

Государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«РЯЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

**Рудакова Ирина Николаевна**

**ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С  
ПОСТТРОМБОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ НИЖНИХ  
КОНЕЧНОСТЕЙ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОРРЕКЦИИ**

14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

Сучков Игорь Александрович

Рязань, 2016

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Проблема посттромботического синдрома нижних конечностей.....	12
1.2. Роль эндотелиальной дисфункции в течении посттромботического синдрома, методы ее диагностики и терапии.....	18
1.3. Значение гипергомоцистеинемии в развитии посттромботического синдрома и возможности ее коррекции.....	27
1.4. Генетические мутации, влияющие на тромбообразование и формирование посттромботического синдрома .....	33
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования.....	40
ГЛАВА 3. Результаты исследования и их обсуждение.....	53
3.1. Функциональное состояние эндотелия у пациентов с посттромботическим синдромом.....	53
3.2. Корреляция между показателями функции эндотелия, уровнем поражения и тяжестью хронической венозной недостаточности.....	67
3.3. Значение генетического статуса в течении посттромботического синдрома.....	76
3.4. Алгоритм профилактики тяжелых форм хронической венозной недостаточности с позиции коррекции эндотелиальной дисфункции.....	82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	85
ВЫВОДЫ.....	94
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	96

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТ - Антикоагулянтная терапия

БВ – Бедренная вена

ВТЭО – Вторичные тромбоэмболические осложнения

ГГЦ - Гипергомоцистеинемия

ДНК - Дезоксирибонуклеиновая кислота

МДА – Малоновый диальдегид

МНО – Международное нормализованное отношение

МОФФ – Микронизированная очищенная фракция флаваноидов

НарПВ – Наружная подвздошная вена

НПВ – Нижняя полая вена

НПВС – Нестероидные противовоспалительные средства

НТ – Наследственная тромбофилия

ОБВ – Общая бедренная вена

ОПВ – Общая подвздошная вена

ПкВ – Подколенная вена

ПТС – Посттромботический синдром

ПФЭ – Показатель функции эндотелия

ПЦР – Полимеразная цепная реакция

РОККД – Рязанский областной клинический кардиологический диспансер

ССЗ – Сердечно – сосудистые заболевания

СФС – Сафено – феморальное соустье

ТГВ – Тромбоз глубоких вен

ТЭЛА – Тромбоэмболия легочной артерии

УЗДС – Ультразвуковое дуплексное сканирование

ФПГ - Фотоплетизмография

ФЭ – Функция эндотелия

ХВН – Хроническая венозная недостаточность

ЦДК – Цветовое доплеровское картирование

цГМФ - Циклический гуанозинмонофосфат

ЭД – Эндотелиальная дисфункция

eNOS – Эндотелиальная синтаза оксида азота

F5 – Фактор свертывания V

FGB – Фибриноген

Hcy – Гомоцистеин

MTR – Метионин синтаза

MTHFR – Метионинтетрагидрофолат редуктаза

MTRR – Метионин – синтаза – редуктаза

NO – Оксид азота II

NOS – Синтаза оксида азота II

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность исследования.**

Посттромботический синдром нижних конечностей – симптомокомплекс, развивающийся в результате патологических изменений в венозной системе после перенесенного тромбоза глубоких вен. Тромбоз глубоких вен нижних конечностей является распространённым заболеванием. Эпидемиологические данные свидетельствуют, что частота ТГВ составляет 160 на 100000 населения, при этом более 90% тромбозов локализуется в системе нижней полой вены [88, 102, 123]. Несмотря на широкое использование антикоагулянтной и фибринолитической терапии, у 80-95% больных, перенесших острый тромбоз, в дальнейшем развивается посттромботический синдром, составляющий до 28% всех заболеваний венозной системы [114, 149, 159]. Согласно данным Шевченко Ю.Л. с соавт. (2013), 10% случаях развивается тяжелая степень ХВН с появлением трофических язв [9].

Экономические затраты на лечение таких больных чрезвычайно велики. Годовые затраты на медицинское обслуживание пациентов с ПТС в Соединенных Штатах оценивается в 200 миллионов долларов и возрастает с тяжестью заболевания [106, 184].

Около 40% больных с ПТС становятся инвалидами II-III группы в течение первых 3 лет [9, 61, 128]. Тяжесть течения ПТС зависит от качества и полноценности проведенной терапии в остром периоде. По статическим данным, после перенесенного острого тромбоза глубоких вен у 20-40% пациентов наступает хроническая окклюзия магистральных вен [184], что приводит к развитию тяжелой формы хронической венозной недостаточности (Шевченко Ю.Л. с соавт., 2008, 2011, 2013).

Социально-экономическими аспектами ПТС является снижение качества жизни пациентов после ТГВ, особенно это касается физических и психологических симптомов и ограничений в повседневной деятельности [3, 188, 236].

За последние десятилетие отмечается увеличение числа тромбозов за счет увеличения числа операций, расширения показаний к их выполнению, применения наркоза с миорелаксантами, увеличения доли пожилых пациентов с выраженной сопутствующей патологией.

В последние 10 – 15 лет сформировалось направление, которое во многом включило в себя накопленный опыт фундаментальных разработок и сосредоточило внимание клиницистов на новом объекте – эндотелии – как органе-мишени, первым подвергающимся контакту с биологически активными веществами и наиболее рано повреждающимся при сердечно – сосудистых заболеваниях [10, 27, 79, 95, 135, 161]. Эндотелий реализует многие звенья патогенеза ССЗ, в частности, тромбоза глубоких вен. Таким образом, изучение роли эндотелия в патогенезе ТГВ привело к пониманию, что эндотелий регулирует не только периферический кровоток, но и другие важные функции. Необходимо заметить, что каждая из функций эндотелия, определяющая тромбогенность сосудистой стенки, воспалительные изменения, вазореактивность, напрямую или косвенно связана с развитием, прогрессированием ТГВ и его осложнения – посттромботического синдрома нижних конечностей [8, 134]. Именно поэтому концепция об эндотелии как о мишени для профилактики и лечения патологических процессов представляется наиболее целесообразной.

Среди избытка биологически активных веществ, вырабатываемых эндотелием, важнейшим является оксид азота II – NO. Сегодня – это самая изучаемая молекула, вовлеченная в патогенез ССЗ в целом и заболеваний вен нижних конечностей в частности [186, 199, 209, 217]. Нормально функционирующий эндотелий отличает непрерывная базальная выработка NO с помощью эндотелиальной NO-синтазы из L-аргинина. Это необходимо для поддержания нормального базального тонуса сосудов. В то же время, NO обладает ангиопротективными свойствами, подавляя пролиферацию гладкой мускулатуры сосудов и моноцитов, предотвращая тем самым

патологическую перестройку сосудистой стенки (ремоделирование), прогрессирование хронической венозной недостаточности. NO обладает антиоксидантным действием, ингибирует агрегацию и адгезию тромбоцитов, эндотелиально – лейкоцитарные взаимодействия и миграцию моноцитов [24, 234]. Таким образом, NO является универсальным ключевым ангиопротективным фактором.

Связь умеренной гипергомоцистеинемии с тромбозом вен продемонстрировали C.R. Falcon в 1994 г. [156], при этом врожденные или приобретенные причины тромбофилии были исключены. Были показаны диагностические возможности определения гомоцистеина натощак и после проведения нагрузки метионином. Позднее, высокая распространенность гипергомоцистеинемии была обнаружена у больных с первыми проявлениями тромбоза глубоких вен нижних конечностей [158]. В отличие от артериального тромбоза, исследование частотного распределения уровней Hcy, полученные при изучении отношения Hcy к риску тромбоза глубоких вен нижних конечностей, указывают на существование порогового эффекта [214]. В проспективных исследованиях не удалось показать, что уровень Hcy является предиктором риска начала венозной тромбоэмболии. Однако, когда гипергомоцистеинемия была ассоциирована с фактором V Лейдена, установленным фактором тромбоэмболии вен, такая связь выявлялась. В отсутствие фактора V Лейдена связь гипергомоцистеинемии с венозной тромбоэмболией только приближалась к статистически значимой ( $p=0,06$ ) [125, 233].

Недостаточно изученным является наличие изменения уровня гомоцистеина при посттромботическом синдроме, связь наличествующей в остром периоде ТГВ гипергомоцистеинемии с развитием и прогрессированием ПТС в дальнейшем.

Исследования последних лет существенно расширили наши представления о молекулярных механизмах формирования

тромбофилических состояний [21, 194]. Во многом это объясняется успехами в изучении такой фундаментальной составляющей эндогенного риска, как генетическая предрасположенность.

Однако, несмотря на общепризнанное мнение о протромботической роли указанных аномалий, по-прежнему существует множество вопросов относительно их участия в патогенезе различных клинических проявлений тромбоза глубоких вен, посттромботического синдрома и целесообразности диагностики этих мутаций в практических целях. Эпидемиологические исследования указывают также на возможность неодинакового вклада тех или иных факторов, в том числе, генетических, в патогенез ТГВ у представителей различных популяционных групп [195, 196]. Возможность прогнозирования развития язвенно – некротических стадий ПТС в зависимости от наличия наследственной терапии представляется важным в терапии тромбоза глубоких вен.

Изучение, разработка и внедрение в практику методов диагностики эндотелиальной дисфункции, наследственной тромбофилии, оптимизация консервативного лечения тромбоза глубоких вен нижних конечностей с целью минимизации повреждающего действия на сосудистую стенку с развитием ПТС является одной из важнейших задач в сосудистой хирургии.

**Цель исследования:** оптимизация лечебной тактики у пациентов с посттромботическим синдромом нижних конечностей и профилактики тяжелых форм хронической венозной недостаточности.

**Задачи исследования:**

1. Оценить функциональное состояние эндотелия у пациентов с посттромботическим синдромом нижних конечностей.
2. Изучить эффективность фотоплетизмографии в оценке функции эндотелия при ПТС.

3. Оценить эффективность микронизированной очищенной фракции флавоноидов и комплекса витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолиевой кислоты в коррекции эндотелиальной дисфункции.
4. Определить встречаемость генетических полиморфизмов среди пациентов с посттромботическим синдромом и оценить их влияние на формирование хронической венозной недостаточности.
5. Создать алгоритм ведения пациентов с посттромботическим синдромом с позиции коррекции функционального состояния эндотелия.

#### **Научная новизна:**

- Впервые изучены изменения уровня метаболитов оксида азота II, гомоцистеина крови, показателя функции эндотелия при посттромботическом синдроме нижних конечностей.
- Впервые проанализирована частота развития различных форм ХВН у больных перенесших тромбоз глубоких вен в зависимости от уровня биохимических маркеров, данных фотоплетизмографии и наличия генетических аномалий.
- Впервые изучена частота встречаемости генетических мутаций системы гемостаза среди пациентов с посттромботическим синдромом.
- Создан алгоритм лечебной тактики ведения пациентов, перенесших тромбоз глубоких вен нижних конечностей с целью профилактики развития тяжелых форм посттромботического синдрома.

#### **Практическая значимость работы**

Основываясь на результатах исследования, создан алгоритм ведения пациентов с тромбозом глубоких вен нижних конечностей, включающий диагностические и лечебные мероприятия, применение которых необходимо с момента установки диагноза, на различных сроках терапии для предотвращения развития тяжелых форм посттромботического синдрома. Доказана эффективность компьютерной фотоплетизмографии для

практической диагностики и динамического наблюдения за функциональным состоянием эндотелия. Показано значение венотонизирующих препаратов и комплекса витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолиевой кислоты в коррекции эндотелиальной дисфункции у пациентов с посттромботическим синдромом.

### **Теоретическая значимость работы**

Проведенное исследование позволило уточнить роль эндотелиальной дисфункции в развитии посттромботического синдрома нижних конечностей, определить динамику показателя функции эндотелия, биохимических маркеров дисфункции эндотелия и их прогностическую значимость на фоне приема флебопротекторов и гомоцистеинснижающих препаратов в процессе диспансеризации больных с ПТС. Проведена оценка частоты встречаемости генетических мутаций системы гемостаза и ферментов фолатного цикла среди пациентов с ТГВ и влияние аномалий на течение посттромботического синдрома. Обосновано длительное применение флеботропных препаратов и гомоцистеинснижающей терапии при посттромботическом синдроме.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Компьютерная фотоплетизмография позволяет оценить функцию эндотелия у пациентов с посттромботическим синдромом нижних конечностей.
2. Гипергомоцистеинемия является важным звеном в прогрессировании посттромботического синдрома, а применение витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолиевой кислоты позволяет снизить уровень гомоцистеина.
3. Применение микронизированной очищенной фракции флавоноидов в течение 6 месяцев значительно улучшает функцию эндотелия.
4. При выявлении у пациента мутаций фактора свертывания V, гена фибриногена необходимо рекомендовать постоянную антикоагулянтную терапию, а при обнаружении мутации фермента метионин-синтазы-редуктазы проводить гомоцистеинснижающую терапию при ПТС.

## **Внедрение результатов исследования в практику и учебный процесс**

Результаты исследования внедрены в лечебную работу отделения сосудистой хирургии ГБУ РОККД, отделения сосудистой хирургии МУЗ «Коломенская ЦРБ», второго хирургического отделения ГБУ РО «ГКБСМП», отделения гнойной хирургии ГБУ РО «Областной клинической больницы»; в учебную работу кафедры сердечно – сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

### **Апробация работы**

Основные результаты работы доложены и обсуждены на Международном конгрессе «Славянский венозный форум» (Витебск, 2015), 8-м Санкт-Петербургском Венозном Форуме «Актуальные вопросы флебологии» (Санкт-Петербург, 2015), конференции «Амбулаторная флебология: надежды и реалии» в Национальном медико-хирургическом Центре им. Н.И. Пирогова (Москва, 2015), 30-ой международной конференции Общества ангиологов и сосудистых хирургов «Новые направления в лечении сосудистых больных» (Сочи, 2015).

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 17 работ, из них 4 в центральной печати.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация изложена на 123 страницах печатного текста и состоит из: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

Диссертация иллюстрирована 24 рисунками, 15 таблицами. Представлены 4 клинических примера. Список литературы содержит 99 отечественных и 138 зарубежных источника.

## I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Проблема посттромботического синдрома нижних конечностей

Хроническая венозная недостаточность или хронические заболевания вен являются наиболее распространенным заболеванием сосудов [61, 70, 88]. У 35 миллионов жителей России выявляются признаки ХВН и 1,5% из них имеют трофические изменения кожных покровов венозной этиологии [67]. Эти цифры неуклонно растут. В структуре ХВН выделяют больных с варикозным расширением подкожных вен, посттромботическим синдромом, врожденными и травматическими аномалиями венозной системы.

ПТС является поздним осложнением тромбоза глубоких вен. Частота развития тромбоза в популяции увеличивается. Причинами тому служит увеличение общей продолжительности жизни, так общая заболеваемость ТГВ составляет 0,7–2 на 1000 человек и увеличивается с возрастом [75], в возрасте до 50 лет встречаются у 0,5% населения; 60 лет у 1,3%; в возрасте 75 лет - 4,5% и в 80 лет у 3,8% в популяции [67, 103].

Кроме этого, гиподинамия, ожирение III–IV степени после 40 лет увеличивает риск возникновения у него ТГВ в 5 раз [236]. Возрастает встречаемость онкологической патологии, сопряженной с паранеопластическим синдромом, провоцирующим гиперкоагуляцию [197].

Растет количество хирургических вмешательств и общий травматизм. Частота развития тромбоза глубоких вен при переломе нижней конечности достигает 60–70% [21, 139]. Согласно литературным данным риск тромбоэмболических осложнений возрастает в 2 раза по истечении каждого часа хирургического вмешательства [219, 223].

Способствует развитию ТГВ и тяжелая соматическая патология, такая как недостаточность кровообращения II–III степени и заболевания, связанные с гормонзаместительной терапией [228]. 20–30% тромбозов глубоких вен развиваются из-за наличия антифосфолипидных антител при наличии у больного одноименного синдрома [220].

С каждым годом прогнозируемо увеличивается роль генетических мутаций в нарушениях работы свертывающей системы организма - недостаток антитромбина III, дефицит протромбинов S и C, мутации генов фактора V, дисфибриногенемия – самые часто выявляемые аномалии [229].

Традиционно, в клинических исследованиях изучаются новые методы лечения ТГВ, акцентируя внимание на эффективности лечения и профилактике рецидивов венозной тромбоэмболии, в то время как их результативность в предотвращении развития ПТС не учитывается.

В 1996 г. впервые по результатам 12 – летних наблюдений были созданы рекомендации по обследованию и терапии пациентов Американской кардиологической ассоциации. Недавние исследования улучшили понимание эпидемиологии, факторов риска и экономические последствия развития посттромботического синдрома [126].

Несмотря на меры по профилактике, ПТС развивается в 20-50 % случаев в течение 2 лет после диагностики ТГВ [4, 5], даже если пациенты получали адекватную антикоагулянтную терапию. Следовательно, в среднем, только 6 из 10 пациентов выздоравливают без каких-либо остаточных симптомов, 3 из 10 имеют умеренные проявления ПТС, и 1 из 10 сталкивается с развитием трофических язв.

Клинически для ПТС характерно множество симптомов, в том числе отек, индуративное уплотнение кожи, гиперпигментация, боль, зуд и парестезии. На дальнейших этапах развития, возможно возникновение венозной трофической язвы.

Проявления хронической венозной недостаточности при посттромботическом синдроме постепенно могут привести к инвалидизации у 5-10 % пациентов. Это причина для заинтересованности в вопросе сохранения функции вен после перенесенного ТГВ.

Из-за высокой распространенности и хронического течения, терапия ПТС связана с большими экономическими затратами. В США средняя сумма

расходов на лечение пациента с ПТС более 20 тысяч долларов [126]. Затраты наиболее высоки в тех случаях, когда развиваются венозные язвы. Период временной нетрудоспособности, связанной с терапией ПТС достигает 2 миллионов рабочих дней ежегодно в Соединенных Штатах [191].

Исследования показали, что пациенты с ПТС имеют более низкое качество жизни и результаты опроса ухудшаются с увеличением тяжести заболевания [82, 145]. В частности, качество жизни больных с посттромботическим синдромом ниже, чем при остеоартрозе, сахарном диабете и хронической обструктивной болезни легких [155, 163, 124].

ПТС представляет собой хроническую венозную недостаточность вследствие неполной реканализации тромбированных вен, разрушения венозных клапанов, рефлюкса крови через несостоятельные клапаны магистральных и перфорантных вен [16, 115].

При окклюзии глубокой системы на поверхностные вены создается повышенная нагрузка и несостоятельность остиального клапана большой подкожной вены выявляется у 6,25% обследованных через 12 месяцев заболевания [1, 219]. Через 6 месяцев от момента возникновения ТГВ при формировании ПТС развивается клапанная недостаточность перфорантных вен на голени [86, 147].

Изменения в тромбах глубоких вен заключаются в их адгезии к венозной стенке, частичном, реже полном лизисе, реканализации вен с разрушением их клапанов. В большинстве случаев эти процессы ведут к неполному восстановлению просвета глубоких вен, а их облитерация наблюдается редко.

Выявлено, что грануляционная ткань в тромбе заканчивает активно развиваться в тромбе к 10 суткам. Начинается процесс организации тромба, формирование соединительной ткани продолжается до 40 дней. Далее начинается процесс уплотнения соединительной ткани, с преобладанием коллагеновых и эластических волокон. При микроскопии участка венозной

стенки – картина флебосклероза, слияния венозной стенки и фиброзной ткани на месте тромбоза [84]. Реканализация тромба у 35-50% пациентов начинается через 3 месяца после ТГВ, а через 12 месяцев выявляется у всех пациентов, однако только в среднем в 25% происходит полное восстановление проходимости пораженного сегмента.

Повышенные уровни воспалительных цитокинов и молекул адгезии, таких как интерлейкин-6 и молекулы межклеточной адгезии-1, выявленные у пациентов с ПТС, говорит о возможной связи воспаления с развитием посттромбофлебитического синдрома [85, 116]. Воспалительная реакция при остром тромбозе глубоких вен и в процессе реканализации напрямую повреждает венозные клапаны [119], задерживает редукцию тромба и индуцирует фиброз стенки вены [17, 116].

Запоздалый лизис тромбов и ретромбоз являются важными факторами риска развития ПТС. Рецидив ТГВ в течение первого года по данным литературы от 4 до 27% [121], а через 10 лет до 30,4% [154].

В литературе имеются данные, что при применении антагонистов витамина К терапевтическое окно МНО наблюдалось лишь у 50% пациентов, что в 3 раза ухудшило течение посттромботического синдрома [204]. Это лишний раз подтверждает важность тщательного мониторинга МНО для обеспечения адекватной антикоагулянтной терапии и профилактики ПТС. Помимо этого, частота возникновения ПТС при рецидиве ТГВ выше на 45-68% [140], соответственно, необходима активная тактика в лечении первичного тромбофлебита.

Илиокавальный тромбоз ведет к тяжелой венозной обструкции, и удовлетворительная реканализация и образование коллатералей наблюдается в половине случаев [65, 211]. При тромбозе бедренно-подколенного сегмента без вовлечения глубокой вены бедра, а также при поражении вен голени появляется умеренно выраженный ПТС вследствие развития коллатералей.

Рефлюкс по системе глубоких вен возникает рано, прогрессивно увеличивается. Он диагностируется при УЗДС у 69% пациентов через один год после диагностики ТГВ [157]. Уровень начальной окклюзии вен коррелирует с вероятностью развития рефлюкса [172, 226]. Чем более проксимальный сегмент вен нижних конечностей был подвергнут поражению, тем выше риск развития посттромботического синдрома. Однако, несостоятельность клапанов подколенной вены повышает частоту развития посттромботического синдрома, особенно в условиях замедленной реканализации просвета вен [64, 160].

Последовательность гемодинамических нарушений, ведущих к образованию язв в результате венозного стаза, заключается в клапанной недостаточности и рефлюксе венозной крови по перфорантным венам, локальной венозной гипертензией в области лодыжек; артериовенулярном шунтировании крови с развитием ишемии тканей и образованием язвы.

В некоторых случаях тромбозы глубоких вен проходят без острых клинических проявлений, а только через 10–15 лет развиваются симптомы посттромботического синдрома.

