III, IV, V, IX, X типа, желатин, фибронетин, ламинин, теназин, ММП-1, -7, -8, -9, -13
Стромелизин-2	ММП-10	Коллаген III, IV, V, IX типа, желатин, фибронетин, ламинин, казеин, ММП-1, -8
Стромелизин-3	ММП-11	Коллаген IV, желатин, фибронектин,

		ламинин, α 1-антипротеаза, инсулиноподобный ростовой факторсвязующий протеин-1
II. ММП, связанные с клеточными мембранами (MT-ММП)		
MT-1	ММП-14	Коллаген I, II, III типа, желатин, фибронектин, ламинин, витронектин, протеогликаны, активирует про-ММП- 2 и про-ММП-13
MT-2	ММП-15	Активирует про-ММП-2
MT-3	ММП-16	Активирует про-ММП-2
MT-4	ММП-17	Активирует про-ММП-2
MT-5	ММП-24	Активирует про-ММП-2
MT-6	ММП-35	Желатинолитическая активность
III. ММП неклассифицированные (не относящиеся к известным подсемействам)		
	ММП-12	Агрекан, фибропектин, ламинин и коллагеназа IV типа
	ММП-19	Желатин, тенаскин, ламинин, агрекан, коллагеназа IV типа, нидоген
Энамилизин	ММП-20	Амелогенин
	ММП-21	Неизвестен
	ММП-22	Неизвестен
	ММП-23А	Неизвестен
	ММП-23В	Неизвестен
	ММП-27	Неизвестен
	ММП-28	Неизвестен

У всех ММП имеется относительная субстратная специфичность: коллагеназы отвечают за деградацию коллагена I, II и III типа, желатиназы и

стромелизины участвуют в разрушении коллагена IV, V типов, а также эластина, фибронектина, ламинина и желатина. Существует множество нематричных компонентов, которые также могут являться субстратами для ММП: фибрин, казеин, предшественники цитокинов, фибронектин, корпротеин, плазминоген. ММП-8, -12, -13, -14 инактивируют фактор свертывания XII, а ММП-1, -2, -3, -9 – интерлейкин IL-1 β [64].

ММП-1 – тканевый фермент, способный атаковать спиральную область полностью нативного коллагена I, II и III типов. ММП-1 экспрессируется главным образом фибробластами и эндотелиальными клетками, но может продуцироваться также моноцитами, макрофагами, остеобластами, хондроцитами и некоторыми опухолевыми клетками. В настоящее время коллагеназу-1 (ММП-1), получившую свое название за возможность расщеплять коллаген I типа, принято называть интерстициальной коллагеназой, чтобы обозначить ее способность гидролизовать все три интерстициальных коллагена — I, II и III, которые существенно отличаются друг от друга. Также, данный фермент участвует в гидролизе минорных коллагенов VII и X типов и белках соединительнотканного матрикса: энтактин, казеин, аггрекан, 2 α -макроглобулин и синтетические субстраты, которые по своей последовательности соответствуют гидролизуемой области в коллагене и 2 α -макроглобулине [54, 135].

В отличие от коллагеназ желатиназы неспособны атаковать нативный коллаген. *In vitro* они интенсивно гидролизуют желатины, получаемые денатурацией коллагенов различных типов, в связи с чем и получили свое название. В тканях они отвечают за окончательную деградацию фрагментов коллагенов, выведенных из состава фибрилл благодаря атаке коллагеназ. В этот класс входят желатиназа-А (ММП-2) и желатиназа-В (ММП-9). Оба этих белка имеют 3 повтора фибронектина II типа, встроенного в каталитический домен. Они имеют схожий тип субстратной специфичности и кинетические характеристики: атакуют фрагменты коллагенов I, IV, V и XI типов, ламинин и аггрекан [147].

Субстратная специфичность не позволяет рассматривать желатиназы в качестве первичного индуктора разрушения коллагена, но они могут вносить вклад в длительное поддержание гиперактивности системы ММП в ткани за счет деградации ингибиторов и первичных мессенджеров, участвующих в регуляции этого состояния [23].

Главным источником желатиназы-B (ММП-9) являются нейтрофилы и в меньшей степени моноциты и макрофаги. ММП-9 может быть обнаружена в макрофагах и нейтрофилах, а также в хондроцитах, фибробластах и Т-лимфоцитах после стимуляции их онкогенами и цитокинами, а также в инфицированных клетках. ММП-9 обладает сродством к денатурированному коллагену (желатину), а также может разрушать нативные коллагены VI, V и XI типов, эластин и субстанцию P, IL-8, активирующий пептид соединительной ткани III, амилоидный пептид β , тромбоцитарный фактор-4. Учитывая место деградации этих молекул, ММП-9 способна как уменьшать, так и увеличивать их биологическую активность [112, 139, 158, 159, 160, 193].

Уровень экспрессии генов и присутствие активаторов и ингибиторов определяет активность ферментов. Так как ММП относятся к субстратным ферментам, экспрессия которых зависит от ряда факторов (цитокины, стероидные и тиреоидные гормоны, факторы роста, химические агенты и др.). К исключению можно отнести ММП-2, транскрипция которой идет по конститутивному пути. Данные отличия в регуляции транскрипции можно объяснить различиями в строении промоторов ММП. На посттрансляционном уровне регуляция работы ферментов будет осуществляться активацией зимогенов или взаимодействием с тканевыми ингибиторами ММП [211].

Активация предшественников ММП происходит в межклеточной среде посредством плазмина и других протеиназ, в том числе и ММП, а также тиолмодифицирующими агентами (N-этималеимид, 4-

аминофенилмеркуриевый ацетат и HgCl₂). Низкая кислотность, гипертермия и ПОЛ также способны активировать металлопротеазы.

Главная функция ММП в организме состоит в разрушении и удалении компонентов ВКМ. С помощью металлопротеаз происходит регуляция действия ростовых факторов: эпителиального фактора роста, сосудистого эндотелиального фактора роста, инсулиноподобного фактора роста и рецептора фактора роста фибробластов [217]. ММП-2, -3, -9 участвуют в активации трансформирующего фактора роста β [199].

Продукция металлопротеаз происходит с помощью нормальных или трансформированных клеток: моноциты, нейтрофилы, кератиноцитами, остеокласты, макрофаги, хондроциты, фибробласты, эндотелиальными и эпителиальными клетками. Экспериментальная модель дефицита ММП-9 на мышцах подтвердила, что данная ММП является основным регулятором ангиогенеза и апоптоза гипертрофированных хондроцитов [157, 185, 220].

Дегградация межклеточного матрикса крайне необходима для осуществления различных физиологических процессов: ангиогенеза, эмбриогенеза, морфогенеза, адгезии, инволюции и миграции ткани и др. Нарушение процессов дегградации ММП может приводить к развитию различных патологических состояний.

ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования

2.1. Общая характеристика клинических наблюдений

Диссертационная работа выполнена на базе кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (зав. кафедрой д.м.н., проф. Р.Е. Калинин).

По методологическим соображениям критериями исключения больных из исследования явились состояния, способные оказать влияние на течение ВБВНК и ХВН, а также на концентрацию матриксных металлопротеиназ:

- перенесенный в прошлом тромбофлебит подкожных вен нижних конечностей;
- тромбоз глубоких вен нижних конечностей;
- облитерирующие заболевания аорты, артерий таза и нижних конечностей;
- ишемическая болезнь сердца, ОНМК в анамнезе
- сахарный диабет
- операции и манипуляции на подкожных венах нижних конечностей (кроссэктомия, флебэктомия, радиочастотная или лазерная абляция вен, склеротерапия и т. д.);
- инфекционно-воспалительные заболевания мягких тканей нижних конечностей.

В исследование вошли 124 пациента с варикозной болезнью нижних конечностей и 20 здоровых добровольцев (не страдающих варикозной болезнью). Диагнозы формулировались на основании классификации CEAP.

Участники исследования проходили обследование и лечение в стационаре отделения сосудистой хирургии ГБУ РО ОККД. При поступлении в стационар всем больным проводился сбор анамнеза, осмотр, общеклинические и специальные методы исследования (функциональные пробы, ультразвуковое исследование).

2.2 Общая характеристика пациентов

В исследование включили 124 пациента с ВБВНК классов С2-С6, которых разделили на 4 группы. В I-й группе проводили оперативное лечение с последующим назначением стандартного консервативного лечения (32 человека); во II-й группе после операции в дополнение к консервативному лечению назначали препараты магния (32 человека); в III-й группе проводили консервативное лечение без операции (30 человек); в IV-й группе пациенты получали стандартное консервативное лечение и препараты магния (30 человек). V-ю контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев, не страдающих варикозной болезнью. Исследование носило не интервенционный характер, выбор варианта лечения определялся лечащим врачом с учётом возможностей и желания пациента. Группы были сопоставимы по возрасту, полу, давности ВБВНК, сопутствующим заболеваниям.

Пациенты с варикозной болезнью, включенные в исследование (I-й и II-й группы), были госпитализированы в отделение сосудистой хирургии с сентября 2014 по декабрь 2015 года для выполнения плановой флебэктомии по медицинским показаниям, согласно современным представлениям, закрепленным в Российских клинических рекомендациях по диагностике и лечению хронических заболеваний вен (2013): «Наличие рефлюкса крови в поверхностных вен у больных с классами С2 – С6».

На момент осмотра все больные предъявляли жалобы, характерные для пациентов варикозной болезнью и ХВН. У 73 пациентов (58,8%) основные жалобы были связаны с наличием у них варикозного симптомокомплекса на нижних конечностях. В 48 наблюдениях (38,7%) варикозное расширение вен сопровождалось стойкими или транзиторными отеками нижних конечностей. У 22 больных (17,7%) отмечены трофические изменения мягких тканей в виде индурации, липодерматосклероза в нижней трети голени. И у 30 пациентов (24,2%) отмечались тяжелые трофические нарушения, такие как

открытая или зажившая язва. Общая характеристика групп пациентов представлена в таблице 2.

Таблица 2.

Общая характеристика групп пациентов.

Группы	N	Клинический класс (СЕАР)	Возраст, лет	Длит. забол.	Пол (абс. ч./%)	
					Муж.	Жен.
I. Опер.	32	C2-C3:18 чел. C4: 6 чел. C5-C6: 8 чел.	41,1±7,2	10,1±3,2	13 (40,6%)	19 (59,4%)
II. Опер. + Mg ²⁺	32	C2-C3:18 чел. C4: 6 чел. C5-C6:8 чел.	45,2±9,3	11,1±2,7	14 (43,8%)	18 (56,2%)
III. Консерв.	30	C2-C3:18 чел. C4: 5 чел. C5-C6: 7 чел.	48,7±8,7	7,6±1,5	13 (43,3%)	17 (56,7%)
IV. Консерв. + Mg ²⁺	30	C2-C3:18 чел. C4:5 чел. C5-C6:7 чел.	43,1±9,4	7,2±4,3	12 (40%)	18 (60%)
V. Контрольная	20	-	44,1±6,2	-	8 (40%)	12 (60%)

Возраст больных включенных в исследование колебался в пределах от 25 до 63 лет (в среднем 44,2±5,6 лет). Длительность заболевания в I и II группах была несколько выше - 10,1±3,2 и 11,1±2,7 лет, чем в III и IV - 7,6±1,5 и 7,2±4,3 г. соответственно, но статистически значимо не отличались ($p < 0,05$) (рис.2).

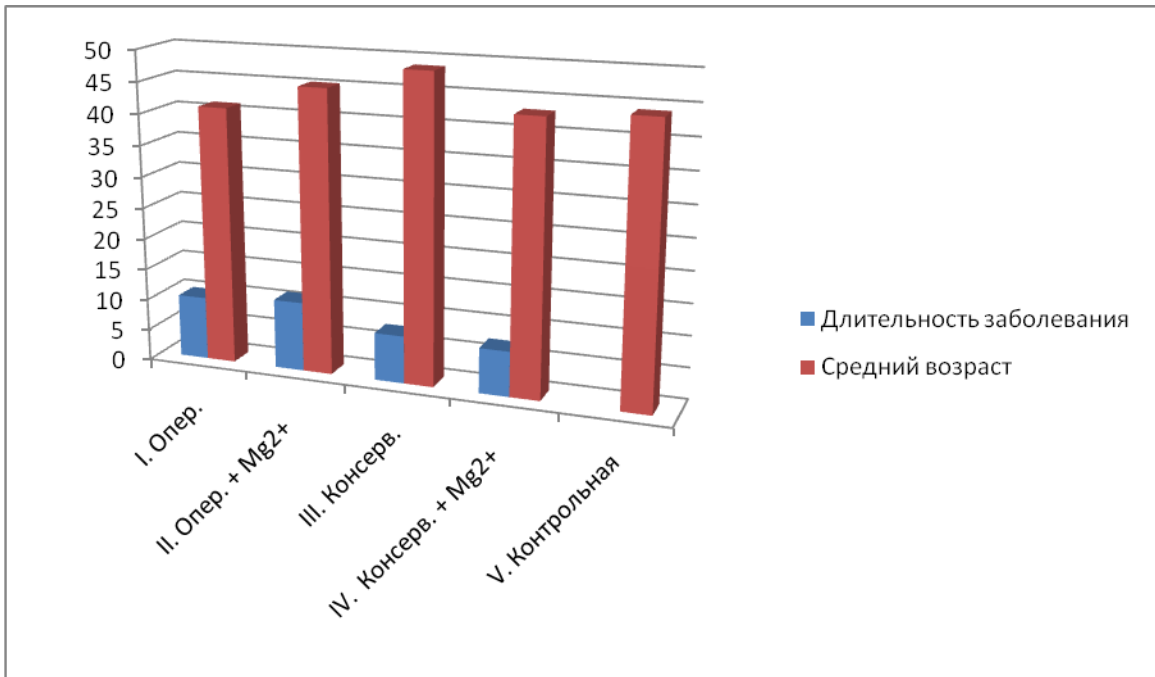


Рис. 2. Распределение пациентов по возрасту и длительности заболевания.

Большинство исследованных пациентов были лицами женского пола (84 наблюдения – 58,3%), при этом соотношение между мужчинами и женщинами составило приблизительно 2:3 (рис. 3).

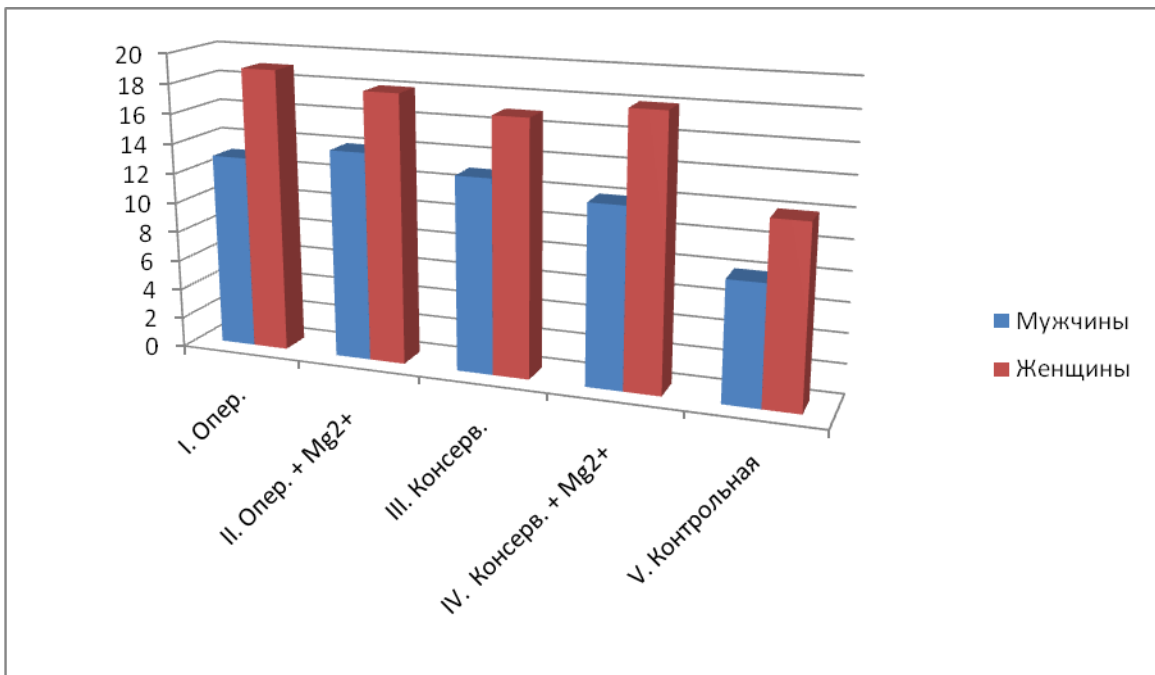


Рис. 3. Распределение пациентов по полу.

При анализе данных полученных у больных установлено, что важнейшими факторами риска явились наследственность, особенности профессии и образа жизни, кроме того у женщин беременность, роды, климакс. Наследственная предрасположенность к заболеванию ВБВНК установлена у 103 больных (83,1%): у 61 из 72 лиц женского пола и у 42 из 52 мужчин, чаще передаваемая по материнской линии.

Наиболее часто встречающимся сопутствующим состоянием, свидетельствующем о изменениях в строении соединительной ткани, было плоскостопие, встретившееся у 62,5% женщин (45 из 72) и у 57,7% мужчин (30 из 52). Геморроем страдали 12 больных (9,7%), грыжи передней брюшной стенки выявлены у 4 больных (3,2%).

У 27 женщин в анамнезе имелись сведения об одних родах, у 34 – о 2-х, у 4 – о 3-х родах. Не рожавших женщин было всего лишь 7. С наступлением климакса связывали развитие варикозной болезни 35 женщин. На связь с профессией или образом жизни указали 95 пациентов (76,6%), 66 женщин и 29 мужчин. Наиболее часто (58 наблюдений) развитие ВБВНК связывали с длительными статическими нагрузками (продавцы, станочники, парикмахеры, хирурги, учителя и т. п.). В 25 наблюдениях работа и досуг пациентов были связаны с подъемом значительных тяжестей (грузчики, разнорабочие, спортсмены и т. п.). В 15 наблюдениях больные указывали на регулярные перегревания организма (повара, сталевары и т. п.).

В нашей работе мы старались выбирать исследуемых пациентов и добровольцев без варикозной болезни с наименьшей сопутствующей патологией, но с учетом возрастного состава, полностью избежать сопутствующих заболеваний не представлялось возможным. Из сопутствующих патологий встречалась гипертоническая болезнь 1-2 ст. (26 наблюдений – 18,1%). Ожирение выявлено у 21 исследуемого пациента (14,6%) – 16 женщин и 5 мужчин. У 22 больных (15,3%) наблюдали выраженные проявления деформирующего артроза тазобедренных суставов и

у 2-х – коленных, и флебэктомия у них являлась обязательным этапом подготовки больных к эндопротезированию суставов.

При осмотре 111 больных с ВБВНК (89,5%) отмечено поражение в бассейне большой подкожной вены, а у 13 (10,5%) – одномоментное поражение и большой, и малой подкожных вен.

Все пациентам I и II групп, включенным в исследование, проводилось оперативное вмешательство в виде классической флебэктомии. В качестве метода обезболивания в 42 наблюдениях применялась спинальная анестезия; в 22 – длительная эпидуральная блокада. Выбор метода обезболивания являлся прерогативой анестезиолога после осмотра больного и знакомства с результатами обследования, что согласовывалось с пациентом и оперирующим хирургом.

Отделение сосудистой хирургии ГБУ РО ОККД имеет определенные традиции в хирургической флебологии, начало которых в конце XX-го века положил П.Г. Швальб, длительное время возглавлявший нашу клинику. В соответствии с устоявшимися в клинике традициями и современными рекомендациями, объем и основные этапы хирургической операции по поводу ВБВНК соответствовали понятию «классическая флебэктомия» и включали в себя:

- приустьевую перевязку и пересечение ствола БПВ после разъединения и лигирования всех притоков (кроссэктомия);
- удаление ствола БПВ на всем протяжении при помощи зондов различной конструкции (тотальный стриппинг), либо удаление ствола БПВ на пораженном варикозной трансформацией участке (короткий стриппинг);
- удаление варикозно расширенных притоков по методике минифлебэктомии или через отдельные доступы;
- перевязка несостоятельных перфорантов вен выявленных при УЗИ исследовании;
- по показаниям перевязка и удаление ствола малой подкожной вены.

Общая продолжительность оперативного вмешательства составила более двух часов у 12 больных; менее двух часов – у 41; до одного часа – у 11 пациентов. Интраоперационных осложнений, связанных с техникой выполнения операции, не было. В раннем послеоперационном периоде в 4-х наблюдениях (6,3%) были осложнения местного характера и в 2-х наблюдениях отмечались головные боли, расцененные как ликвородинамические нарушения, связанные со спинальной анестезией, полностью купированные соответствующей терапией в течение 3-х суток. Нарушение чувствительной иннервации кожных покровов тыла стопы, описываемые как осложнения тотального стриппинга, выявленные в ходе тщательного обследования, были отмечены у 3 больных (4,7%).

После оперативного лечения в I и II группах, а также в III и IV группах (в которых пациенты отказались на данный момент от проведения оперативного лечения), пациенты получали консервативное лечение, которое длилось 3 месяца и включало компрессионную и флеботропную терапию в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению хронических заболеваний вен [55].

В качестве дополнительной консервативной терапии пациенты II и IV группы получали препараты магния в течение 3 месяцев (магний оротат 500 мг 2 таб. 3 раза в день первую неделю, далее по 1 таб. 3 раза в день).

2.3 Методы обследования

Комплексное обследование больных с ВБВНК включало в себя получение информации, касающейся прежде всего жалоб больных, данных анамнеза и тщательного физикального исследования. Особое внимание при объективном обследовании обращали на внешний вид конечности, оценивали цвет кожных покровов, наличие и локализацию варикозно-расширенных подкожных вен, телеангиэктазий, отеков участков гиперпигментации и индурации кожи голени. Для оценки состояния

поверхностных, глубоких и перфорантных вен проводили общепринятые функциональные пробы: выявление клапанной недостаточности поверхностных вен (проба Броди-Троянова-Трендленбурга), выявление и локализация недостаточных перфорантных (проба Барроу-Купера-Шейниса), выявление проходимости глубоких вен (проба Дельбе-Петерса).

Всем больным были выполнены рутинные клинико-лабораторные исследования крови и мочи. Биохимические исследования крови включали в себя исследование уровня белка, глюкозы, билирубина, креатинина и мочевины, холестерина. В исследование также входило определение группы крови, резус-фактора, маркеров вирусного гепатита и сифилиса.

Всем пациентам выполнялась флюорография легких. Из электрофизиологических методов исследования сердца выполнялась электрокардиограмма.

Для оценки состояния венозного русла производилось инструментальное обследование: ультразвуковое дуплексное ангиосканирование на аппаратах «Siemens Sonoline G60 S» и «Siemens Acuson Cypress». Данное обследование позволяло выявить:

1. Определение отсутствия или наличия рефлюкса в большой и малой подкожных венах, а также выявить его протяженность.
2. Определение состояния глубоких вен, подтвердить отсутствие патологического рефлюкса.
3. Установка локализацию перфорантных вен с клапанной недостаточностью.

Ультразвуковое исследование проводилось с помощью линейного датчика в вертикальном положении и горизонтальном положении. Исследование поверхностной венозной системы и перфорантных вен проводилось в положении стоя, глубокой венозной системы в положении лежа. Рефлюкс оценивался при помощи пробы Вальсавы и компрессионных проб. Патологическим считался рефлюкс более 0,5 сек. Главным признаком

несостоятельности перфорантных вен являлся ретроградный поток крови длительностью также более 0,5 сек.

По данным объективного осмотра и ультразвукового исследования делалось заключение об анатомическом варианте строения венозной системы у конкретного больного.

2.4 Определение концентрации матриксных металлопротеиназ и ионов магния

Всем 144 исследуемым пациентам на первом этапе исследования выполнялся забор крови. Исследовались образцы периферической крови, взятые утром, натощак. Цельную кровь центрифугировали в течение 15 минут на скорости 3000 об/мин. Полученную сыворотку без следов гемолиза (отделяли от эритроцитов) замораживали и хранили при температуре -20°C . Забор крови для определения уровня биохимических маркеров производили вначале исследования и в дальнейшем через 1, 3 и 6 месяцев после начала лечения у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

Определение концентрации Mg^{2+} проводили фотоколориметрическим методом с помощью набора «МАГНИЙ-ОЛЬВЕКС» (Ольвекс-Диагностикум, Россия). Оценивалась способность ионов магния образовывать с магоном (ксилидиловый синий) окрашенные комплексы малинового цвета. С помощью иммуноферментного анализатора Stat Fax 3200 («Awareness Technology, Inc.») при длине волны 540 нм определяли интенсивность окраски.

Проведение анализа:

Пробы приготавливались в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3.

Анализ концентрации магния в сыворотке крови.

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Калибровочн. проба	Контрольная (холостая) проба
Монореагент, мл	2,0	2,0	2,0
Сыворотка крови, мл	0,02		
Калибратор, мл		0,02	
Вода бидистиллированная, мл			0,02

В пробирки вместимостью 5,0 мл вносилось по 0,02 мл сыворотки крови. В отдельные пробирки вносилось по 0,02 мл калибратора (калибровочная проба) и бидистиллированной воды (холостая проба). Во все пробирки добавлялось по 2,0 мл Монореагента. Пробы тщательно перемешивали и инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре (+18-25°C). Проводили измерение оптической плотности калибровочной и опытной проб против контрольной (холостой) пробы при длине волны 540нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см. Далее производился расчет концентрации магния по формуле в соответствии с инструкцией набора.

Расчет концентрации магния:

Сыворотка крови (С, ммоль/л):

$$C = \frac{E \text{ пробы}}{E \text{ калибр.}} \times 0,82$$

где:

E пробы – оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

E калибр. – оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотн.;

0,82 – концентрация магния в калибраторе, ммоль/л.