Учитывая тяжесть течения ПТС, высокую частоту встречаемости и огромную социальную и экономическую значимость, клиницисты всего мира ищут новые подходы к терапии этого заболевания. Все более агрессивной становится тактика ведения больных с посттромботическим синдромом. Активно развивается хирургическое направление. Стентирование окклюзированных участков венозной системы, вальвулопластика глубоких вен в различных модификациях, экстраанатомическая пересадка участка непораженной вены с сохраненным клапанным аппаратом на место пораженного сегмента, шунтирующие операции с использованием поверхностных вен, прямое удаление интимы с имеющимися стриктурами [120, 169, 237]. Результаты хирургического лечения различны. Лучший процент успешных операций принадлежит малоинвазивной технике

стентирования – более чем у 90% пациентов в течение 2 лет сохраняется проходимость ранее окклюзированного сегмента глубоких вен нижних конечностей [176]. Однако, это дорогостоящая манипуляция, с использованием стентов различных диаметров, внутрисосудистого ультразвука, МРТ – диагностики для детальной локализации поражения. С этим, а также со сложностью самой манипуляции связаны значительные ограничения в ее применении. С другой стороны, стентирование не решает проблему рефлюкса по глубоким венам.

Целесообразным становится развитие методов профилактики ПТС. Они подразделяются на консервативные и хирургические. К хирургическим относятся направленный катетерный тромболитис, открытая тромбэктомия, эндоваскулярная тромбэктомия и затем, в случае поражения подздошных вен, стентирование последних [18, 185, 187, 192]. Проведение указанных методик возможно в ранние сроки с момента развития тромбофлебита, ограничены значительным числом противопоказаний, сложностью и высокими затратами, сопряженными с лечением.

Ни одна из указанных методик не приводит к 100% предотвращению развития ПТС. В консервативной профилактике посттромботического синдрома исследователями и фармакологами ведется поиск наиболее безопасных и простых в применении антикоагулянтных средств. Как упоминалось ранее, прием препаратов антагонистов витамина К часто сопряжен с отсутствием попадания МНО в «терапевтическое окно», что приводит к медленной реканализации глубоких вен, ретромбозам, увеличивая риск венозных тромбоэмболических осложнений, развития ПТС [104]. Все больше научных изысканий направлено на изучение биохимических процессов, сопутствующих течению посттромботического синдрома [113, 189]. Уделяется внимание роли различных структур венозной стенки, в частности эндотелия и вырабатываемых им веществ, в процессах тромбообразования, организации и лизиса тромба [117].

Использование современных методов лечения в состоянии улучшить или стабилизировать симптомы ПТС лишь примерно у половины всех пациентов [212]. Что обосновывает необходимость дальнейшего изучения этиологии ТГВ, механизмы развития посттромботического синдрома, его своевременной и динамической диагностики, поиск новых подходов к терапии ПТС с момента развития у пациента острого тромбоза глубоких вен нижних конечностей.

## **1.2. Роль эндотелиальной дисфункции в течении ПТС, методы ее диагностики и коррекции**

Одной из основных причин развития эндотелиальной дисфункции считается воздействие свободнорадикальных групп, являющихся продуктами окислительного стресса [96, 101].

Окислительный стресс определяется как дисбаланс между количеством окислителей, перепроизводством свободных радикалов кислорода и недостаточностью антиоксидантных систем и механизмов [37, 107]. Недавние исследования показали, что увеличение свободных радикалов кислорода и перекисное окисление липидов играют важную роль в патогенезе многих заболеваний. Уровень малонового диальдегида в сыворотке крови, используется как показатель перекисного окисления липидов и широко используется в качестве маркера активности свободных радикалов [134]. Существуют данные, свидетельствующие о роли окислительного стресса в патофизиологии венозного тромбоза. Ре и др. [217] обнаружили, более высокую концентрацию МДА, 4-гидроксинонена и миелопероксидазы у пациентов ТГВ по сравнению со здоровыми людьми.

Новым фактором риска развития эндотелиальной дисфункции и сердечно – сосудистых заболеваний в литературе называют асимметричный диметиларгинин, который является эндогенным ингибитором синтазы другого маркера ЭД – оксида азота (II) [223]. Высокие сывороточные уровни

асимметричного диметиларгинина ассоциируют с развитием сосудистых заболеваний. Но при тромбозах глубоких вен различий в показателях концентрации асимметричного диметиларгинина со значениями у здоровых добровольцев не выявлено [57, 58].

В нормальных физиологических условиях, антиоксиданты ответственны за клеточную защиту от окислительного стресса, а именно, превращение свободных радикалов ферментами супероксиддисмутазой, каталазой и глутатионпероксидазой [206], тем самым поддерживая сосудорасширяющий и антитромботический эффекты оксида азота в сосудистой сети [219].

Активность глутатионпероксидазы снижается при остром тромбозе глубоких вен, в частности глутатионпероксидазы – 3, возможно, в результате патологического процесса, а не является его причиной [101]. В дополнение к ее антиоксидантным свойствам, глутатионпероксидаза также повышает биодоступность NO за счет активизации его освобождения от 3-нитрозотиолов, усиливает ингибирование функции тромбоцитов с помощью NO [34]. Окислительные реакции с участием NO в плазме может ослабить его воздействие на функции тромбоцитов и, соответственно, вызвать тромбоз [92].

За короткий период, прошедший с момента открытия ангиотропной функции оксида азота, накоплен огромный экспериментальный и клинический материал, позволивший установить субстрат биосинтеза оксида азота, ферменты и изоферменты, принимающие участие в биосинтезе оксида азота, тканевую специфичность изоферментов оксида азота, активаторы и ингибиторы изоферментов оксида азота, молекулярный механизм физиологического и патофизиологического эффекта оксида азота, разработать и внедрить в практику препараты, активирующие и ингибирующие функцию различных изоферментов синтазы оксида азота, установить функциональную взаимосвязь ангиотензина II и оксида азота в

регуляции сосудистого тонуса, а также сопряженность эффектов супероксидного радикала и оксида азота в реализации окислительного стресса [27].

Вырабатываемый эндотелием NO обладает несколькими защитными свойствами, такими как вазодилатация, торможение пролиферации гладкомышечных клеток, снижение агрегации тромбоцитов и других клеток крови [47, 79]. Окислительный стресс уменьшает период полураспада NO [73]. Большинство исследований, направлены на выявление антитромбогенных свойств NO при заболеваниях артерий, а не вен [75, 78]. Изменения уровня оксида азота при венозной патологии носят пока в основном экспериментальный характер [60, 107, 130, 146, 177, 230], однако, доказательность важности этого показателя не вызывает сомнений. Калинин Р.Е. и соавт. в своей работе подтвердил высокую диагностическую роль определения метаболитов оксида азота II при воспроизведении тромбоза глубоких вен, хронической венозной недостаточности в эксперименте на крысах [15]. Это послужило основанием для выбора этого биохимического маркера эндотелиальной дисфункции в нашей работе в рамках клинического исследования.

Оксид азота синтезируется из гуанидинового атома азота L-аргинина синтазой оксида азота, которая присоединяет молекулярный кислород к конечному атому азота в гуанидиновой группе L-аргинина [51]. NOS также продуцирует неактивный конечный продукт L-цитруллин, который является маркером активности синтазы оксида азота [179]. Синтаза оксида азота включает в себя три изофермента - синтазы I, II, III типа [46]. По физиологическим свойствам синтазы оксида азота подразделяются на конститутивные, включающие нейрональную (I тип) и эндотелиальную (II тип), и индуцибельную NOS. В сосудистом эндотелии, нервной ткани и тромбоцитах преобладают конститутивные NOS [59, 179].

Оксид азота необратимо инактивируется реакцией с гемоглобином (оксигенированной и деоксигенированной формами) в просвете кровеносного сосуда, супероксидным радикалом в стенке кровеносного сосуда [178] или кислородом в свободном растворе [83]. Реакция оксида азота с кислородом сопровождается образованием стабильных конечных продуктов - нитрита и нитрата, которые являются косвенными маркерами концентрации оксида азота в организме [59].

Современное представление о механизме реализации биохимического действия оксида азота достаточно обосновано разработано для сосудистой системы. Так, в ответ на физическую и химическую стимуляцию в сосудистом эндотелии на короткий период повышается исходное образование оксида азота с помощью NOS I и III типов. Увеличение синтеза NO синтазой оксида азота происходит под влиянием ацетилхолина, брадикинина, 5-гидрокситриптамина, адениловых нуклеотидов [50]. Участие NOS в сосудистой регуляции сопряжено с сосудорасширяющим эффектом этих нейротрансмиттеров, стимулирующих вход кальция в эндотелиальную клетку. Повышение уровня внутриклеточного кальция сопровождается активацией, прежде всего, эндотелиальной формы NOS кальмодулин-зависимым механизмом, что ведет к кратковременному выделению небольших количеств оксида азота (пикополи). Последний диффундирует в клетки прилежащих гладких мышц сосудов и связывается со специфическими рецепторными сайтами гема, который является составной частью молекулярной структуры растворимой цитоплазматической гуанилатциклазы [55]. Связывание оксида азота с группой гема растворимой гуанилатциклазы индуцирует конформационное изменение, которое смещает железо из плоскости порфиринового кольца, тем самым активирует растворимую гуанилатциклазу. При этом увеличивается концентрация циклического гуанозинмонофосфата в клетке-мишени, что вызывает физиологическое действие [58]. Так, в гладкомышечных клетках цГМФ

снижает уровень внутриклеточного кальция, что приводит к расслаблению клетки и вызывает вазодилатацию [94]. В подкожных венах больных варикозной болезнью нарушена работа системы NO – цГМФ, что может приводить к снижению сосудистого тонуса и развитию варикозной трансформации [39]. Однако, остается открытым вопрос, каким образом и влияет ли уровень NO на течение ПТС.

Функциональная диагностика эндотелиальной дисфункции, как и сам вопрос функционирования эндотелия при патологии венозной системы только начинает широко освещаться в мировой литературе [78, 202, 227].

В физиологических условиях эндотелиальный гликокаликс сохраняет целостность стенки сосуда. Он служит инертным барьером, активным резервуаром, содержащим основные ферментные системы и кофакторы (липопротеин липаза, внеклеточная супероксиддисмутаза, антитромбин III, тромбомодулин) [142]. Гликокаликс образует гелеобразный слой, покрывающий слой эндотелиальных клеток, защищающий их от прямого контакта с циркулирующими клетками крови. Эта позиция подразумевает его потенциальную роль в целом ряде важнейших взаимодействий на уровне сосудистой стенки, в том числе сосудосуживающей–сосудорасширяющей, про – и антикоагулянтной, про – и противовоспалительной, а также про – и антиоксидантной функций. Потере гликокаликса может способствовать дисбаланс в ферментных системах, таких как системы коагуляции и антиоксидантной защиты [148].

Измерения толщины гликокаликса могут быть выполнены с помощью инвазивных или неинвазивных методов. Неинвазивный метод использует полуавтоматического метода визуализации для оценки толщины гликокаликса с применением OPS (Orthogonal Polarization Spectral imaging) или SDF (Sideview Darkfield imaging) в поверхностном микроциркуляторном русле. Этот метод визуализации используется для количественной оценки толщины гликокаликса [142].

Функциональная диагностика функции эндотелия связана с определением ответа сосудистой стенки артерии на прохождение по ней пульсовой волны с дополнением в виде манжеточной пробы либо введением вазоактивных препаратов [63].

Методика определения показателя функции эндотелия во многом схожа с пробой D.S. Celermajer (поток-опосредованная эндотелий-зависимая вазодилатация) [180], применяемой исследователями для оценки ФЭ при атеросклеротическом поражении сосудов различной локализации [207]. Однако, предложенный метод требует дорогостоящего оборудования.

Еще одним из показателей оценки и прогноза развития сердечно – сосудистых заболеваний является скорость распространения пульсовой волны, определяемая на участке между сонной и бедренной артериями [105, 108, 153, 174, 181]. Но этот метод требует не только регистрации пульсовых волн, но и определения расстояния между участками регистрации. Выявлена зависимость скорости распространения пульсовой волны от уровня артериального давления в момент исследования, что влияет на достоверность результатов. Все это ограничивает использование данного метода в широкой практике.

Лазерная доплеровская флоуметрия – метод, позволяющий проводить мониторинг капиллярного кровотока [127, 133, 167]. Предположительно, резонанс наблюдающийся в кожной циркуляции – визуализирует реакции других сосудистых бассейнов [137, 152, 163].

Для определения реакции магистральной артерии на значительном протяжении в ответ на пробу с реактивной гиперемией можно применять реовазографическое и фотоплетизмографическое исследование.

Компьютерный анализ объемной пульсовой волны использует принципы фотоплетизмографии. В классической фотоплетизмографии участок тканей, в котором исследуется кровоток, например, палец руки, располагают на пути луча света между источником излучения и

фотоприемником. Поскольку поглощение света в тканях пропорционально объему крови, проходящему через освещаемый участок, то, усиливая сигнал с фотоприемника можно зарегистрировать изменения его амплитуды, обусловленные артериальной пульсацией сосуда. Фотоэлектронный датчик обнаруживает изменения в количестве света, поглощенного гемоглобином, которое отражает изменения в объеме крови.

В 1986 году фотоплетизмография впервые была использована в оценке возрастных изменений сосудов, и влиянии нитроглицерина на гемодинамику. В 1998 году при сравнении изменения объемных показателей ФПГ и параметров центральной гемодинамики, полученных при диагностической катетеризации сердца, доказана однонаправленность изменений параметров, что подтвердило надежность и достоверность фотоплетизмографии в оценке состояния сосудистого русла.

В 2010 году вышла монография под редакцией П.А. Лебедева, где описано применение аппарата Российского производства для фотоплетизмографии с компьютерным обеспечением «Элдар» Самарского завода «Новые приборы» [26]. Особенностью данного фотоплетизмографа стала возможность более детальной оценки состояния сосудов – не только гемодинамики в целом, но и функционального состояния эндотелия. Подтверждена диагностическая ценность ФПГ в диспансерном наблюдении пациентов с артериальной гипертензией, выявлении у них эндотелиальной дисфункции.

Оценка ЭД до сих пор не включена в стандарты обследования больных с сосудистой патологией, отсутствуют рекомендации по выбору метода ее оценки.

Появление нескольких методов позволяет выработать тщательный подход к вопросу эндотелиальной дисфункции. При сравнении этих методов следует учитывать патофизиологическую актуальность, воспроизводимость,

возможность прогнозирования событий в различных группах пациентов, простоту использования, экономичность [151, 192, 201].

Вышеупомянутые методы имеют прочную теоретическую основу и решения различных аспектов эндотелиальной физиологии. Оценка эндотелиальной функции представляется перспективным в вопросе стратификации риска. Исследование показателя функции эндотелия с помощью компьютерной фотоплетизмографии представляется перспективным методом диспансерного наблюдения больных с различными видами сосудистой патологии, в том числе с ПТС. Целесообразно сравнить с целью объективизации данные компьютерной фотоплетизмографии и уровень биохимических маркеров дисфункции эндотелия.

Одним из препаратов, предположительно имеющим эндотелиотропный эффект, являются лекарственные средства, содержащие флавоноиды. Это группа веществ растительного происхождения насчитывает около 6000 разновидностей [100, 118, 122, 164]. Венотонизирующие препараты, содержащие диосмин и другие флавоноиды, нашли свое место и активно применяются флебологами, лимфологами, врачами общей практики по всему миру. Одно из лидирующих мест занимают препараты микронизированной очищенной фракции флавоноидов, ввиду их высокой биодоступности [14, 112, 170, 175].

МОФФ повышает венозный тонус, обладает ангиопротекторными свойствами, улучшает лимфатический дренаж [111, 200], снижает экспрессию молекул адгезии [215], препятствует активации, миграции и адгезии лейкоцитов на капиллярном уровне [129] Это приводит к уменьшению высвобождения воспалительных радикалов, простагландинов и тромбоксана [118]. Антиоксидантные свойства, достигаются путём уменьшения количества свободных радикалов, оказывающих повреждающее действие на биологические мембраны, провоцируя развитие эндотелиальной дисфункции [130].

Повышая венозный тонус и снижая венозную емкость, растяжимость и застой, МОФФ снижает венозную гипертензию у пациентов с ХВН [175]. Эффективность микронизированной очищенной фракции флавоноидов в приведенных исследованиях оценивали с применением окклюзионной плетизмографии.

Известны следующие основные клинические эффекты микронизированной очищенной фракции флавоноидов:

1. Венотонизирующий. Потенцирует сосудосуживающее действие норадреналина (норэпинефрина), уменьшает венозную застой крови [13, 131, 231], увеличивает сократимость гладкомышечных волокон венозной стенки (испытания *in vitro*) [177].

2. Улучшение микроциркуляции. Угнетает выработку молекул адгезии [131], препятствует адгезии лейкоцитов и / или их миграции, ингибирует образование свободных радикалов [144], макрофагов, тормозит синтез простагландина E2 или F2 и тромбоксана B2 ингибирует увеличение микрососудистой проницаемости, индуцированной ишемией [198] и гистамин, брадикинин, лейкотриен B4 при ишемии либо реперфузии снижение апоптоза паренхиматозных клеток, ингибирует тромбоцитарную активность [222, 225] (*in vitro*).

3. Лимфотропный. Повышает сократимость лимфатических сосудов в лабораторных условиях [32, 221], улучшает лимфатический дренаж [213], снижает концентрацию белка в ткани и фибробластов при лимфостазе [177].

МОФФ в дозировке по 500 мг дважды ежедневно сохраняет свою эффективность при долгосрочном лечении пациентов с явлениями ХВН в течение 6-ти [231] или 12 месяцев [213].

Уменьшение диаметра вены в исследовании пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей наблюдается в течение первых 2 месяцев лечения на 50% от эффекта, достигаемого в конечном итоге через 1 год лечения. Непрерывное повышение эффективности по всем

параметрам, хотя и менее быстрыми темпами, выявлено в период от 2 месяцев до 12.

Растительное происхождение обеспечивает флавоноидам хорошую переносимость, а оказываемые эффекты обосновывают приверженность клиницистов различных стран к выбору их в качестве терапии хронической венозной недостаточности, в том числе и при ПТС.

### **1.3. Значение гипергомоцистеинемии в развитии ПТС и возможности ее коррекции**

Гомоцистеин является сульфгидрильной-содержащей аминокислотой образующейся при метаболизме метионина, не встречающаяся в белках. Исследованиями в течение последних 15 лет установлено, что Hcy является независимым фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний — инфаркта миокарда, инсульта и венозной тромбоэмболии, атеросклероза [10]. Полагают, что гипергомоцистеинемия — более информативный показатель развития болезней сердечно-сосудистой системы, чем холестерин [181]. При нарушении внутриклеточного метаболизма гомоцистеина его избыток выводится из клетки во внеклеточное пространство и далее в кровь. Это приводит к возникновению ГГЦ и, как следствие, токсическому воздействию на клетки эндотелия [150].

В плазме крови свободный (восстановленный) Hcy присутствует в небольших количествах 1–2%. Примерно 20% находится в окисленном состоянии, преимущественно в виде смешанного дисульфида цистеинил гомоцистеина и гомоцистина. Около 80% гомоцистеина связывается с белками плазмы крови, в основном с альбумином, образуя дисульфидную связь с цистеином [7].

Существует несколько путей биотрансформации Hcy в организме человека [74, 115]. Метаболизм гомоцистеина происходит с участием ряда

ферментов, основные из которых: метилентетрагидрофолатредуктаза и цистатион- $\beta$ -синтетаза.

Он может обратно преобразоваться в метионин двумя способами. Во-первых, метионин может быть восстановлен из Нсу с помощью метионинсинтазы, использующей в качестве донора метильной группы 5-метилтетрагидрофолат. Этот путь реметилирования распространен повсеместно, в основном в клетках печени. Во-вторых, глицинбетаин может также повторно метилироваться до метионина с участием бетаингомоцистеинметилтрансферазы. Гомоцистеин может также превращаться в цистеин. Под действием цистатионин- $\beta$ -синтазы Нсу и серин образуют цистатионин, который может разрушаться цистатионин- $\gamma$ -лиазой до цистеина и  $\alpha$ -кетобутирата, метаболизируемого далее ферментами до сукцинил-КоА. Эта серия реакций, превращающая гомоцистеин в цистеин, происходит в печени, почках, тонком кишечнике и поджелудочной железе. Нсу также может выводиться из клеток в кровь, но транспортеры этого процесса пока не идентифицированы [50].

Различают несколько форм гипергомоцистеинемии [96].

1. Тяжелая форма ГГЦ (>100 ммоль/л).

Причиной могут быть:

- наследственная гомоцистеинурия, например, вследствие гомозиготности по дефектным генам энзимов биосинтеза метионина – цистатионин- $\beta$ -синтазе или 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазе;
- наследственные нарушения обмена витамина В<sub>12</sub>;
- серьезный дефицит витамина В<sub>12</sub>.

2. Умеренная форма ГГЦ (30–100 ммоль/л).

Причины:

- тяжелое нарушение функции почек (снижение клиренса гомоцистеина почками);

- умеренный дефицит В<sub>12</sub>;
- серьезный дефицит фолатов.

### 3. Легкая форма ГГЦ (10–30 ммоль/л).

Причинами могут служить:

- гетерозиготность по дефектному гену цистатионин-*b*-синтазы;
- гомозиготность по замене основания С677Т в гене 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы;
- почечная недостаточность;
- трансплантация почек;
- небольшой дефицит фолата и витамина В<sub>12</sub>;
- недостаток тиреоидных гормонов;
- алкоголизм;
- медикаменты.

Помимо ферментов, важную роль в метаболизме гомоцистеина выполняют витамины В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> и фолиевая кислота. Популяционные исследования позволили проанализировать связь пищевых факторов (витаминов группы В, белков и метионина), курения, потребления кофе, биохимических детерминант (содержания в плазме креатинина, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолатов) и других факторов (индекс массы тела, артериальное давление и антигипертензивные препараты) с уровнем гомоцистеина [91]. Кроме кровяного давления, все остальные факторы связаны с содержанием Нсу. Например, у курильщиков содержание гомоцистеина на 1,5 ммоль/л выше, чем у некурящих. Содержание фолатов является наиболее выраженной детерминантой уровня Нсу. Различия в уровне гомоцистеина при самой высокой и самой низкой концентрации фолатов составили 4 ммоль/л, а при действии других факторов находились в интервале 0,5–2,0 ммоль/л [55].