Исследование выполнялось на базе кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Содержание ММП-1, ММП-9, ТИМП-1 в крови производили методом иммуноферментного анализа на ИФА–анализаторе Stat Fax 3200 («Awareness Technology, Inc.») с использованием иммуноферментного набора для

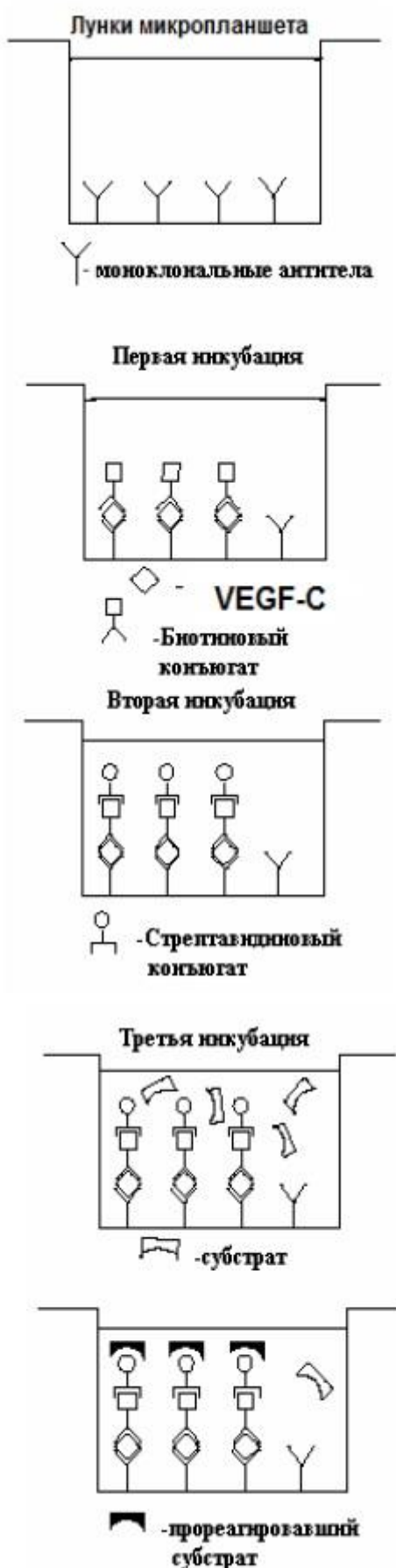
количественного *in vitro* определения матриксных металлопротеиназ в образцах сыворотки, плазмы крови и других биологических жидкостях, а также в лизатах клеток и супернатанте клеточных культур (AbFrontier human MMP-1 ELISA, Bender MedSystems human MMP-9 ELISA, Bender MedSystems human TIMP-9 ELISA).

Исследование выполнялось на базе ЦНИЛ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Реактивы:

- 96-луночный микропланшет, покрытый моноклональными антителами к человеческим MMP и TIMP;
- Поликлональные антитела к человеческим MMP и TIMP, конъюгированные с биотином;
- Конъюгат стрептавидин-HRP
- Стандарт человеческих MMP и TIMP, лиофилизированный
- Рабочий буфер, концентрат 20x (Фосфатно-солевой буфер, 1% Твин-20 и 10% БСА) – буфер для разведения образцов
- Буфер для промывок, концентрат 20x (Фосфатно-солевой буфер, 1% Твин-20)
- Субстратный раствор (тетраметилбензидин)
- Стоп-раствор (1М фосфорная кислота)

Принцип метода (рис.4):



Лунки микропланшета, поставляемого в наборе, покрыты специфическими поликлональными антителами к матриксным металлопротеиназам человека. Специфические детектирующие поликлональные антитела человека конъюгированы с биотином. Тестируемые образцы и биотинилированные антитела вносились в лунки микропланшета. MMP и TIMP, присутствующие в образцах, стандартах и контролях, внесенных в лунки микропланшета, связывались с антителами, адсорбированными в лунках. Антитела к MMP и TIMP, конъюгированные с биотином, связывали молекулы человеческой MMP и TIMP, захваченные первыми антителами. После инкубации и промывки из ячеек удалялся не связавшийся биотиновый конъюгат анти-MMP, и в ячейки добавлялся конъюгат стрептавидин-пероксидаза, связывающий биотин, конъюгированный с анти-MMP антителами. После инкубации и промывки из ячеек осуществлялось удаление не связавшегося стрептавидинового конъюгата. В ячейки добавлялся субстратный раствор, который взаимодействовал с ферментным комплексом с образованием окрашенного раствора.

Рис.4. Определение содержания MMP и TIMP в сыворотке крови.

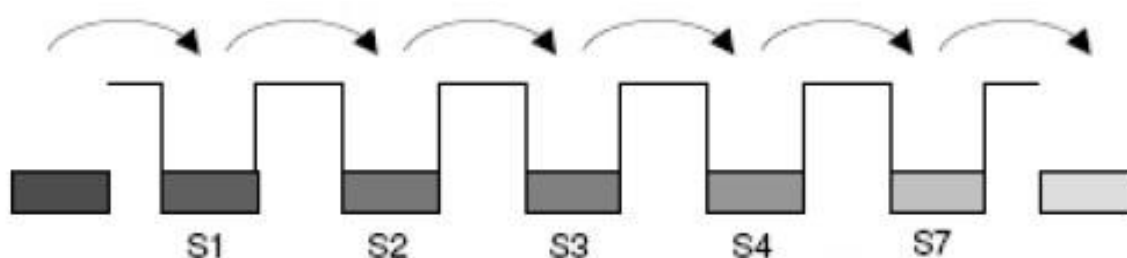
Ход определения:

Стандартные растворы ММП и ТИМП получали последовательным разведением стандартов до концентраций (рис.5):

ММП-1: 10 нг/мл, 5 нг/мл, 2,5 нг/мл, 1,25 нг/мл, 0,625 нг/мл, 0,313 нг/мл, 0,156 нг/мл.

ММП-9: 15 нг/мл, 7,5 нг/мл, 3,75 нг/мл, 1,88 нг/мл, 0,94 нг/мл, 0,47 нг/мл, 0,23 нг/мл.

ТИМП-1: 2500 нг/мл, 1250 нг/мл, 625 нг/мл, 313 нг/мл, 156 нг/мл, 78 нг/мл, 39 нг/мл



Растворенный
стандарт
ММП и ТИМП

Буфер для разведения образцов,
по 100 мкл

Удаляем
100 мкл

Рис. 5. Приготовление серийных разведений стандарта ММП и ТИМП в лунках микроплашета.

1. В соответствующие ячейки микропланшета для бланка вносили раствор с концентрацией ММП и ТИМП 0 нг/мл (буфер для разведения стандарта), в остальные 7 ячеек последовательно вносили стандарты полученных концентраций по 100 мкл каждого. В опытные ячейки вносили по 100 мкл исследуемой сыворотки крови пациентов.
2. Накрывали крышкой и инкубировали микропланшет при температуре 37°C в течение 90 минут, затем удаляли жидкость из лунок не промывая. Вносили в каждую из лунок по 100 мкл рабочего раствора биотинилированных антител к ММП и ТИМП человека и закрывали микропланшет с последующей инкубацией в течение 1 часа при 37°C.

3. Промывали лунки микропланшета 3 раза буфером для промывок, оставляя каждый раз промывающий буфер в лунках микропланшета 1 минуту.
4. Вносили во все лунки микропланшета по 100 мкл готового стрептавидин-HRP и инкубировали микропланшет 60 минут при комнатной температуре (18-25°C).
5. Затем промывали лунки (см.п.3) и вносили по 100 мкл субстратного раствора тетраметилбензидина и инкубировали микропланшет 10 минут при комнатной температуре (18-25°C) в темноте. Наблюдали за развитием окраски и субстратная реакция останавливалась (см.п.6) до того, как значение оптической плотности в положительных лунках превышало предел определения прибора.
6. Вносили по 100 мкл стоп-раствора во все лунки, чтобы полностью инактивировать фермент в лунках. Оптическую плотность считали немедленно после внесения стоп-реагента.
7. Определяли оптическую плотность всех лунок при 450 нм, используя длину волны сравнения 620 нм
8. Концентрацию ММП и ТИМП рассчитывали в нг/мл по калибровочной кривой, построенной по стандартным растворам (рис. 6, 7, 8)

Степень полученного окрашивания измеряли с помощью микропланшетного спектрофотометра при длине волны 450 нм. Концентрацию ММП и ТИМП в образцах определяли сравнением полученной ОП образцов с построенной калибровочной кривой. Данный метод обладает высокой специфичностью и чувствительностью для обнаружения ММП и ТИМП. Перекрестной реактивности или интерференции ММП и ТИМП не обнаружено.

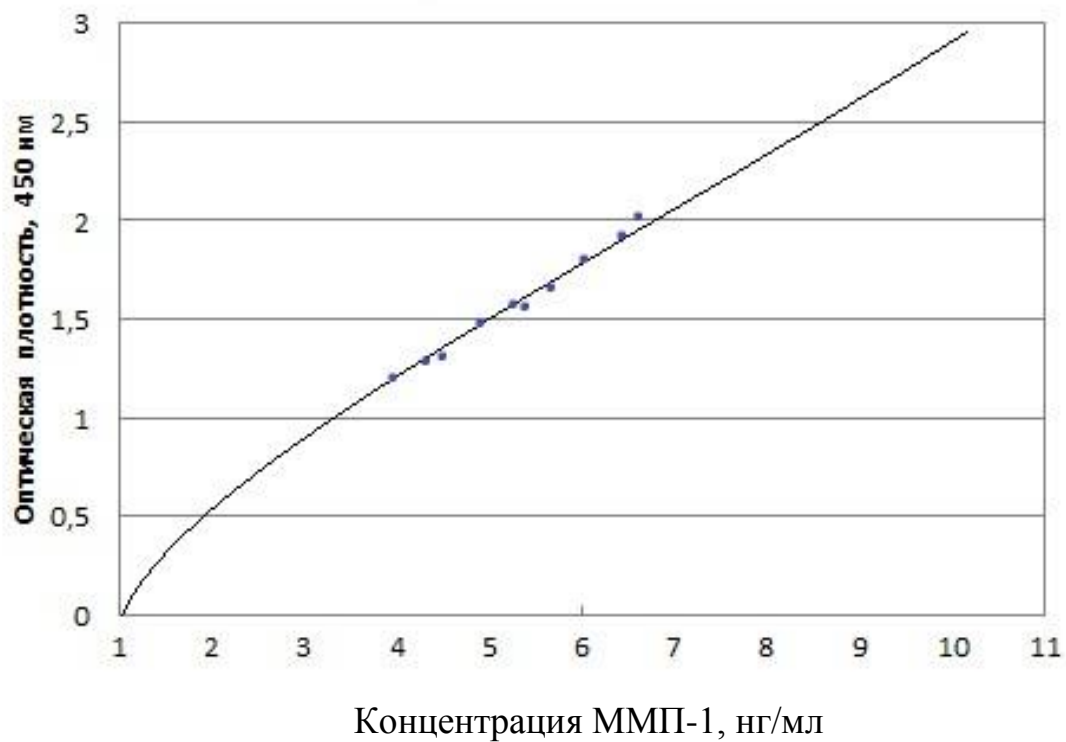


Рис. 6. Калибровочная кривая для определения концентрации ММП-1

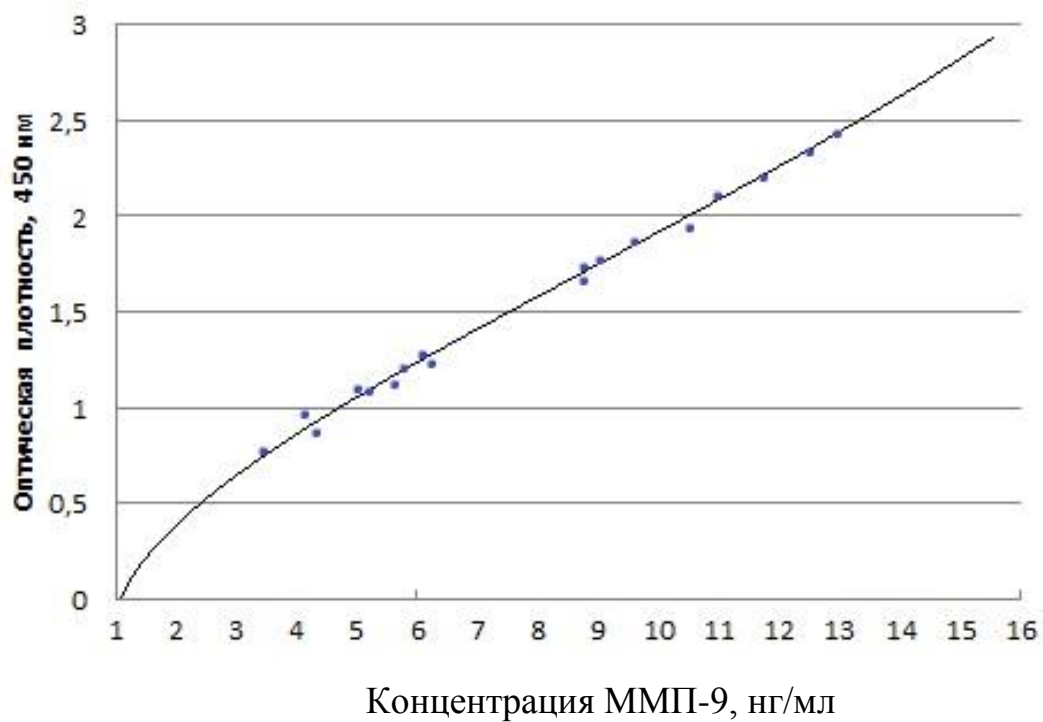


Рис. 7. Калибровочная кривая для определения концентрации ММП-9

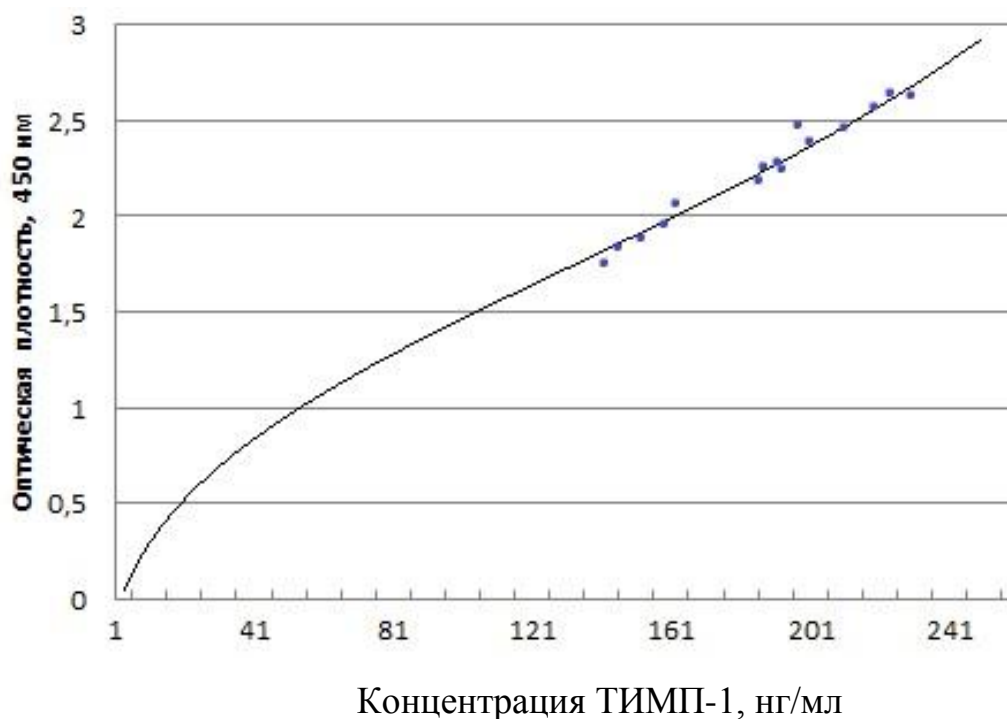


Рис. 8. Калибровочная кривая для определения концентрации ТИМП-1

Обработка и хранение материалов диссертации проводились на персональном компьютере Intel Pentium, использован текстовый редактор Microsoft Word из пакета офисных программ Microsoft Office 2013, для статистической обработки использован пакет офисных программ Statistica 10.0 и Microsoft Excel 2013.

Характер распределения данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. Для исследования статистической значимости показателей (если сравнивали более чем 2 группы), имеющих нормальное распределение, использовали тест ANOVA, критерий Ньюмена-Кейсла. Для оценки статистической значимости различий при распределении данных, которое отличается от нормального, использовали тест Крускала-Уоллиса, критерий Ньюмена-Кейсла. Для исследования статистической значимости различий показателей между двумя группами, имеющими нормальное распределение, использовали критерий Стьюдента. За уровень достоверности была принята вероятность различия 95% ($p < 0,05$).

Для исследования статистической значимости межгрупповых различий показателей, имеющих распределение отличное от нормального, использовали критерий Манна-Уитни.

Для данных, имеющих нормальное распределение, рассчитывали среднее арифметическое значение (M), ее ошибки (m) и ее отклонения (σ). Для данных, имеющих распределение отличное от нормального, рассчитывали медиану (Me), верхний (Q_{75}) и нижний квартиль (Q_{25}).

ГЛАВА 3. Результаты исследования

3.1 Биохимическая характеристика концентрации магния как показателя дисплазии соединительной ткани

Дисплазия соединительной ткани – широко распространенная патология, которая может встретиться в практической работе врачу любой специальности. Клинические проявления ее чрезвычайно разнообразны, поэтому часто достаточно проблематично объединить множество симптомов и за отдельной симптоматикой увидеть системную патологию. Наряду с этим врожденные и/или наследственные дефекты соединительной ткани могут привести к нарушению жизненно важных функций и иметь серьезный прогноз для жизни и трудоспособности пациентов [40]. Широкое распространение, прогредиентное течение и полиорганность поражения при дисплазии соединительной ткани делают её существенной медико-социальной проблемой [24].

Признанным проявлением ДСТ является патология вен [89, 104]. Установлены морфологические и иммуногистохимические особенности кожи и стенок вен у данных больных. К ним относится увеличение гликозаминогликанов в стенке сосуда; усиление экспрессии коллагена I типа или снижение III типа; гипотрофия гладкомышечных волокон вен; участки гипертрофии эндотелиального и подэндотелиального слоя вены; деформация и склероз стенки вены; деформация коллагена в дерме на фоне гипотрофии участков зернистого слоя.

Несмотря на мнения, что этиология ДСТ имеет генетический компонент, тщательного анализа относительной роли факторов окружающей среды и генетических факторов не проводилось. Наиболее изучена в настоящее время роль дефицита магния в генезе ДСТ. Множественные научные работы, крупные статистические исследования, проведенные в разных странах мира, отмечают, что проблема дефицита магния переходит из

теоретической в практическую медицину. Нормальный уровень магния в организме является основополагающей константой, определяющей здоровье человека. При изучении внутриклеточной молекулярной биокинетики установлено присутствие не менее 290 генов и белковых соединений в последовательности генома человека, которые способны определять магний как кофактор множества ферментов, участвующих в более чем 300 внутриклеточных биохимических реакциях. Магний является естественным физиологическим антагонистом кальция, обеспечивает гидролиз АТФ, участвует в регуляции физиологических и биохимических процессов в организме, уменьшая разобщение окисления и фосфолирования, регулирует гликолиз, уменьшая накопление лактата, способствует закреплению K^+ в клетках, создавая поляризацию клеточных мембран. Магний осуществляет контроль спонтанной электрической активности проводящей системы сердца и нервной ткани, нормального функционирования кардиомиоцита на различных уровнях клеточных и субклеточных структур, являясь универсальным кардиоцитопротектором.

Магний относится к макроэлементам – его общее содержание в организме составляет у взрослого человека около 21–28 г (в среднем 24 г). Около 2 % магния содержится в биологических жидкостях (1,0 % – в межклеточном пространстве, 0,5 % – в эритроцитах и 0,3 % – в плазме), 98 % – в скелете, мышцах и мягких тканях. Больше половины магния (до 53–60 %) концентрируется в дентине и эмали зубов, костях и в тканях с наиболее высокой метаболической активностью и высокой концентрацией митохондрий (мозге, сердце, мышцах, почках, печени) [17]. Лидирующей тканью по накоплению магния является плацента.

Магний – универсальный регулятор биохимических и физиологических процессов в организме: он участвует в энергетическом, пластическом и электролитном обмене [14, 17]. Особый интерес магний представляет как физиологический фактор синтеза коллагена. С одной стороны, при недостаточной концентрации магния происходит усиление деградации

коллагеновых и, возможно, эластиновых волокон, а также полисахаридных нитей гиалуроната. С другой стороны, дефицит магния способствует повышению секреции металлопротеиназ, усилению активности лизилоксидазы и трансглутаминазы [71]. В результате дестабилизируется тРНК, замедляется синтез белков СТ.

Последствия дефицита магния можно представить следующим образом. Первая группа заболеваний связана с нарушением электрической возбудимости клетки, при этом увеличивается возбудимость нервных клеток, кардиомиоцитов, клеток скелетной, а также гладкой мускулатуры внутренних органов и сосудов. Вторая группа проблем определена участием магния в ферментных реакциях по обслуживанию обмена углеводов и АТФ, и на фоне его дефицита наблюдаются повышенная утомляемость, неадекватный теплообмен. Третья группа нарушений связана со структурообразующей ролью магния в медиаторном обмене (катехоламинов, тирозина, дофамина, норадреналина, серотонина, гамма-аминомасляной кислоты) [31]. Эта группа нарушений сопровождается депрессией, нарушением внимания, памяти, координации движений. Кроме того, длительный дефицит магния, особенно в сочетании с гиподинамией и дефицитом кальция, является одним из условий формирования сколиоза и остеохондроза позвоночника.

Таким образом, нарушение гомеостаза магния играет существенную роль в развитии заболеваний практически всех систем организма, в первую очередь нервной, костной, сердечно-сосудистой и репродуктивной. Поэтому диагностика ДСТ на ранних этапах, особенно у детей, позволяет назначать соответствующую реабилитационную терапию и предотвращать прогрессирование заболевания. Отмечаются достаточно убедительные терапевтические результаты в лечении детей с ДСТ (главным образом с ПМК) магнийсодержащими препаратами.

На заключительном пленарном заседании Российского национального конгресса кардиологов, проходившем в Москве в октябре 2009 году, на

утверждение были представлены рекомендации для практических врачей. В перечень патологических состояний были включены наследственные нарушения соединительной ткани. Согласно рекомендациям по рациональной фармакотерапии, всем пациентам с признаками ННСТ целесообразно назначать курсовой прием препаратов, прямо и опосредованно влияющих на метаболизм СТ: стимуляторов коллагенообразования в сочетании с микроэлементными добавками, такими как магния оротат.

Многочисленные исследования последних лет направлены на изучение вопроса ранней диагностики дисплазии соединительной ткани и разработку целенаправленных патогенетически обоснованных путей коррекции данного состояния.

В настоящей исследовательской работе использовалось определение ряда биохимических маркеров, одним из которых являлся магний.

По рекомендациям ВОЗ, нормальное содержание магния в сыворотке крови составляет:

- от 0,74 до 1,15 ммоль/л для детей,
- от 0,75 до 1,26 ммоль/л для взрослых,
- от 0,8 до 1,05 ммоль/л для беременных.

При этом 0,5–0,74 ммоль/л свидетельствует об умеренной недостаточности магния в организме, а уровень ниже 0,5 ммоль/л – на выраженную недостаточность ионов магния.

В качестве исходных биохимических показателей были взяты образцы крови пациентов с ВБВНК и пациентов контрольной группы. Были получены следующие результаты. У пациентов с ВБВНК до начала лечения в 64,5% случаев (80 человек) наблюдались нормальные значения Mg^{2+} . У 35 человек (28,2%) было умеренное снижение концентрации магния. И выраженный дефицит наблюдался у оставшихся 9 пациентов (7,3%) (рис.9). В контрольной группе только у трех человек отмечался дефицит магния (15%).

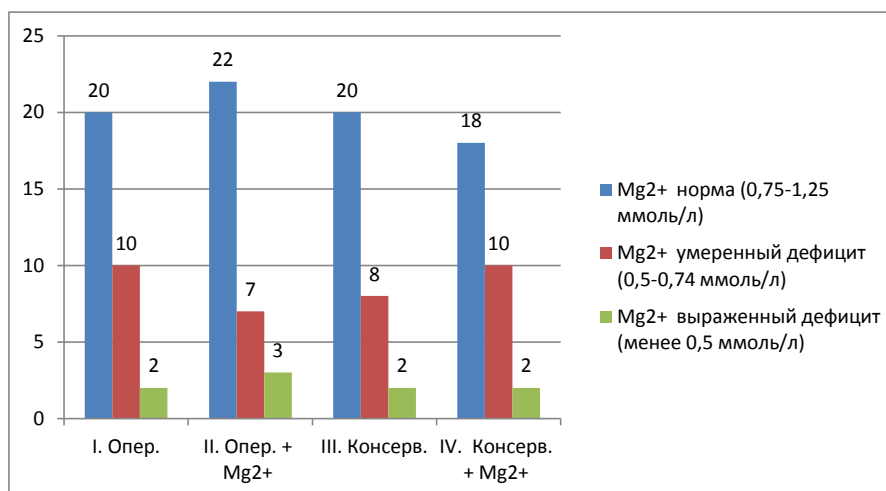


Рис. 9. Концентрация магния у пациентов с ВБВНК до начала лечения.

В дальнейшем, на фоне проводимой терапии отмечается достоверное снижение количества пациентов с дефицитом магния во второй и четвертой группах уже после 1 месяца терапии ($p < 0,05$). На начальном этапе исследования во второй группе было 10 пациентов с дефицитом магния, через 1 месяц их осталось всего 3, в четвертой группе – 12 пациентов до начала исследования и 3 соответственно через 1 месяц (рис. 10).

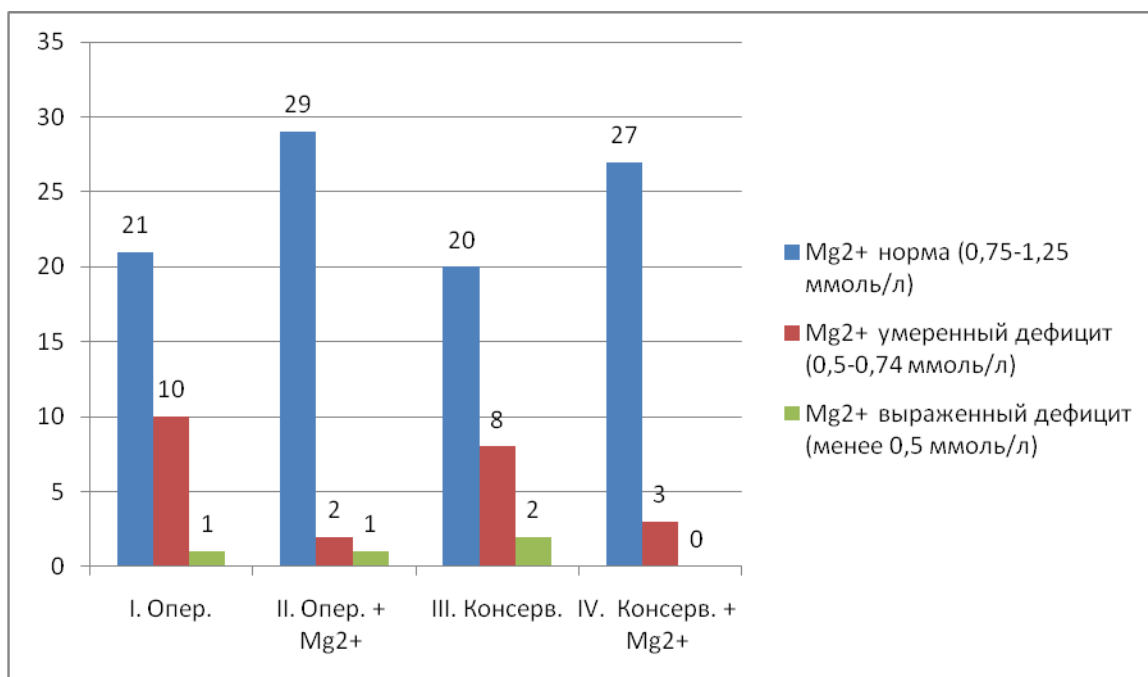


Рис. 10. Концентрация магния у пациентов с ВБВНК через 1 месяц.

Через 3 месяца терапии продолжается снижаться количество пациентов во второй и четвертой группах, с дефицитом магния остается 1 пациент во второй группе, и ни одного в четвертой (рис. 11).

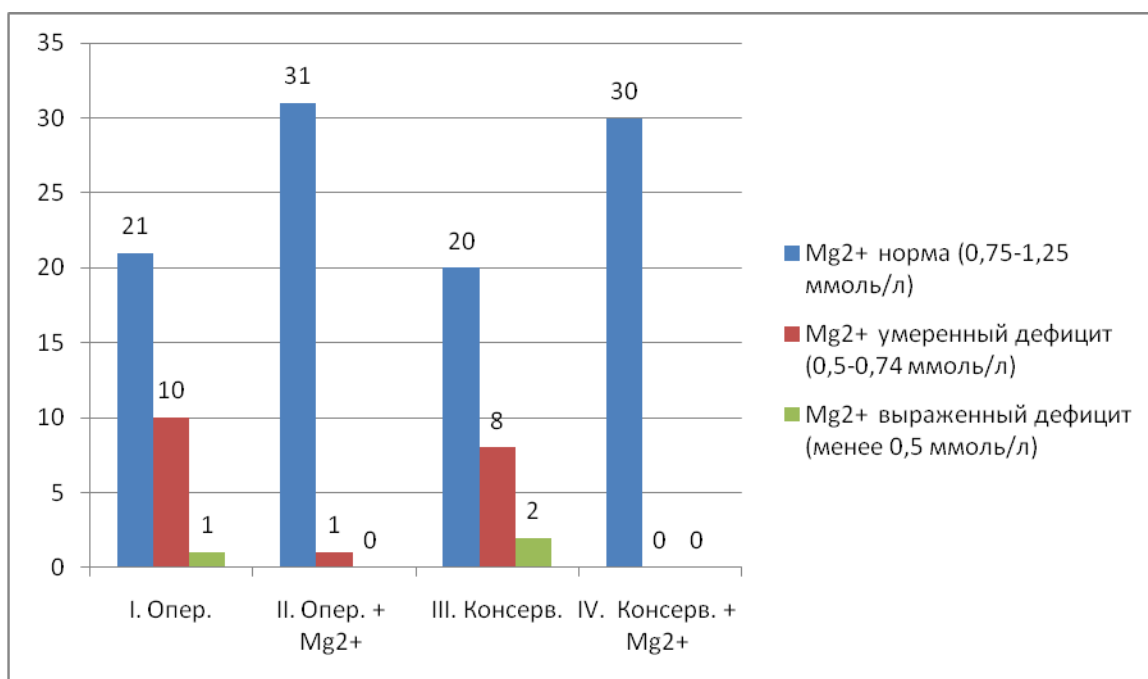


Рис. 11. Концентрация магния у пациентов с ВБВНК через 3 месяца.

Через полгода после начала лечения, показатель статистически значимо не меняется, во второй и четвертой группах остается по 1 пациенту с дефицитом магния. В то время как в первой и третьей группах на протяжении всего исследования, количество пациентов с дефицитом магния оставалось на начальном уровне (рис. 12). Динамика изменения количества пациентов с дефицитом магния в группах пациентов с ВБВНК и контрольной группе отображена в таблице 4.

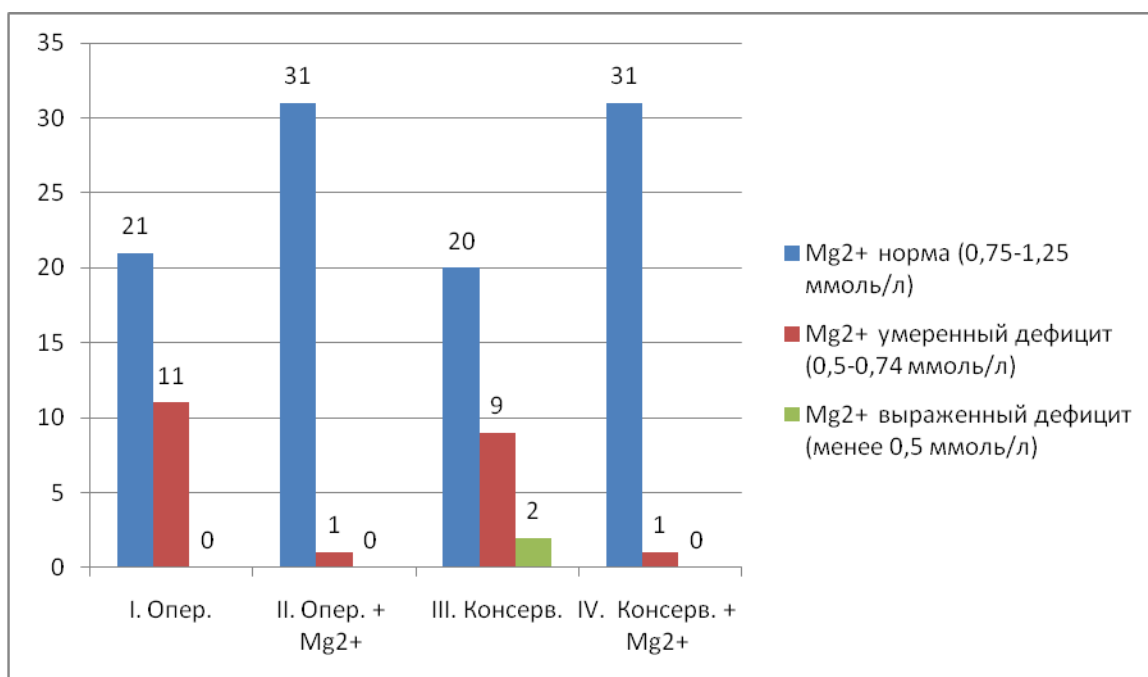


Рис. 12. Концентрация магния у пациентов с ВБВНК через 6 месяцев.

Таблица 4.

Динамика изменения количества пациентов с дефицитом магния.

Группы	Количество пациентов с дефицитом магния ($Mg^{2+} < 0,75$ ммоль/л)			
	V0	V1 (через 1 месяц)	V2 (через 3 месяца)	V3 (через 6 месяцев)
I. Опер.	37,5% (12 чел.)	34,4% (11 чел.)	34,4% (11 чел.)	34,4% (11 чел.)
II. Опер. + Mg^{2+}	31,3% (10 чел.)	9,4%* (3 чел.)	3,1%* (1 чел.)	3,1%* (1 чел.)
III. Консерв.	33,3% (10 чел.)	33,3% (10 чел.)	33,3% (10 чел.)	36,7% (11 чел.)

IV. Консерв. + Mg ²⁺	40% (12 чел.)	10 %* (3 чел.)	0%* (0 чел.)	3,3 %* (1 чел.)
V. Контрольная	15% ^Δ (3 чел.)	-	-	-

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Также производилась оценка концентрации магния у пациентов с ВБВНК в зависимости от клинического класса заболевания на этапе включения в исследование. В группах пациентов с ВБВНК С2-С3 клинических классов у 55 человек (76,4%) отмечался нормальный уровень магния, в то время как в группах пациентов с трофическими язвами всего у 40% больных отмечается отсутствие дефицита магния. Обращает на себя внимание, что из 9 пациентов, имеющих выраженный дефицит магния, 5 пациентов относились к больным с ВБВНК С5-С6 клинических классов. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5.

Динамика концентрации магния в зависимости от класса ВБВНК.

Концентрация Mg ²⁺	Пациенты с ВБВНК С2-С3 (72 чел.)	Пациенты с ВБВНК С4 (22 чел.)	Пациенты с ВБВНК С5-С6 (30 чел.)	Контрольная группа (20 чел.)
Mg ²⁺ норма (0,75-1,25 ммоль/л)	55 (76,4%)	13 (59,1%)	12 (40%)	17 (85%)
Mg ²⁺ умеренный дефицит (0,5-0,74 ммоль/л)	15 (20,8%*)	7 (31,8%**)	13 (43,3%***)	3 (15%)
Mg ²⁺ выраженный дефицит (менее 0,5)	2 (2,8%*)	2 (9,1%**)	5 (16,7%***)	0

ммоль/л)				
----------	--	--	--	--

Примечание: * – значимое отличие от контрольной группы ($p < 0,05$)

** – значимое отличие от контрольной группы и группы с ВБВНК С2-С3 ($p < 0,05$)

*** – значимое отличие от контрольной группы и группы с ВБВНК С2-С3, С-4 ($p < 0,05$)

Таким образом, у пациентов с ВБВНК отмечается достоверное снижение уровня магния по сравнению с условно здоровыми добровольцами, не страдающими варикозной болезнью (пациенты с дефицитом магния: 35,5% и 15% соответственно, $p < 0,05$), что свидетельствует о наличии ДСТ у пациентов с ВБВНК.

На фоне проводимой дополнительной терапии препаратами магния (магний оротат), мы добились уменьшения количества пациентов с дефицитом магния в группах больных с ВБВНК, что создало благоприятные предпосылки для дальнейшего течения заболевания с позиции дисплазии соединительной ткани.

Также обращает внимание связь тяжести варикозной трансформации и концентрации ионов магния, отмечается тенденция к более выраженному дефициту магния у пациентов с более тяжелой формой варикозной болезни вен нижних конечностей.

3.2 Биохимическая характеристика концентрации матриксных металлопротеиназ и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ

Матриксные металлопротеиназы – семейство, в которое входят 25 протеолитических ферментов, которые отмечаются преимущественно у млекопитающих. ММП принимают участие в разрушении и ремоделировании ВКМ и клеточных мембран при многих биологических процессах (эмбриональное развитие, формирование скелета, клеточная миграция, ангиогенез, заживление ран, овуляция, развитие молочных желез и т.п.) [123]. Похожие свойства металлопротеиназы проявляют при воспалительных процессах. Путем разрушения межклеточных связей между эндотелиальными клетками и стимулируя миграцию лейкоцитов в очаги воспаления, ММП осуществляют регуляцию проницаемости сосудов. Матриксные металлопротеиназы участвуют в регуляции активности воспалительных медиаторов - цитокинов и хемокинов [152]. Последние исследования доказывают прямое и опосредованное действие ММП на гладкомышечные клетки сосудов и ионные каналы эндотелия, а также на другие механизмы сужения и расширения сосудов.

Существует определенный баланс между ММП и их естественными ингибиторами ТИМП. Нарушение данного баланса может приводить к возникновению патологических состояний, а именно, к развитию различных сосудистых заболеваний, таких как облитерирующий атеросклероз, аневризматические расширения аорты и варикозная болезнь вен нижних конечностей [177, 178]. Доказано активное участие ММП на различных стадиях развития атеросклероза. Повышение концентрации ММП может привести к изменению архитектоники атеросклеротической бляшки и, в последующем, к ее разрыву. Матриксные металлопротеиназы играют важную роль в ремоделировании ткани миокарда при инфаркте, что приводит к дилатационной кардиомиопатии. За счет разрушения каркаса из эластина и коллагена матриксными металлопротеиназами происходят процессы

ремоделирования желудочка после инфаркта миокарда или вирусного повреждения, что ведет к дилатации и гипертрофии желудочка. Ремоделирование соединительной ткани и воспаление выходят на первое место в патогенезе как острых сердечно-сосудистых заболеваний, таких как инфаркт миокарда, внезапная сердечная смерть, так и в хронических (варикозная болезнь, атеросклероз сосудов). В настоящее время внеклеточный матрикс рассматривается как непосредственный участник в изменении функционирования и структуры органа, а матриксные металлопротеиназы являются медиаторами его ремоделирования.

Отмечается высокий уровень экспрессии ММП в ходе развития многих заболеваний. Самыми исследованными в этом отношении являются сосудистые заболевания, онкологические заболевания, артриты. При различных видах онкологических заболеваний были оверэкспрессированы ММП-1, 2, 3, 7, 9, 10, 11, 13 и 14 [143]. Рост опухоли за счет ММП возможен как через деградацию внеклеточного матрикса, так и благодаря выходу изолированных факторов роста [165]. Так, ММП-9 расщепляет коллаген IV типа, образуя ангиогенный ингибитор – тамстатин и мобилизует VEGF из внеклеточного матрикса [133].

Матриксные металлопротеиназы, являясь основными ферментами метаболизма соединительной ткани, принимают участие во многих патологических и физиологических процессах, для работы которых необходимы пролиферация и миграция клеток и, соответственно, перестройка внеклеточного матрикса [75].

Только синергичное действие ММП и ТИМП обеспечивает деградацию внеклеточного матрикса, которая представляет собой результат массивного каскада реакций. В перичеллюлярном пространстве происходит взаимодействие ММП с различными белками матрикса посредством своего фибронектиноподобного фрагмента. Данные аспекты создают обратную связь между потенциальной активацией ММП и состоянием матрикса, тем самым определяя данный механизм в организме [75]. Основываясь на

вышеуказанные данные, можно отметить существование связи между матриксными металлопротеиназами и дисплазией соединительной ткани. Существует множество причин для возникновения коллагензависимых заболеваний соединительной ткани: во-первых, вследствие дефектов в генах коллагенов, во-вторых, генов, вовлеченных в биосинтез посттрансляционных модификаций, секрецию, сборку и ремоделирование коллагенов. Активность металлопротеиназ является одним из ведущих механизмов формирования дисплазий соединительной ткани [71]. Выявлено, что полиморфизм А-519G гена ММП-1, ассоциирующий с повышенной экспрессией гена определяется при ДСТ.

Последние исследования указывают на роль ММП в патогенезе варикозной болезни нижних конечностей и на потенциальные возможности использования их в диагностических и терапевтических целях. В целом, основная функция ММП заключается в деградации и ремоделировании внеклеточного матрикса и клеточных мембран, за счет них осуществляется регуляция миграции лимфоцитов и макрофагов, регулируется проницаемость сосудов, развивается и осуществляется иммунный ответ, а также происходит регуляция активности медиаторов воспаления [134, 155]. Учитывая современную теорию патогенеза варикозной болезни и значение воспалительных процессов в данной патологии, в развитии этого заболевания имеет место иммунный ответ, и отмечается содержание воспалительных факторов в стенке варикозно расширенной вены. Поэтому, нам представляется важным изучение роли ММП и их активности как факторов риска в патогенезе ВБВНК. Учитывая вышеизложенные факты и произведенный нами анализ материала, мы решили исследовать концентрацию ММП в крови пациентов, надеясь, что изучение данных показателей, как компонентов отдельного сигнального пути, поможет установить логичную цепь в патогенезе ВБВНК. Предполагается, что концентрации ММП и ТИМП могут быть маркерами, позволяющими характеризовать тяжесть варикозной болезни.

ММП-9 (желатиназа В) синтезируется нейтрофилами, моноцитами/макрофагами, кератиноцитами, фибробластами как профермент массой 92 кДа. Является наиболее индуцируемым ферментом семейства. Субстратами для ММП-9 являются: коллагены (IV, V, VII, X, XIV типов), желатин, эластин, галектин-3, протеогликан-связанный белок, фибронектин, остеоонектин, α 1-антитрипсин, плазминоген [5, 35, 36, 217]. В отличие от других свободных металлопротеиназ после секреции способна связываться с мембраной клеток, «защищаясь» таким образом от ингибиторов [38, 203].

В организме ММП-9 обладает как про-, так и противовоспалительными эффектами. Провоспалительные эффекты проявляются следующих процессах:

1. Регуляция миграции лейкоцитов в очаг воспаления: выход лейкоцитов из сосудистого русла в локус воспаления через эндотелиальный монослой требует деградации сосудистой базальной мембраны. Основными ММП, ответственными за этот процесс, являются ММП-9 (способна быстро высвободиться из гранул нейтрофилов при их активации) и ММП-2 (в меньшей степени). В опытах на животных с нокаутом генов ММП-9 показано нарушение развития лейкоцитарной инфильтрации очага воспаления [162, 184, 204];

2. Стимуляция образования хемокинов: ММП-9 протеолитически активирует IL-8 (в результате чего во много раз увеличивает их хемотаксический потенциал), гранулоцитарный хемотаксический белок-2 (GCP-2) и эндотелиальный пептид, активирующий нейтрофилы-78 (ENA-78) [111, 128];

3. Разрушение в локусе воспаления ингибиторов сериновых протеаз (серпинов) со сдвигом баланса в сторону избыточного протеолиза. ММП-9 инактивирует С1-ингибитор, α 2-макрोगлобулин, α 1-антитрипсин, образующиеся при этом низкомолекулярные белки являются мощными хеммоаттрактантами для нейтрофилов. Подобными эффектами, но в меньшей степени, обладают ММП-1, -2 и -3 [38, 130, 162, 203];

4. Активация провоспалительных цитокинов. $\text{TNF}\alpha$ экспрессируется в моноцитах/макрофагах в виде неактивного трансмембранного белка, который требует протеолитического расщепления. ММП-9 является основной металлопротеиназой, участвующей в этом процессе. $\text{IL-1}\beta$ и $\text{TGF}\beta$ также активируются ММП-9, которая высвобождает их из матрикса [153].

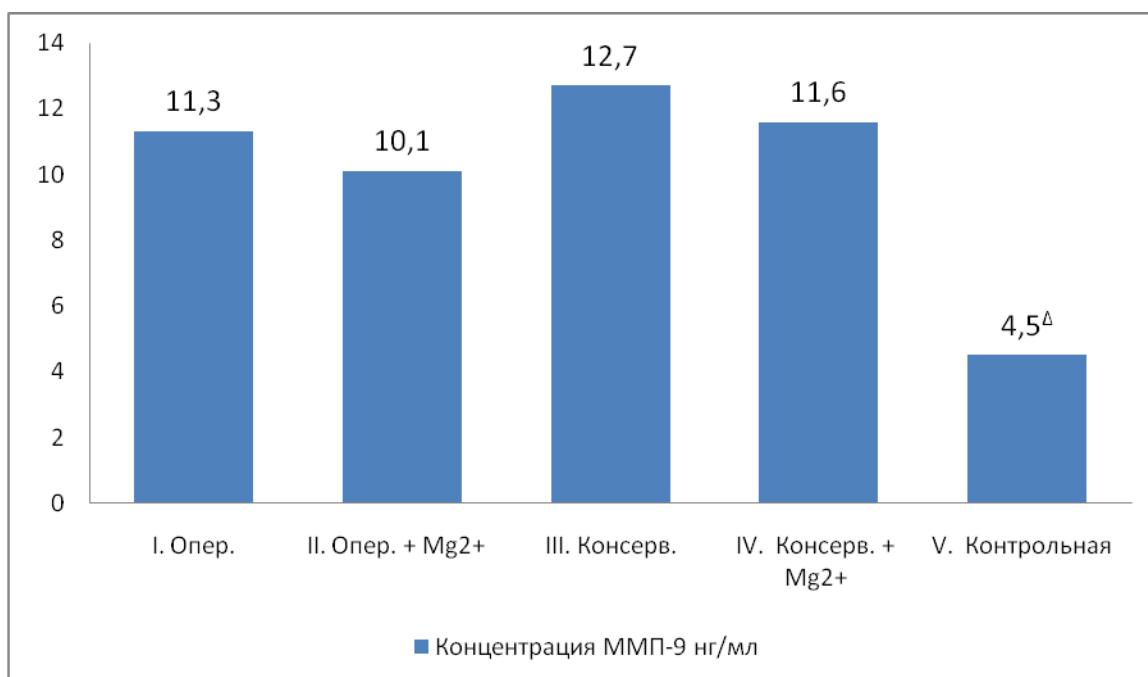
Противовоспалительное действие ММП-9 проявляется в протеолизе провоспалительных цитокинов и их рецепторов: ММП-9 способна разрушать $\text{IL-1}\beta$, а также растворимые клеточные рецепторы $\text{TNF}\alpha$ [154, 204].

Описанные эффекты находят свое подтверждение не только *in vitro*, но и в опытах на животных, а также клинических исследованиях. Активность ММП-9 наиболее значительна в раннем периоде раневого процесса, медленное заживление раны коррелирует с высокой экспрессией ММП-9 и ТИМП-1 [204].

Данные свойства ММП-9 позволили нам выбрать её концентрацию в качестве прогностического маркера у пациентов с ВБВНК.

На начальном этапе исследования производился забор крови у пациентов с ВБВНК и контрольной группы для определения концентрации ММП-9. В дальнейшем, контролировалась динамика изменения показателей ММП-9 у пациентов с варикозной болезнью на фоне проводимой терапии через 1, 3 и 6 месяцев.

В контрольной группе концентрация ММП-9 составила $4,5 \pm 1,32$ нг/мл. В группах пациентов с ВБВНК выявлено достоверное повышение показателей ММП-9 по сравнению с группой контроля ($11,3 \pm 4,86$ нг/мл, $p < 0,05$) (рис. 13).



^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Рис. 13. Концентрация ММП-9 у пациентов с ВБВНК и контрольной группы на этапе включения в исследование.

Спустя месяц концентрация ММП-9 в первой группе составила $12,2 \pm 2,2$ нг/мл, что статистически значимо не отличалось от исходного показателя. Такое же значение мы получили у пациентов третьей группы. Во второй и четвертой группе показатели были $6,2 \pm 0,8$ нг/мл и $8,7 \pm 1,1$ нг/мл, что являлось достоверным снижением по сравнению с начальным уровнем ММП-9 в данных группах ($p < 0,05$).

Через три месяца сохранялась тенденция к снижению концентрации ММП-9 во второй и четвертой группах ($5,4 \pm 2,1$ нг/мл и $8,0 \pm 1,4$ нг/мл соответственно). В первой и третьей группах показатель ММП-9 держался на начальном уровне.

Через шесть месяцев показатели ММП-9 во II-ой и IV-ой группах статистически значимо не отличались от результатов, достигнутых нами через 3 месяца, также были достоверно ниже исходного показателя. В I-й и III-й группах показатели ММП-9 достоверно значимо не отличались на всем

6-и месячном периоде исследования. Результаты представлены в таблице 6, рис. 14-18.

Таблица 6.