Механизмами влияния гипергомоцистеинемии на сосуды могут быть повреждения под действием окислительного стресса, нарушения выделения окиси азота, изменения гомеостаза и активации воспалительных процессов.

Все больше данных о связи эндотелиальной дисфункции и уровнем гомоцистеина [80, 163]. Низкий уровень витамина В<sub>6</sub> сам по себе уже является фактором риска рецидива венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений [203].

Возможно, что высокие уровни Нсу являются только маркером ССЗ, то есть связь между ними опосредована другими факторами (нарушением функции почек, дефицитом фолатов и витаминов В<sub>12</sub> и В<sub>6</sub>), которые влияют как на уровень гомоцистеина, так и на развитие сосудистых заболеваний [150].

Гомоцистеин обладает способностью оказывать прямое цитотоксическое действие на эндотелий артерий. Кроме того, Нсу активирует систему свертывания крови, агрегационную активность тромбоцитов, способствует повышению в крови содержания холестерина, повышает митотическую активность гладкомышечных клеток сосудов [72, 178].

Тормозя работу противосвертывающей системы, гипергомоцистеинемия является фактором риска развития тромбозов глубоких вен. Умеренно повышенный уровень гомоцистеина (более чем 18 мкмоль/л) связан с увеличенным риском тромбоза. Такие уровни найдены в 5–10% случаев в общей популяции, что увеличивает риск венозного тромбоза примерно в два раза. Было показано повышение уровня гомоцистеина у больных с венозным тромбозом в 2,5 раза [224]. Механизм взаимосвязи гипергомоцистеинемии с риском тромбоза до конца неизвестен. Предполагается, что она оказывает повреждающее воздействие на клетки, особенно нервные и эндотелиальные [101].

Одним из веществ, через которые опосредован эффект гипергомоцистеинемии, является оксид азота. ГГЦ снижает активность и синтез оксида азота II [124].

Следует отметить, что в нормальных условиях оксид азота обладает способностью вступать в реакцию с гомоцистеином с образованием S-нитрогомоцистеина – вещества, обладающего сосудорасширяющими свойствами и способствующего ингибированию агрегации тромбоцитов [205].

Гипергомоцистеинемия, таким образом, оказывает неблагоприятное влияние на механизмы регуляции сосудистого тонуса и коагуляционного каскада. Это ранний маркер клеточного функционального дефицита витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> и фолиевой кислоты в большей степени, чем определение в крови самих этих витаминов.

Известен медикаментозный способ лечения ГГЦ путем назначения антикоагулянтных препаратов [7].

В России так же запатентован метод лечения гипергомоцистеинемии плазмофорезом (Способ лечения гипергомоцистеинемии (патент RU 2360706)). Проводят курс с удалением 300-500 мл плазмы за один сеанс. В качестве плазмозамещающего раствора вводят 0,9% раствор хлорида натрия. Курс лечения составляет 10 сеансов [48].

Патофизиология накопления гомоцистеина напрямую связана с дефицитом активно участвующих в его обмене витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub> и В<sub>12</sub> (рис. 1).

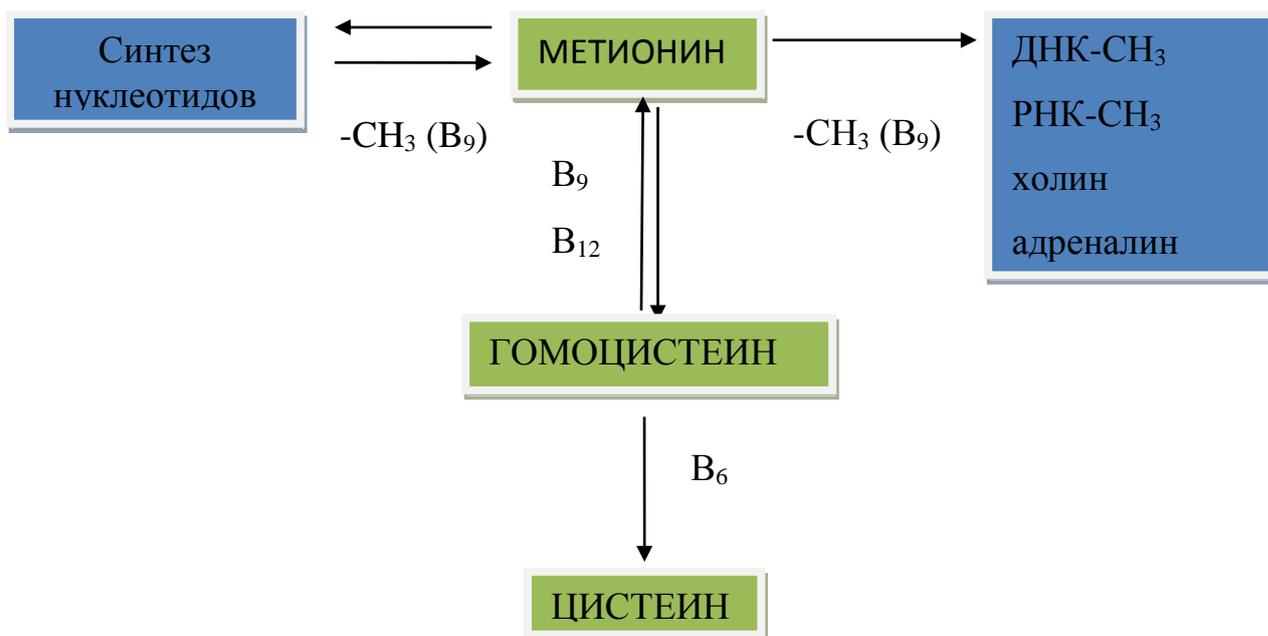


Рис. 1. Участие витаминов в обмене гомоцистеина.

Наиболее часто применяется способ лечения ГГЦ путем назначения витаминного комплекса [96]. У пациентов с легкой и умеренной формой гипергомоцистенемии по литературным данным можно добиться снижения уровня Hcy до нормального, назначая либо фолиевую кислоту от 0,4 до 5 мг/сутки, либо витамин B<sub>12</sub> в дозе от 0,5 до 1 мг/сутки, либо используя оба препарата [72, 224].

Данные литературы указывают на необходимость длительного приема витаминизированных препаратов при выявлении гипергомоцистенемии до 9—10 месяцев [173]. Выявлено повышение Hcy уже через 3—4 месяца после прекращения лечения в более короткие сроки.

Суммируя вышесказанное, вопрос терапии гипергомоцистенемии, как нового этиотропного фактора, в дополнение к консервативной терапии тромбофлебита и ПТС требует детального изучения в виду ее влияния на развитие дисфункции эндотелия и течение посттромботического синдрома.

#### **1.4. Генетические мутации, влияющие на тромбообразование и формирование ПТС**

Наличие у пациента наследственной тромбофилии позволяет предположить развитие у него тромбоза глубоких вен нижних конечностей с тенденцией к плохому ответу на стандартное консервативное лечение. Соответственно, создаются благоприятные условия для формирования тяжелых форм ХВН в отсутствие реканализации пораженного сегмента, возможного развития повторных эпизодов ТГВ.

Одна из наиболее изученных, Лейденская мутация фактора V, встречается часто. Распространенность среди практически здоровых лиц в Европе и США колеблется от 3 до 7%, а иногда может достигать 15% [141].

В самом крупном на сегодняшний день одномоментном популяционном исследовании по выявлению этой мутации [125] общая частота носительства составила 3,71%, а частота аллелей — 1,89%. Распространенность лейденской мутации фактора V оказалась самой высокой среди представителей белой расы – 5,27%, в других этнических группах она была значительно ниже: 2,21% у латиноамериканцев, 1,23% у афроамериканцев, 0,45% у американцев азиатского происхождения и 1,25% у американских индейцев [141].

Результаты крупномасштабного проспективного исследования Physician's Health Study, включавшего практически здоровых мужчин, подтвердили корреляцию между наличием лейденской мутации фактора V и риском тромбоза [195]. Лейденская мутация фактора V повышает риск тромбозов при других тромбофилических состояниях, например, при дефиците протеина C или S, при гипергомоцистинемии [110]. В исследовании, включавшем 11 больных с гомозиготной семейной гомотистинурией, 6 больных с клиническими проявлениями тромбоза оказались гетеро- или гомозиготными носителями лейденской мутации фактора V [173]. Кроме того, лейденская мутация может повышать риск

тромбоза, связанного с умеренным повышением уровня гомоцистеина вследствие не очень тяжелых генетических дефектов или недостаточного потребления витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> или фолиевой кислоты.

В 1993 г. шведские и голландские исследователи описали нарушение в системе свертывания крови, обусловленное резистентностью к активированному протеину С [218]. Мутация гена (замена в одном из положений аденина на гуанин), кодирующего V фактор свертывания крови, приводит к замещению в его молекуле аргинина глутамином в положении 506. Это один из трех участков фактора V, в которых он расщепляется естественным антикоагулянтом активированным протеином С. Данная мутация, приводит к тому, что активированная форма фактора V (Va) становится относительно устойчивой к расщепляющему действию активированного протеина С. При анализе крови можно выявить изменение резистентности к активированному протеину С. Большинство случаев подобной резистентности обусловлены именно лейденской мутацией фактора V [205].

Фактор Ха связывается с фактором Va на поверхности активированных тромбоцитов, катализируя реакцию превращения протромбина в тромбин, который в свою очередь способствует превращению фибриногена в фибрин с образованием фибринового сгустка. Активированный протеин С действует как мощный антикоагулянт, инактивируя факторы VIIIa и Va.

Результаты клинических исследований указывают на то, что лейденская мутация фактора V сопряжена с повышенным риском первичных [161] и рецидивирующих [195] венозных тромбозов, тромбозов вен и тромбоэмболии легочной артерии при использовании пероральных контрацептивов [104], беременности [121] и при наличии других врожденных или приобретенных нарушений противосвертывающей системы [197]. На основании этих наблюдений были предложены программы скринингового обследования для выявления лейденской мутации фактора V [218].

Окончательный диагноз лейденской мутации фактора V можно установить с помощью метода полимеразной цепной реакции [110].

За последние 10 лет были идентифицированы несколько новых дефектов, которые увеличивают риск венозного тромбоза. Вообще, эти отклонения имеют тенденцию вызывать более мягкое повышение тромботического риска, чем дефициты антитромбина, протеинов C и S. Однако, хотя и более умеренно, они также ответственны за риск венозных тромботических событий [110].

Одним из таких дефектов, является мутация в гене фибриногена. Гены фибриногена находятся на длинном плече 4-й хромосомы. Последовательность каждой из цепей фибриногена кодируется своим геном [205].

Фибриноген является симметричной, вытянутой, слегка изогнутой молекулой размером 7x48 нм N-концевые части всех трех полипептидов образуют центральную область взаимодействия двух половин молекулы фибриногена, которые ковалентно связаны между собой тремя дисульфидными мостиками, далее следует область, в которой все три субъединицы закручены в суперспираль. Примерно посередине имеется короткая область нарушения регулярности структуры, являющаяся одним из участков специфического расщепления плазмином.

Уровень фибриногена плазмы крови зависит от многих факторов (возраст, пол, низкая физическая активность, артериальная гипертензия, курение, инсулинорезистентность) [124].

Фибриноген является белком острой фазы, его уровень в плазме повышается также при воспалении, инфекциях, травме и стрессе. Регуляция синтеза фибриногена осуществляется на уровне транскрипции. Синтез стимулируется гормонами, жирными кислотами, продуктами деградации фибриногена. Основным механизмом стимулирующего действия является секреция интерлейкина-6 макрофагами и моноцитами в ответ на фагоцитоз

продуктов деградации фибриногена. Некоторые исследователи [143] рассматривают фибриноген как маркер повреждения эндотелия. Считается, что уровень фибриногена является чувствительным и одним из самых ранних факторов, отражающих повреждение эндотелиальных клеток. Определение его концентрации в сыворотке крови имеет значение для оценки тяжести и распространенности повреждения сосудов.

Одной из причин, приводящих к изменению концентрации фибриногена сыворотки крови, могут быть структурные полиморфизмы гена фибриногена.

Однако учитывая то, что сборка полипептидных цепей фибриногена начинается с  $\beta$ -цепи, в настоящее время наиболее широко изучаются нуклеотидные замены в области гена  $\beta$ -фибриногена. Так, описано более 10 вариантов полиморфизма гена  $\beta$ -фибриногена, которые могут влиять на уровень фибриногена плазмы крови, среди них такие полиморфные участки, как: 455 G-A и 148 C-T, находящиеся в европейской популяции в полном равновесном сцеплении.

Одним из наиболее изученных является полиморфизм, заключающийся в замене G на A в 455 нуклеotide промоторной области гена  $\beta$ -фибриногена. На основании распределения G- и A-аллелей принято различать три генетических варианта полиморфизма  $\beta$ -фибриногена: гомозиготные — G-G и A-A, а также гетерозиготный — G-A. По данным литературы, встречаемость 455 A-A генотипа в популяции составляет 10—20% и ассоциируется с повышением уровня фибриногена сыворотки крови на 10% по сравнению с носителями GG генотипа. Распространенность данного варианта (G-G) в европейских популяциях составляет 5-10% [143].

В исследовании группы здоровых доноров было установлено, что мутация G455A приводит к повышенному содержанию фибриногена в крови [173]. Следует отметить, что гиперфибриногемию вызывает и гипергомоцистеинемия [7, 22].

Фолатный цикл – каскадный процесс, ключевым этапом в этом процессе является синтез метионина из гомоцистеина. Это достигается в процессе превращения фолатов: восстановления 10-метилентетрагидрофолата до 5-метилентетрагидрофолата, несущего метильную группу, которая необходима для превращения гомоцистеина в метионин. Восстановление фолатов происходит с помощью фермента метилентетрагидрофолатредуктазы. Метильная группа переносится на витамин В<sub>12</sub>, который затем отдает ее гомоцистеину, образуя метионин с помощью фермента метионинсинтазы. Однако в некоторых случаях В<sub>12</sub> может окисляться, что приводит к подавлению метионинсинтазы [23]. Для поддержания активности фермента необходимо восстановительное метилирование с помощью фермента метионин-синтазы-редуктазы .

Впервые описанный Леклерком и соавт. полиморфизм А66G в гене MTRR приводит к тому, что функциональная активность фермента метионин-синтазы-редуктазы снижается [224]. Риск гипергомоцистеинемии при носительстве G аллеля возрастает при наличии сочетаний с другими полиморфизмами генов фолатного цикла. В проведенных исследованиях установлено, что в виде одиночной мутации данный полиморфизм не встречался, носители 66G аллеля имели комбинированные мутации: MTRR (66 A>G) и MTR (2756A>G), MTHFR (1298C>T) и MTRR (66 A>G), MTRR (66 A>G) и MTHFR (667 C>T) [89].

MTRR 66 A>G, приводят к снижению каталитической активности и оказывают существенное влияние на интенсивность фолатного метаболизма, что подразумевает накопление гомоцистеина. В популяции, частота гетерозиготных носителей аллеля составляет 45,0–50,0%, а гомозиготных около 25,0% [71]. Избыточное накопление гомоцистеина внутри клетки может нанести ей непоправимый вред (повреждение ДНК, нарушение деятельности клетки, вплоть до гибели).

Генетическое нарушение в обмене фолатов, приводящее к гипергомоцистеинемии, без должной терапии данного состояния прогнозируемо приведет к сохранению или усугублению ЭД, нарушение процессов реканваlescенции и компенсации в системе глубоких вен после перенесенного ТГВ.

Назначение фолиевой кислоты может значительно снизить риск последствий данного варианта полиморфизма [146]. Коррекция тромбофилий у пациентов с венозными тромбозами с учетом результатов генотипирования, в первую очередь при сочетании полиморфизмов в генах фолатного цикла и гипергомоцистеинемии назначаются витамины В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолиевая кислота. Пациентам с гомозиготными либо множественными полиморфизмами генов плазменного звена гемостаза назначаются на длительный срок препараты группы непрямых антикоагулянтов. Имеются наблюдения, из которых следует, что данные рекомендации в лечении позволяют избежать эпизодов ретромбоза либо ТЭЛА [44, 93].

Связана ли гипергомоцистеинемия с увеличенным риском развития только венозного тромбоза или при сочетании с другими врожденными факторами риска, остается предметом споров, хотя большая часть фактов в настоящее время говорит о том, что риск тромбозов, связанных с гипергомоцистеинемией, независим от существования аномалий в природной противосвертывающей системе. В трех работах было показано, что связь гипергомоцистеинемии с тромбозом вен сохраняется даже после исключения из анализа больных с известными врожденными факторами риска, такими как недостаточность природных ингибиторов коагуляции и устойчивость к белку С, активируемому фактором V Лейдена [19, 35, 71].

Невысок остается интерес исследователей к вопросу тромбофилии при хронических заболеваниях вен нижних конечностей. Тромбофилия ассоциируется с рецидивирующими ТГВ, что чаще приводит к формированию посттромботического синдрома. Так же для НТ характерны

спонтанные, не выявленные эпизоды тромбоза глубоких вен, что ведет за собой позднее обращение пациента, чаще с уже сформированным тяжелым посттромботическим синдромом. Проведены исследования дефицитов протеинов С, S, антитромбина, фактора II. Однако четкой связи между наличием изменений и течением посттромботического синдрома выявлено не было. Более достоверные результаты были получены в отношении фактора свертывания V [206]. Выявлено, что встречаемость мутации фактора Лейдена у пациентов с ПТС достигает 36%, а при варикозном расширении подкожных вен нижних конечностей от 2 до 6 %. В контрольной группе мутация выявлена у 7,5% обследованных [141]. Таким образом, авторы установили связь между наличием мутации фактора V и ПТС, однако оценка влияния генетического статуса на клинические проявления посттромботического синдрома не выполнялась.

Таким образом, можно отметить, что генетические мутации генов системы свертывания замедляют процессы лизиса тромба в венозной системе, увеличивают риск повторных эпизодов ТГВ. Эти факторы оказывают негативное влияние на усилия клиницистов в борьбе с развитием посттромботического синдрома.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа выполнена в рамках научного плана ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. По дизайну исследование организовано как открытое, в параллельных группах пациентов.

Проведено обследование и лечение 152 пациентов с впервые выявленным острым тромбозом глубоких вен нижних конечностей.

### Общая характеристика пациентов.

Возраст больных составил от 24 до 78 лет. Среди обследованных было 55 женщин (36,2%) и 97 мужчин (63,8%) соотношение женщин и мужчин - 1:1,76. Распределение пациентов в зависимости от уровня проксимальной границы тромба показало, что наиболее часто процесс локализовался на уровне общей бедренной вены, несколько меньше процентов случаев с вовлечением подвздошного сегмента (рис. 2).

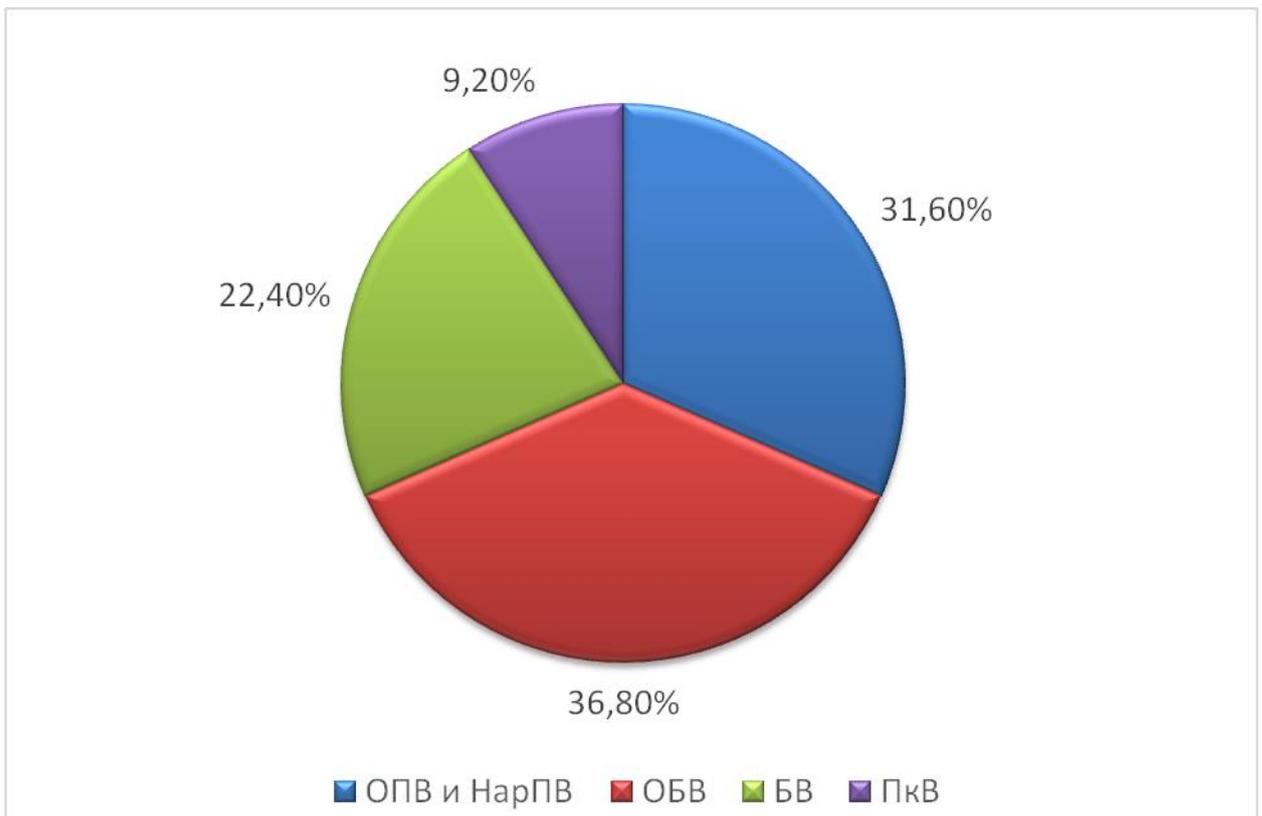


Рис. 2. Локализация проксимальной границы тромба при поступлении пациента с ТГВ в стационар.