Концентрация ММП-9 у пациентов различных групп

Группы	V0 нг/мл	V1 (через 1 месяц) нг/мл	V2 (через 3 месяца) нг/мл	V3 (через 6 месяцев) нг/мл
I. Опер.	11,3 ± 1,7	12,2 ± 2,2**	11,5 ± 1,4**	11,2 ± 1,9**
II. Опер. + Mg ²⁺	10,1 ± 1,3	6,2 ± 0,8*	5,4 ± 2,1*	5,5 ± 2,1*
III. Консерв.	12,7 ± 2,5	12,2 ± 1,3**	11,7 ± 2,2**	11,4 ± 2,4**
IV. Консерв. + Mg ²⁺	11,6 ± 2,1	8,7 ± 1,1*	8,0 ± 1,4*	7,6 ± 0,9*
V. Контрольная	4,5 ± 1,3 ^Δ	-	-	-

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

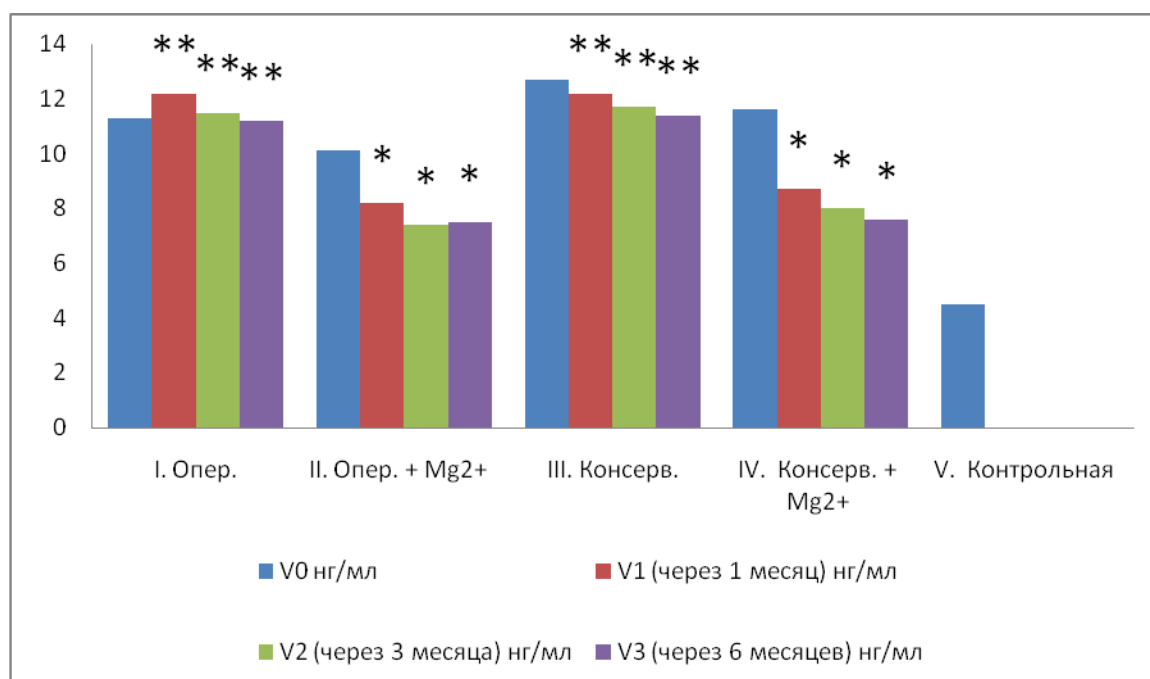


Рис. 14. Концентрация ММП-9 у пациентов различных групп

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

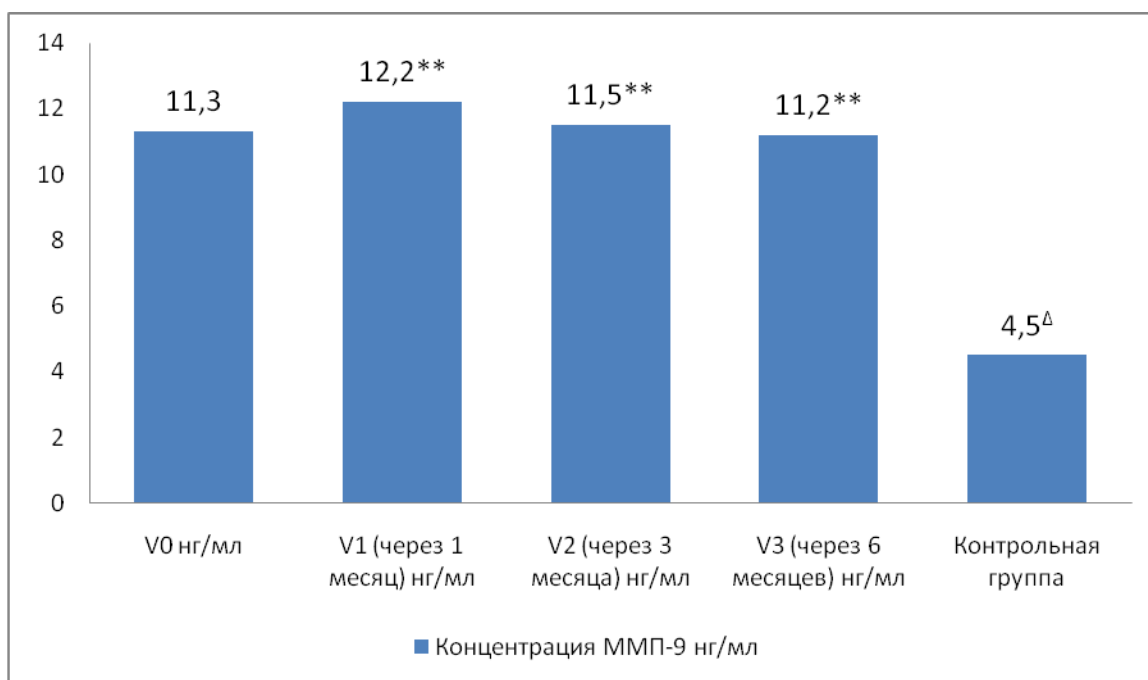


Рис. 15. Концентрация ММП-9 у пациентов I-й группы (оперированные)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

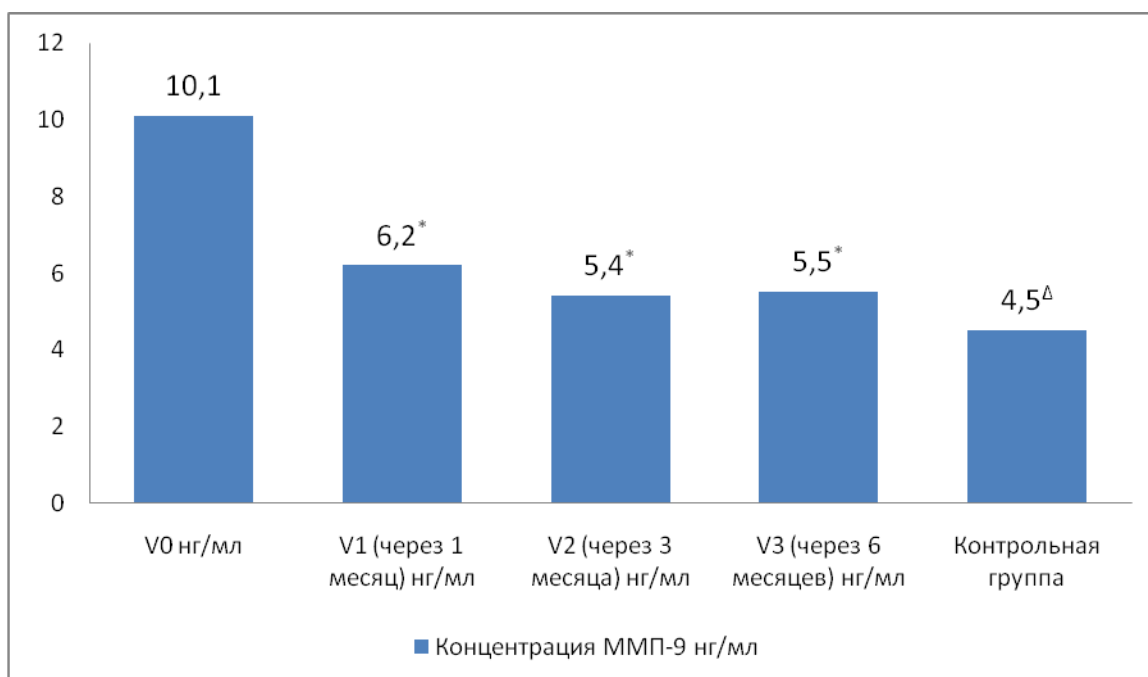


Рис. 16. Концентрация ММП-9 у пациентов II-ой группы (оперированные+ Mg²⁺)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

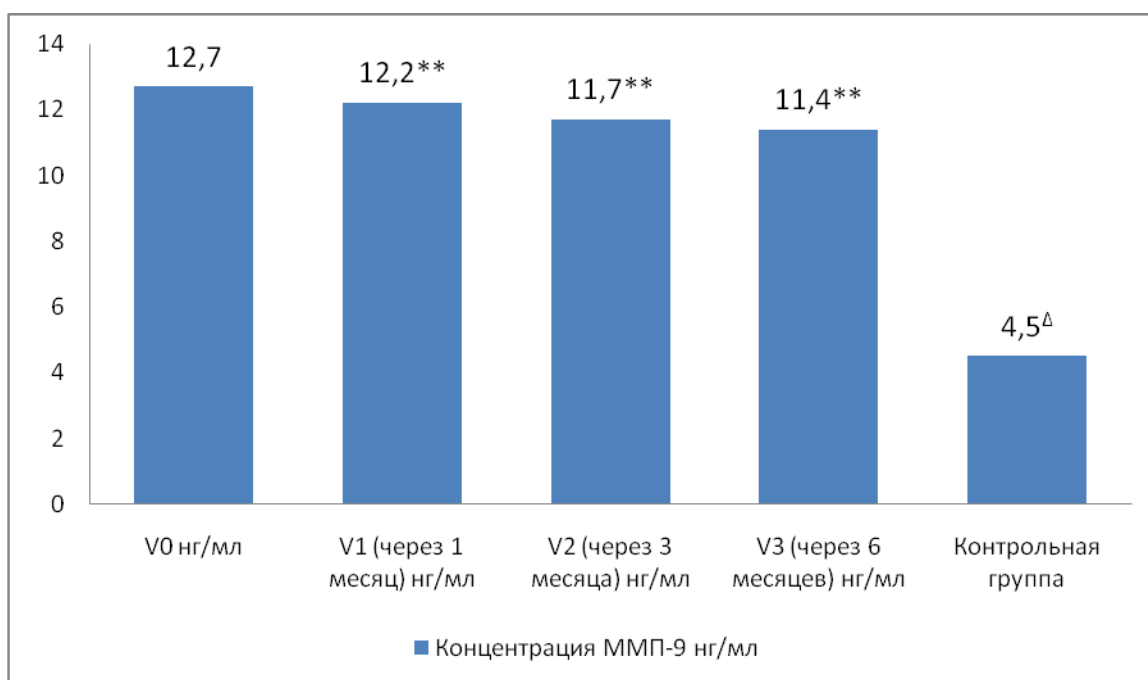


Рис. 17. Концентрация ММП-9 у пациентов III-й группы (консервативные)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

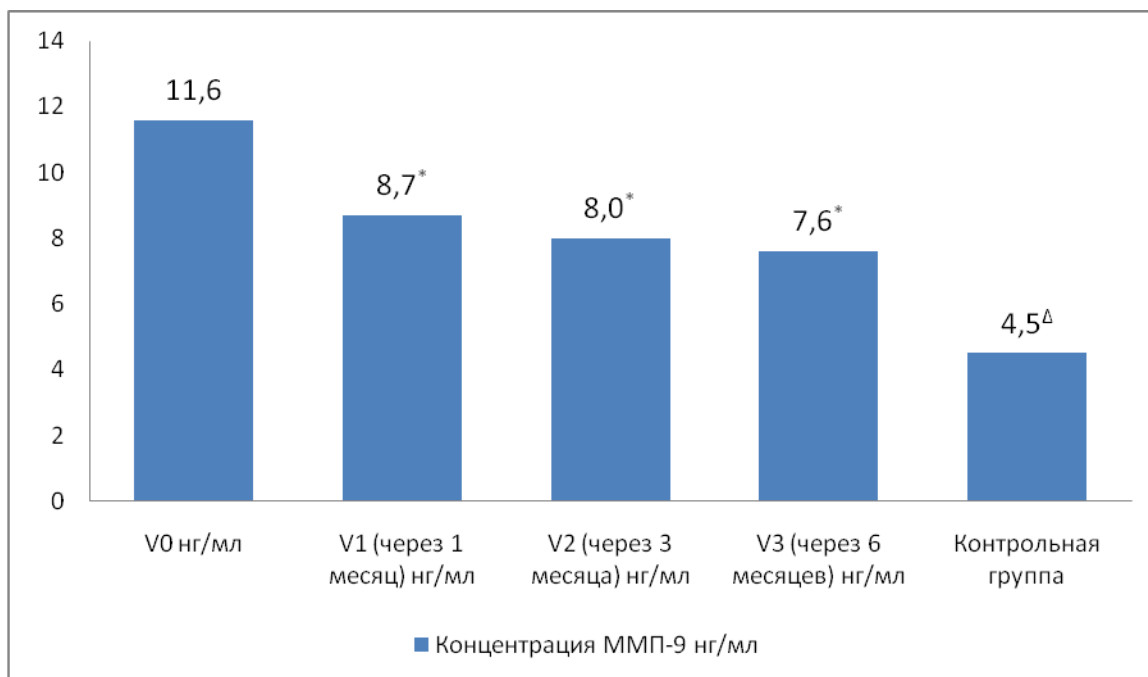


Рис. 18. Концентрация ММП-9 у пациентов IV-ой группы (консервативные+ Mg^{2+})

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Также производилась оценка концентрации ММП-9 у пациентов с ВБВНК в зависимости от клинического класса заболевания на этапе скрининга. По результатам нашего исследования установлено, что у пациентов с ВБВНК средний уровень ММП-9 в среднем в 2,5 раза выше по сравнению с контролем ($11,3 \pm 4,86$ нг/мл в группах с ВБВНК и $4,5 \pm 1,32$ нг/мл в контрольной группе). Наибольший уровень ММП-9 наблюдается у пациентов с варикозной болезнью класса С5-С6 ($14,5 \pm 1,7$ нг/мл, рис. 19).

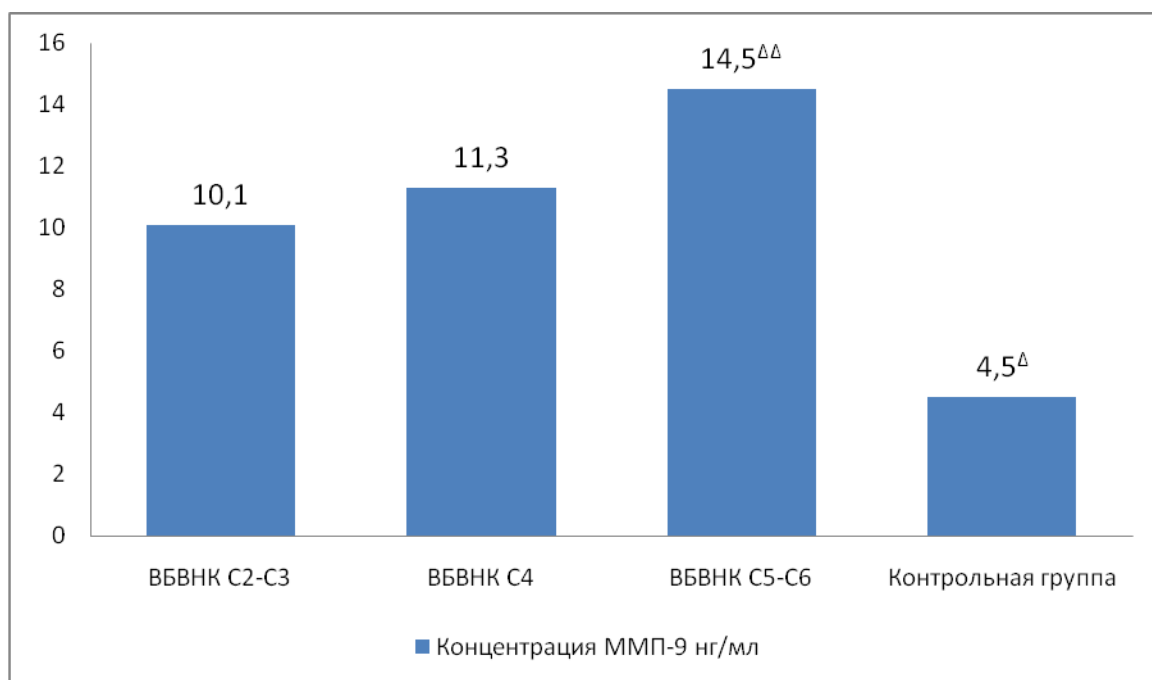


Рис. 19. Концентрация ММП-9 в исследуемых группах

^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

^{ΔΔ} – значимое отличие от групп контроля и пациентов с ВБВНК С2-С4 клинических классов на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Клинический пример № 1. Пациент С., 56 лет (IV группа). D.S.: Варикозная болезнь вен нижних конечностей С5 справа. Варикозная болезнь в анамнезе более 10 лет. Появление связывает с тяжелым физическим трудом. Отмечает наследственную предрасположенность, варикозная болезнь была у родителей. Возможно, является проявлением ДСТ, у пациента двусторонняя паховая грыжа. Отеки ног беспокоят к концу дня до верхней трети голени. Судороги – периодически, беспокоят 2 года. Язва по передней поверхности голени открылась в 2012 году, ушла под корочку после курса терапии. Объем левой голени соответствует правой. Концентрация ММП-9 на этапе включения составила 12,7 нг/мл, уровень магния – 0,63 ммоль/л. Через 1 месяц лечения, показатель ММП-9 был 10,3 нг/мл, Mg^{2+} - 0,82 ммоль/л. Через 3 месяца соответственно 9,2 нг/мл и 0,88 ммоль/л, и через 6

месяцев уровень ММП-9 стал 8,7 нг/мл, а концентрация Mg^{2+} - 0,91 ммоль/л. Отмечается снижение концентрации ММП-9 и увеличение уровня магния в течение всего периода наблюдения.

Клинический пример № 2. Пациентка К., 39 л. (I группа). D.S.: Варикозная болезнь вен нижних конечностей С4 слева, С2 справа. Варикозная болезнь в анамнезе более 15 лет. Появление связывает с беременностью и родами. Развитие с тяжёлым физическим трудом. Отеки ног беспокоят к концу дня до нижней трети голени. Судороги – периодически. Объем левой голени соответствует правой. Была выполнена венэктомия на обеих нижних конечностях, далее назначена стандартная консервативная терапия. Концентрация ММП-9 на этапе скрининга составила 10,4 нг/мл, уровень магния – 0,81 ммоль/л. Через 1 месяц лечения, показатель ММП-9 был 9,7 нг/мл, Mg^{2+} - 0,85 ммоль/л. Через 3 месяца соответственно 10,5 нг/мл и 0,83 ммоль/л, и через 6 месяцев уровень ММП-9 был 10,9 нг/мл, а концентрация Mg^{2+} - 0,78 ммоль/л. Концентрация ММП-9 и ионов магния достоверно значимо не менялась.

Таким образом, отмечается значимое ($p < 0,05$) снижение активности ММП-9 у пациентов II-ой и IV-ой групп уже через 1 месяц терапии, и данный показатель остается сниженным на протяжении 6 месяцев наблюдения. В I-й и III-й группах разницы в концентрации ММП-9 за период наблюдения по сравнению с начальным показателем не отмечали. Учитывая прием во второй и четвертой группах пациентами препаратов магния, можно судить о влиянии ионов магния на снижение активности ММП-9, тем самым угнетая процессы деградации внеклеточного матрикса и разрушения коллагена. Наиболее ярко выраженное снижение отмечалось во второй группе, где пациентам помимо консервативной терапии проводилось оперативное лечение.

Также отмечается зависимость показателя ММП-9 от тяжести варикозной трансформации вен нижних конечностей. Имеется тенденция к

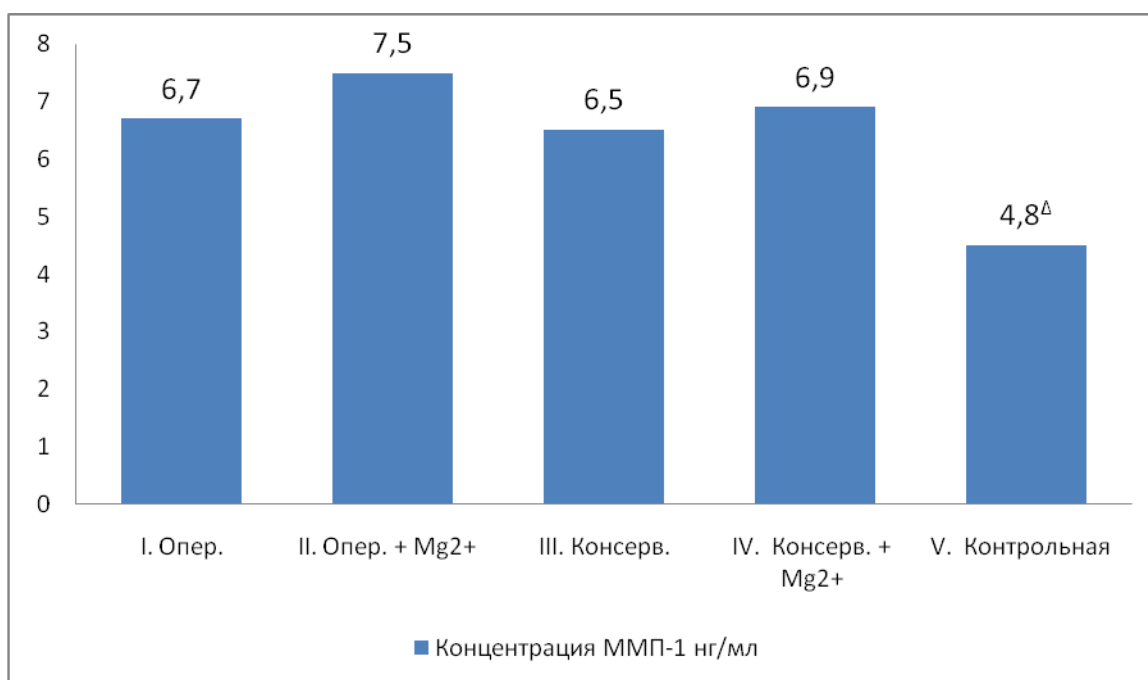
повышению уровня ММП-9 соответственно с прогрессированием хронической венозной недостаточности.

ММП-1 (коллагеназа I, интерстициальная коллагеназа) синтезируется макрофагами, фибробластами, кератиноцитами, хондроцитами, остеобластами и эндотелиальными клетками. Синтез ММП-1 стимулируется различными агентами, такими как, цитокины, фактор некроза опухолей – альфа ($\text{TNF}\alpha$), эпидермальный фактор роста, а также химическими соединениями, например, цАМФ и эфирами фторбола. Ингибирование ММП-1 происходит посредством тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП-1 и ТИМП-2), а также $\alpha 2$ -макроглобулином. ММП-1 принимает участие в деградации коллагена и, следовательно, в процессе ремоделирования внеклеточного матрикса. Увеличение концентрации ММП-1 определяется при различных заболеваниях. К ним относят онкологию, аневризму и стеноз аорты, атеросклероз, воспалительные заболевания кишечника, пародонтит, остеоартрит, ревматоидный артрит, изъязвление роговицы, наружный генитальный эндометриоз и аденомиоз. Помимо деградации коллагена ММП-1 участвует в разрушении желатина, казеина, энтактина и линкпротеина хряща. Имеются данные о значительной активности ММП-1 в области ран, где продуцируется макрофагами, фибробластами и другими клетками грануляционной ткани. Также известно о повышении активности экспрессии ММП-1 в гладкомышечных клетках сосудов при атеросклерозе [137, 154, 181, 194, 222]. Важное значение ММП-1 отмечается в онкологии, где высокий уровень металлопротеиназы оказывает влияние на инвазию и прогрессию опухоли. W.B. Saunders и соавт. показали функция ММП-1, которая участвует в регуляции регрессии сосудов в трехмерных компонентах внеклеточного матрикса. Способность различных сериновых протеаз инициировать активацию ММП ведет к протеолизу коллагена, внеклеточного матрикса и регрессии ткани [156].

По протоколу исследования у пациентов выполнялся забор крови и определялась концентрация ММП-1 методом иммуноферментного анализа на

этапе скрининга в группах пациентов с ВБВНК и в контрольной группе, а также у пациентов с варикозной болезнью через 1, 3 и 6 месяцев после начала лечения.

В контрольной группе концентрация ММП-1 составила $4,8 \pm 0,73$ нг/мл. В группах пациентов с ВБВНК выявлено достоверное повышение показателей ММП-1 по сравнению с группой контроля ($6,9 \pm 1,16$ нг/мл, $p < 0,05$) (рис. 20).



^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Рис. 20. Концентрация ММП-1 у пациентов с ВБВНК и контрольной группы на этапе включения в исследование.

Спустя месяц концентрация ММП-1 во всех группах отмечалась тенденция к снижению по сравнению с начальным уровнем ММП-1 ($p < 0,05$). Показатель ММП-1 в первой группе составил $5,4 \pm 0,5$ нг/мл, во второй – $6,1 \pm 0,4$ нг/мл, в третьей – $5,7 \pm 0,3$ нг/мл, в четвертой – $5,8 \pm 0,6$ нг/мл.

Через три месяца сохранялась тенденция к снижению концентрации ММП-1 во всех четырех группах.

Через шесть месяцев показатели ММП-1 во всех группах статистически значимо не отличались от результатов, которые мы получили на этапе включения пациентов. Результаты представлены в таблице 7, рис. 21-25.

Таблица 7.

Концентрация ММП-1 у пациентов различных групп

Группы	V0 нг/мл	V1 (через 1 месяц) нг/мл	V2 (через 3 месяца) нг/мл	V3 (через 6 месяцев) нг/мл
I. Опер.	6,7 ± 0,4	5,4 ± 0,5*	5,2 ± 0,8*	6,3 ± 0,9**
II. Опер. + Mg ²⁺	7,5 ± 0,7	6,1 ± 0,4*	6,2 ± 0,5*	7,0 ± 0,7**
III. Консерв.	6,5 ± 0,5	5,7 ± 0,3*	5,3 ± 0,5*	6,2 ± 0,4**
IV. Консерв. + Mg ²⁺	6,9 ± 0,4	5,8 ± 0,6*	5,9 ± 0,4*	6,4 ± 0,5**
V. Контрольная	4,8 ± 1,3 ^Δ	-	-	-

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК ($p < 0,05$)

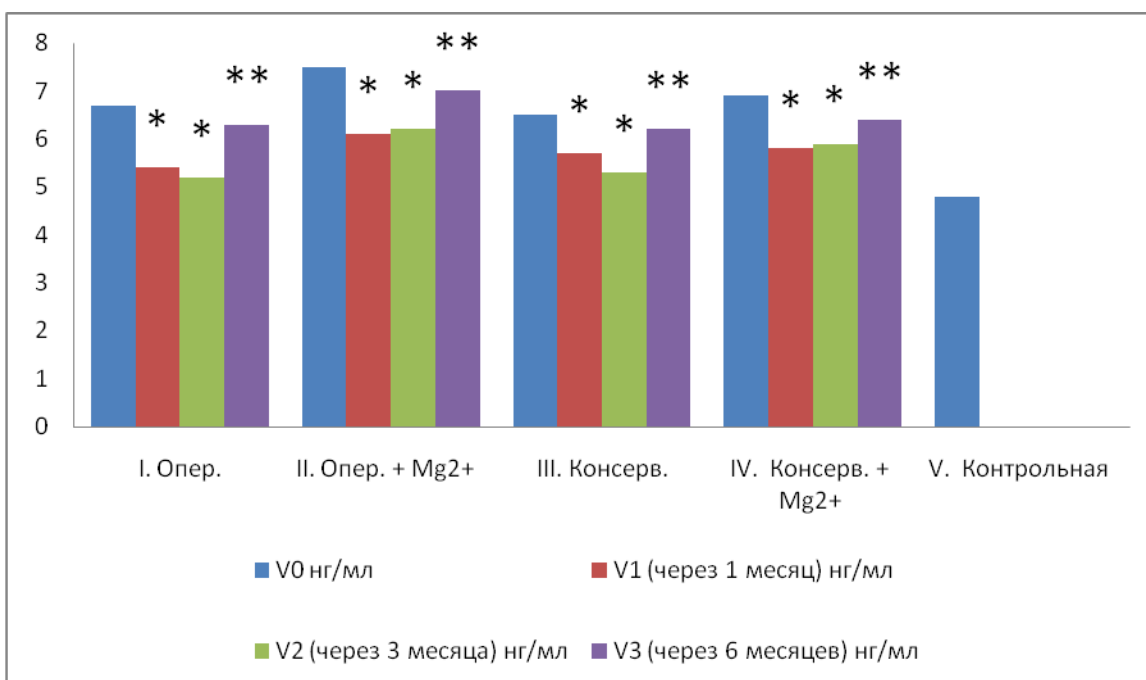


Рис. 21. Концентрация ММП-1 у пациентов различных групп

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

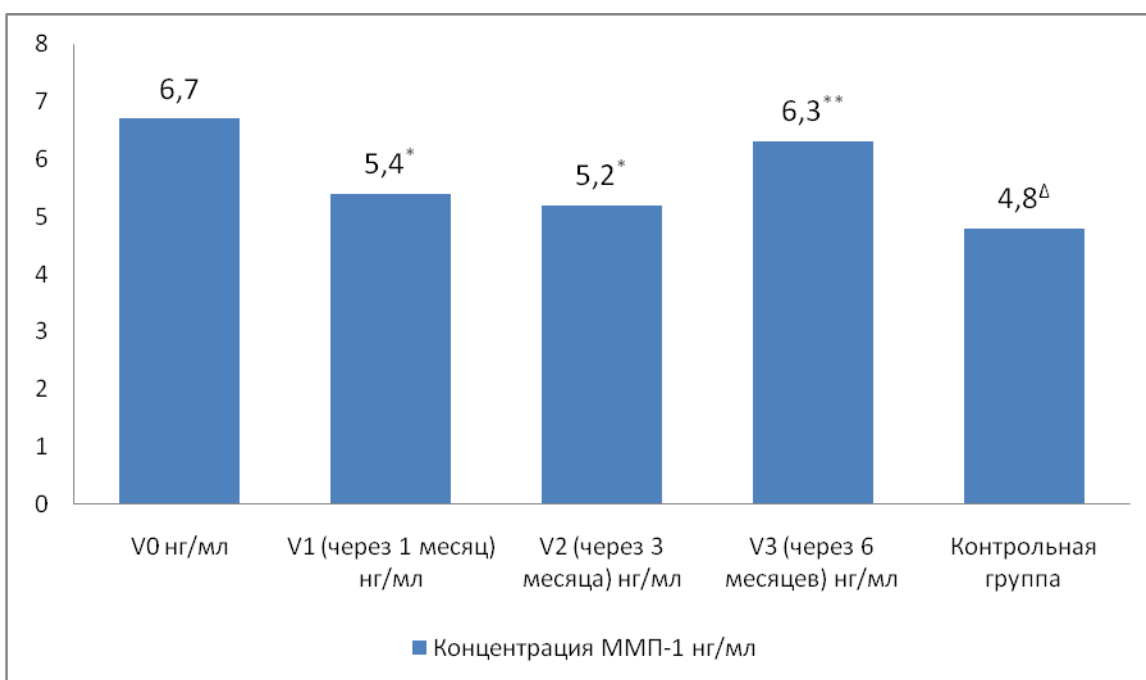


Рис. 22. Концентрация ММП-1 у пациентов I-ой группы (оперированные)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

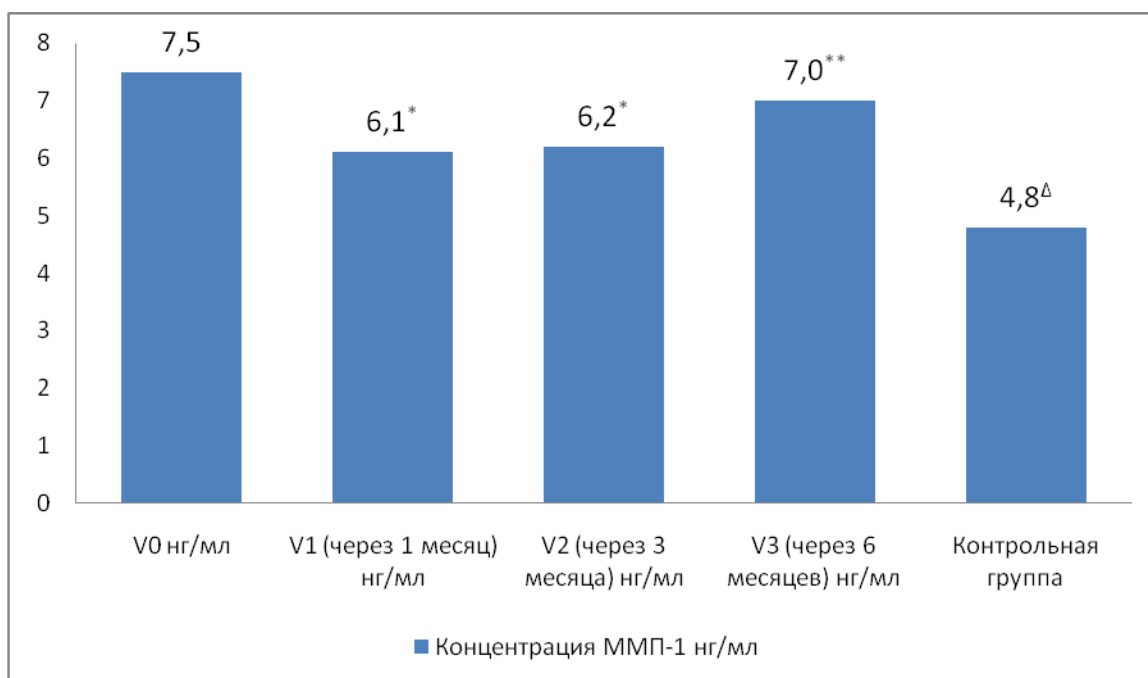


Рис. 23. Концентрация ММП-1 у пациентов II-ой группы (оперированные+ Mg^{2+})

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

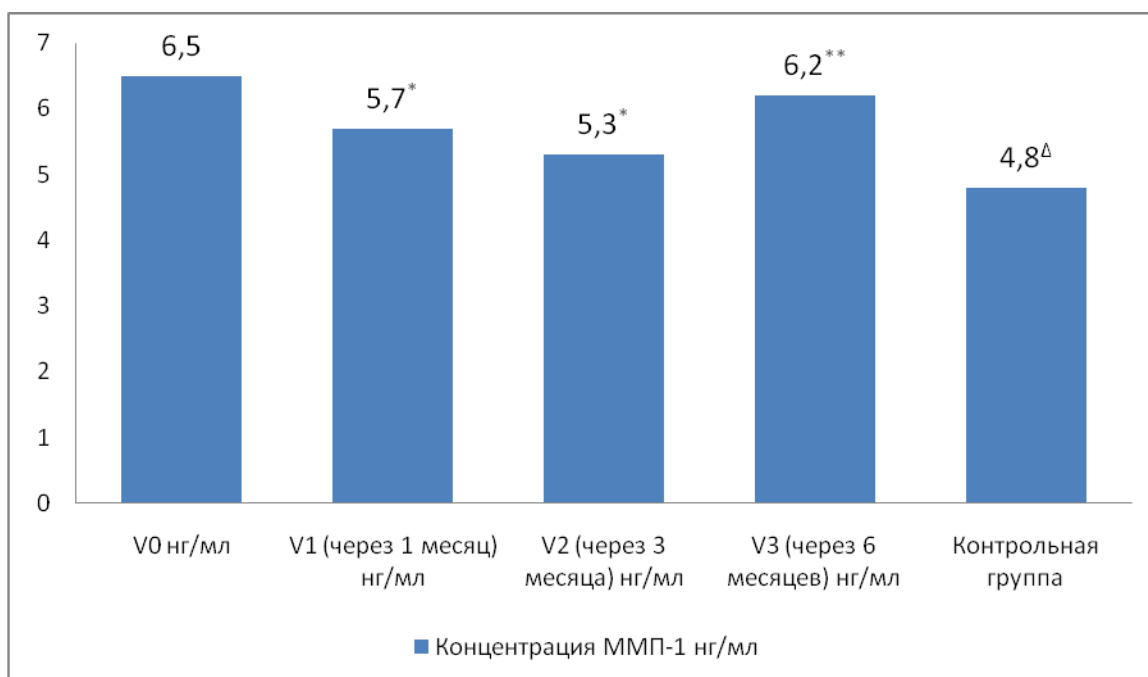


Рис. 24. Концентрация ММП-1 у пациентов III-й группы (консервативные)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

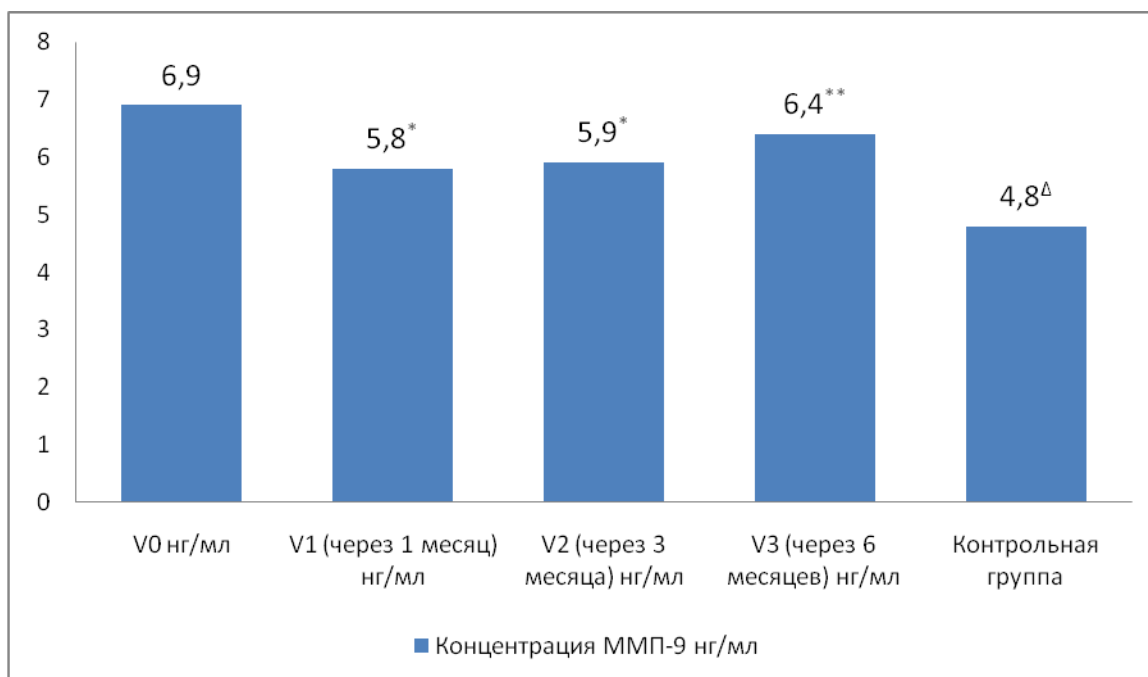


Рис. 25. Концентрация ММП-1 у пациентов IV-ой группы (консервативные+ Mg²⁺)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Также производилась оценка концентрации ММП-1 у пациентов с ВБВНК в зависимости от клинического класса заболевания на этапе скрининга. В группах пациентов с ВБВНК выявлено достоверное повышение показателей ММП-1 по сравнению с группой контроля ($6,9 \pm 1,16$ нг/мл и $4,8 \pm 0,73$ нг/мл, $p < 0,05$). Достоверной связи концентрации ММП-1 с тяжестью варикозной трансформации выявлено не было, вне зависимости от клинического класса заболевания, показатели ММП-1 были схожи (рис. 26).

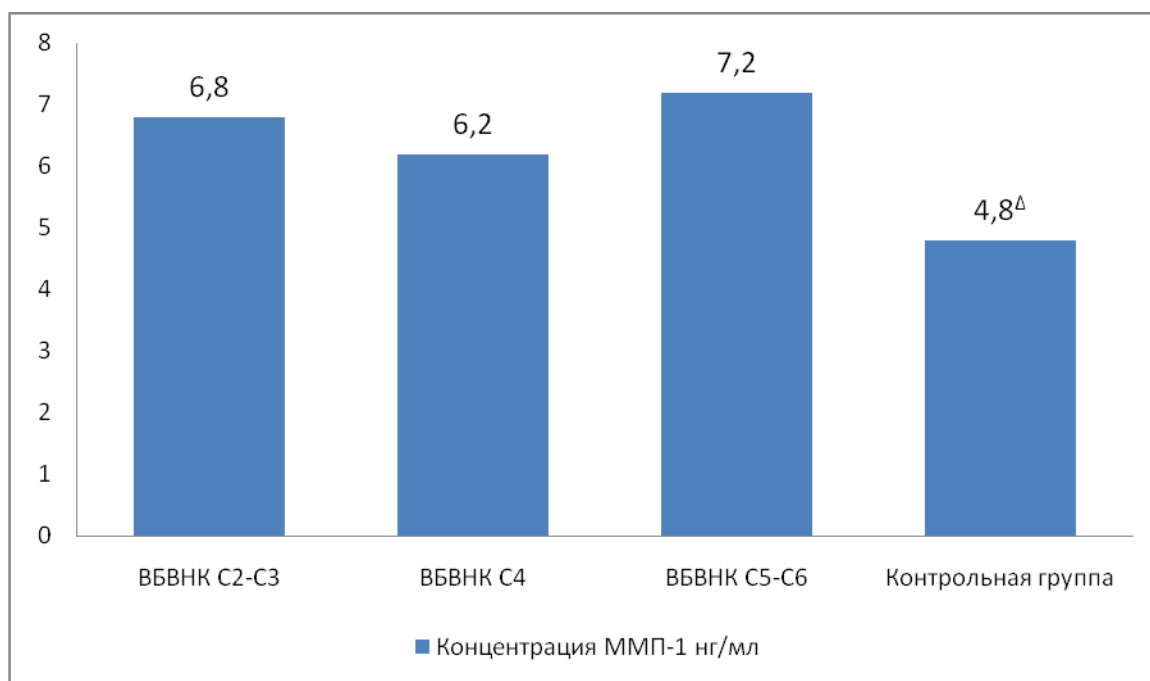


Рис. 26. Концентрация ММП-1 в исследуемых группах

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Клинический пример № 3. Пациент Л., 41 год (III группа). D.S.: Варикозная болезнь вен нижних конечностей C3 слева. Варикозная болезнь в анамнезе более 10 лет. Появление связывает с тяжелым физическим трудом. Отмечает наследственную предрасположенность, варикозная болезнь была у

родителей. Отеки ног беспокоят к концу дня до верхней трети голени. Судороги – периодически, беспокоят 1,5 года. Исходный уровень ММП-1 на этапе включения составила 6,7 нг/мл, уровень магния – 0,64 ммоль/л. Через 1 месяц лечения, показатель ММП-1 был 5,1 нг/мл, Mg^{2+} - 0,69 ммоль/л. Через 3 месяца уровень ММП-1 стал 5,2 нг/мл, а показатель Mg^{2+} - 0,73 ммоль/л, и через 6 месяцев уровень ММП-1 был 6,4 нг/мл, а концентрация Mg^{2+} - 0,71 ммоль/л. Отмечается снижение концентрации ММП-1 на фоне терапии в течение 3 месяцев наблюдения, через 6 месяцев показатель возвращается к исходному уровню. Концентрация магния на протяжении 6 месяцев достоверно значимо не менялась.

Клинический пример № 4. Пациентка В., 46 л. (II группа). D.S.: Варикозная болезнь вен нижних конечностей С2 справа. Варикозная болезнь в анамнезе более 10 лет. Появление и развитие болезни связывает с образом жизни и профессией (кондуктор). Судороги – периодически. Объем левой голени соответствует правой. Была выполнена венэктомия на правой нижней конечности, далее назначена консервативная терапия и дополнительно препарат магния. Концентрация ММП-1 на этапе скрининга составила 6,3 нг/мл, уровень магния – 0,61 ммоль/л. Через 1 месяц лечения, показатель ММП-1 был 4,9 нг/мл, Mg^{2+} - 0,87 ммоль/л. Через 3 месяца соответственно 5,1 нг/мл и 0,82 ммоль/л, и через 6 месяцев уровень ММП-1 был 6,8 нг/мл, а концентрация Mg^{2+} - 0,75 ммоль/л. Наблюдается уменьшение концентрации ММП-1 на фоне терапии в течение 3 месяцев наблюдения, через 6 месяцев показатель возвращается к исходному уровню, также отмечается повышение концентрации магния на фоне через 1 месяц после начала лечения, показатель остается на нормальном уровне на протяжении всего периода наблюдения.

Таким образом, отмечается достоверное ($p < 0,05$) снижение активности ММП-1 у пациентов с ВБВНК через 1 и 3 месяца терапии. Учитывая прием во второй и четвертой группах пациентами препаратов магния, можно судить о том, что ионы магния не повлияли на активность ММП-1, а снижение

показателей, по всей видимости, связано с эффектом стандартной терапии, проводимой пациентам с варикозной болезнью. Достоверной связи повышения концентрации ММП-1 с тяжестью ВБВНК не выявлено.

ТИМП-1 представляет собой белок массой 28,5 кДа, определяемый во многих тканях. Основные места экспрессии ТИМП-1 находятся в яичниках и костной ткани. Регуляторные функции ТИМП-1 еще не до конца изучены. Показано, что ТИМП-1 ингибирует прогрессирование опухоли, метастазирование и ангиогенез. С другой стороны для ТИМП-1 описана и антиапоптотическая активность. Является наиболее значимым ингибитором коллагеназы-1. В плазме ТИМП-1 существует в двух формах – свободной и связанной, образуя комплексы с металлопротеиназами: с ММП-1 (коллагеназой-1), ММП-2 (желатиназой-А), латентной и активной формами ММП-9 (желатиназой-В), ММП-3 (стромелизином-1) [149, 217].

В строении ТИМП-1 имеются два домена, которые фиксируются с помощью шести дисульфидных связей. Первый домен отвечает за ингибирование металлопротеиназ, в то время как второй домен может связываться с про-желатиназами, а также стимулировать клеточную пролиферацию. ТИМП-1 действует как ключевой ингибитор ММП в тканях за счет связывания в активном центре и формирования стабильного, уже неактивного комплекса ингибитор-фермент. Отмечается определенная специфичность у ТИМП по отношению к ингибированию желатиназ, наибольшая активность ТИМП-2 проявляется к ММП-2, а действие ТИМП-1 преобладает по отношению к ММП-9 [149]. Транскрипция ТИМП регулируется теми же факторами роста и цитокинами, которые контролируют экспрессию ММП, а именно TNF α , TGF β , IL-1, IL-6, хотя часто данная регуляция происходит посредством других путей. Особо следует отметить роль ТИМП-1 в ангиогенезе. Регуляция активности ММП достигается на транскрипционном уровне, также как и семейством эндогенных ингибиторов, тканевых ингибиторов матриксных

металлопротеиназ. Смещение протеолитического баланса в сторону активности ММП показало их принципиальную роль в различных заболеваниях, регуляции ангиогенеза, росте и метастазировании опухолей. И хотя, общепринятым считается ингибирование всеми тремя типами ТИМП (ТИМП-1, 2, 3) активности ММП и миграции эндотелиальных клеток, стимулированных ангиогенными митогенами, эти ингибиторы отличаются по своей способности регулировать другие процессы ангиогенеза. Так, ТИМП-1 является модулятором роста эндотелиальных клеток капилляров, тогда как ТИМП-2 обладает способностью ингибировать пролиферацию капиллярных эндотелиальных клеток [149].

Учитывая вышесказанное, для нас представляется интересным и значимым определение концентрации ТИМП-1, учитывая его влияние как на ММП-1 и ММП-9, так и на процессы ангиогенеза.

После забора крови у пациентов мы получили следующие результаты. В группах пациентов с варикозной болезнью отмечалось повышение концентрации ТИМП-1 по сравнению с группой контроля ($210,8 \pm 21,1$ нг/мл и $154,4 \pm 14,4$ нг/мл соответственно, $p < 0,05$) (рис. 27).

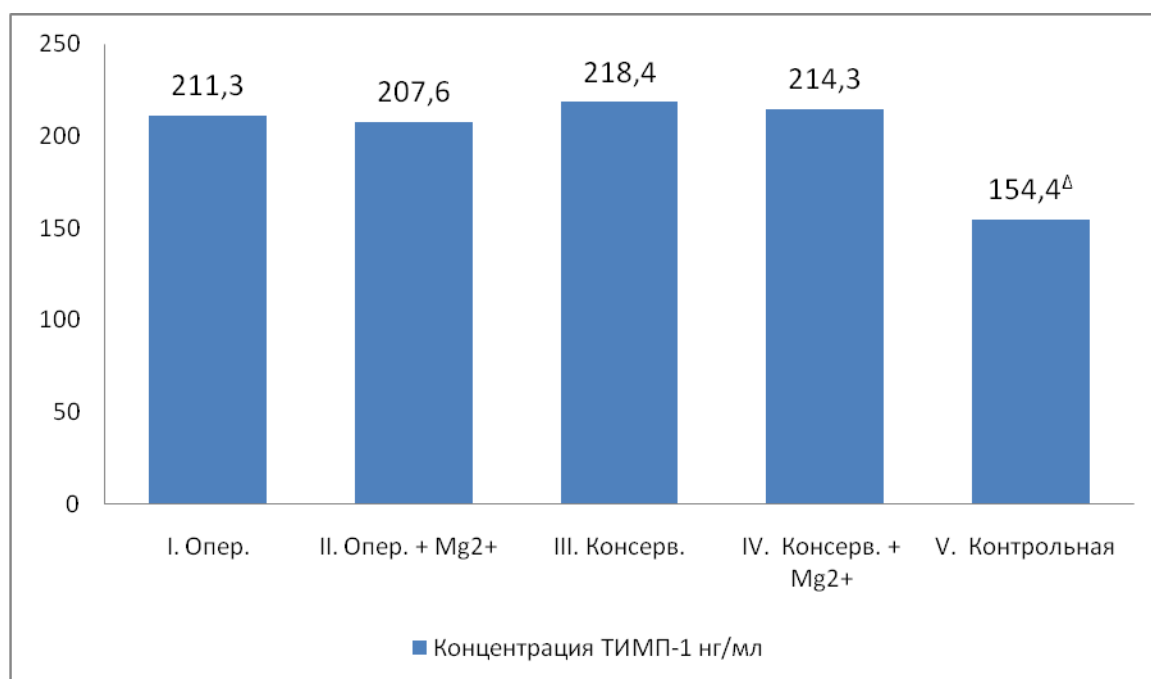


Рис.

27. Концентрация ТИМП-1 у пациентов с ВБВНК и контрольной группы на этапе включения в исследование.

Примечание: ^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Через месяц наблюдения концентрация ТИМП-1 в первой группе составила $216,5 \pm 12,4$ нг/мл, в третьей – $212,3 \pm 13,2$ нг/мл, что статистически значимо не отличалось от исходного показателя. В то время как во второй и четвертой группе показатели были $274,3 \pm 18,9$ нг/мл и $280,5 \pm 14,3$ нг/мл, что являлось достоверным повышением по сравнению с начальным уровнем ТИМП-1 в данных группах ($p < 0,05$).

Через три месяца сохранялась тенденция к повышению концентрации ММП-9 во второй и четвертой группах ($285,5 \pm 13,2$ нг/мл и $288,1 \pm 12,9$ нг/мл соответственно). В первой и третьей группах показатель ТИМП-1 держался на начальном уровне.

Через шесть месяцев показатели ТИМП-1 во II-ой и IV-ой группах статистически значимо не отличались от результатов, достигнутых нами через 3 месяца, также были достоверно выше исходного показателя. В I-й и III-й группах показатели ТИМП-1 достоверно значимо не отличались на всем

6-и месячном периоде исследования. Результаты представлены в таблице 8, рис. 28-32.

Таблица 8.

Концентрация ТИМП-1 у пациентов различных групп.

Группы	V0 нг/мл	V1 (через 1 месяц) нг/мл	V2 (через 3 месяца) нг/мл	V3 (через 6 месяцев) нг/мл
I. Опер.	211,3 ± 11,5	216,5 ± 12,4**	207,2 ± 10,3**	208,3 ± 11,2**
II. Опер. + Mg ²⁺	207,6 ± 9,4	274,3 ± 18,9*	285,5 ± 13,2*	291,2 ± 11,3*
III. Консерв.	218,4 ± 21,4	212,3 ± 13,2**	205,4 ± 9,5**	215,6 ± 14,5**
IV. Консерв. + Mg ²⁺	214,3 ± 7,7	280,5 ± 14,3*	288,1 ± 12,9*	275,2 ± 11,9*
V. Контрольная	154,4 ± 14,4 ^Δ	-	-	-

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня (p < 0,05)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем (p > 0,05)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга (p < 0,05)

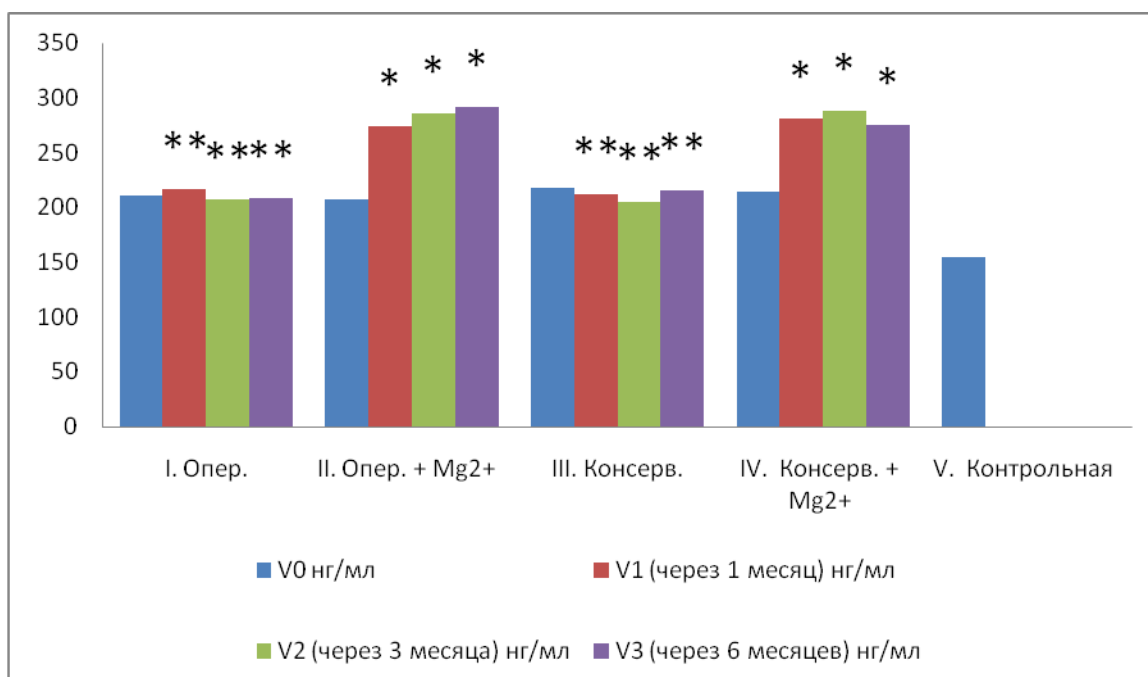


Рис. 28. Концентрация ТИМП-1 у пациентов различных групп

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

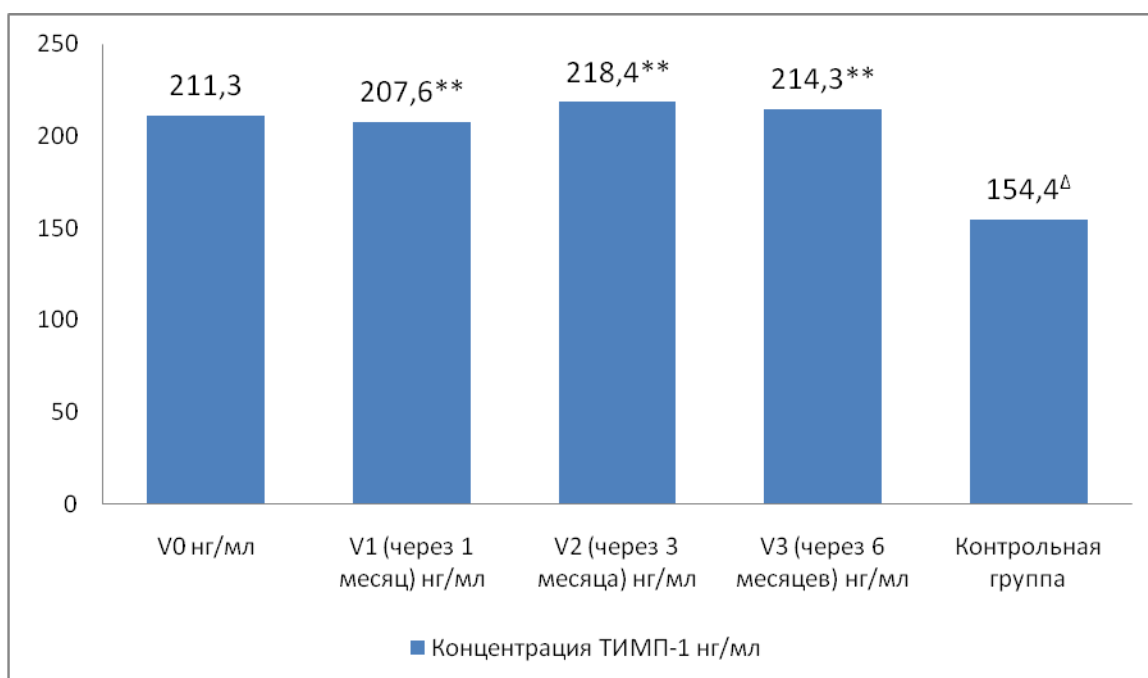


Рис. 29. Концентрация ТИМП-1 у пациентов I-й группы (оперированные)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