Пациенты были разделены на 3 группы, соответствующие друг другу по основным параметрам, и были подвергнуты дальнейшему сравнению.

#### Характеристика пациентов I группы (N=60).

Среди обследованных было 27 женщин (45%) и 33 мужчины (55%). Возраст пациентов составил от 24 до 68 лет. Локализация проксимальной границы тромба на момент диагностирования ТГВ в подвздошном сегменте глубоких вен наблюдалась в 20 случаях (33,3%), в общей бедренной вене в 22 случае (36,7%), в бедренной вене в 13 случаях (21,7%) и в подколенной вене в 5 случаях (8,3%).

#### Характеристика пациентов II группы (N=60).

Во второй группе было 28 женщин (46,7%) и 32 мужчины (53,3%). Возраст пациентов составил от 26 до 78 лет. ТГВ диагностирован в подвздошном сегменте глубоких вен в 19 случаях (31,7%), в общей бедренной вене в 22 случае (36,7%), в бедренной вене в 14 случаях (23,3%) и в подколенной вене в 5 случаях (8,3%).

#### Характеристика пациентов III группы (N=32).

Среди пациентов 14 женщин (43,8%) и 18 мужчин (56,2%). Возраст пациентов составил от 28 до 72 лет. Проксимальная граница тромба в подвздошном сегменте глубоких вен выявлена в 9 случаях (28,1%), в общей бедренной вене в 12 случаях (37,5%), в бедренной вене в 7 случаях (21,9%), в подколенной вене в 4 случаях (12,5%).

Группы пациентов сопоставимы по сопутствующей патологии (табл. 1).

Таблица 1

Распределение больных по группам и сопутствующим заболеваниям

Сопутствующие заболевания	1 группа	2 группа	3 группа
Сердечно-сосудистые заболевания	43,3% (26 пациентов)	40,0% (24 пациентов)	37,5% (12 пациентов)
Патология дыхательной системы	13,3% (8 пациентов)	15,0% (9 пациентов)	15,63% (5 пациентов)
Патология нервной системы	5% (3 пациента)	3,33% (2 пациента)	3,1% (1 пациент)
Патология мочевыделительной системы	3,33% (2 пациента)	5% (3 пациента)	-
Патология пищеварительной системы	-	-	6,25% (2 пациента)
Патология эндокринной системы	10% (6 пациентов)	11,67% (7 пациентов)	15,6% (5 пациентов)

Согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений [77] все пациенты получали антикоагулянтные препараты, НПВС, компрессионная терапия (II класс). С целью оценки эндотелиотропного и гомоцистеинснижающего эффекта, пациенты II и III групп получали дополнительную терапию. Подробная схема представлена ниже (рис. 3).



Рис. 3. Схема терапии пациентов в зависимости от группы.

Витаминный препарат в таблетированной форме для приема 1 раз в сутки в течение 3 месяцев, согласно инструкции производителя. Состав препарата и дозировка отдельных витаминов группы В представлена в таблице (табл. 2).

Таблица 2

Состав таблетированного витаминного препарата

Состав		
1 таблетка (суточный прием) содержит:	Масса	% от РСН**
Фолиевая кислота (Витамин B <sub>9</sub> )	600 мкг	300*
Витамин B <sub>6</sub>	6 мг	300*
Витамин B <sub>12</sub>	5 мкг	500*

\* Не превышает верхний допустимый уровень

\*\* Рекомендуемая суточная норма

Препарат микронизированной очищенной фракции флавоноидов применялся в стандартной дозировке, с 21 дня заболевания в течение 12 месяцев.

Всем пациентам проводилось определение биохимических показателей, определение показателя функции эндотелия (табл. 3).

Таблица 3

Периодичность наблюдения, исследуемые параметры

Период наблюдения	I группа (60 человек)	II группа (60 человек)	III группа (32 человека)
При поступлении в стационар	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy
1 месяц	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy
3 месяца	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy
6 месяцев	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy	NO; ПФЭ; Hcy
12 месяцев	NO; ПФЭ	NO; ПФЭ	NO; ПФЭ
Выявление генетических мутаций (ПЦР)			

Определение уровня оксида азота (II).

Определение нитрита и нитрата, стабильных конечных продуктов оксида азота, в крови и других биологических жидкостях производят различными методами. При определении нитрита используется фотоколориметрический метод [24]. Тотальное определение содержания нитрита и нитрата в плазме крови также проводится фотоколориметрическим методом, однако предварительно превращают нитраты в нитриты с помощью покрытой медью кадмиевой колонки или редуктазы [186]. В последнее время для определения нитратов и нитритов в биологических жидкостях используются высокоэффективная хроматография и капиллярный электрофорез [214].

Измерение концентрации метаболитов оксида азота (II) в сыворотке крови проводилось по оригинальной методике, предложенной сотрудниками ГБОУ ВПО «Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова» Минздрава России (рационализаторское предложение (удостоверение № 1317)) [90]. Применялся фотоколориметрический метод.

Использовали пробы крови из локтевой вены, взятые утром сразу после пробуждения больного, натощак. Цельную кровь отбирали в сухую пробирку без консерванта, центрифугировали. Сыворотку крови разводили в соотношении 1:2 после центрифугирования цельной крови депротеинизировали 96° этиловым спиртом. После отделения супернатанта, путем повторного центрифугирования, вносили его пробу в лунки микропланшета. Добавляли растворы хлористого ванадия и раствор Грисса в равных соотношениях: 80 мкл супернатанта, 80 мкл раствора ванадия хлорида, 80 мкл реактива Грисса.

Приготовление раствора Грисса: 1000 мг реактива Грисса в 10 мл 12% уксусной кислоты. Ванадия хлорид ( $VCl_3$ ) 40 мг растворяли в 5 мл 1N соляной кислоты с последующим фильтрованием через бумажный фильтр. В исследовании применялся только свежеприготовленный раствор.

После инкубации в течение 30 минут при 37°C на водяной бане измеряли оптическую плотность полученного раствора розового цвета фотоколориметрическим методом со светофильтром с длиной волны 540 нм. С помощью иммуноферментного анализатора Stat Fax 3200 «Awareness Technology, Inc.».

Калибровочную кривую получали при измерении оптической плотности стандартных растворов нитрата натрия с концентрацией от 5 до 320 мкмоль.

При построении калибровочной кривой использовали 1 М раствор  $NaNO_2$  в воде, разведенный в 1000 раз (рис. 4).

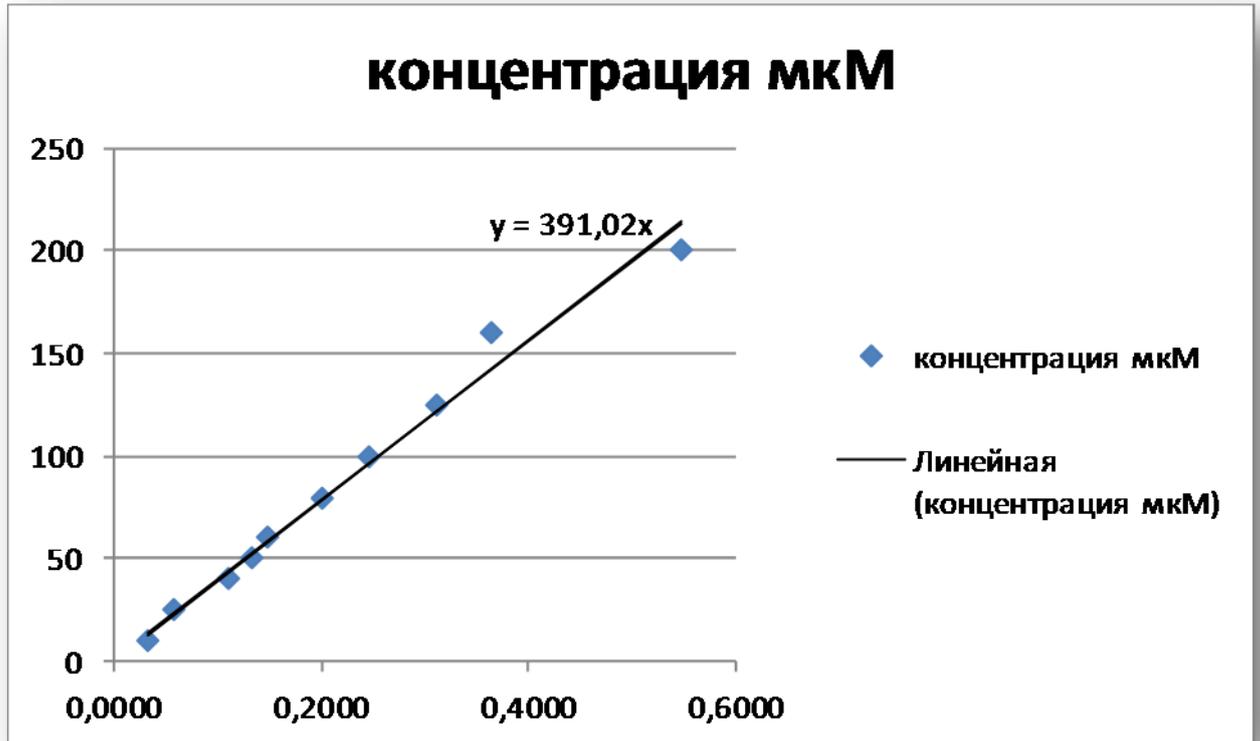


Рис. 4. Калибровочная кривая зависимости оптической плотности от суммарной концентрации нитрит-иона.

В качестве контрольной группы при определении концентрации метаболитов оксида азота (II) обследованы 21 здоровый доброволец без анамнеза и клинических данных наличия патологии венозной системы. Исследования выполнялись на базе кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России.

#### Определение уровня гомоцистеина крови

Исследование выполнено на базе Центральной научно – исследовательской лаборатории ГБУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет» Минздрава России. Использован набор Axis®

Homocysteine Enzyme Immunoassay - набор реагентов для количественного определения гомоцистеина методом иммуноферментного анализа.

Тест-система предназначена для определения гомоцистеина в крови методом иммуноферментного анализа. Связанный с белком Hcy восстанавливается до свободного и превращается в S- аденозил-L-гомоцистеин (SAH) в ферментной реакции — проводится специальная процедура, предшествующая иммуноферментному анализу. Фермент специфичен для L-формы гомоцистеина, в которой последний и присутствует в крови.

1.1 Восстановление Смесь дисульфида и белок-связанной формы Hcy в образце восстанавливаются до свободного гомоцистеина при использовании дитиотреитола.



где \*R1 – любая тиоловая группа

1.2 Ферментативная реакция Гомоцистеин образца превращается в S - аденозил-L-гомоцистеин с использованием SAH-гидролазы в присутствии избытка аденозина.



1.3 Иммуноферментный анализ. Следующий твердофазный иммуноферментный анализ основан на конкуренции между SAH в образце и SAH, иммобилизованным в лунках микропланшета, за сайты связывания с моноклональными антителами к SAH. Активность пероксидазы измеряется на спектрофотометре после добавления субстрата. Полученная абсорбция обратно пропорциональна концентрации общего гомоцистеина в тестируемом образце.

Характер принимаемой пищи может влиять на уровень циркулирующего гомоцистеина. Прием богатой белками пищи

сопровождается повышением уровня общего гомоцистеина. Пациентам было рекомендовано отказаться от приема подобной пищи за 24 часа до проведения анализа.

Определение показателя функции эндотелия методом компьютерной фотоплетизмографии.

Фотоплетизмограф компьютерный "Элдар" ЗАО Инженерно-медицинский центр «Новые Приборы» (Россия) с программным обеспечением "Eldar-Endo" работает с Windows XP/Vista/7. Для подключения прибора используется порт USB.

Прибор предназначен для регистрации фотоплетизмограммы (ФПГ) периферического пульса, визуального анализа контура фотоплетизмограммы с целью определения диагностических показателей, характеризующих эластические свойства сосудов и функцию сосудистого эндотелия для выявления ранних стадий, определения прогноза течения сердечно-сосудистых заболеваний, оценки результатов лечения (рис. 5).

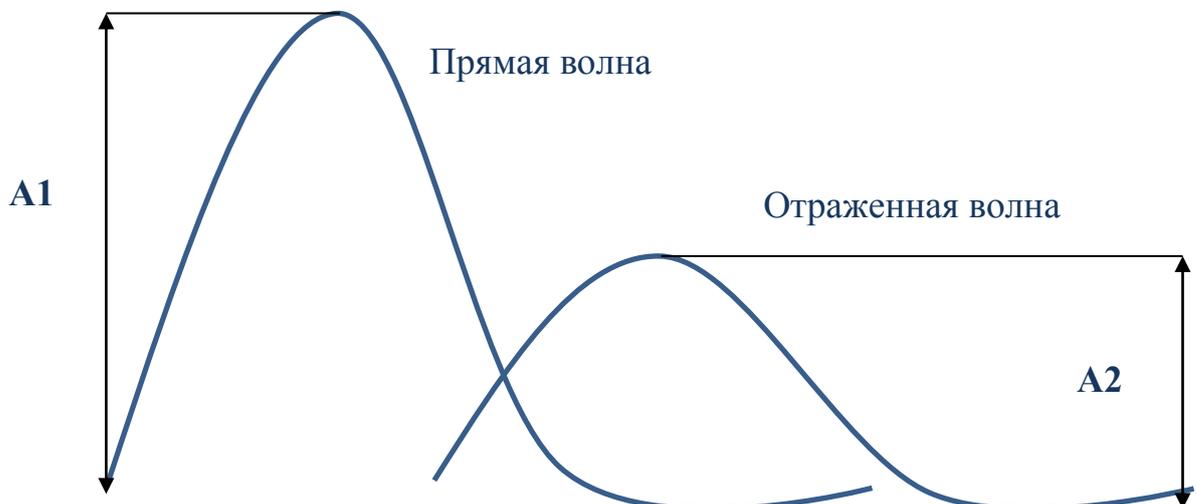


Рис. 5. Реконструкция контура фотоплетизмограммы на прямую и обратную волну для определения диагностических показателей.

Индекс отражения – ИО – отношение амплитуды отраженной пульсовой волны  $A_2$ , к амплитуде прямой волны  $A_1$ , выраженное в процентах:

$$\text{ИО} = (A2 / A1) 100, \% \text{ (от 40 до 100\%)}$$

Показатель функции эндотелия - величина изменения индекса отражения в ходе пробы с реактивной гиперемией на третьей минуте постокклюзионного кровотока. (ИО 3 мин), по сравнению с исходным значением до проведения пробы (ИО исх).

$$\text{ПФЭ} = ((\text{ИО исх} - \text{ИО 3 мин}) / \text{ИО исх}) * 100, \%$$

Результат представляется в виде графика, наглядно демонстрирующего полученные значения и их отношение к нормальным показателям (рис. 6).

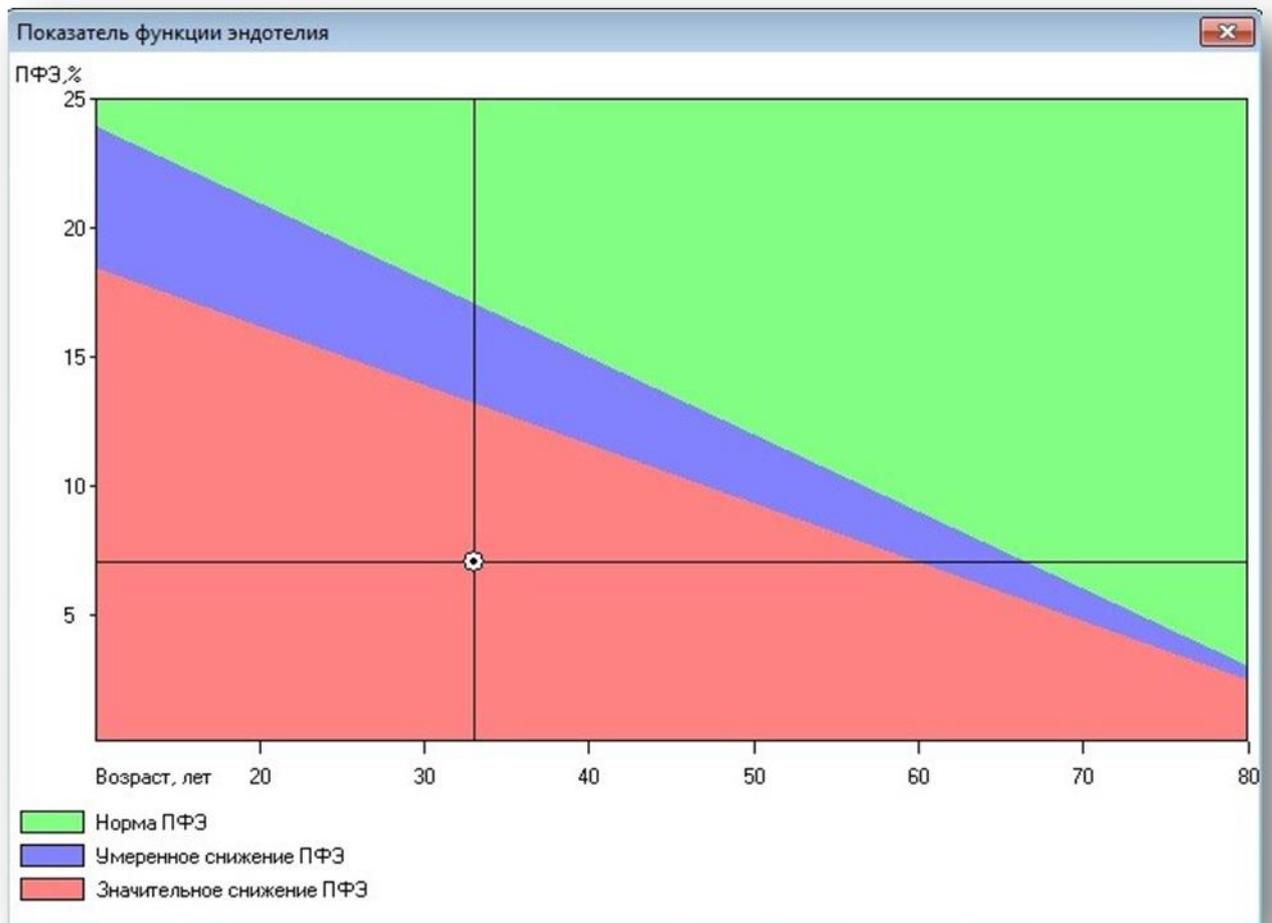


Рис. 6. Вид фотоплетизмограммы. Результат оценки ПФЭ, функция эндотелия значительно снижена (обследуемый К.).

Подобных исследований ПФЭ при заболеваниях вен нижних конечностей с применением аппарата «Элдар» еще не производилось.

Поэтому в качестве контрольной группы при определении показателя функции эндотелия мы обследовали 21 здорового добровольца без анамнеза и клинических данных наличия патологии венозной системы. Нами было выявлено, что ПФЭ в группе здоровых добровольцев составил  $25,7\% \pm 2,2\%$ , что соответствовало данным, представленным в инструкции по эксплуатации и трактовке результатов аппарата.

### ПЦР – диагностика.

Молекулярно-генетическое тестирование проводилось методом полимеразной цепной реакции. ПЦР дает возможность существенно ускорить и облегчить диагностику наследственных заболеваний.

Материал исследования – кровь, взятая из кубитальной вены однократно утром натощак перед началом терапии.

Этапы ПЦР:

- ✓ Обработка клинического материала
- ✓ Амплификация
- ✓ Детекция продуктов амплификации

Вначале проводится электрофорез ДНК в агарозном геле — это аналитический метод, применяемый для разделения фрагментов ДНК по размеру (длине). При проведении электрофореза фрагменты ДНК мигрируют в геле под воздействием сил электрического поля. Более длинные молекулы мигрируют медленнее, так как задерживаются в геле, более короткие молекулы двигаются быстрее. После разделения фрагменты ДНК разной длины визуализируют при помощи флюоресцентных красителей, специфично взаимодействующих с ДНК, например, агарозные гели обычно красят бромистым этидием, который интеркалирует между азотистыми основаниями дуплекса и флюоресцирует в УФ-лучах. Далее проводят оценку выявленных аллелей.

Исследованы полиморфный локус G1691A гена V фактора свертывания крови (лейденская мутация), мутация G455A в гене фибриногена, полиморфизм A66G в гене метионин-синтазы-редуктазы. Интерпретация полученных результатов представлена в таблице (табл. 4).

Таблица 4

Возможные сочетания аллелей генов, подвергнутых изучению

Полиморфизм	Генотип
F5 G1691A	Дикий тип (Аллель 1) G/G
	Гетерозигота G/A
	Мутант (Аллель 2) A/A
FGB -455 G >A	Дикий тип (Аллель 1) G/G
	Гетерозигота G/A
	Мутант (Аллель 2) A/A
MTRR 66 A>G	Дикий тип (Аллель 1) A/A
	Гетерозигота A/G
	Мутант (Аллель 2) G/G

Исследование выполнено на базе центральной научно – исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет имени И.П. Павлова» Минздрава России.

Общеклиническое и дополнительное обследование.

На каждом этапе: при поступлении в стационар, через 1, 3, 6, 12 месяцев терапии пациентам проводилось клиническое обследование, включающее сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни, клинический осмотр. Оценивали субъективные симптомы заболевания: тяжесть, боли, судороги в икроножных мышцах. При осмотре нижних конечностей определяли наличие или отсутствие объективных признаков ХВН: варикозного расширения вен, телеангиэктазий, ретикулярных вен, отека

конечности, гиперпигментации кожи, липодерматосклероза, трофической язвы (зажившей или открытой).

Всем пациентам для определения характера поражения глубоких вен производилось ультразвуковое дуплексное сканирование вен нижних конечностей на аппарате «Siemens Sonoline G60S» (Германия): ангиосканирование в реальном масштабе времени, цветное доплеровское кодирование и сканирование в дуплексном режиме.

На протяжении года терапии с момента диагностирования острого тромбоза глубоких вен нижних конечностей проводилась оценка ХВН с применением международной классификации хронических заболеваний вен CEAP, разрешенная к применению на совещании экспертов России (2000 г.).