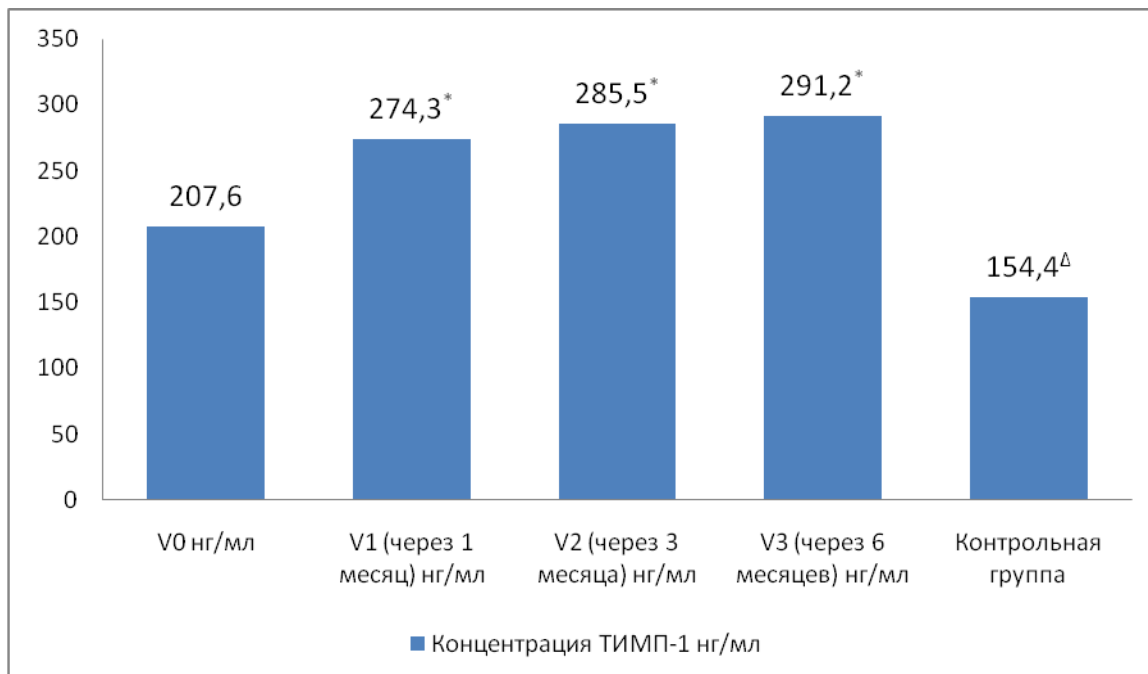


Рис. 30. Концентрация ТИМП-1 у пациентов II-ой группы (оперированные+ Mg^{2+})

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

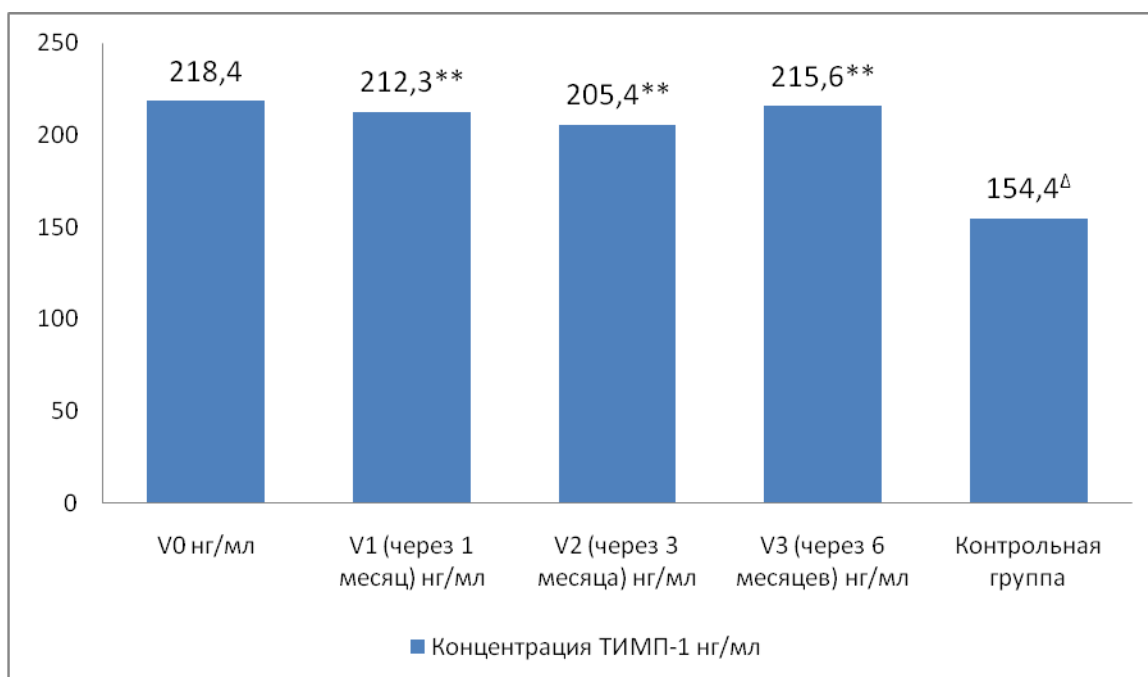


Рис. 31. Концентрация ТИМП-1 у пациентов III-й группы (консервативные)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

^Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

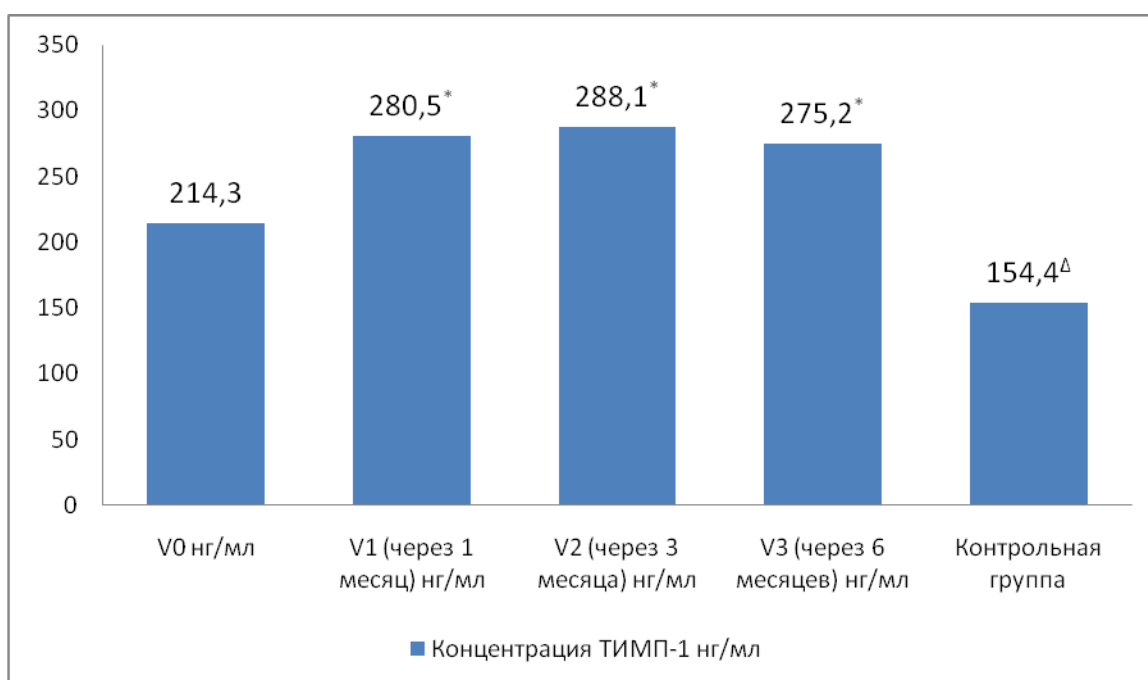


Рис. 32. Концентрация ТИМП-1 у пациентов IV-ой группы (консервативные+
Mg²⁺)

Примечание: * – значимое отличие от начального уровня ($p < 0,05$)

** – различия незначимы по сравнению с начальным уровнем ($p > 0,05$)

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Также производилась оценка концентрации ТИМП-1 у пациентов с ВБВНК в зависимости от клинического класса заболевания на этапе скрининга. По результатам нашего исследования установлено, что у пациентов с ВБВНК средний уровень ТИМП-1 был выше по сравнению с контролем ($210,8 \pm 21,1$ нг/мл и $154,4 \pm 14,4$ нг/мл соответственно, $p < 0,05$). Отмечалась тенденция к увеличению уровня ТИМП-1 у пациентов имеющих трофические нарушения по сравнению с больными, страдающими ВБВНК С2-С3 клинических классов (рис. 33).

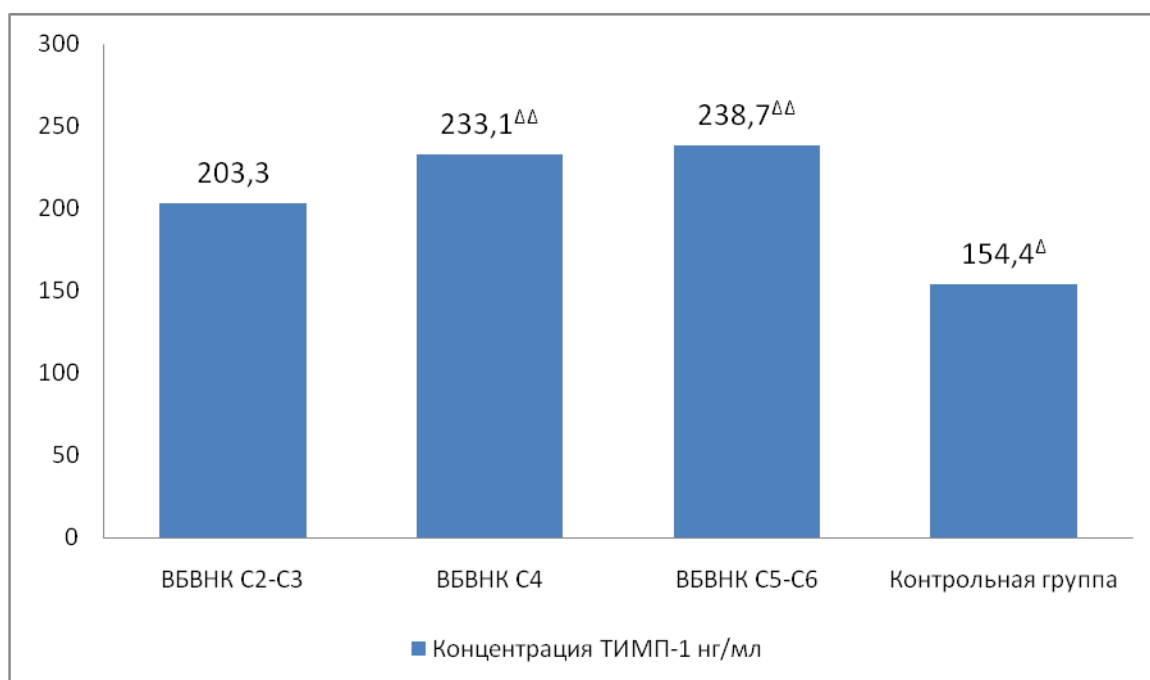


Рис. 33. Концентрация ТИМП-1 в исследуемых группах

Δ – значимое отличие от групп пациентов с ВБВНК на этапе скрининга ($p < 0,05$)

$\Delta\Delta$ – значимое отличие от групп контроля и пациентов с ВБВНК С2-С3 клинических классов на этапе скрининга ($p < 0,05$)

Таким образом, отмечается значимое ($p < 0,05$) повышение активности ТИМП-1 у пациентов II-ой и IV-ой групп уже через 1 месяц терапии, и данный показатель остается повышенным на протяжении 6 месяцев наблюдения. В I-й и III-й группах разницы в концентрации ТИМП-1 за период наблюдения по сравнению с начальным показателем не отмечали. Учитывая прием во второй и четвертой группах пациентами препаратов магния, можно судить о влиянии ионов магния на повышение концентрации ТИМП-1, тем самым снижая активность ММП-9 и ММП-1.

Также отмечается зависимость показателя ТИМП-1 от тяжести варикозной трансформации вен нижних конечностей. Имеется тенденция к повышению уровня ТИМП-1 соответственно с прогрессированием хронической венозной недостаточности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Варикозная болезнь вен нижних конечностей является широко распространенным, социально значимым заболеванием. Проблема профилактики и лечения хронической венозной патологии является одной из наиболее важных междисциплинарных проблем современной медицины. Несмотря на развитие медицины, наличие множества исследований причин развития варикозной трансформации венозной стенки, в понимании патогенеза этого патологического состояния до сих пор остается много вопросов. Заболеваемость данной нозологией и ее осложнениями остаются на стабильно высоком уровне, в связи с чем в последние годы среди многих авторов наметилась тенденция к пересмотру или иной трактовке фундаментальных постулатов патофизиологии венозной системы. Несколько лет назад была высказана мысль об участии особых матричных ферментов — металлопротеиназ в развитии варикозной трансформации подкожных вен. Это предположение и легло в основу современной теории патогенеза варикозной болезни нижних конечностей. Важное место в этой теории отводится дисплазии соединительной ткани. Предположения о роли слабости венозной стенки в патогенезе варикозной болезни появились ещё в середине XX века. Некоторые исследователи, обращая внимание на частое сочетание варикозной болезни с другими патологиями (грыжи, деформации скелета, патологии суставов и кожных покровов), смогли высказать предположение о системном поражении соединительной ткани у данной группы пациентов. Исследователи, тщательно изучающие данный вопрос, рассматривают варикозную болезнь как системное наследственное заболевание соединительной ткани с локомоторно-висцеральными проявлениями.

С учетом вышеизложенного были сформулированы задачи, цели и дизайн настоящего исследования. Работа выполнена в рамках научного плана ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Дефицит магния играет важную роль в формировании недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Дефицит магния в

соединительной ткани приводит к замедлению синтеза всех структурных молекул (включая протеогликаны, гликозаминогликаны, коллагены и эластин). Синтез структурных молекул крайне необходимых для восстановления соединительной ткани, при дефиците он замедляется, процессы восстановления также тормозятся, и это приводит к ухудшению механических характеристик ткани. Дефицит магния приводит к увеличению суммарной активности ММП и более активной деградации коллагеновых волокон, что также ухудшает состояние соединительной ткани. ММП играют важную роль в патофизиологическом каскаде реакций, наблюдаемом при варикозной болезни вен нижних конечностей. Деградация протеинов, формирующих внеклеточный матрикс, происходит в результате воздействия протеолитических ферментов, основными из которых являются ММП. При ВБВНК наблюдается дисбаланс между ММП и их тканевыми ингибиторами, что ведет к разрушению коллагеновых волокон, потере эластина и миграции гладкомышечных клеток в интиму. В стенках варикозно расширенных вен гладкомышечные клетки теряют дифференцировку и способность к взаимодействию. Все эти события вносят вклад в дилатацию вен, релаксацию стенки и потерю венозного тонуса. Описанные процессы в стенке вены ведут к повреждению эндотелия, в результате чего запускается эндотелиальная и лейкоцитарная активация, являющаяся стартовой точкой венозного воспаления. В последующем эти эпизоды воспаления в эндотелии приводят к хроническому рецидивирующему повреждению венозной стенки, что поддерживает воспалительное состояние на уровне вены. Синтез ММП и ТИМП происходит у всех пациентов в зоне нарушенной трофики. Синтез ММП увеличивается в результате стаза крови.

В исследование включили 144 человека, из которых 124 пациента имели ВБВНК клинических классов С2-С6, которых разделили на 4 группы. В I-й группе проводили оперативное лечение с последующим назначением стандартного консервативного лечения; во II-й группе после операции в дополнение к консервативному лечению назначали препараты магния; в III-й

группе проводили консервативное лечение без операции; в IV-й группе пациенты получали стандартное консервативное лечение и препараты магния. V-ю контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев, не страдающих варикозной болезнью. Период наблюдения составил 6 месяцев. Всем исследуемым выполнялся забор крови. Цельную кровь центрифугировали в течение 15 минут на скорости 3000 об/мин. Полученную сыворотку без следов гемолиза (отделяли от эритроцитов) замораживали и хранили при температуре -20°C . Забор крови для определения уровня биохимических маркеров производили вначале исследования у пациентов с ВБВНК и в контрольной группе и в дальнейшем через 1, 3 и 6 месяцев после начала лечения у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

Определение концентрации Mg^{2+} проводили фотоколориметрическим методом. Содержание ММП-1, ММП-9, ТИМП-1 в крови производили методом иммуноферментного анализа.

В качестве исходных показателей были получены следующие результаты. У пациентов с ВБВНК до начала лечения в 64,5% случаев (80 человек) наблюдались нормальные значения Mg^{2+} . У 35 человек (28,2%) было умеренное снижение концентрации магния. И выраженный дефицит наблюдался у оставшихся 9 пациентов (7,3%). В контрольной группе только у двух человек отмечался дефицит магния (10%). Таким образом, у пациентов с ВБВНК отмечается достоверное снижение уровня магния по сравнению с условно здоровыми добровольцами, не страдающими варикозной болезнью ($p < 0,05$).

На фоне проводимой дополнительной терапии препаратами магния (магний оротат), мы добились уменьшения количества пациентов с дефицитом магния в группах больных с ВБВНК (II-ой и IV-ой), что создало благоприятные предпосылки для дальнейшего течения заболевания с позиции дисплазии соединительной ткани.

Также производилась оценка концентрации магния у пациентов с ВБВНК в зависимости от клинического класса заболевания на этапе включения в исследование. В группах пациентов с ВБВНК С2-С3 клинических классов у 55 человек (76,4%) отмечался нормальный уровень магния, в то время как в группах пациентов с трофическими язвами всего у 40% больных отмечается отсутствие дефицита магния. Обращает на себя внимание, что из 9 пациентов, имеющих выраженный дефицит магния, 5 пациентов относились к больным с ВБВНК С5-С6 клинических классов, что свидетельствует о более выраженном дефиците магния у пациентов с более тяжелой формой варикозной болезни вен нижних конечностей.

Определяя концентрацию ММП-9, мы получили следующие результаты. В контрольной группе концентрация ММП-9 составила $4,5 \pm 1,32$ нг/мл. В группах пациентов с ВБВНК концентрация ММП-9 составила: в I-ой группе $11,3 \pm 1,7$ нг/мл, во II-й – $10,1 \pm 1,3$ нг/мл, в III-й – $12,7 \pm 2,5$ нг/мл, в IV-ой – $11,6 \pm 2,1$ нг/мл. Во всех группах наблюдалось достоверное увеличение концентрации ММП-9 по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Через 1 месяц терапии во второй и четвертой группе показатели были $6,2 \pm 0,8$ нг/мл и $8,7 \pm 1,1$ нг/мл. Через три месяца сохранялась тенденция к снижению концентрации ММП-9 во второй и четвертой группах ($5,4 \pm 2,1$ нг/мл и $8,0 \pm 1,4$ нг/мл соответственно). Через шесть месяцев показатели ММП-9 во II-ой и IV-ой группах статистически значимо не отличались от результатов, достигнутых нами через 3 месяца, также были достоверно ниже исходного показателя. В I-й и III-й группах показатели ММП-9 достоверно значимо не отличались на всем 6-и месячном периоде исследования.

Таким образом, отмечается значимое ($p < 0,05$) снижение активности ММП-9 у пациентов II-ой и IV-ой групп уже через 1 месяц терапии, и данный показатель остается сниженным на протяжении 6 месяцев наблюдения. В I-й и III-й группах разницы в концентрации ММП-9 за период наблюдения по сравнению с начальным показателем не отмечали. Учитывая прием во второй

и четвертой группах пациентами препаратов магния, можно судить о влиянии ионов магния на снижение активности ММП-9, тем самым угнетая процессы деградации внеклеточного матрикса и разрушения коллагена. Наиболее ярко выраженное снижение отмечалось во второй группе, где пациентам помимо консервативной терапии проводилось оперативное лечение ($10,1 \pm 1,3$ нг/мл до начала исследования и $5,4 \pm 2,1$ нг/мл через 3 месяца).

Также отмечается зависимость показателя ММП-9 от тяжести варикозной трансформации вен нижних конечностей. Имеется тенденция к повышению уровня ММП-9 соответственно с прогрессированием хронической венозной недостаточности. Наибольший уровень ММП-9 наблюдается у пациентов с варикозной болезнью класса C5-C6 $14,5 \pm 1,7$ нг/мл.

Концентрация ММП-1 в контрольной группе составила $4,8 \pm 0,73$ нг/мл. В группах пациентов с ВБВНК выявлено достоверное повышение показателей ММП-1 по сравнению с группой контроля, в среднем показатель составил $6,9 \pm 1,16$ нг/мл.

Спустя месяц концентрация показатель ММП-1 в первой группе составил $5,4 \pm 0,5$ нг/мл, во второй – $6,1 \pm 0,4$ нг/мл, в третьей – $5,7 \pm 0,3$ нг/мл, в четвертой – $5,8 \pm 0,6$ нг/мл.

Через три месяца сохранялась тенденция к снижению концентрации ММП-1 во всех четырех группах, но через шесть месяцев показатели ММП-1 во всех группах статистически значимо не отличались от результатов, которые мы получили на этапе включения пациентов.

Таким образом, отмечается достоверное ($p < 0,05$) снижение активности ММП-1 у пациентов с ВБВНК через 1 и 3 месяца терапии. Учитывая прием во второй и четвертой группах пациентами препаратов магния, можно судить о том, что ионы магния не повлияли на активность ММП-1, а снижение показателей, по всей видимости, связано с эффектом стандартной терапии,

проводимой пациентам с варикозной болезнью. Достоверной связи повышения концентрации ММП-1 с тяжестью ВБВНК не выявлено.

В группах пациентов с варикозной болезнью отмечалось повышение концентрации ТИМП-1 по сравнению с группой контроля ($210,8 \pm 21,1$ нг/мл и $154,4 \pm 14,4$ нг/мл соответственно, $p < 0,05$)

Через месяц наблюдения концентрация ТИМП-1 в первой группе составила $216,5 \pm 12,4$ нг/мл, в третьей – $212,3 \pm 13,2$ нг/мл, во второй и четвертой группе показатели были $274,3 \pm 18,9$ нг/мл и $280,5 \pm 14,3$ нг/мл, что являлось достоверным повышением по сравнению с начальным уровнем ТИМП-1 в данных группах ($p < 0,05$). Через три месяца концентрации ММП-9 во второй и четвертой группах составили $285,5 \pm 13,2$ нг/мл и $288,1 \pm 12,9$ нг/мл соответственно. В первой и третьей группах показатель ТИМП-1 держался на начальном уровне. Через шесть месяцев показатели ТИМП-1 во II-ой и IV-ой группах статистически значимо не отличались от результатов, достигнутых нами через 3 месяца, также были достоверно выше исходного показателя. В I-й и III-й группах показатели ТИМП-1 достоверно значимо не отличались на всем 6-и месячном периоде исследования.

Таким образом, отмечается значимое ($p < 0,05$) повышение активности ТИМП-1 у пациентов II-ой и IV-ой групп уже через 1 месяц терапии, и данный показатель остается повышенным на протяжении 6 месяцев наблюдения. В I-й и III-й группах разницы в концентрации ТИМП-1 за период наблюдения по сравнению с начальным показателем не отмечали. Учитывая прием во второй и четвертой группах пациентами препаратов магния, можно судить о влиянии ионов магния на повышение концентрации ТИМП-1, тем самым снижая активность ММП-9 и ММП-1.

Также отмечается зависимость показателя ТИМП-1 от тяжести варикозной трансформации вен нижних конечностей. Имеется тенденция к повышению уровня ТИМП-1 соответственно с прогрессированием хронической венозной недостаточности. У пациентов с трофическими нарушениями отмечается более высокий уровень ТИМП-1, чем у пациентов с

ВБВНК С2-С3 клинических классов. Так, концентрация ТИМП-1 у пациентов, имеющих индурацию, варикозную экзему и другие трофические нарушения (клинический класс С4) составила $233,1 \pm 19,2$ нг/мл, а у пациентов с открытыми или закрытыми трофическими язвами (С5-С6 класс) - $238,7 \pm 14,5$ нг/мл. В то время как у пациентов с ВБВНК С2-С3 показатель был $203,3 \pm 14,1$ нг/мл.

В ходе проведенного исследования отмечено проявление дефицита магния у пациентов с ВБВНК, и данные проявлению более выражены у пациентов, имеющих трофические расстройства. Выявлены положительные свойства препарата магния по влиянию на процессы деградации ВКМ, путем снижения концентрации ММП-9 и повышения концентрации ТИМП-1, тем самым влияя на баланс ММП/ТИМП в благоприятную для поддержания соединительной ткани в нормальном состоянии сторону. Выявлено достоверное повышение концентрации исследуемых ММП и ТИМП у пациентов с ВБВНК по сравнению с контрольной группой пациентов. Также отмечено изменение данных концентраций на фоне проводимой терапии, включающей как оперативное, так и консервативное лечение.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено более высокое содержание в крови ММП-1, ММП-9 и ТИМП-1 и более низкая концентрации магния у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей по сравнению с контрольной группой, не страдающих ВБВНК.
2. Отмечается снижение концентрации ММП-1 на фоне терапии ВБВНК в течение 3 месяцев, как в группах оперативного, так и в группах консервативного лечения, данный показатель приходит к исходному уровню через 6 месяцев. Отмечается снижение концентрации ММП-9 и увеличение концентрации ТИМП-1 на фоне приема препаратов магния.
3. Отмечается более высокий уровень ММП-9, ТИМП-1 и Mg^{2+} соответственно прогрессированию тяжести хронической венозной недостаточности. Наибольшие показатели ММП-9 и ТИМП-1, а также наиболее выраженный дефицит магния наблюдается у пациентов с трофическими язвами (ВБВНК классов С5-С6). Достоверной зависимости концентрация ММП-1 от тяжести ВБВНК не выявлено.
4. Препараты магния снижают активность ММП-9, повышают концентрацию ТИМП-1, тем самым влияя на баланс ММП/ТИМП, процессы деградации коллагена и ВКМ у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Концентрации матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ, а также ионов магния могут являться маркерами развития и тяжести варикозной болезни вен нижних конечностей.

2. Препараты магния оказывают благоприятное влияние с патогенетической точки зрения на течение варикозной болезни вен нижних конечностей, их прием целесообразен у больных с ВБВНК, в том числе и у больных, получивших оперативное лечение.

3. Поддержание баланса ММП/ТИМП и контроль уровня магния необходим для замедления прогрессирования хронической венозной недостаточности и улучшения качества лечения больных с ВБВНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авцын, А.П. Ультроструктурные основы патологии клетки [Текст] / А.П. Авцын, В.А. Шахламов. – М.: Медицина, 1979. – 320 с.
2. Алёхин, Д.И. Уровень прогестерона у беременных как фактор развития варикозной болезни [Текст] / Д.И. Алёхин, Л.А. Николенко, Е.В. Персева, Ж.А. Голощапова // Проблемы репродукции. – 2008. – № 6. – С. 87-90.
3. Аскерханов, Р.П. Вопросы этиологии и патогенеза варикозного расширения вен нижних конечностей [Текст] / Р.П. Аскерханов // Флебология. – 2010. – № 4. – С. 45-47.
4. Ахметзянов, Р.В. Влияние клапанной несостоятельности глубоких вен на тяжесть хронической венозной недостаточности при варикозной болезни [Текст] / Р.В. Ахметзянов, Р.А. Бредихин, И.М. Игнатъев. // Тез. докл. VII научно-практ. конференции Ассоциации флебологов России: Флебологическая. – М. – 2008. – С. 12
5. Бобкова, И.Н. Матриксные металлопротеиназы в патогенезе острых и хронических заболеваний почек (обзор литературы) [Текст] / И.Н. Бобкова, Л.В. Козловская, О.А. Ли // Нефрология и диализ. – 2008. – Т.10, № 2. – С. 105-111.
6. Богачев, В.Ю. Хронические заболевания вен нижних конечностей: современный взгляд на патогенез, лечение и профилактику [Текст] / В.Ю. Богачев // Флебологическая. – 2008. – № 34. – С. 2-10.
7. Богданец, Л.И. Фармакотерапия хронической венозной недостаточности [Текст] / Л.И. Богданец, В.Ю. Богачев// Флебологическая. –1998. – № 9. – С. 9-12.
8. Бойцов, С.А. Смертность и потерянные годы жизни в результате преждевременной смертности от болезней системы кровообращения [Текст] / С.А. Бойцов, И.В. Самородская // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2014. – №2. – С. 4.

9. Бредихин, Р.А. Варикозная болезнь. Современный взгляд на проблему [Текст] / Р.А. Бредихин, И.М. Игнатъев // Вестник МКДЦ. – 2002. – Т.1, №1 – С. 100-106.
10. Ванков, В.Н. Строение вен [Текст] / В.Н. Ванков – М.: Медицина, 1974. – 208 с.
11. Варикозное расширение поверхностных вен нижних конечностей: метод. рекомендации [Текст] / Г.Г. Кондратенко, В.Л. Казушик, М.Ю. Ревтович и др. – Минск: БГМУ, 2006. – 47 с.
12. Вахитов, М.Ш. Варианты анатомического строения вен нижних конечностей как возможная причина развития первичного варикоза [Текст] / М.Ш. Вахитов, О.П. Большаков // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2011. – Т. 17, № 4. – С. 64-68.
13. Веденский, А.Н. Варикозная болезнь [Текст] / А.Н. Веденский. – Л.: Медицина, 1983. – 208 с.
14. Верткин, А.Л. Применение магния и оротовой кислоты в кардиологии: Методические рекомендации [Текст] / А.Л. Верткин. – М., 1997. – 23 с.
15. Гришин, И.Н. Варикоз и варикозная болезнь нижних конечностей [Текст] / И.Н. Гришин, В.Н. Подгайский, И.С. Старосветская. – Минск: Вышэйшая школа, 2005. – 253 с.
16. Громова, О.А. Недостаточность магния – достоверный фактор риска коморбидных состояний: результаты крупномасштабного скрининга магниевого статуса в регионах России [Текст] / О.А. Громова [и др.] // Фарматека. – 2013. – Т.6. – С.116-129.
17. Громова, О.А. Магний и пиридоксин: основы знаний [Текст] / О.А. Громова – М.: ПротоТип, 2006. – 234 с.
18. Губський, Ю.І. Біологічна хімія [Текст] / Ю.І. Губський – Київ – Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 507 с.
19. Думпе, Э.П. Физиология и патология венозного кровообращения нижних конечностей [Текст] / Э.П. Думпе, Ю.И. Ухов, П.Г. Швальб. – М.: Медицина, 1982. – 186 с.

20. Ждановский, В.В. Амбулаторное лечение варикозной болезни: возможности и перспективы [Текст] / В.В. Ждановский, В.В. Дарвин // Флебология. – 2013. – № 1. – С.64-67.
21. Земцовский, Э.В. Надо ли пытаться дифференцировать т.н. недифференцированные дисплазии соединительной ткани? [Текст] / Э.В. Земцовский // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2008. – № 1. – С. 67-74.
22. Золотухин, И.А. Эпидемиология хронических заболеваний вен [Текст] / И.А. Золотухин, Е.И. Селиверстов, И.П. Авакьянц, А.С. Никишков // Флебология. – 2016. – Т.10, №1. – С. 35-43.
23. Зорина, О.А. Взаимосвязь генетических полиморфизмов коллагена типа COL1A1, COL2A1 и COL3A1 с типичными формами пародонтита [Текст] / О.А. Зорина, О.А. Борискина, Д.В. Ребриков // Медицина и качество жизни. – 2011. – №2. – С.33-34.
24. Кадурина, Т.И. Наследственные коллагенопатии. Клиника, диагностика, лечение, диспансеризация [Текст] / Т.И. Кадурина. – СПб.: Невский диалект, 2000. – 270 с.
25. Кириенко, А.И. Варикозная болезнь нижних конечностей у женщин и мужчин: данные проспективного обсервационного исследования СПЕКТР [Текст] / А.И. Кириенко, И.А. Золотухин, С.М. Юмин, Е.И. Селиверстов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2012. – Том 18, №3. – С. 64-67.
26. Кириенко, А.И. Амбулаторная ангиология [Текст] / А.И. Кириенко, В.М. Кошкин, В.Ю. Богачев. – М.: Литтерра, 2007. – 328 с.
27. Кириенко, А.И. Хронические заболевания вен нижних конечностей у работников промышленных предприятий г. Москвы. Результаты эпидемиологического исследования [Текст] / А.И. Кириенко, В.Ю. Богачев, С.Г. Гаврилов [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2004. – Т. 10, №1. – С. 77-85.

28. Константинова, Г.Д. Эстетическая флебохирургия [Текст] / Т.Д. Константинова, Е.Д. Донская// Ангиология и сосудистая хирургия. – 2000. – Т.6, №3. – С. 44-46.
29. Костромов, И.А. Коммуникационные вены нижних конечностей и их значение в патогенезе варикозной болезни [Текст] / И.А. Костромов // Флебология. – 2010. – Т. 4, №3. – С. 74-76.
30. Кубышкин, В.Ф. Биохимические, морфологические и доплерометрические критерии дисплазии соединительной ткани при варикозной болезни вен нижних конечностей [Текст] / В.Ф. Кубышкин, Е.А. Захарьян // Кровообращение и гемостаз. – 2007. – № 1. – С. 85-89.
31. Кудрин А.В. Микроэлементы в неврологии. Обучающие программы ЮНЕСКО [Текст] / А.В. Кудрин, О.А. Громова. – М., 2006. – 274 с.
32. Лазаренко, В.А. Диагностика нарушений гемодинамики у больных варикозным расширением поверхностных вен [Текст] / В.А. Лазаренко, А.Б. Санников. – Курск: КГМУ, 2003. – 105 с.
33. Лериш, Р. Основы физиологической хирургии [Текст] / Р. Лериш; пер. с фр. – Л.: Медгиз, 1961. – 162 с.
34. Мазайшвили, К.В. Распространенность хронических заболеваний вен нижних конечностей в Петропавловске-Камчатском [Текст] / К.В. Мазайшвили, В.И. Чен // Флебология. – 2008. – Т.4, №2. – С. 52-54.
35. Матриксные металлопротеиназы 2, 7, 9 и тканевой ингибитор металлопротеиназ 1-го типа в опухолях и сыворотке крови больных новообразованиями яичников [Текст] / Е.С. Герштейн [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т.149, № 5. – С. 562-565.
36. Матриксные металлопротеиназы как биомаркеры формирования бронхолегочной дисплазии у детей [Текст] / И.В. Давыдова [и др.] // Пульмонология. – 2009. – № 4. – С. 80-84.
37. Мащенко, Ю.В. Морфологические особенности подкожных вен нижних конечностей и клиническое течение варикозной болезни

- ассоциированной с дисплазией соединительной ткани [Текст] / Ю.В. Машенко, О.А. Царев, М.О. Царева // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т. 20, №2. – С. 225.
38. Милованов, А.П. Роль матриксных металлопротеиназ типа 2 и 9 при физиологической и осложненной беременности [Текст] / А.П. Милованов, И.М. Расстригина, Т.В. Фокина // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2012. – № 4. – С. 70-74.
39. Морозов, К.М. Реконструкция венозных клапанов [Текст] / К.М. Морозов, К.Г. Абалмасов // Материалы третьей конференции ассоциации флебологов России. – Ростов н/Д., 2001. – С. 270.
40. Нечаева, Г.И. Кардио-гемодинамические синдромы: автореф. дис. ... докт. мед. наук. [Текст] / Г.И. Нечаева. – Омск. – 1994. – 374 с.
41. Новиков, Б.Н. Варикозная болезнь нижних конечностей и беременность [Текст] / Б.Н. Новиков // Русский медицинский журнал. – 2011.–Т 19, № 1. – С. 18-21.
42. Омарова, Х.М. Варикозное расширение вен половых органов – лечение хронической венозной недостаточности и профилактика тромбофлебитических осложнений во время беременности [Текст] / Х.М. Омарова // Проблемы репродукции. – 2007. – №4. – С. 85-89.
43. Омельченко Л.И., Николаенко В.Б. Дисплазия соединительной ткани у детей [Текст] // Doctor. – 2004. – № 1. – С. 44-47
44. Очерки по гемодинамической перестройке сосудистой стенки [Текст] / И.К. Есипова, О.Я. Кауфман, Г.С. Крючкова, [и др.] – М: Медицина, 1971. – 310 с.
45. Панченко, Е.П. Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии [Текст] / Е.П.Панченко, А.Б. Добровольский – М.: Спорт и культура, 1999. – 464 с.
46. Патофизиология сердечно-сосудистой системы [Текст] / под ред. Л. Лилли. – М.: Бином, 2010. – 672 с.

47. Покровский, А.В. Диагностика и лечение варикозной болезни [Текст] / А.В. Покровский, Е.Г. Градусов, Р.А. Бредихин. – М.: РМАПО, 2013. – 125 с.
48. Покровский, А.В. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей, современные проблемы диагностики, классификации, лечения [Текст] / А.В. Покровский, С.В. Сапелкин // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2003. – Т.9, №1. – С. 53-58.
49. Полуэктов, Л.В. Ангиографическая диагностика заболеваний вен нижних конечностей [Текст] / Л.В. Полуэктов, Ю.Т. Цуканов. – Омск: ОМИ, 1983. – 124 с.
50. Потапов, М.П. Клинико–лабораторные критерии неспецифической дисплазии соединительной ткани как предикторы рецидива варикозной болезни нижних конечностей [Текст] / М.П. Потапов, Е.В. Ставер // Флебология. – 2013. – № 4. – С. 25-29.
51. Потеряева, О.Н. Анализ активности матриксные металлопротеиназы и α 1-протеазного ингибитора в сыворотке крови больных сахарным диабетом 2-го типа [Текст] / О.Н. Потеряева, Г.С. Русских, Л.Е Панин // Бюл. 145 Экспериментальной биологии и медицины – 2011. – Т.152, № 11. – С. 509-510.
52. Потеряева, О.Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы) [Текст] / О.Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири. – 2010. – № 5. – С. 7-17.
53. Рецидив варикозной болезни [Текст] / М.П. Вилянский, Н.В. Проценко, В.В. Голубев, Р.И. Енукашвили. – М.: Медицина, 1988. – 176 с.
54. Рогова, Л.Н. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) [Текст] / Л.Н. Рогова, Н.В. Шестернина, Т.В. Замечник, И.А. Фастова // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т.ХVIII, №2. – С. 8.

55. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен [Текст] / Флебология. – 2013. – Т.7, №2 – С. 4-11.
56. Сабельников, В.В. Опыт применения препарата Антистакс у больных с ХВН нижних конечностей и сопутствующей артериальной гипертензией [Текст] / В.В. Сабельников, С.И. Шолков // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19, №1. – С. 83-84.
57. Савельев, В.С. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей как общемедицинская проблема [Текст] / В.С. Савельев, А.И. Кириенко, В.Ю. Богачев [и др.] // Consilium medicum. – 2004. – Т.6, №6. – С. 26.
58. Сазонов, А.А. Морфологические изменения стенки большой подкожной вены в ее устье при склерозирующей терапии [Текст] / А.А. Сазонов // Материалы итоговой конференции военно–научного общества курсантов и слушателей ВМА. – 2003. – С. 280-281.
59. Сазонов, А.Б. Основоположники оперативной флебологии / А.Б. Сазонов, Г.Г. Хубулава, А.А. Сазонов. – СПб.: Б.И., 2011. – 160 с.
60. Серов, Р.А. Структурные и функциональные особенности сосудов большого круга кровообращения [Текст] / Руководство по кардиологии: в 4 т. под ред. Е.И. Чазова. – М, 1982. – Т.1. – С. 59-65.
61. Система матриксных металлопротеиназ и секреция цитокинов при сахарном диабете 2-го типа и нарушении толерантности к углеводам, ассоциированных с артериальной гипертензией [Текст] / И.В.Кологривова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т.156, № 11. – С. 578-581.
62. Смертность от болезней системы кровообращения в России и в экономически развитых странах. Необходимость усиления кардиологической службы и модернизации медицинской статистики в Российской Федерации [Текст] / В.И. Харченко [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2005. – №2. – С. 5-18.

63. Соболева, Г.М. Семейство матриксных металлопротеиназ: общая характеристика и физиологическая роль [Текст] / Г.М. Соболева, Г.Т.Сухих // *Акушерство и гинекология*. – 2007. – № 1. – С. 5-7.
64. Соловьева Н. И. Матриксные металлопротеиназы: регуляция активности и роль в процессе онкогенеза [Текст] / Н. И. Соловьева // *Структура и функции протеолитических ферментов: материалы конф.* – 2000. – Т.46, №5. – С. 489-490.
65. Спасов А.А. Магний в медицинской практике [Текст] / А.А. Спасов. – Волгоград, 2000. – 272 с.
66. Стойко, Ю.М. «Порочный круг» патогенеза хронической венозной недостаточности нижних конечностей: выбор эффективной фармакотерапии [Текст] / Ю.М. Стойко, К.В. Мазайшвили, Т.В. Хлевтова [и др.] // *Consilium medicum. Хирургия*. – 2011.– № 1.– С. 20-21.
67. Стойко, Ю.М. Венозная гипертензия в системе полых вен [Текст] / Ю.М. Стойко, М.И. Лыткин, Е.В. Шайдаков. – СПб., 2002. – 276 с.
68. Стойко, Ю.М. Клинические и фармакоэкономические аспекты хронической венозной недостаточности нижних конечностей [Текст] / Ю.М. Стойко, Н.А. Ермаков // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2004. – Т.10, №4. – С. 63-67.
69. Ткаченко, Б.И. Венозное кровообращение [Текст] / Б.И. Ткаченко. – Л.: Медицина, 1979. – 224 с.
70. Ткаченко, Б.И. Строение и функция сосудистой системы. Болезни сосудов и сердца [Текст] / Б.И. Ткаченко, С.А. Поленов; под ред. Е.А. Чазова. – М.: Медицина, 1992. – Т.1. – С. 68-85.
71. Торшин, И.Ю. Дисплазия соединительной ткани, клеточная биология и молекулярные механизмы воздействия магния [Текст] / И.Ю. Торшин, О.А. Громова // *РМЖ*. – 2008. – Т.16, № 4(314). – С. 230-238.

72. Турна, А.А. Активность матриксных металлопротеиназ при различных патогенетических вариантах воспаления: автореф. дисс. ... докт. мед. наук [Текст] / А.А. Турна. – Москва. – 2009. – 20 с.
73. Тюрин, С.А. Гемодинамика при варикозной болезни в системе большой подкожной вены [Текст] / С.А. Тюрин, Е.П. Бурлева, Р.Р. Фасфиев // Флебология. – 2014. – №2, Вып.2. – С. 10.
74. Флебология: руководство для врачей / В.С. Савельев [и др.]; под ред. В.С. Савельева. – М.: Медицина, 2001. – 664 с.: ил.
75. Хасигов, П.З. Металлопротеиназы матрикса нормальных тканей человека [Текст] / П.З. Хасигов, О.В. Подобед, С.А. Кцова // Биохимия. – 2001. – Т. 66, Вып.2. – С. 167-179.
76. Цуканов, Ю.Т. Варикозная болезнь вен нижних конечностей как следствие дисплазии соединительной ткани [Текст] / Ю.Т. Цуканов, А.Ю. Цуканов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2004. – Т. 10, №2. – С. 84-85.
77. Червяков, И.В. Варианты поражения вен нижних конечностей при их варикозном расширении [Текст] / И.В. Червяков // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1977. – №12. – С. 49-52.
78. Шайдаков, Е.В. Структурные особенности варикозно расширенной большой подкожной вены у пациентов разных возрастных групп [Текст] / Е.В. Шайдаков, В.Л. Булатов, Е.И. Чумасов, Е.С. Петрова, И.Н. Сонькин, К.П. Черных // Новости хирургии. – 2014. – Т. 22, №5. – С. 560-567.
79. Швальб П.Г. Системный подход к патогенезу основных нарушений венозного возврата из нижних конечностей. Патологический венозный континуум [Текст] / П.Г. Швальб// Флеболимфология 2008. – Том 26, №1. – С. 5-9
80. Швальб, П.Г. Патология венозного возврата из нижних конечностей [Текст] / П.Г. Швальб, Ю.И. Ухов – Рязань: РязГМУ, 2009. – 152 с.

81. Шевченко, Ю.Л. Анатомо–физиологические особенности мышечно-венозных синусов голени [Текст] / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко, Е.В. Шайдаков, В.И. Скрабовский // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2000. –Т.6, № 1.– С. 57-60.
82. Шевченко, Ю.Л. Дисфункции эндотелия у больных варикозной болезнью нижних конечностей и возможные ее коррекции [Текст] / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко, В.Г. Гудымович [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2010. –Т. 16, № 4. – С. 57-60.
83. Шевченко, Ю.Л. Основы клинической флебологии [Текст] / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко – М.: ЗАО «Шико», 2013. – 336 с.
84. Шулутко, А.М. Варикозная болезнь нижних конечностей: Метод. Пособие [Текст] / А.М. Шулутко, А.Ю. Крылов, В.И. Семиков [и др.] – М.: 1-й МГМУ им. И.М.Сеченова, 2010. – 60 с.
85. Шулутко, А.М. Варикозная болезнь. Современные принципы лечения [Текст] / А. М. Шулутко, А. Ю. Крылов. – М.: Миклош, 2003. – 132 с.
86. Экспрессия матриксных металлопротеиназ в ткани плаценты зависит от выраженности недифференцированной дисплазии соединительной ткани [Текст] / Е.А. Дубова [и др.] // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т.156, № 7. – С. 123-127.
87. Эктова, М.В. Морфологическая перестройка кожи и стенки подкожной вены при классах С1 и С2 хронических заболеваний вен [Текст] / М.В. Эктова, Е.П. Бурлева, С.Ю. Медведева, Е. Осипова // Флебология. – 2014. – Т. 2, №2. – С. 12.
88. Яблоков, Е.Г. Хроническая венозная недостаточность [Текст] / Е.Г. Яблоков, А.И. Кириенко, В.Ю. Богачев. – М: Берег, 1999. – 126 с.
89. Яковлев, В.М. Кардио-респираторные синдромы при дисплазии соединительной ткани [Текст] / В.М. Яковлев, Г.И. Нечаева. – Омск: Изд. Омской государственной мед. академии, 1994. – 217 с.
90. Ярмолинская, М.И. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия [Текст] / М.И. Ярмолинская, А.С.

- Молотков, В.М. Денисова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т.LXI. – № 1. – С. 113-125.
91. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension [Text] / J.A. Panza [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1990. – Vol.323, №1. – P. 22-27.
92. Abramson, J.H. The epidemiology of varicose veins: a survey of western Jerusalem [Text] / J.H. Abramson, C. Hopp, L.M. Epstein // Journal of Epidemiology & Community Health. – 1981. – 35(3). – P. 213-217
93. Andreotti, L. Collagen, elastin, and sugar content in primary varicose veins [Text] / L. Andreotti, D. Cammelli, G. Banchi [et al.] // Ric. Clin. Lab. – 1978. – Vol. 8. – P.273-285.
94. Ascher, E. Expression of molecular mediators of apoptosis and their role in the pathogenesis of lower– extremity varicose veins [Text] / E. Ascher, T. Jacob, A. Hingorani [et al.] // Journal of Vascular Surgery. – 2001. – Vol. 33, №5. – P. 1080-1086.
95. Aunapuu, M. Histopathological changes and expression of adhesion molecules and laminin in varicose veins [Text] / M. Aunapuu, A. Arend // Vasa. – 2005. –Vol. 34, №3. – P. 170-175.
96. Badier-Commander, C. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall [Text] / C. Badier-Commander, M.P. Jacob, V. Fontaine, Y. Benazzoug, L. Feldman, J.B. Michel // J.Pathol. – 2001. – 49(4). – P. 326-332.
97. Badier–Commander, C. Increased TIMP/MMP ratio in varicose veins: a possible explanation for extracellular matrix accumulation [Text] / C. Badier– Commander, T. Verbeuren, C. Lebard [et al.] // J. Pathol. – 2000. – Vol. 192. – P. 105-112.
98. Beaglehole, R. Epidemiology of varicose veins [Text] / R. Beaglehole // World J Surg. – 1996. – Vol.10. – P. 898-902.
99. Becker, C. New aspects of pathogenesis of chronic venous insufficiency and action orientation of oksirutin [Text] / C. Becker, J.A. Zijistra // Consilium– Medicum. – 2001 – Vol. 3, № 11. – P. 38-42.

100. Bergan, J. J. Molecular mechanisms in CVI [Text] / J. J. Bergan // *Ann. Vasc. Surg.* – 2007. – Vol. 21. – P. 260-266/
101. Bergan, J.J. Chronic venous disease [Text] / J.J. Bergan, G.W. Schmid– Schönbein, P.D. Smith // *New England Journal of Medicine* – 2006. – Vol. 355, №5 – P. 488-498.
102. Blomgren, L. Changes in superficial and perforating vein reflux after varicose vein surgery [Text] / L. Blomgren // *Journal of Vascular Surgery.* – 2005. – Vol. 42, № 2. – P. 315-320.
103. Blomgren, L. Coagulation and fibrinolysis in chronic venous insufficiency [Text] / L. Blomgren, G. Johansson, A. Siegbahn [et al.] // *Vasa.* – 2001. – Vol. 30, No. 3. – P. 184-187.
104. Boisseau, M.R. Chronic venous diseases: roles of various pathophysiological factors [Text] / M.R. Boisseau, B.de La Giclais // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2004. – Vol. 31, №1 – P. 67-74.
105. Bradbury, A.W. Epidemiology and aetiology of C4-6 disease [Text] / A.W. Bradbury // *Phlebology.* – 2010. – Vol. 25, supp.1. – P. 2-8.
106. Brand, F.N. The epidemiology of varicose veins: the Framingham study [Text] / F.N. Brand, A.L. Dannenberg, R.D. Abbott [et al.] // *American Journal of Preventive Medicine.* – 1988. – 4. – P. 96-101.
107. Burnand, K. Microcirculation in chronic venous insufficiency. Venous ulcers [Text] / K. Burnand, J.J. Bergan, C.K. Shortell // Elsevier. – 2007. – P. 15-25.
108. Burnand, K. The physiology and hemodynamics of chronic venous insufficiency of the lower limb [Text] / K. Burnand. // *Handbook of Venous Disorders* / eds. Gloviczki P., Yao J.S. – New York : Arnold, 2001. – P.49-57.
109. Carpentier, P.H. Prevalence, risk factors and clinical patterns of chronic venous disorders of lower limbs. A population-based study in France [Text] / P.H. Carpentier, H.R. Maricq, C. Biro, C.O. Poncot-

- Makinen, A. Franco // *Journal of Vascular Surgery*. – 2004. – 40(4). – P. 650-659.
110. Cauwe B. The biochemical, biological, and pathological kaleidoscope of cell surface substrates processed by matrix metalloproteinases [Text] / B. Cauwe, P.E. Van den Steen, G. Opdenakker // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 2007. – Vol. 42, № 3. – P. 113-185.
111. Chen, Q. Matrix metalloproteinases: Inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling [Text] / Q. Chen, M. Jin, F. Yang, J. Zhu, Q. Xiao, L. Zhang // *Mediators of Inflammation*. – Vol. – 2013. – P. 1-14.
112. Chronic venous leg ulcers are associated with high levels of metalloproteinases-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin [Text] / R.Serra [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 2013. – Vol.21,№ 3 . – P. 395-401.
113. Chubanov, V. Disruption of TRPM6/TRPM7 complex formation by a mutation in the TRPM6 gene causes hypomagnesemia with secondary hypocalcemia [Text] / V. Chubanov, S. Waldegger, M. Mederos y Schnitzler // *Proc. Natl. Acad Sci USA*. – 2004. – Vol. 101, № 9. – P. 2894-2899.
114. Comparison of collagen subtype I and III presence in varicose and non-varicose vein walls [Text] / Haviarova Z. [et al.] // *Bratislavske lekarske listy*. – 2008. – Vol.109, №3. – P. 102-105.
115. Conservative versus surgical treatment of venous leg ulcers: 10-year follow up of a randomized, multicenter trial [Text] / W.B. van Gent [et al.] // *Phlebology*. – 2015. – vol. 30, № 1. – P. 35-41.
116. Coombes, R. Venous thromboembolism caused 25000 deaths a year, say MPs [Text] / R. Coombes // *BMJ*. – 2005. – Vol. 330, №7491. – P. 559.
117. Criqui, M.H. Chronic venous disease in an ethnically diverse population [Text] / M.H. Criqui, M. Jamosmos, A. Fronck, [et al.] // *American Journal of Epidemiology*. – 2003. – 158(5). – P. 448-456.