Обработка и хранение материалов диссертации проводились на персональном компьютере Intel Core i3, использован текстовый редактор Microsoft Word из пакета офисных программ Microsoft Office 2010, для статистической обработки использован пакет офисных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel 2010 с использованием критериев Стьюдента (t) для средних с определением коэффициента достоверности (p). Статистически значимыми различия считались при  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где M – среднее значение, m – стандартная ошибка.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Функциональное состояние эндотелия у пациентов с ПТС

Для оценки функционального состояния эндотелия при поступлении пациента в стационар и динамического контроля использована фотоплетизмография. Показатель функции эндотелия при поступлении пациента в стационар имел отрицательные значения или близкие к нулю. ПФЭ значительно снижен по сравнению с таковым у здоровых добровольцев (табл. 5).

Таблица 5

Значения показателя функции эндотелия на протяжении наблюдения

ПФЭ, (%) (M±m)	Период наблюдения				
	При поступлении и	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев
Здоровые добровольцы	25,7 ± 2,2				
Группа I	-0,85±1,45	2,3±0,55 (p=0,073)	4,5±0,8 (p=0,05)	5,9±0,6 (p=0,044)	9,6±0,4 (p=0,07)
Группа II	-1,0±1,6	3,0±1,0 (p=0,041)	6,4±0,8 (p=0,008)	10,3±0,5 (p= 0,039)	12,5±0,6 (p=0,05)
Группа III	-1,0±1,4	2,75±1,0 (p=0,009)	5,5±0,5 (p=0,031)	7,7±0,6 (p= 0,056)	10,6±0,5 (p=0,004)

р-достоверная разница по сравнению с показателями в той же группе на момент поступления (p<0,05)

Таким образом, на фоне лечения ПФЭ увеличивался во всех группах пациентов. Однако, во второй группе, принимавшей МОФФ, показатели выше и их прирост относительно исходных значений более выраженный.

При проведении гомоцистеинснижающей терапии в группе III ПФЭ возрастает. На протяжении всех 3 месяцев лечения витаминными препаратами результаты близки к результатам во II группе. Затем, при прекращении приема наблюдается тенденция к замедлению динамики увеличения показателя функции эндотелия и к 12 месяцам наблюдения разница ПФЭ в группе I и III только 9,4%.

Обнаружено что, введение в курс лечения МОФФ ведёт к увеличению значений показателя функции эндотелия, при этом наиболее интенсивный прирост показателей отмечается к 3 и 6 месяцу непрерывного приема препаратов. Так ПФЭ в 3 месяца в группе II на 29,7% выше, чем в группе I, а к 6 месяцам терапии показатель группы II превышает ПФЭ I группы на 42,7%. Это обосновывает их длительный курс у данной категории пациентов (рис. 7).

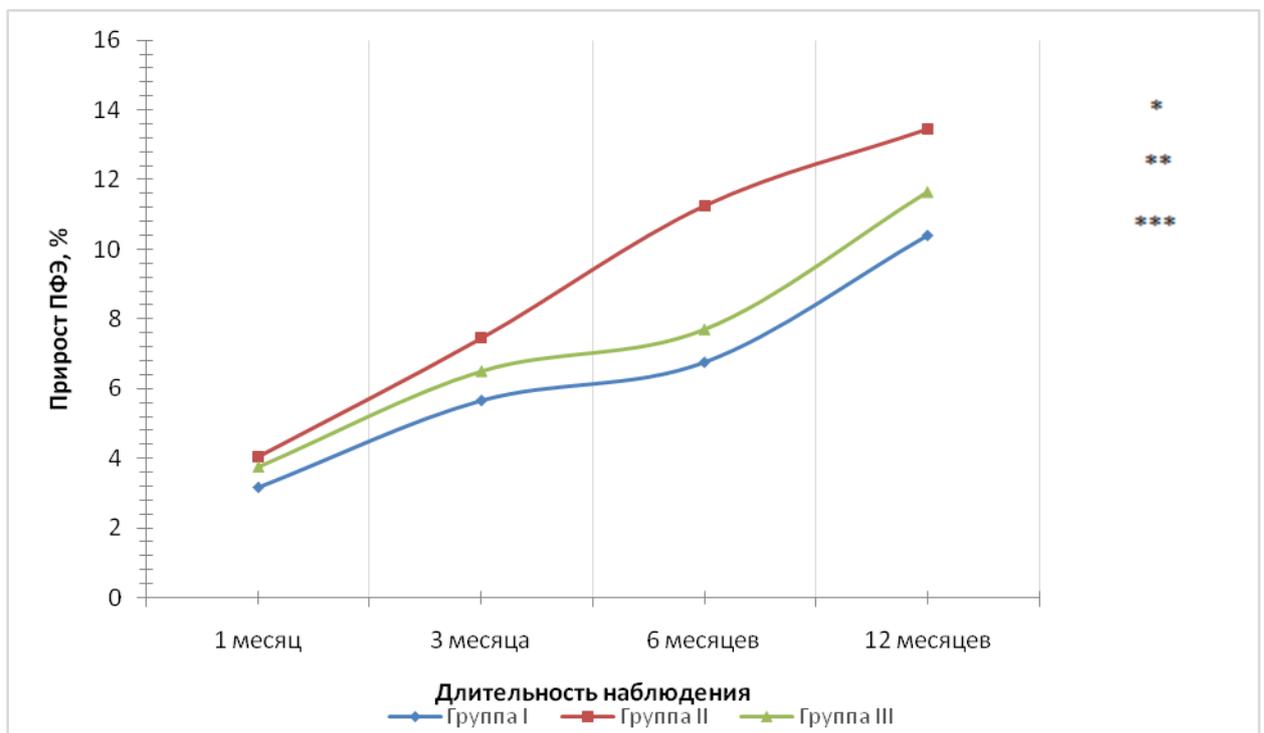


Рис. 7. Прирост показателя функции эндотелия на фоне терапии.

\* $p=0,027$  - достоверная разница ПФЭ группы II по сравнению с показателями в группе I через 12 месяцев терапии ( $p<0,05$ )

\*\* $p=0,049$  - достоверная разница ПФЭ группы III по сравнению с показателями в группе I через 12 месяцев терапии ( $p<0,05$ )

\*\*\* $p=0,033$  - достоверная разница ПФЭ группы II по сравнению с показателями в группе III через 12 месяцев терапии ( $p<0,05$ )

Использование метода компьютерной фотоплетизмографии в оценке функции эндотелия пациентов с хроническими заболеваниями вен нижних конечностей представляется перспективным, однако, дополнение обследования определением уровня биохимических маркеров дисфункции эндотелия позволит широко интерпретировать результаты ФПГ, выявить новые пути прогнозирования и коррекции ЭД.

Для объективизации данных о состоянии функции эндотелия произведено определение концентрации метаболитов NO в крови пациентов на протяжении терапии (табл. 6).

Таблица 6

## Содержание метаболитов NO в крови пациентов

Концентрация метаболитов оксида азота (II), мкмоль/мл (M±m)	При поступлении	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев
Здоровые добровольцы	92,1±5,4				
Группа I	38,3±7,0	47,1±5,1 ( $p=0,089$ )	54,6±5,8 ( $p=0,044$ )	58,9±6,0 ( $p=0,032$ )	68,1±6,6* ( $p=0,020$ )
Группа II	38,6±4,9	59,7±7,0 ( $p=0,039$ )	69,3±4,9 ( $p=0,021$ )	79,2±6,8 ( $p=0,019$ )	81,2±7,2** ( $p=0,006$ )
Группа III	40,0±6,2	55,2±5,3 ( $p=0,042$ )	66,0±3,1 ( $p=0,034$ )	71,1±4,4 ( $p=0,025$ )	74,7±2,8*** ( $p=0,022$ )

$p$ -достоверная разница по сравнению с показателями в той же группе на момент поступления ( $p<0,05$ )

\* $p=0,019$  - разница концентрации метаболитов оксида азота (II) группы II по сравнению с показателями в группе I через 12 месяцев терапии (достоверно при  $p<0,05$ )

\*\* $p=0,071$  - разница концентрации метаболитов оксида азота (II) группы III по сравнению с показателями в группе I через 12 месяцев терапии (достоверно при  $p<0,05$ )

\*\*\* $p=0,038$  - разница концентрации метаболитов оксида азота (II) группы II по сравнению с показателями в группе III через 12 месяцев терапии (достоверно при  $p<0,05$ )

При обследовании пациентов с острым тромбозом глубоких вен выявлены низкие уровни метаболитов оксида азота (II). С восстановлением проходимости глубоких вен нижних конечностей происходит увеличение концентрации NO в крови, что может свидетельствовать о восстановлении функции эндотелия пораженной зоны.

Прирост концентрации метаболитов через 1 месяц лечения МОФФ составил 35,3%, к 3 месяцу в II группе достигает 44,3%, к 6 месяцу 51,3%, через 12 месяцев 52,7%. Следовательно, интенсивное влияние микронизированной очищенной фракции флавоноидов на выработку эндотелием оксида азота наблюдается в течение первых 6 месяцев приема препарата, в дальнейшем его воздействие ослабевает.

В процессе реканализации происходит увеличение уровня оксида азота (II) в группе I на 17,8% через 1 месяц лечения, затем через 3,6, и 12 на 29,8%; 35,0% и 43,7% соответственно.

В группе III при приеме гомоцистеинснижающих препаратов наблюдается увеличение уровня NO в процессе лечения: через 1 месяц на 27,5%; через 3 месяца на 39,4%; через 6 месяцев на 43,8% и на 46,5% через го терапии.

Все больше внимания клиницистов приковано к такому патологическому состоянию, как гипергомоцистеинемия.

Острому тромбозу глубоких вен сопутствует повышение уровня гомоцистеина крови. При поступлении отмечался самый высокий уровень - максимальная концентрация гомоцистеина, выявленная среди проб пациентов 31,6 ммоль/л, что соответствует умеренной форме гипергомоцистеинемии. В крови всех пациентов выявлена гипергомоцистеинемия, преимущественно в легкой форме (табл. 7).

Таблица 7

## Концентрация гомоцистеина в плазме крови

Концентрация Нсу, ммоль/л (M±m)	I группа	II группа	III группа
При поступлении	21,225±9,4	21,43±7,6	22,91±8,7
1 месяц	19,175±4,4 (p=0,23)	18,96±5,1 (p=0,11)	15,12± 3,75 (p=0,068)
3 месяца	17,38±4,25* (p=0,092)	16,73±3,95** (p=0,089)	11,36±3,05*** (p=0,044)
6 месяцев	17,2±3,5 (p=0,088)	16,3±2,8 (p=0,08)	10,3±2,9 (p=0,039)

p-достоверная разница по сравнению с показателями в той же группе на момент поступления (p<0,05)

\*p=0,89 - разница концентрации Нсу группы I по сравнению с показателями в группе II через 3 месяцев терапии (достоверно при p<0,05)

\*\*p=0,028 - разница концентрации Нсу группы II по сравнению с показателями в группе III через 3 месяцев терапии (достоверно при p<0,05)

\*\*\*p=0,019 - разница концентрации Нсу группы III по сравнению с показателями в группе I через 3 месяцев терапии (достоверно при p<0,05)

На фоне терапии в течение 3 месяцев уровень гомоцистеина в I группе пациентов снижается на 8,2%, а в группе II на 7,8%. В то время как на фоне приема витаминов в группе III удалось добиться снижения Hcy на 49,6%, что доказывает эффективность такого данного вида лечения гипергомоцистеинемии.

После прекращения приема комплекса витаминов B<sub>6,9,12</sub>, в срок 6 месяцев не выявлено значительной динамики концентрации гомоцистеина крови. Средние значения во всех трех группах, при этом, не принимают нормальных значений, что говорит о целесообразности дальнейшей терапии гипергомоцистеинемии.

В нашем исследовании мы отметили при наличии у пациента легкой формы ГГЦ прием витаминов приводит к плавному снижению концентрации гомоцистеина в течение 3 месяцев. Если уровень изначально выше 30 ммоль/л, в первый месяц динамика будет наиболее выраженной, в дальнейшем темпы падения снижаются (рис. 8)

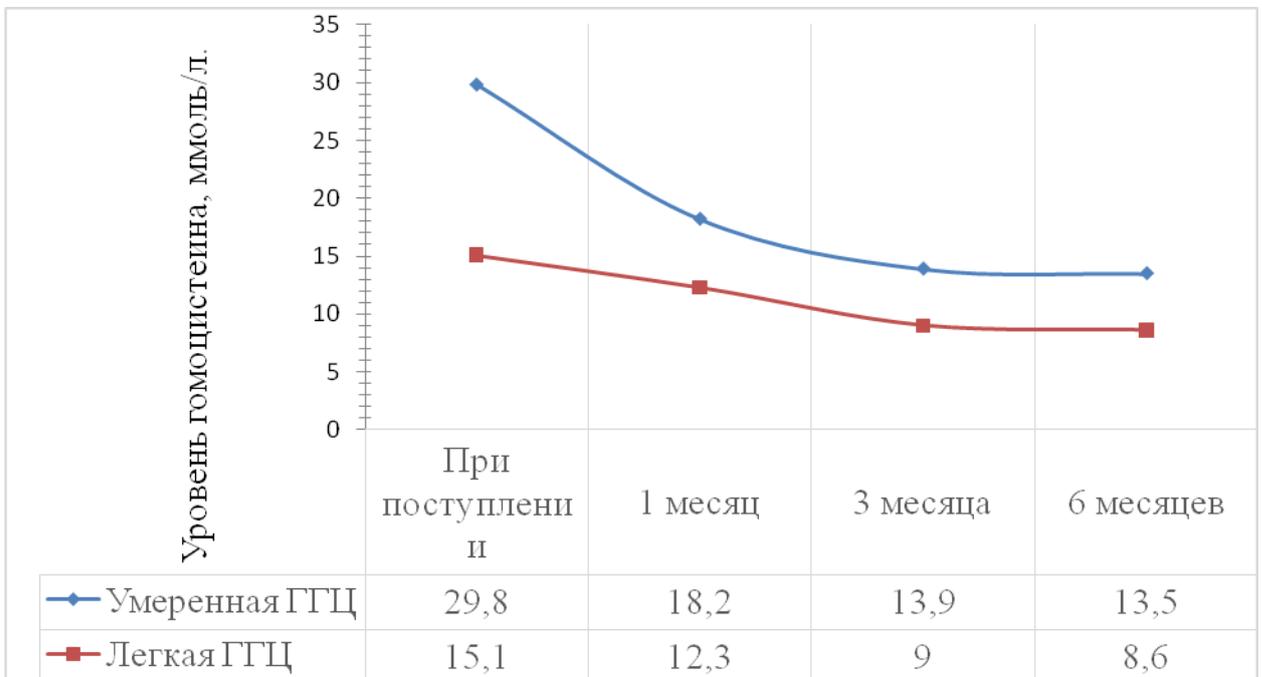


Рис. 8. Динамика снижения уровня гомоцистеина при исходной умеренной или легкой форме гипергомоцистеинемии (указаны средние значения пациентов группы II).

В III группе прием комплекса витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> позволяет добиться значимого снижения уровня гомоцистеина. Однако, только у 13 пациентов из третьей группы (40,6%) после непрерывного ежедневного приема витаминизированного препарата в течение 3 месяцев удалось добиться снижения концентрации гомоцистеина крови ниже 10 ммоль/л, что можно считать верхней границей нормы. Следует отметить, что уровень гомоцистеина у данных пациентов при диагностировании ТГВ был невысоким –  $15,1 \pm 2,05$  ммоль/л.

Подводя итог, учитывая, что у всех обследованных пациентов выявлена гипергомоцистеинемия легкой или умеренной степени, и снижение показателей на фоне приема витаминов В<sub>6,9,12</sub>, можно считать эффективным способом терапии патологического состояния, которым является ГГЦ.

#### Клинический пример № 1.

Пациент С., 1949 г.р. (история болезни № 6640) поступил на лечение в отделение сосудистой хирургии РОККД 12.09.2013 с диагнозом: тромбофлебит глубоких вен левой нижней конечности. Длительность заболевания 3 суток.

Симптомы Хоманса, Мозеса положительные. Отек голени слева +3 см, бедра +0,5 см.

Диагноз подтвержден при УЗДС вен нижних конечностей (при поступлении): подвздошный сегмент вен, ОБВ, ГБВ слева проходимы, компрессия их полная, бедренная вена в верхней трети окклюзивно тромбирована, ПкВ тромбирована, берцовый сегмент труднодоступен визуализации ввиду выраженного отека тканей. Признаков флотации не обнаружено. Поверхностные вены проходимы.

Назначена консервативная терапия: антикоагулянты (клексан 0,8 \* 2 раза в день п/к 7 суток, затем ривароксабан 15 мг 2 раза в день внутрь до 21 дня, после по 20 мг 1 раз в день внутрь), НПВС (нимесулид 100 мг 2 раза в

день внутрь 7 суток), эластическая компрессия, МОФФ (по 500 мг 2 раза в день через 21 день от момента поступления в стационар).

Исследован ПФЭ, уровень NO и гомоцистеина крови (табл. 8).

Таблица 8

## Показатели пациента С. на фоне терапии

Срок наблюдения	При поступлении	1 месяц	3 месяца	6 месяца	12 месяцев
ПФЭ, %	-0,9	2,8	5,5	9,1	11,4
NO, мкмоль/мл	39,2	62,7	70,3	78,7	81,5
Нсу, ммоль/л	21,8	19,1	17,2	17,0	-

Выявлена умеренная ГГЦ при поступлении пациента С. в стационар и сохранившаяся легкая степень через 3 месяца лечения и на 6 месяц наблюдения. Можно отметить, что препарат микронизированной очищенной фракции флавоноидов, обладая эндотелиотропным действием, увеличивает выработку NO, однако, гомоцистеинснижающего действия не имеет. Для нивелирования неблагоприятного воздействия ГГЦ на эндотелий сосудистого русла необходимо назначать специфичную этому состоянию терапию с целью улучшения результатов лечения посттромботического синдрома.

Через 3 месяца лечения при УЗДС: подвздошный сегмент вен, ОБВ, ГБВ слева проходимы, бедренная вена неравномерно, преимущественно слабо реканализована, ПкВ с участками реканализации, берцовые вены реканализованы неудовлетворительно.

Через 6 месяцев при УЗДС: умеренно выраженная реканализация БВ, ПкВ, берцовых вен. Динамика УЗ-картины положительная.

По завершении года терапии при УЗДС: удовлетворительная реканализация БВ, ПкВ, ЗББВ и ПББВ, остальные сегменты глубоких и поверхностных вен проходимы полностью.

Фотоплетизмограмма пациента С. в срок 12 месяцев отражала нормализацию ПФЭ в соответствии с возрастными метками, указанными на графике (рис. 9).

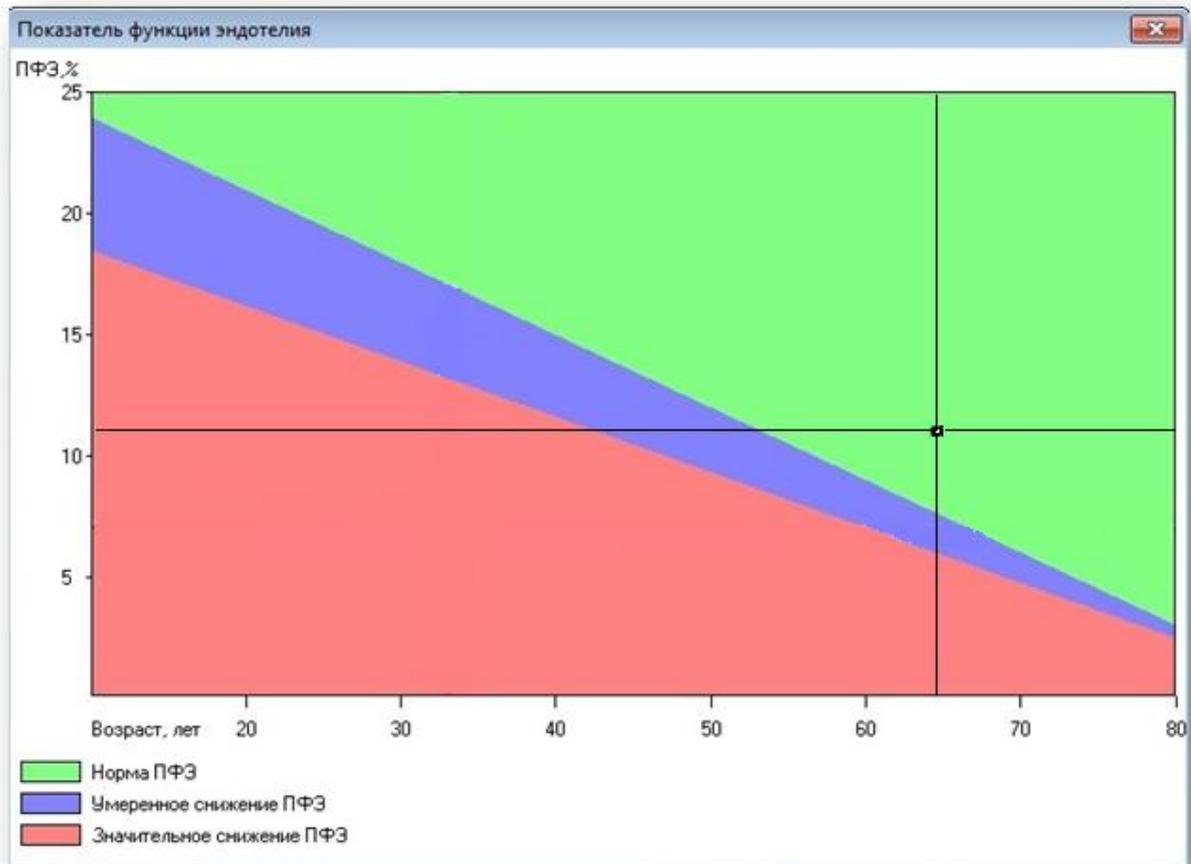


Рис. 9. Фотоплетизмограмма пациента С. после 12 месяцев лечения в комбинации с МОФФ.

Симптомы хронической венозной недостаточности были не выражены (класс  $C_{0-1}$ ).

Таким образом, применение венотонизирующего препарата МОФФ привело к нормализации показателя функции эндотелия, увеличению уровня NO и формированию посттромботического синдрома без признаков тяжелой ХВН. Данные фотоплетизмограммы во многом отражают клиническую картину посттромботического синдрома.

Клинический пример № 2.

Пациент Р., 1948 г.р. (история болезни № 2567) поступил через 7 суток от начала заболевания на лечение в отделение сосудистой хирургии РОККД 18.04.2014 с диагнозом: тромбоз глубоких вен левой нижней конечности.

Симптомы Хоманса, Мозеса положительные. Отек голени слева +3,5 см, бедра +2 см.

Диагноз подтвержден при УЗДС вен нижних конечностей (при поступлении): в ОБВ визуализируется полиэхогенная головка тромба, занимающая практически весь просвет, с сохранением пристеночного кровотока из ГБВ и СФС с проксимальной границей около 2 см выше СФС. Головка тромба флотирует при нагрузочных пробах, длина флотирующей части тромба до 3см. Диаметр ОБВ 11 мм, диаметр головки тромба до 10 мм.

Назначена консервативная терапия: антикоагулянты (клексан 0,8 \* 2 раза в день п/к 8 суток, затем ривароксабан 15 мг 2 раза в день внутрь до 21 дня, после по 20 мг 1 раз в день внутрь), НПВС (нимесулид 100 мг 2 раза в день внутрь 7 суток), эластическая компрессия.

Исследован ПФЭ, уровень NO и гомоцистеина крови (табл. 9).

Таблица 9

Показатели пациента Р. на фоне терапии

Срок наблюдения	При поступлении	1 месяц	3 месяца	6 месяца	12 месяцев
ПФЭ, %	-1,2	1,9	4,1	5,6	9,3
Оксид азота II, мкмоль/мл	37,2	44,6	52,5	59,3	66,9
Нсу, ммоль/л	19,74	18,32	15,41	15,07	-

При контрольном исследовании через 1 месяц обнаружено: ОБВ, БВ, ПкВ и берцовые вены тромбированы с признаками начальной реканализации. СФС, устье ГБВ, ГБВ проходимы полностью.

Через 3 месяца при УЗДС: ОБВ, БВ, ПкВ и берцовые вены реканализованы неудовлетворительно, в остальном картина прежняя.

После 6 месяцев лечения: БВ реканализована неудовлетворительно, ближе к удовлетворительной реканализация ПкВ и берцовых вен.

По завершении года терапии при УЗДС: ОБВ реканализована сегментарно, БВ реканализация преимущественно неудовлетворительная, двухпросветная, ПкВ и берцовые вены реканализованы (рис. 10, 11).

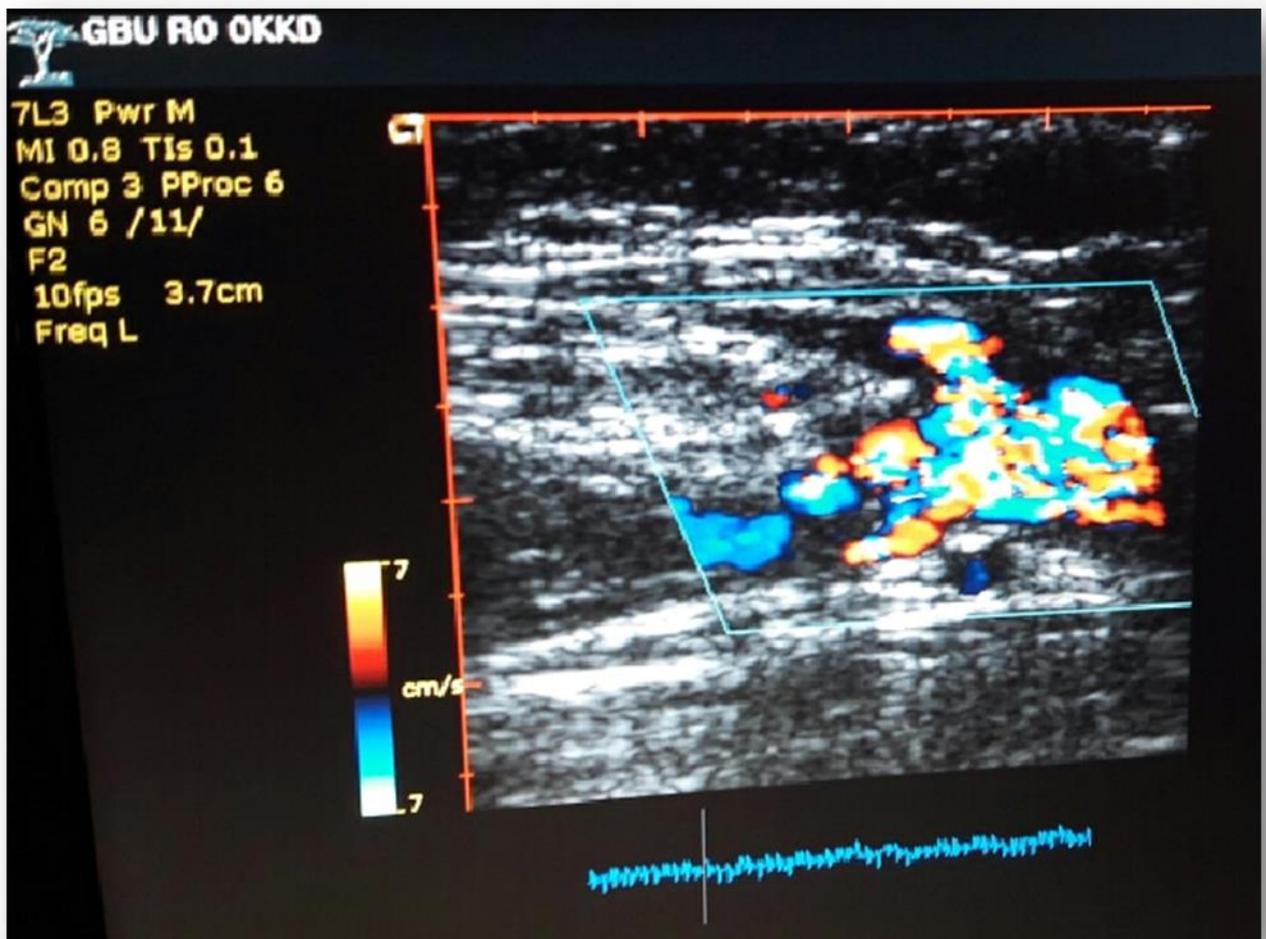


Рис. 10. Бифуркация ОБВ при ЦДК через год терапии пациента Р.

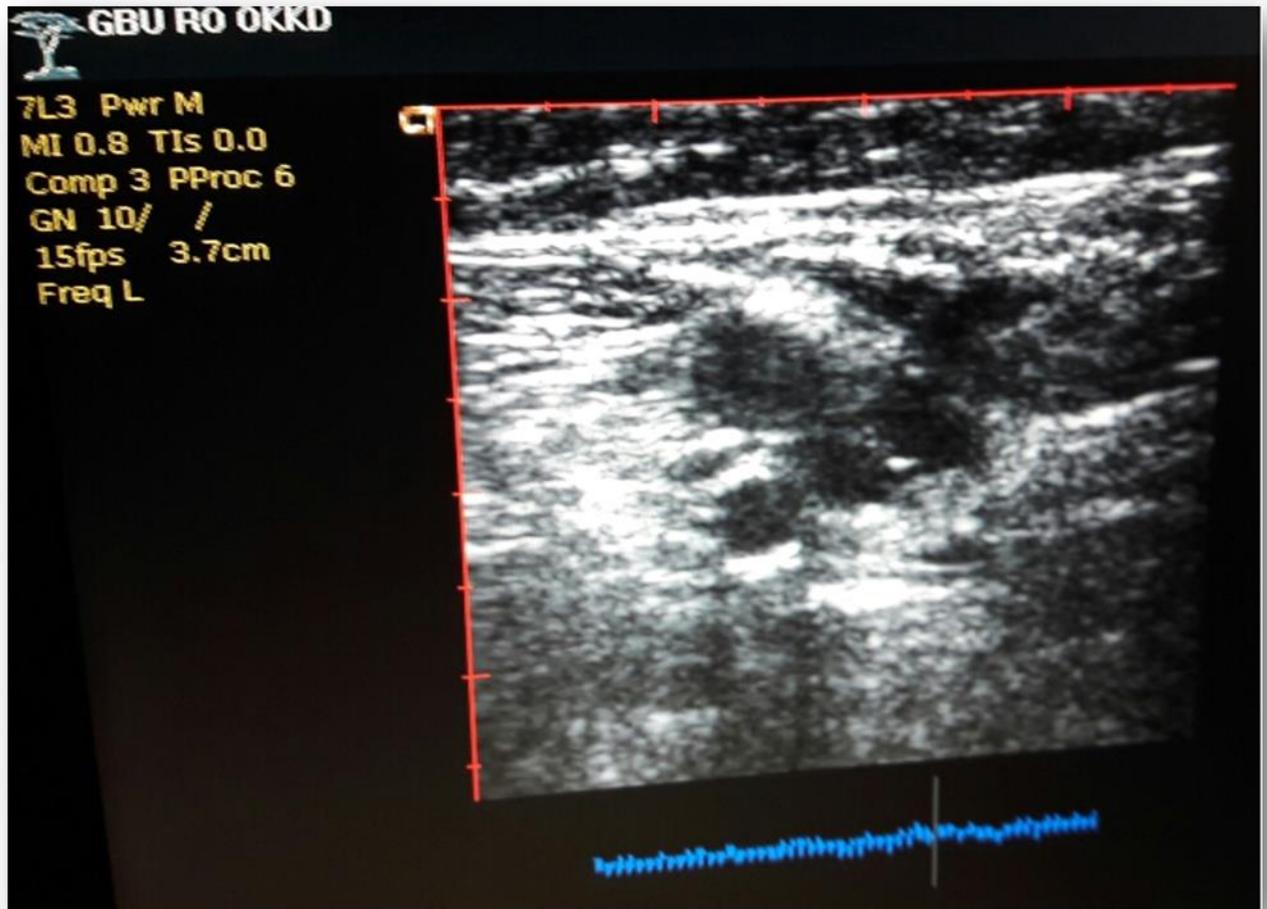


Рис. 11. УЗДС картина неполной реканализации ОБВ через год терапии пациента Р.

Клинически через 12 месяцев лечения у пациента сохраняется стойкий отек в области голени слева (по классификации CEAP - C<sub>3</sub>).

Учитывая биохимические показатели, ПФЭ, целесообразно назначение эндотелиотропной терапии пациенту, у которого диагностирован ТГВ с целью профилактики тяжелых форм посттромботического синдрома.

### Клинический пример № 3.

Пациент Ш., 1956 г.р. (история болезни № 1889) поступил на лечение в отделение сосудистой хирургии РОККД 14.02.2014 с диагнозом: Илиофеморальный венозный тромбоз правой нижней конечности.

Длительность заболевания 5 суток. Симптомы Хоманса, Мозеса положительные. Отек голени справа +5 см, бедра +2 см.

Диагноз подтвержден при УЗДС вен нижних конечностей: окклюзивный тромбоз ОБВ, ГВВ, БВ, СФС, ствола БПВ на бедре. Тромботические массы распространяются в подвздошный сегмент и выступают в дистальную часть НарПВ с сохранением пристеночного кровотока и слабой флотацией дистального сегмента головки.

Назначена консервативная терапия: антикоагулянты (клексан 0,8 \* 2 раза в день п/к 7 суток, затем ривароксабан 15 мг 2 раза в день внутрь до 21 дня, после по 20 мг 1 раз в день внутрь), НПВС (нимесулид 100 мг 2 раза в день внутрь 7 суток), эластическая компрессия, витамины В<sub>6,12</sub>, фолиевая кислота.

Исследован ПФЭ, уровень NO и гомоцистеина крови (табл. 10).

Таблица 10

Показатели пациента Ш. на фоне терапии

Срок наблюдения	При поступлении	1 месяц	3 месяца	6 месяца	12 месяцев
ПФЭ, %	-1,5	2,2	5,7	7,3	10,4
Оксид азота II, мкмоль/мл	38,6	53,3	65,1	70,4	72,7
Нсу, ммоль/л	24,76	14,11	10,84	-	-

Через 3 месяца лечения витаминным препаратом уровень Нсу достиг верхней границы нормы – до 10 ммоль/л. Клинически через 12 месяцев выявлено незначительное варикозное расширение подкожных вен (класс С<sub>2</sub>).

По завершении года терапии при УЗДС: удовлетворительная реканализация БВ. Остальные сегменты глубоких и поверхностных вен проходимы полностью (рис. 12, 13).

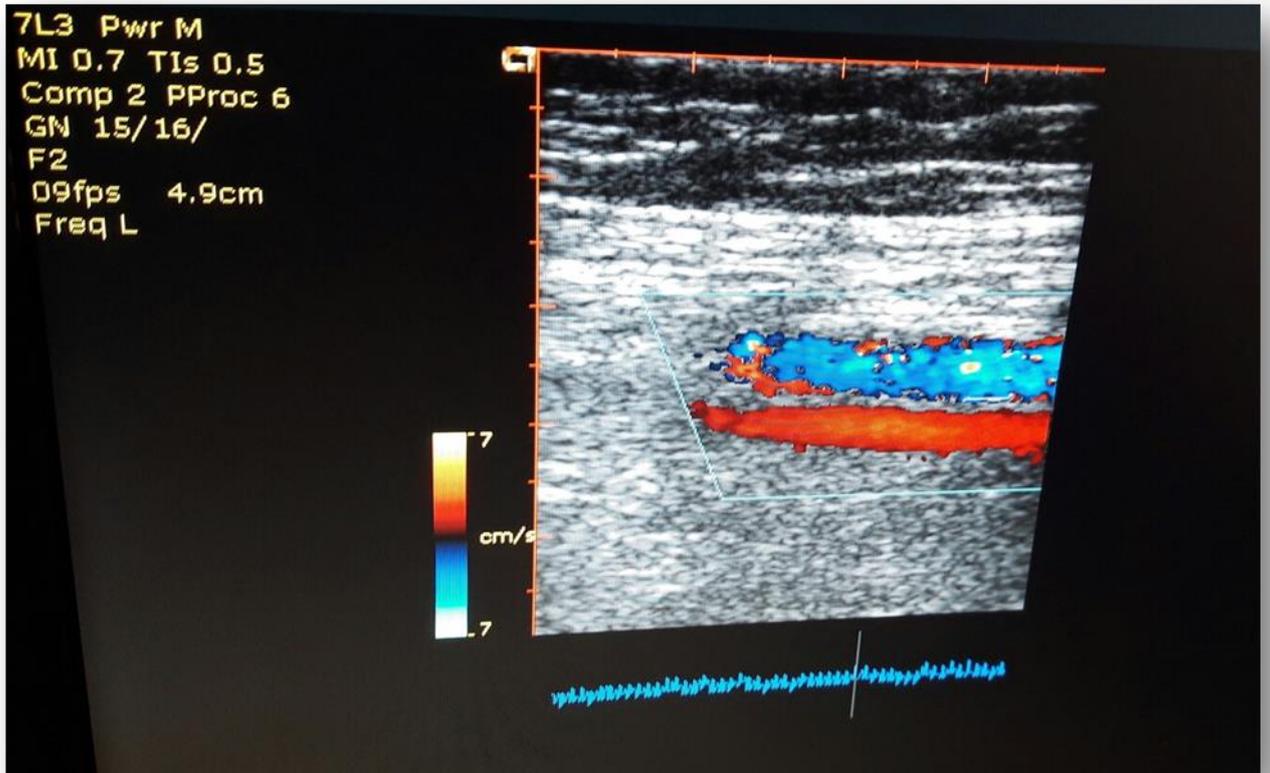


Рис. 12. Реканализованная БВ при ЦДК (пациент Ш.).

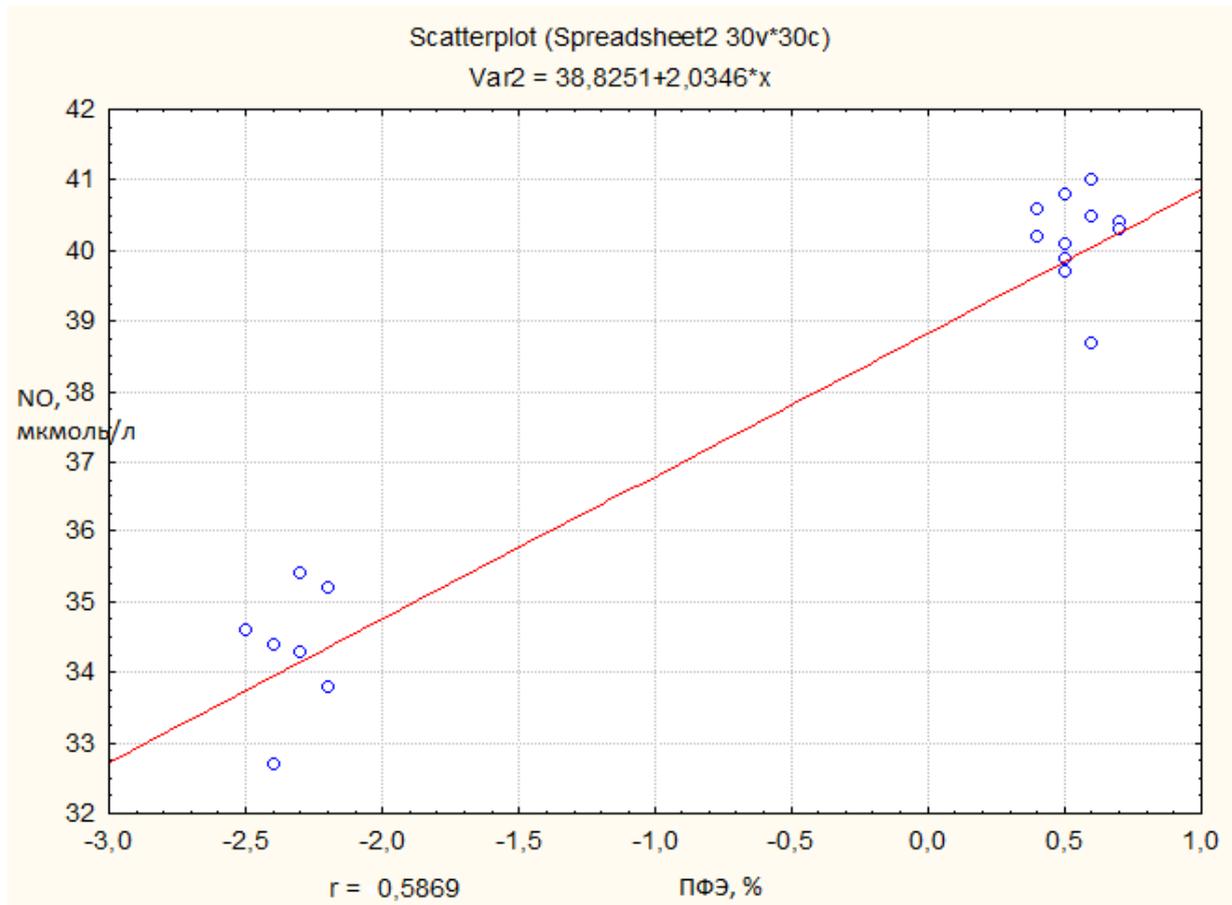


Рис. 13. УЗДС картина реканализации БВ (пациент Ш.).

Проведённая с момента острого периода витаминная терапия позволила восстановить уровень гомоцистеина в крови, добиться хороших результатов лечения.

### 3.2. Корреляция между показателями функции эндотелия, уровнем поражения и тяжестью ХВН

Прежде всего, для оценки информативности фотоплетизмографии в диагностике эндотелиальной дисфункции, в нашей работе выполнена корреляция результатов измерения ПФЭ на момент поступления пациента в стационар и уровня общепринятого биохимического маркера ЭД – метаболитов оксида азота II (рис. 14).



$r$  – Индекс корреляции.

Рис. 14. Корреляция между уровнем метаболитов NO (мкмоль/л) и ПФЭ (%) на момент поступления в стационар.

Обнаружена высокая степень корреляции между показателем функции эндотелия и уровнем NO, прямая зависимость между данными фотопетизмографии и биохимического маркера. Следовательно, учитывая неинвазивность, экономичность и простоту выполнения процедуры, ФПГ может быть использована для первичной диагностики эндотелиальной дисфункции и динамического наблюдения за пациентами с посттромботическим синдромом.

Выявлена зависимость значений ПФЭ от уровня пораженного сегмента на момент поступления в стационар, тенденция сохраняется на протяжении всего периода наблюдения (рис. 15).