118. Dalsing, M.C. Chronic deep venous insufficiency: what is new? [Text] / M.C. Dalsing // *International Angiology*. – 2007. - Vol. 26, №2 – P. 43-44.
119. Elkington, P.T. Matrix metalloproteinases in destructive pulmonary pathology [Text] / P.T. Elkington, J.S. Friedland // *Thorax*. – 2006. – Vol. 61, №3. – P. 259-266.
120. Endovenous laser ablation of varicose veins with the 1470 nm diode laser using a radial fiber – 1-year follow-up [Text] / E von Hodenberg [et al.] // *Phlebology*. – 2015. – vol. 30, № 2. – P. 86-90.
121. European guidelines for sclerotherapy in chronic venous disorders [Text] / E. Rabe [et al.] // *Phlebology*. – 2014. – Vol. 29, № 6. – P. 338-354.
122. Evans, C.J. Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population: Edinburgh Vein Study [Text] / C.J. Evans, F.G.R. Fowkes, C.V. Ruckley, A.J. Lee // *Journal of Epidemiology & Community Health*. – 1999. – 53(3). – P. 149-153.
123. Frankova, J. Influence of hydrogencalcium salts of oxidized cellulose on MMP-2, MMP-9 and TNF-alpha production and wound healing in non-healing wounds [Text] / J. Frankova, D. Diamantova, J. Vrbkova, J. Ulrichova // *Acta Dermatovenerol Croat*. – 2013. – T. 21, № 4. – P. 219-223.
124. Fu, X. Activation and silencing of matrix metalloproteinases [Text] / X. Fu, W.C. Parks, J.W. Heinecke // *Semin. Cell. Dev. Biol*. – 2008. – Vol. 19, №1. – P. 2-13.
125. Fukuda, S. Mechanisms for regulation of fluid shear stress response in circulating leukocytes [Text] / S. Fukuda, T. Yasu, D.N. Predescu, G.W. Schmid– Schönbein // *Circ. Res*. – 2000. – Vol. 86. – P.13-18.
126. Functional Uncoupling of the Enzymatic and Angiogenic Inhibitory Activities of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 (TIMP-2) [Text] / Fernandez C. A. [et al.] // *J. Biol. Chemistry*. – 2003. – Vol. 278, N. 42. – P. 40989–40995.

127. Gandhi, R.H. Analysis of the connective tissue matrix and proteolytic activity of primary varicose veins [Text] / R.H. Gandhi, E. Irizarry, G.B. Nackman, V.J. Halpern [et al.] // *Journal of Vascular Surgery*. –1993. –Vol. 18, №5 – P. 814-820.
128. Gelatinase B/MMP-9 and neutrophil collagenase/MMP-8 process the chemokines human GCP-2/CXCL6, ENA-78/CXCL5 and mouse GCP-2/LIX and modulate their physiological activities [Text] / P.E. Van Den Steen [at al.] // *Eur. J. Biochem.* – 2002. – Vol. 270. – P. 3739-3749.
129. Gohel, M.C. Pharmacological treatment in patients with C4, C5 and C6 venous disease [Text] / M.C. Gohel, A.H. Davies // *Phlebology*. – 2010. – Vol. 25. – Suppl 1. – P. 35-41.
130. Gormus U. Expression levels of elastin and related genes in human varicose veins [Text] / U. Gormus [et al.] // *Folia Biologica*. – Vol. 60(2). – 2014. – P. 68-73.
131. Guo, H. Effects of folic acid and magnesium on the production of homocysteine-induced extracellular matrix metalloproteinase-2 in cultured rat vascular smooth muscle cells [Text] / H. Guo, J. D. Lee, H. Uzui, H. Yue, J. Wang, K. Toyoda, T. Geshi, T. Ueda // *Circ J*. – 2006. – 70 (1). – P. 141-146.
132. Heit, J.A. Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors [Text] / J.A. Heit // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol.3, №8. – P. 1611-1617.
133. Higashikata, T. Altered expression balance of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human carotid plaque disruption: results of quantitative tissue analysis using real-time RT-PCR method [Text] / T. Higashikata, M. Yamagishi, T. Higashi, I. Nagata, K. Iihara, S. Miyamoto, H. Ishibashi-Ueda, N. Nagaya, T. Iwase, H. Tomoike, A. Sakamoto // *Atherosclerosis*. – 2006. – T. 185. № 1. – P. 165-172.

134. Hijova, E. Matrix metalloproteinases: their biological functions and clinical implications [Text] / E. Hijova // Bratisl Lek Listy. – 2005. – T. 106, № 3. – P. 127-132.
135. Hiller, O. Matrix metalloproteinases collagenase-2, macrophage elastase, collagenase-3, and membrane type 1-matrix metalloproteinase impair clotting by degradation of fibrinogen and factor XII [Text] / O. Hiller [et al.] // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275. – P. 8-13.
136. Hirai, M. Prevalence and risk factors of varicose veins in Japanese women [Text] / M. Hirai, N. Kenichi, R. Nakayama // Angiology. – 1990. – 41(3). – P. 228-232.
137. Hoerstra, R. Matrix metalloproteinase inhibitors: current developments and future perspectives [Text] / R. Hoerstra, F.A.L.M. Eskens, J. Verweij // The Oncologist. – 2001. – 6(5). – P. 415-427.
138. Huisman, L. C. Microcirculatory changes in venous disease [Text] / L. C. Huisman, C. den Bakker, C. H. A. Wittens // Phlebology. – 2013. – vol. 28, suppl. 1. – P. 73-78.
139. Human and mouse proteases: a comparative genomic approach [Text] / X.S. Puente [et al.] // Nat Rev Genet. – 2003. – Vol.4, № 7. – P.544-558.
140. Incidence of venous thromboembolism in hospitalized patients vs community residents [Text] / J.A. Heit [et al.] // Mayo Clinic Proceedings. – 2001. – Vol.76, №11. – P. 1102-1110.
141. Jacob, T. Overexpression of transforming growth factor- β 1 correlates with increased synthesis of nitric oxide synthase in varicose veins [Text] / T. Jacob, A. Hingorani, E. Ascher // Journal of Vascular Surgery. – 2005. – Vol. 41. – P. 523-530.
142. Janowski, K. Changes in the wall of the great saphenous vein at consecutive stages in patients suffering from chronic vein disease of the lower limbs [Text] / K. Janowski, M. Sopiński, M. Topol // Folia Morphol. (Warsz). – 2007. – Vol. 66, №3. – P. 185-189.

143. Kerkela, E. Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer [Text] / E. Kerkela, U. Saarialho-Kere // *Exp Dermatol.* – 2003. – T. 12. № 2. – P. 109-125.
144. Kockx, M.M. Vascular remodeling in varicose veins [Text] / M.M. Kockx, M.W. Knaapen, H.E. Bortier [et al.] // *Angiology.* – 1998. – Vol. 49. – P. 871-877.
145. Kontosic, I. Work conditions as risk factors for varicose veins of the lower extremities in certain professions of the working population of Rijeka [Text] / I. Kontosic, M. Vukelic, I. Drescik [et al.] // *Acta Medica Okayama.* – 2000. – 54. – P. 33-38.
146. Krysa, J. Evidence for a genetic role in varicose veins and chronic venous insufficiency [Text] / J. Krysa, G.T. Jones, A.M. van Rij // *Phlebology.* – 2012. – Vol. 27, №7. – P. 329-335.
147. Kuivaniemi, H. Mutations in fibrillar collagens (types I, II, III, and XI), fibril-associated collagen (type IX), and networkforming collagen (type X) cause a spectrum of diseases of bone, cartilage, and blood vessels [Text] / H. Kuivaniemi, G. Tromp, D.J. Prockop // *Hum Mutat.* – 1997. – 9(4). – P. 300-315.
148. Labropoulos, N. Study of the venous refluxprogression [Text] / N. Labropoulos, L. Leon, S. Kwon [et al.] // *Journal of Vascular Surgery.* – 2005. – Vol.41, №2 – P. 291-295.
149. Maesco, G. Levels of metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and healthy gingival [Text] / G. Maesco, M. Bravo, F. Bascones // *Quintessence Int.* – 2007. – 38. – P. 247-252.
150. Mahmoud, A. Intimal changes in varicose veins: an ultrastructural study [Text] / A. Mahmoud, M.A. Wali, A. Refaat // *Journal of Smooth Muscle Research.* – 2002. – Vol. 38, №3. – P. 63.

151. Malemud, C.J. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview [Text] / C.J. Malemud // *Front Biosci.* – 2006. – Vol. 11, № 1696. – P. 1696-1701.
152. Manello, F. Sulodexide down-regulates the release of cytokines, chemokines, and leukocyte colony stimulating factors from human macrophages: Role of glycosaminoglycans in inflammatory pathways of chronic venous disease [Text] / F. Manello, D. Ligi, M. Canale, J.D. Raffetto // *Current Vascular Pharmacology.* – 2014. – Vol.12 (1). – P. 173-185.
153. Matrix metalloproteinase-dependent activation of latent transforming growth factor-beta controls the conversion of osteoblasts into osteocytes by blocking osteoblast apoptosis [Text] / M.A. Dedal [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 44061-44067.
154. Mazor, R Matrix metalloproteinase-1-mediated up-regulation of vascular endothelial growth factor-2 in endothelial cells [Text] / R. Mazor [et al.] // *Journal of Biological Chemistry.* – Vol. 288(1) – 2013. – P.598-607.
155. McGuire, M.A. A simple, clinically useful technique to predict successful ablation site of accessory pathways located near the cardiac septum? [Text] / M.A. McGuire // *J Cardiovasc Electrophysiol.* – 2008. – T. 19, № 7. – P. 659-660.
156. MMP-1 activation by serine proteases and MMP-10 induces human capillary tubular network collapse and regression in 3D collagen matrices [Text] / Saunders W.B. [et al.] // *J. Cell Science.* – 2005. – Vol. 118. – P. 2325-2340.
157. Mohammed, F. F. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis [Text] / F.F. Mohammed, D. Smookler, R. Khokha // *Ann. Rheum. Dis.* – 2003. – Vol. 62. – Suppl. (II). – P.1143-1147.

158. Momboli, J.-V. Endothelial Dysfunction: From Physiology to Therapy [Text] / J.-V. Momboli, P.M. Vanhoutte // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1999. – Vol.31, №1. – P. 61-74.
159. Mort, J.S. Articular cartilage and changes in arthritis: matrix degradation [Text] / J.S. Mort, C.J. Billington // Arthritis Res. – 2001. – Vol. 3 – P.337-341.
160. Murphy, G. Purification and characterization of a bone metalloproteinase that degrades gelatin and types IV and V collagen [Text] / G. Murphy, C.G. McAlpine, C.T. Poll, J.J. Reynolds // Biochim Biophys Acta. – 1985. – 831(1). – P. 49-58.
161. Nagase, H. Matrix Metalloproteinases [Text] / H. Nagase, J.Woessner // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274, N 31. – P. 21491-21494.
162. Neutrophils from MMP-9 or neutrophil elastase-deficient mice show no defect in transendothelial migration under flow in vitro [Text] / J. R. Allport [et al.] // J. Leukoc. Biol. – 2002. – Vol. 71. – P. 821-828.
163. Nicolaides, A.N Chronic venous disease and the leukocyte-endothelium interaction: from symptoms to ulceration [Text] / A.N. Nicolaides // Angiology. – 2005. –Vol.56.№1. – P. 3-10.
164. Nicolaides, A.N. Management of chronic venous disorders of the lower limbs: guidelines according to scientific evidence [Text] / A.N. Nicolaides, C. Allegra, J. Bergan [et al.] // International Angiology. – 2008. – Vol. 27, №1. – P. 1-59.
165. Noel, A. Matrix metalloproteinases at cancer tumor-host interface [Text] / A. Noel, M. Jost, E. Maquoi // Semin Cell Dev Biol. – 2008. – T. 19. № 1. – P. 52-60.
166. Oehmcke, S. Activation of the Human Contact System on Neutrophil Extracellular Traps [Text] / S. Oehmcke, M. Morgelin, H. Herwald // J. Innate Immun. – 2009. – Vol.1. – P. 225-230.
167. Pages, N. Structural alterations of the vascular wall in magnesium-deficient mice. A possible role of gelatinases A (MMP- -9) [Text] / N.

- Pages, B. Gogly, G. Godeau, S. Igondjo-Tchen, P. Maurois, J. Durlach, P. Bac // *Magnes Res.* – 2003. – 16(1). – P. 43-48.
168. Palmer, L.J. Neutrophil extracellular traps in periodontitis: a thesis, submitted to The University of Birmingham for the degree of doctor of philosophy [Text] / L.J. Palmer; Department of Periodontology School of Dentistry College of Medicine and Dentistry The University of Birmingham. – Birmingham (UK), 2010. – 27 p.
169. Partsch, H. Compression for the management of venous leg ulcers: which material do we have? [Text] / Partsch H. // *Phlebology.* – 2014. – Vol. 29, № 4. – P. 140-145.
170. Pascarella, L. An animal model of venous hypertension: the role of inflammation in venous valve failure [Text] / L. Pascarella, G.W. Schmid-Schönbein, J. Bergan // *Journal of Vascular Surgery.* – 2005. – Vol. 41, №2 – P. 303-311.
171. Pathogenic mechanisms in varicose vein disease: the role of hypoxia and inflammation [Text] / S.M. Ghaderian [et al.] // *Pathology.* – 2010. – Vol.42, №5.– P. 446-453.
172. *Phlebology* [Text] / A.A. Ramelet, M. Perrin, P. Kern, H. Bounameaux // Paris: Elsevier Masson, 2008 – 566 p.
173. *Phlebology education, training and certification in Europe* [Text] / E. Rabe [et al.]. // *Phlebology.* – 2014. – Vol.29. – P. 186-187.
174. *Phlebolympology.* – 2014. – Vol. 2, №.4. Special Issue – P. 177-260.
175. Porter, J.M. International Consensus Committee on chronic venous disease. Reporting standards in venous disease: an update [Text] / J.M. Porter, G.L. Moneta // *J. Vasc. Surg.* – 1995. – Vol.21. – P.635- 645.
176. Psaila, J.V. Viscoelastic properties and collagen content of the long saphenous vein in normal and varicose veins [Text] / J.V Psaila, J. Melhuish // *British Journal Surgery.* – 1989. – Vol. 76, №1 – P. 37-40.

177. Raffetto, J.D. Matrix metalloproteinases as potential targets in the venous dilation associated with varicose veins [Text] / J.D. Raffetto, R.A. Khalil, A. Kucukguven // *Curr Drug Targets*. – 2013. – 14(3). – P.287-324.
178. Raffetto, J.D. Inflammation in chronic venous ulcers [Text] / J. D. Raffetto // *Phlebology*. – 2013. – Vol. 28, suppl. 1. – P. 61-67.
179. Risk factors for chronic venous disease [Text] / H.D. Vlajinac [et al.] // *Phlebology*. – 2012. – Vol.27, №8. – P. 416-422.
180. Rose, S.S. Some thoughts on the aetiology of varicose veins [Text] / S.S. Rose, A. Ahmed // *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*. – 1986. – Vol. 27, №5 – P. 534-543.
181. Saffurian, S. Interstitial collagenase is a Brownian ratchet drive by proteolysis of collagen [Text] / S. Saffurian, I.E. Colleier, B.L. Marmer [et al.] // *Science*. – 2004. – 306 (5693). – P. 108-111.
182. Sansilvestri-Morel, P. Synthesis of collagen is dysregulated in cultured fibroblasts derived from skin of subjects with varicose veins as it is in venous smooth muscle cells / P. Sansilvestri-Morel, A. Rupin, S. Jaisson [et al.] // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106, №4 – P. 479-483.
183. Sansilvestri-Morel, P. Chronic venous insufficiency: Dysregulation of Collagen Synthesis [Text] / P. Sansilvestri-Morel, A. Rupin, C. Badier-Commander, J-N. Fabiani, T. Verbeuren // *Angiology*. – 2003. – 54, suppl. I. – P. 13-18.
184. Saponins derived from the roots of *Platycodon grandiflorum* inhibit HT-1080 cell invasion and MMPs activities: Regulation of NF- κ B activation via ROS signal pathway [Text] / K.J. Lee [et al.] // *Cancer Letters*. – 2008. – Vol. 268 (2). – P. 233-243.
185. Sawicki, G. Interaction of keratinocytes and fibroblasts modulates the expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 and their inhibitors [Text] / G. Sawicki [et al.] // *Mol. Cell. Biochem*. – 2005. – Vol. 269, N 1–2. – P. 209-216.

186. Schainfeld, R.M. Chronic Venous Insufficiency / R.M. Schainfeld // *Curr. Treat. Options Cardiovasc. Med.* – 2003. – Vol. 5, № 2. – P. 109-119.
187. Schainfeld, R.M. Combined pharmacomechanical thrombectomy for acute inferior vena cava filter thrombosis [Text] / R.M. Schainfeld, B.P. Yan, T.J. Kiernan, V. Gupta, A.E. Ajani // *Cardiovasc. Revasc. Med.* – 2008. – 9(1). – P. 36-40.
188. Schlingmann, K.P. Hypomagnesemia with secondary hypocalcemia is caused by mutations in TRPM6, a new member of the TRPM gene family [Text] / K.P. Schlingmann, S. Weber, M. Peters [et al.] // *Nat. Genet.* – 2002. – Vol. 31, № 2. – P. 166-170.
189. Schmid–Schonbein, G.W. Microcirculatory inflammation in chronic venous insufficiency: current status and future directions [Text] / G.W. Schmid– Schönbein, W. Durán, P.J. Pappas // *Microcirculation.* – 2000. – Vol. 7, №6 (Pt 2). – P. 49-58.
190. Schmid-Schonbein, G.W. Pathogenesis of primary chronic venous disease: Insights from animal models of venous hypertension [Text] / G.W. Schmid-Schonbein, J. Bergan, L. Pascarella // *J Vasc Surg.* – 2008. – 47(1). – P. 183-192.
191. Schoevaerds, J.C. Programme for detecting chronic venous insufficiency in Belgium [Text] / J.C. Schoevaerds, I. Staelens // *Phlebology.* – 2007. – Vol. 22, №4 – P. 171-178.
192. Senni, K. Magnesium and connective tissue [Text] / K. Senni, A. Foucault-Bertaud, G. Godeau // *Magnes Res.* – 2003. – Vol. 16, № 1. – P. 70-74.
193. Shaharay, M. Leukocyte activity in the microcirculation of the leg in patients with chronic venous disease [Text] / M. Shaharay // *J. Vasc. Surg.* – 1997. – Vol.26, №2. – P. 265-273.
194. Shapiro, S.D. Matrix Metalloproteinases. Matrix Degradation and More. [Text] / S.D. Shapiro, M.S. Robert // *American journal of respiratory cell and molecular biology.* – 1999. – P.20.

195. Sisto, T. Prevalence and risk factors of varicose veins in lower extremities [Text] / T. Sisto, A. Reunanen, J. Laurikka [et al.] // Mini-Finland Health Survey. European Journal of Surgery. – 1995. – 161. – P. 405-414.
196. Stab, T.E. Risk factors for chronic venous insufficiency: a dual case-control study [Text] / T.E. Stab, W.W. LaMorte, D.R. Gorin [et al.] // Journal of Vascular Surgery. – 1995. – 22(5). – P. 622-628.
197. Staffa, R. Chronic venous insufficiency–epidemiology [Text] / R. Staffa // Bratisl. Lek. Listy. – 2002.– Vol. 103,№ 4–5. – P. 166-168.
198. Standing at work and varicose veins [Text] / F. Tuchsén [et al.] // Scand. J. Work Environ. Health. – 2000. – Vol.26, №5. – P. 414-420.
199. Sternlicht, M. D. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior [Text] / M. Sternlicht, Z. Werb // Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. – 2001. – Vol. 17. – P. 463-516.
200. Stvrtinová, V. Prevalence of varicose veins of the lower limbs of women working at a department store [Text] / V. Stvrtinová, J. Kolesar, G. Wimmer // International Journal of Angiology. – 1991. –10. – P. 2-5.
201. Takase, S. Leukocyte activation in patients with venous insufficiency [Text] / S. Takase, Geert W. Schmid-Schönbein, J.J. Bergan // J. Vasc. Surg. – 1999. – Vol.30, №1. – P. 148-156.
202. Takase, S. The inflammatory reaction during venous hypertension in the rat [Text] / S.Takase, L.Lerond, J.Bergan, G.W.Schmid–Schönbein // Microcirculation. – 2000. – Vol. 7, №1. – P. 41-52.
203. Tayebjee, M.H. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hypertension and their relationship to cardiovascular risk and treatment: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial (ASCOT) [Text] / M.H. Tayebjee, S. Nadar, A.D. Blann // Am J Hypert. –2004. – 17. – P. 764-769.
204. The dual personalities of matrix metalloproteinases in inflammation [Text] / N.T. Le [et al.] // Front Biosci. – 2007. – Vol. 12. – P. 1475-1487.

205. The future of phlebology in Europe [Text] / B. Dharmarajah [et al.] // Phlebology. – 2014. – Vol.29. – P. 181-185.
206. The utility of endothelial function as assessed by reactive hyperemia-peripheral arterial tonometry in predicting deep venous thrombosis after orthopedic surgery [Text] / H. Suzuki [et al.] // JACC. – 2013. – Vol.61, issue 10. – P. 2092.
207. The VANISH-2 study: a randomized, blinded, multicenter study to evaluate the efficacy and safety of polidocanol endovenous microfoam 0.5% and 1.0% compared with placebo for the treatment of saphenofemoral junction incompetence [Text] / Kenneth L. Todd III [et al.] // Phlebology. – 2014. – vol. 29, № 9. – P. 608-618.
208. Travers, J. P. Assessment of a new– layer adhesive bandaging method in maintaining prolonged limb compression and effects on venous ulcer healing [Text] / J. P. Travers, C. E. Brookes, J. Evans [et al.] // Phlebology. – 1992– Vol. 7. – P.59-63.
209. Treatment of severe chronic venous insufficiency with ultrasound-guided foam sclerotherapy: A two-year series in a single center in Brazil [Text] / F Coelho Neto [et al.] // Phlebology. – 2015. – Vol. 30, № 2. – P. 113-118.
210. Ueshima, K. Extracellular matrix disturbances in acute myocardial infarction: relation between disease severity and matrix metalloproteinase–1, and effects of magnesium pretreatment on reperfusion injury [Text] / K. Ueshima, M. Shibata, T. Suzuki, S. Endo, K. Hiramori // Magnes Res. – 2003. –16(2). – P. 120-126.
211. Van den Steen, Ph. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) [Text] / Van den Steen Ph. [et al.] // Critical. Reviews in Biochem. and Molec. Biology. – 2002. – Vol. 37, N 6. – P. 375-536.

212. Van Venrooij, W.J. Autoantibodies against small nuclear ribonucleoprotein components [Text] / W.J. Van Venrooij // J. Rheumatol. Suppl. – 1987. – № 14. – P. 78-82.
213. Varicose symptoms without varicose veins: the hypotonic phlebopathy, epidemiology and pathophysiology. The Acireale project [Text] / G.M. Andreozzi [et al.] // Minerva Cardioangiol. – 2000. – Vol.48, №10. – P. 277-285.
214. Veno-active drugs in the management of chronic venous disease. An international consensus statement: current medical position, prospective views and final resolution [Text] / A.A. Ramelet [et al.] // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2005. – Vol.33, №4. – P.309-319.
215. Venous endothelial dysfunction potentiates deep venous thrombosis in a mouse model of pneumonia [Text] / A.T. Obi [et al.] // Journal of Surgical Research. – 2014. – Vol.186, issue 2. – P. 513.
216. Venous leg ulcer in the context of chronic venous disease [Text] / F S Lozano Sánchez [et al.] // Phlebology. – 2014. – vol. 29, № 4. – P.220-226.
217. Visse, R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases : structure, function, and biochemistry [Text] / R. Visse, H. Nagase // Circulation Res. – 2003. – N 2. – P. 827-839.
218. Vita, J.A. Endothelial function [Text] / J.A. Vita // Circulation. – 2011. – Vol.124, №25. – P. 906-912.
219. Wang, Z. Effect of chronic stress on PKA and P-CREB expression in hippocampus of rats and the antagonism of antidepressors [Text] / Z. Wang, S.Y. Hu, D.L. Lei // Nat. Genet. – 2006. – Vol. 31, № 5. – P. 767-771.
220. Webster, N.L. Matrix metalloproteinases, their production by monocytes and macrophages, and their potential role in HIV-related diseases [Text] / N. Webster, S. M. Crowe // J. Leukocyte Biology. – 2006. – Vol. 80. – P. 1-15.
221. White, R.H. The epidemiology of venous thromboembolism [Text] / R.H. White // Circulation. – 2003. – Vol.107, issue 23 (Suppl. 1). – P. 4-8.

222. Williamson, R.A. Disulphide bond assignment in human tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) [Text] / Williamson R.A. [et al.] // Biochem J. – 1990. – 268(2). – P. 267-274.
223. Woodside, K.J. Morphologic characteristics of varicose veins: possible role of metalloproteinases [Text] / K.J. Woodside, M. Hu, A. Burke [et al.] // Journal of Vascular Surgery. – 2003. – Vol. 38, №1 – P. 162-169.
224. Yue, H. Effects of magnesium on the production of extracellular matrix metalloproteinases in cultured rat vascular smooth muscle cells [Text] / H. Yue, J.D. Lee, H. Shimizu [et al.] // Atherosclerosis. – 2003. – Vol. 166, № 2. – P. 271-277.