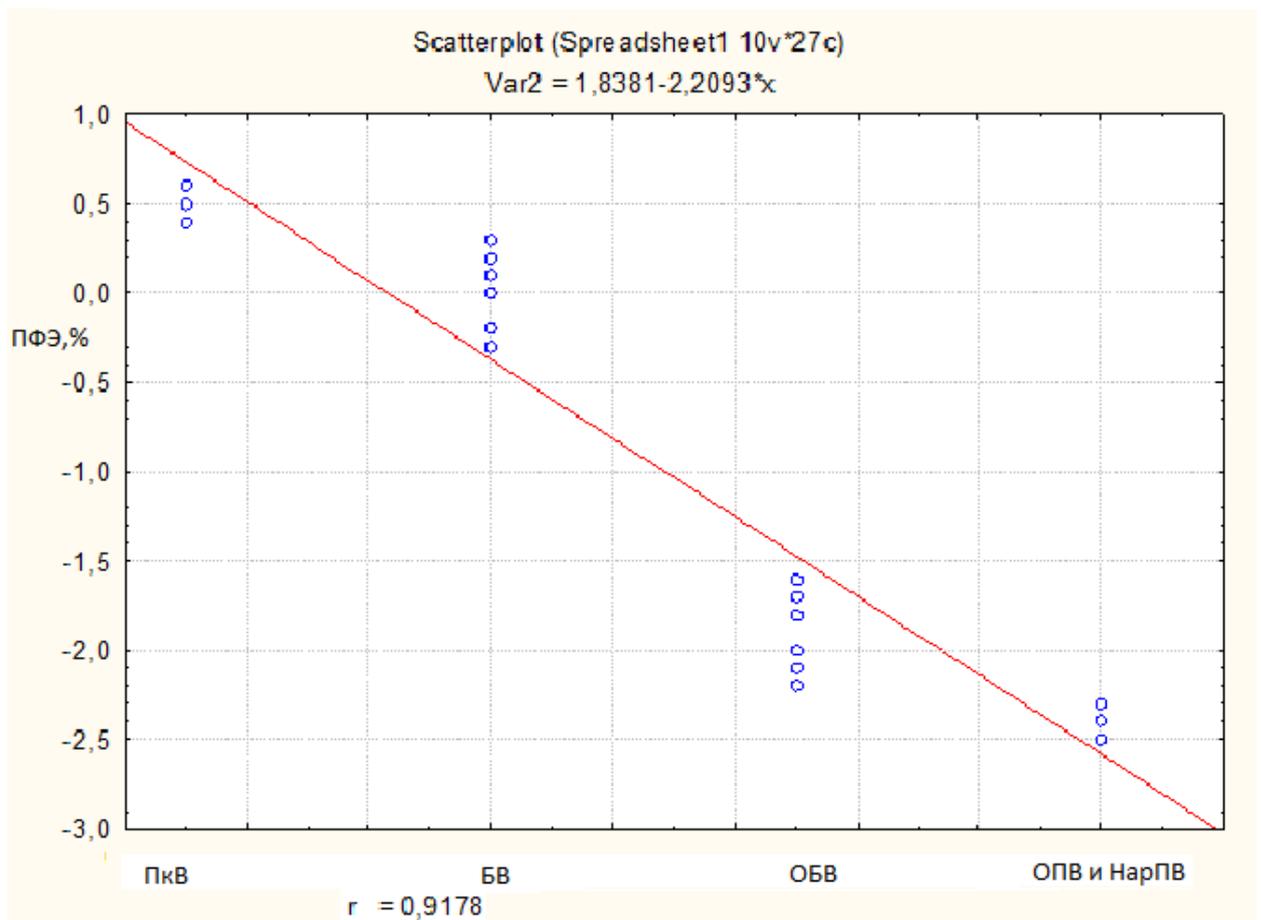


Рис. 15. Зависимость уровня поражения сегментов глубоких вен на момент поступления и значений ПФЭ.

Чем более протяженный сегмент глубоких вен подвергся повреждению, тем ниже средний показатель функции эндотелия.

При поражении подвздошно – бедренного сегмента восстановление ФЭ происходит медленнее, чем при поражении более дистальных отделов системы нижней полой вены. Динамика ПФЭ в зависимости от локализации проксимальной границы тромба при диагностировании у пациента ТГВ представлена ниже (табл. 11 и 12).

Таблица 11

Прирост показателя функции эндотелия при поражении подвздошно-бедренного сегмента глубоких вен нижних конечностей на фоне терапии

Прирост показателя функции эндотелия, (%) (M±m)		Период терапии			
		1 месяц	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев
Поражение подвздошно-бедренного сегмента	Группа I	2,9±0,7	4,9±0,9	6,4±1,0	10,0±0,5
	Группа II	3,9±0,8	6,6±1,0	8,8±0,8	12,9±0,7
	Группа III	3,6±0,5	5,7±0,6	6,7±0,7	10,8±0,6

Таблица 12

Прирост показателя функции эндотелия при поражении бедренно - подколенного сегмента глубоких вен нижних конечностей на фоне терапии

Прирост показателя функции эндотелия, (%) (M±m)		Период наблюдения			
		1 месяц	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев
Поражение бедренно-подколенного сегмента	Группа I	3,4±0,9	6,4±1,0	7,1±0,3	10,8±0,4
	Группа II	4,2±0,6	8,1±0,7	13,7±0,3	14,0±0,6
	Группа III	3,9±0,8	7,3±0,3	8,7±0,5	12,5±0,4

Отмечено, что при окклюзии глубокой вены бедра реканализация пораженного сегмента наступает медленнее, пациенты склонны к проявлениям отека нижней конечности, варикозного расширения подкожных вен, трофических изменений кожных покровов ввиду декомпенсации оттока крови по системе глубоких вен. Фотоплетизмограмма так же отражает эти клинические данные.

Нами проанализирована зависимость уровня биохимического маркера функции эндотелия NO от уровня локализации проксимальной границы поражения венозной системы (рис. 16).

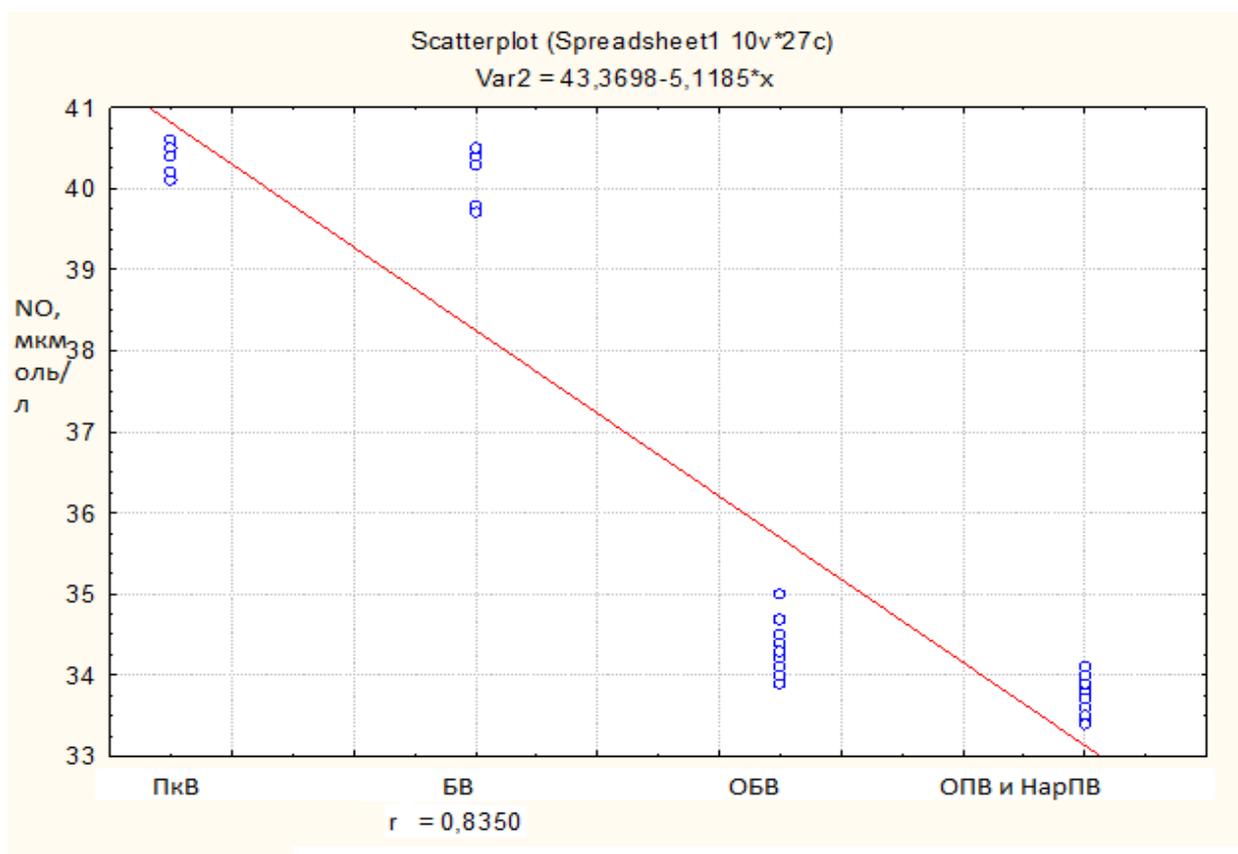


Рис. 16. Зависимость уровня поражения сегментов глубоких вен на момент поступления и концентрации метаболитов оксида азота (II).

Уровень NO напрямую отражает протяженность пораженного сегмента вен, пораженного эндотелия сосудов в различные сроки от начала терапии. Чем меньше уровень NO, тем больше объем поражения. Подтверждается

ведущая роль среди биохимических маркеров определения метаболитов оксида азота (II) в диагностике дисфункции эндотелия (рис. 17).

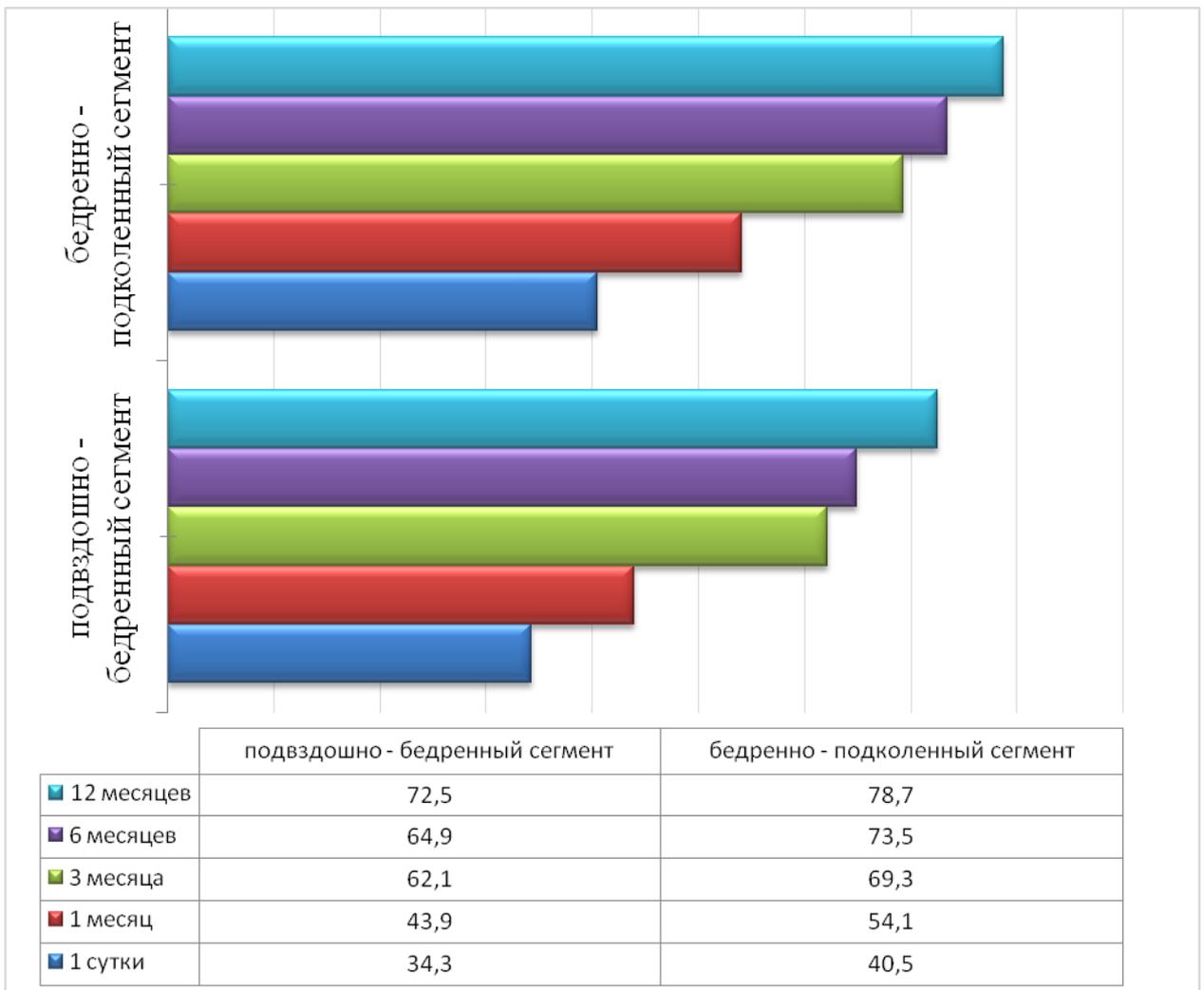


Рис. 17. Зависимость уровня NO от локализации пораженного сегмента вен на протяжении наблюдения.

Произведена оценка зависимости уровня Hсу от локализации проксимальной границы тромба в венозной системе, однако значимой зависимости уровня Hсу от уровня поражения системы глубоких вен нами не обнаружено (рис 18).

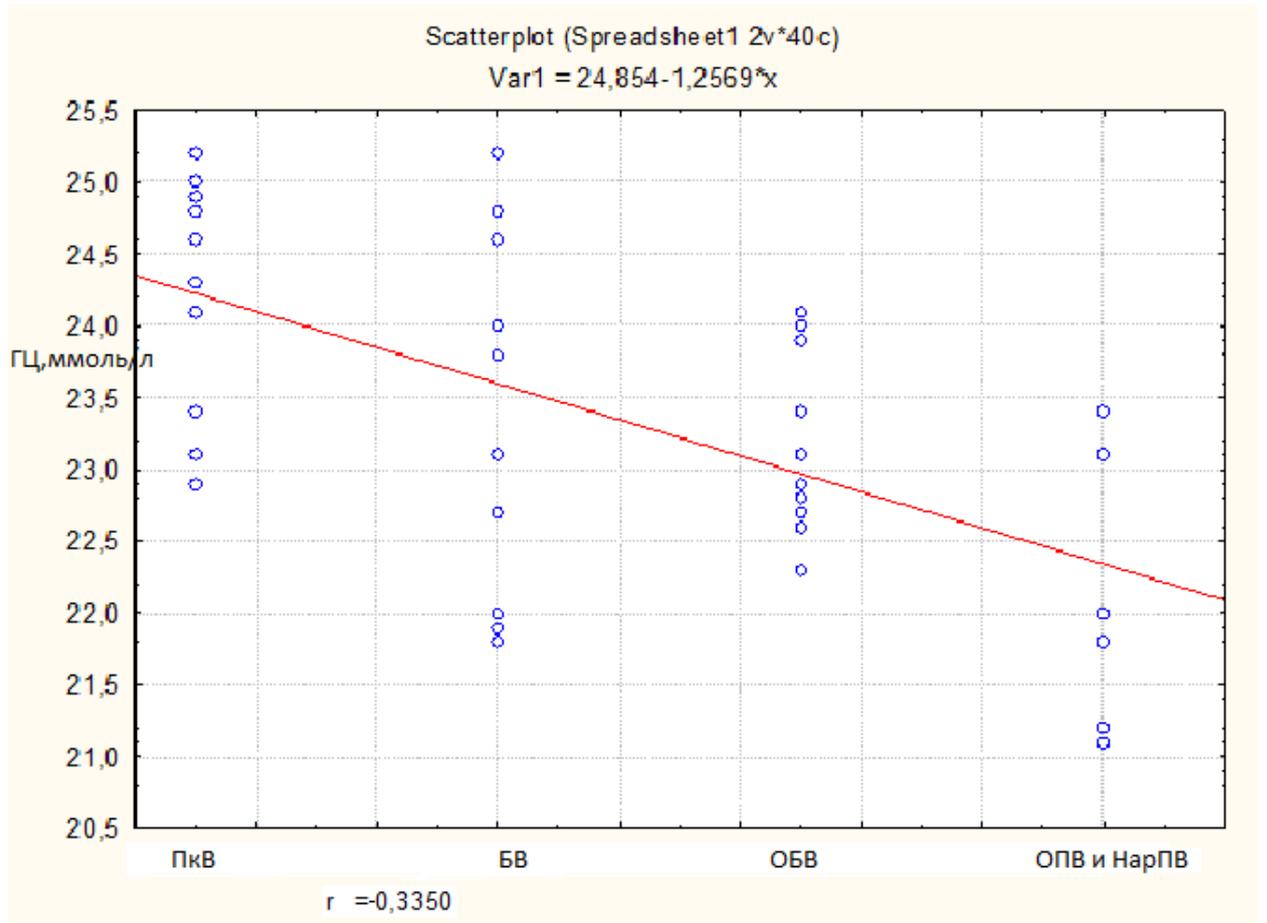


Рис. 18. Корреляция концентрации уровня гомоцистеина в крови (ммоль/л) и уровня поражения венозной системы.

Низкий уровень обратной корреляционной связи указывает на то, что концентрация гомоцистеина не может с полной достоверностью зависеть от локализации и протяженности поражения венозной системы.

Одним из методов объективизации результатов лечения выбрано ультразвуковое сканирование.

При УЗДС венозной системы через 12 месяцев после начала терапии выявлено, что наибольшее количество исследуемых, у которых достигнута полная реканализация пораженных сегментов, было во второй группе пациентов, принимавших МОФФ (рис. 19).

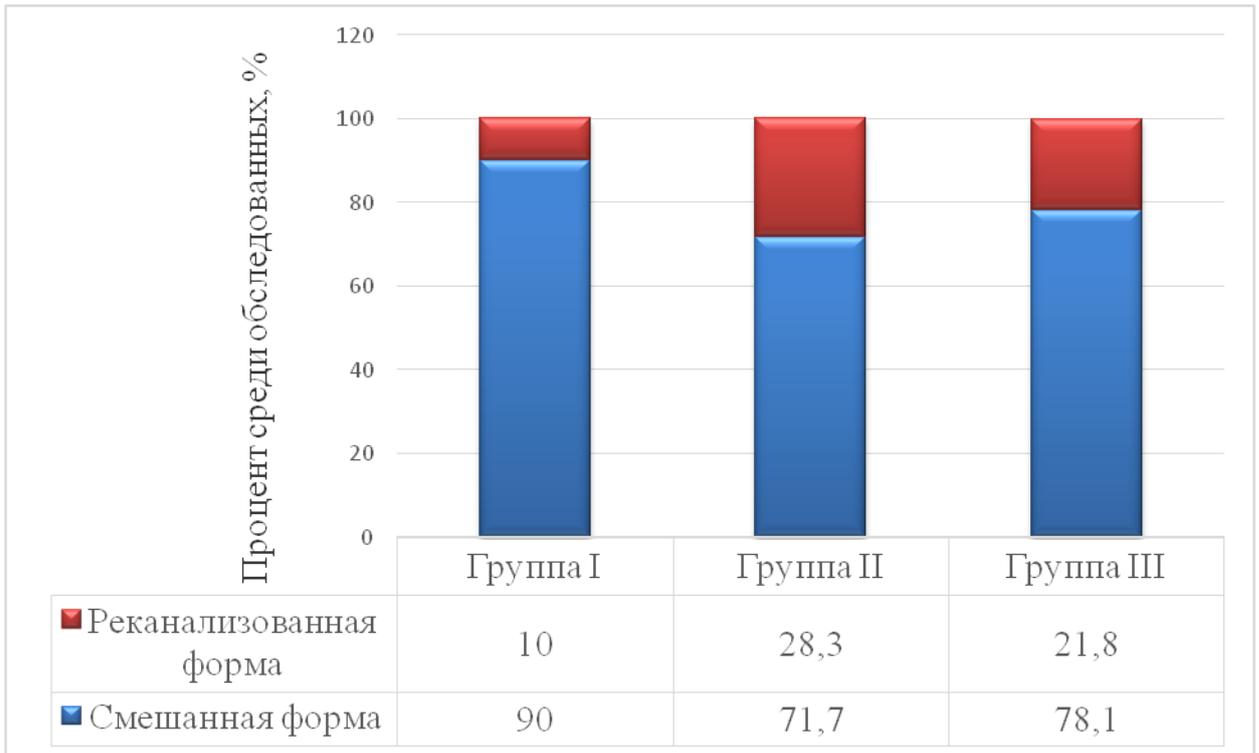


Рис. 19. Результаты терапии по данным УЗДС через 12 месяцев в группах пациентов.

Клинически после проведенного лечения все пациенты классифицированы с использованием международной классификации CEAP.

Анализируя каждую группу отдельно через год терапии, обнаружено, что от уровня поражения зависит тяжесть хронической венозной недостаточности.

Суммарно, в I группе пациентов в 50,9% случаев развились выраженные признаки хронической венозной недостаточности (CEAP класса C<sub>3-4</sub>) (рис.20).

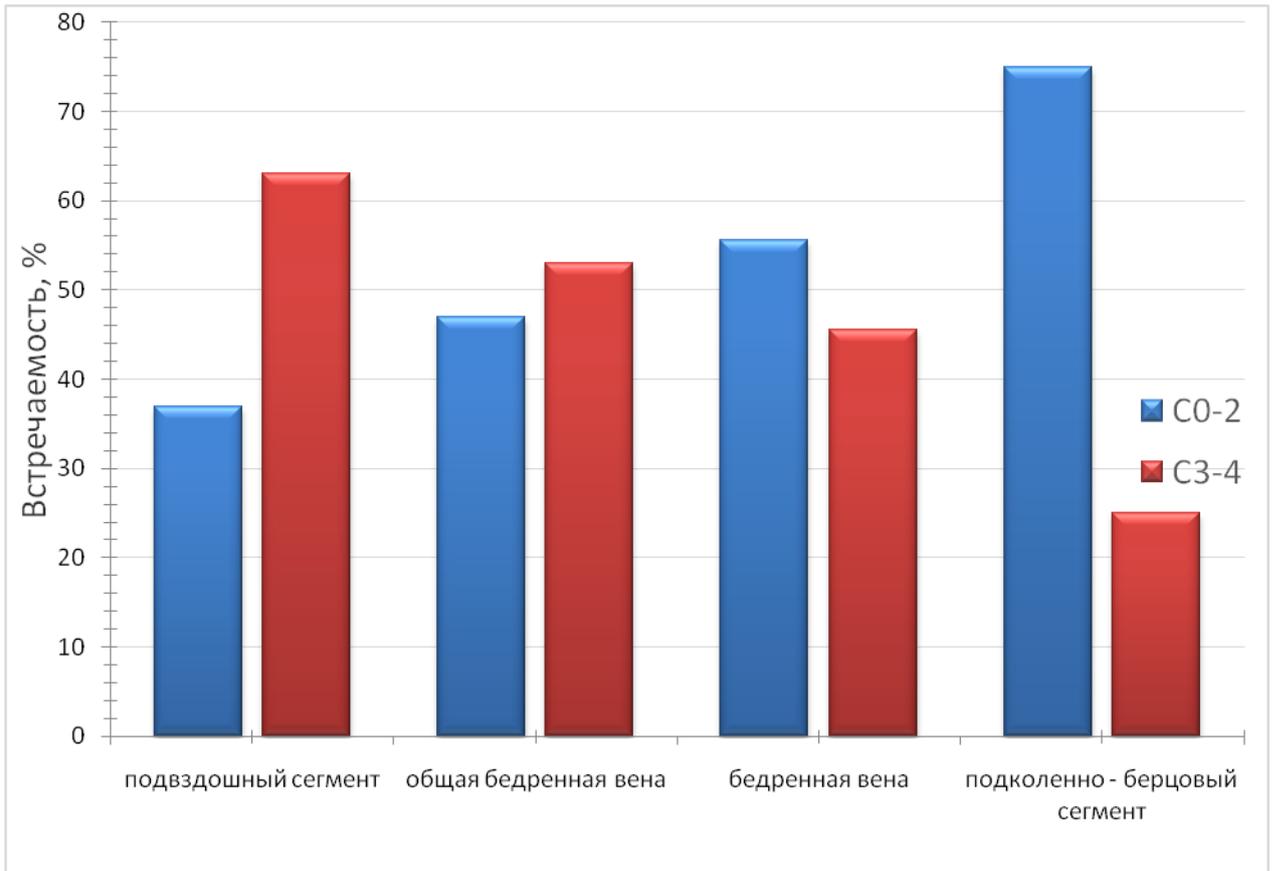


Рис. 20. Распределение пациентов по классам CEAP в I группе.

Чем выше уровень поражения, тем больше процент пациентов, у которых наблюдается класс C<sub>3-4</sub>. Так при поражении подвздошного сегмента это выявляется на 38,1% чаще, чем при поражении подколенно – берцового сегмента.

Введение в курс лечения МОФФ в группе II привело к снижению частоты развития тяжелых форм хронической венозной недостаточности. Так класс C<sub>3-4</sub> выявлен в 40,58%. В группе III у 46,55% пациентов через 12 месяцев лечения с применением витаминов В<sub>6,9,12</sub> сохранялся стойкий отек, появились трофические изменения кожных покровов голени (класс C<sub>3-4</sub>) (рис. 21, 22).

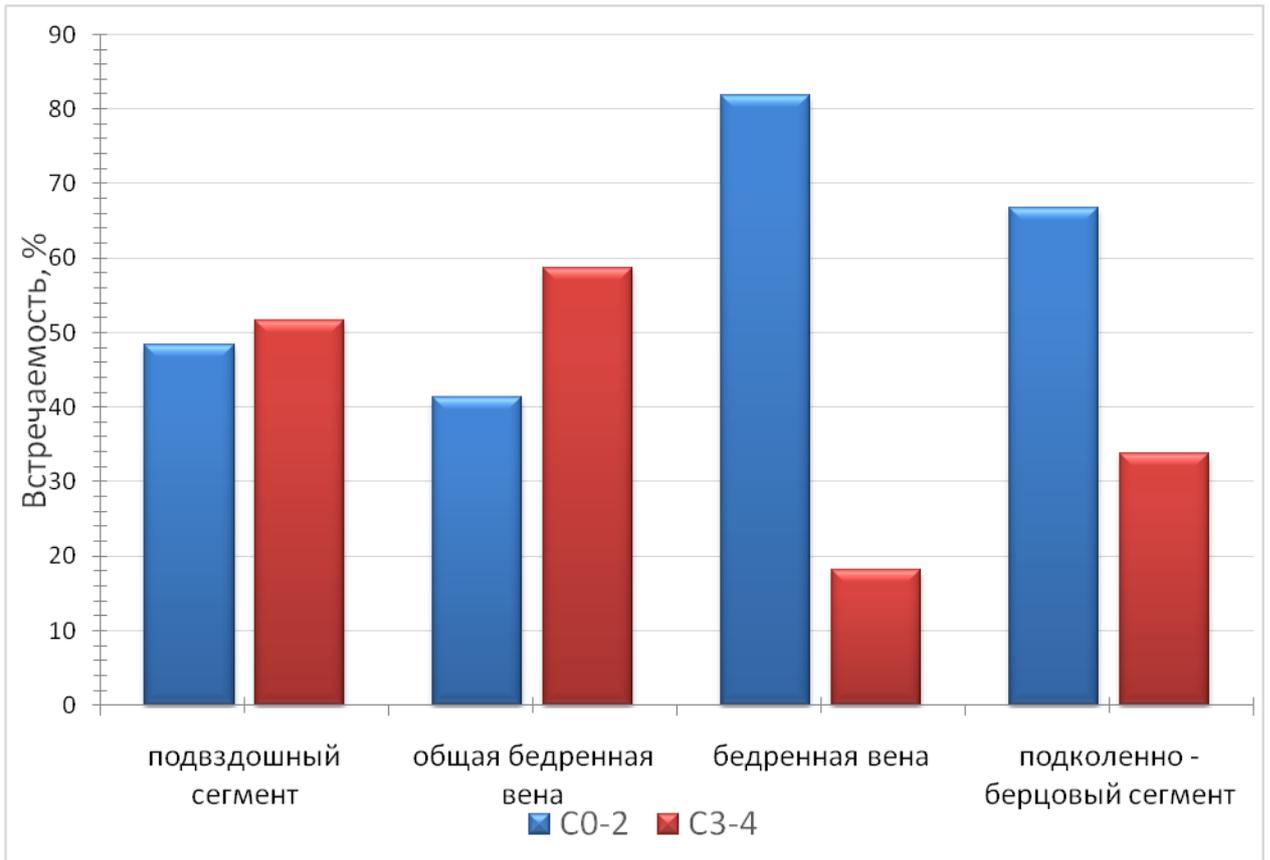


Рис. 21. Распределение пациентов по классам CEAP во II группе.

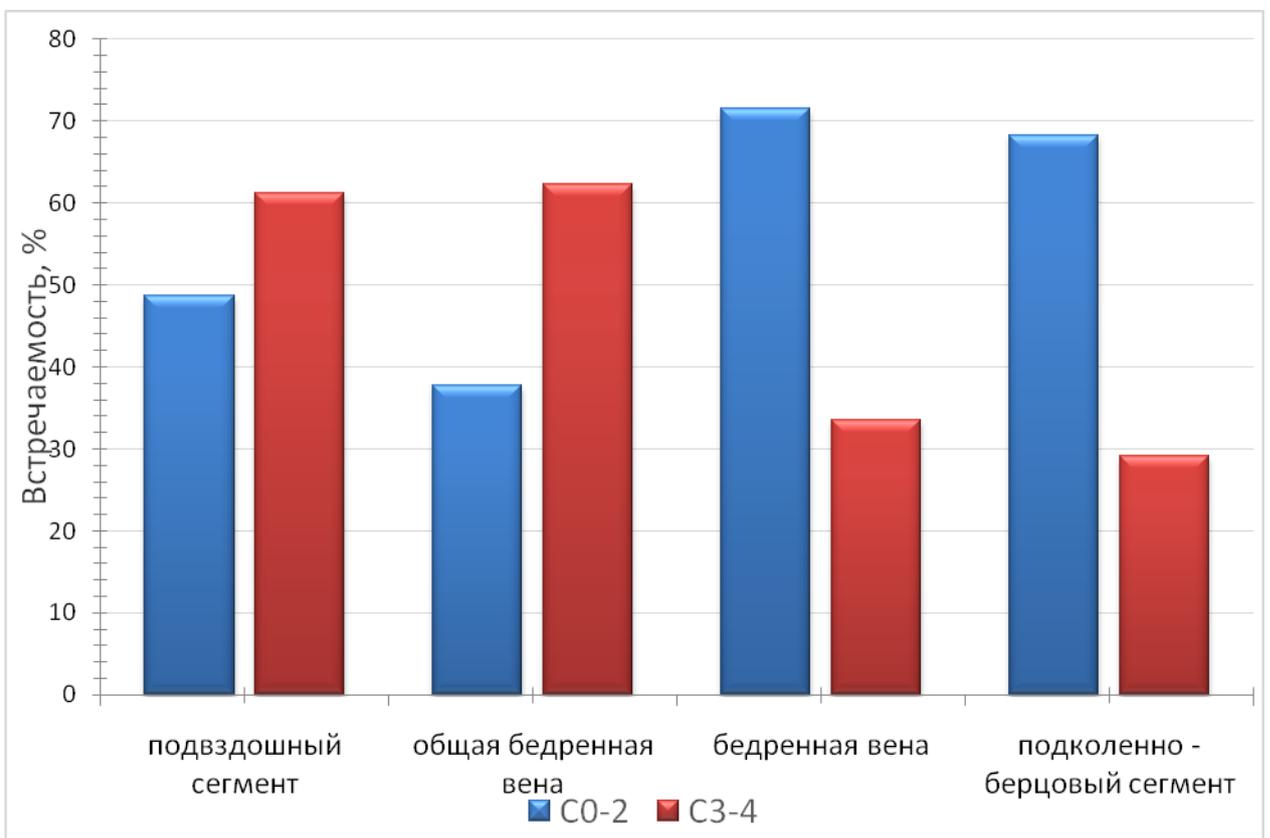


Рис. 22. Распределение пациентов по классификации CEAP в группе III.

Показатели группы III средние по сравнению с группами I и II. Таким образом, гомоцистеинснижающая терапия приводит к улучшению течения посттромботического синдрома нижних конечностей, уменьшая вероятность развития тяжелых форм ХВН среди общего числа пациентов на 4,35% по сравнению с пациентами группы I.

С позиции эндотелиальной дисфункции, учитывая данные биохимических маркеров и ПФЭ, гомоцистеин оказывает негативное воздействие на эндотелий сосудов. Гомоцистеинснижающая терапия улучшает функцию эндотелия, однако, это происходит менее активно, чем при приеме венотонизирующих препаратов, содержащих МОФФ.

### 3.3. Значение генетического статуса в течении ПТС

Нами выявлено преобладание мужчин среди носителей мутантных генов в гетеро- или гомозиготном виде лишь в отношении Лейденской мутации фактора свертывания V. В отношении двух других генов значительных различий встречаемости у лиц разного пола не обнаружено (рис. 23).

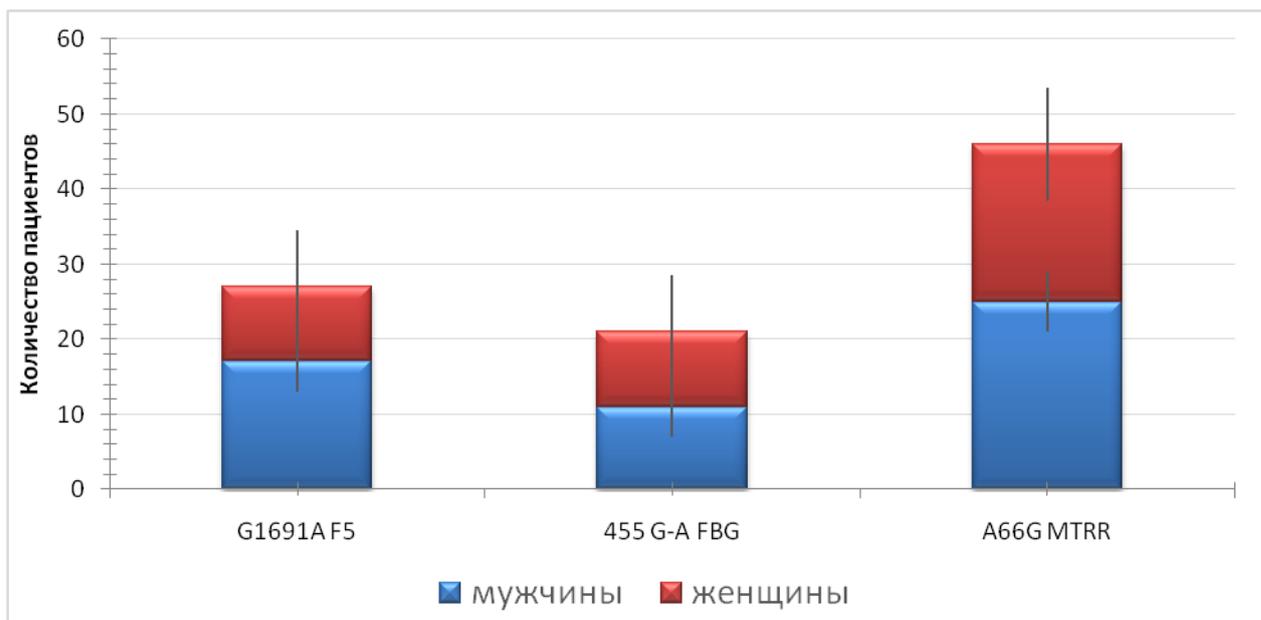


Рис. 23. Гендерное распределение выявленных мутаций.

При исследовании генетического статуса установлено, что Лейденская мутация F5, являющаяся существенным фактором риска развития ТГВ, суммарно обнаружена у 27 (45%) пациентов, так же в 21 (35%) случае выявлена мутация гена фибриногена. Однако, наиболее часто встречающейся стала мутация фермента фолатного цикла – метионин-синтазы-редуктазы. Большинство обследованных (76,7%) имело мутантный ген в гетеро- или гомозиготном состоянии (табл. 13).

Таблица 13

## Частота встречаемости полиморфизмов изученных генов

Полиморфный локус G1691A гена V фактора свертывания крови (Лейденская мутация) F5	Дикий тип (Аллель 1)	G/G	33 (55%)
	Гетерозигота	G/A	15 (25%)
	Мутант (Аллель 2)	A/A	12 (20%)
Полиморфный локус -455 G-A в гене фибриногена FBG	Дикий тип (Аллель 1)	G/G	39 (65%)
	Гетерозигота	G/A	18 (30%)
	Мутант (Аллель 2)	A/A	3 (5%)
Полиморфный локус A66G гена MTRR	Дикий тип (Аллель 1)	A/A	14 (23,3%)
	Гетерозигота	A/G	25 (41,7%)
	Мутант (Аллель 2)	G/ G	21 (35%)

Для характеристики клинической картины ПТС использована международная классификация хронических заболеваний вен СЕАР (табл. 14).

Таблица 14

## Классификация ПТС по СЕАР в зависимости от выявленной мутации

Ген	Вариант мутантной аллели	Класс С <sub>1-2</sub>	Класс С <sub>3-4</sub>
G1691A F5	A/A	4(33,3%)	8(66,7%)
	G/A	15(100%)	-
-455 G-A FBG	A/A	-	3 (100%)
	G/A	18 (100%)	-
A66G MTRR	G/G	5 (23,8%)	16 (76,2%)
	A/G	15 (60%)	10 (40%)

Следует обратить внимание, что наличие мутантного аллеля гена фибриногена в гетеро- или гомозиготном состоянии привело к формированию у всех пациентов ПТС с развитием стойкого отека на пораженной нижней конечности, либо к трофическим изменениям кожных покровов голени. Мутации в гене метионин-синтазы-редуктазы, которые могут привести к гипергомоцистеинемии, оказывают значительное влияние на формирование тяжелых форм ХВН.

Обнаружено, что наибольшее влияние на течение посттромботического синдрома оказывает мутация MTRR, которая как в гетеро-, так и в гомозиготном варианте приводит к формированию С<sub>3-4</sub> у значительного процента пациентов.

Кроме того, у многих пациентов выявлена комбинация мутантных генов, частота встречаемости сочетания гетерозиготного и гомозиготного вариантов генотипа у обследованных (табл. 15).

## Выявленные ассоциации мутантных генов

Ассоциации генетических мутаций	G1691A F5 и -455 G-A FBG	-455 G-A FBG и A66G MTRR	G1691A F5 и A66G MTRR	G1691A F5 и -455 G-A FBG и A66G MTRR
ГОМОЗИГОТЫ	-	-	3 (5%)	1 (1,67%)
гетерозиготы	5 (8,33%)	6 (10%)	3 (5%)	1 (1,67%)
гетерозигота/ гомозигота	2 (3,33%) гетерозигота G1691A F5 /гомозигота 455 G-A FBG  1 (1,67%) гомозигота G1691A F5 /гетерозигота 455 G-A FBG	1 (1,67%) гетерозигота 455 G-A FBG  /гомозигота A66G MTRR	2 (3,33%) гетерозигота G1691A F5  /гомозигота A66G MTRR	3 (5%) гомозигота G1691A F5 /гетерозигота 455 G-A FBG  /гетерозигота A66G MTRR  1 (1,67%) гомозигота G1691A F5 /гетерозигота 455 G-A FBG  /гомозигота A66G MTRR
Всего:	8 (13,3%)	7 (11,6%)	8 (13,3%)	6 (10%)

Наличие у пациента ассоциации мутантных аллелей приводит к развитию тяжелых форм посттромботического синдрома нижних конечностей. Во всех 29 случаях у пациентов отмечается замедленная

реканализация пораженного сегмента с формированием смешанной формы ПТС С<sub>3-4</sub>.

Класс С<sub>4</sub> соотносится с сочетаниями мутаций: гомозигота F5 /гетерозигота 455 G-A FBG /гомозигота A66G MTRR; гетерозигота G1691A F5 /гомозигота 455 G-A FBG; гомозигота G1691A F5 /гетерозигота 455 G-A FBG; гетерозигота G1691A F5 /гомозигота A66G MTRR, и с единственным выявленным нами полным гомозиготным сочетанием трех генов.

#### Клинический пример № 4.

Пациентка К., 1962 г.р. (история болезни № 2385) поступил на лечение в отделение сосудистой хирургии РОККД 07.04.2014 с диагнозом: Илиофemorальный венозный тромбоз левой нижней конечности.

Длительность заболевания 6 суток.

Симптомы Хоманса, Мозеса положительные. Отек голени слева +5 см, бедра +3,5 см. Диагноз подтвержден при УЗДС вен нижних конечностей (при поступлении): НарПВ тромбирована до уровня бифуркации с сохранением пристеночного кровотока на протяжении 2 см без признаков флотации, тромбирован бедренно – подколенный сегмент глубоких вен.

Назначена консервативная терапия: антикоагулянтные препараты (клексан 0,8 \* 2 раза в день п/к 10 суток, затем ривароксабан 15 мг 2 раза в день внутрь до 21 дня, после по 20 мг 1 раз в день внутрь), НПВС (нимесулид 100 мг 2 раза в день внутрь 7 суток), эластическая компрессия, МОФФ (по 500 мг 2 раза в день через 21 день от момента поступления в стационар).

Выполнено генотипирование. Исследованы гены фактора свертывания V, фибриногена, метионин – синтазы - редуктазы (табл. 13).

## Результаты генотипирования пациентки К.

Ген	Результат
G1691A F5	A/A
-455 G-A FBG	A/A
A66G MTRR	G/ G

Выявлена гомозиготная мутация всех исследованных генов, чем может быть обосновано возникновение идиопатического тромбоза глубоких вен с обширным поражением венозного русла.

При контрольном исследовании через 1 месяц обнаружено: НарПВ, ОБВ, БВ тромбированы без признаков флотации.

Через 3 месяца при УЗДС: НарПВ, бедренно – подколенный сегмент глубоких вен с участками реканализации, поверхностные вены проходимы полностью.

После 6 месяцев лечения: НарПВ преимущественно реканализована, ОБВ, БВ реканализованы сегментарно, ПкВ тромбирована, визуализация берцового сегмента затруднена из-за выраженного отека тканей.

По завершении года терапии при УЗДС: НарПВ, ОБВ реканализованы, реканализация БВ преимущественно неудовлетворительная, ПкВ и берцовые вены реканализованы слабо.

По классификации CEAP – C<sub>4</sub> с индуративным поражением кожных покровов голени.

В данном клиническом примере были обнаружены дикие аллели всех трех генов, иллюстрировано влияние генетического статуса на формирование посттромботического синдрома нижних конечностей. Пациентке рекомендована длительная антикоагулянтная терапия, курсовой прием венотонизирующих препаратов.

Таким образом, генотипирование может определить активную тактику в профилактике тяжелых форм ПТС нижних конечностей, обосновать необходимость длительной терапии антикоагулянтами.

### **3.4 Алгоритм профилактики тяжелых форм ХВН с позиции коррекции эндотелиальной дисфункции**

На основании полученных в результате исследования данных нами сформулирован алгоритм ведения пациента с момента подтверждения диагноза тромбоза глубоких вен с целью профилактики развития у него тяжелых форм посттромботического синдрома (рис. 24).

Согласно этому алгоритму, всем пациентам рекомендуется как можно раньше исследовать уровень гомоцистеина, оксида азота (II) в крови, провести оценку ПФЭ при помощи компьютерной фотоплетизмографии, выявить возможные мутации генов свертывающей системы и фолатного цикла. Далее, в зависимости от обнаруженных отклонений провести коррекцию предполагаемой или проводимой терапии. В нашем исследовании у всех пациентов были выявлены те или иные отклонения изученных показателей, однако в алгоритме предусмотрен вариант, при котором у больного с ТГВ не будут обнаружены генетические мутации, гипергомоцистеинемия.

По литературным данным, при выявлении мутантных аллелей системы свертывания, показана постоянная антикоагулянтная терапия. Допускается длительная терапия антикоагулянтами с последующей их отменой при достижении стойкой реканализации и устранении иных факторов риска с контролем показателей коагулограммы.

При обнаружении аномалий в генетической составляющей регуляции обмена гомоцистеина, необходимо проводить гомоцистеинснижающую терапию с контролем за уровнем Hcy в крови, рекомендовать пациенту продолжительный прием антикоагулянтных препаратов до полного

восстановления просвета вен нижних конечностей и диету с высоким содержанием витаминов В<sub>6,9,12</sub>, умеренным потреблением белков животного происхождения, бобовых для поддержания нормальных значений Hcy.

Если высокий уровень гомоцистеина в крови больного с ТГВ не связан с генетическими дефектами ферментов, участвующих в его обмене, проводится лечение ГГЦ витаминами В<sub>6,12</sub>, фолиевой кислотой в высоких дозировках до нормализации показателей, рекомендуется диетическое питание.

На ранних сроках, в первые 3 месяца от момента диагностирования ТГВ, мы рекомендуем всем пациентам принимать препараты микронизированной очищенной фракции флавоноидов, так как ТГВ всегда сопровождался снижением ПФЭ и уровня оксида азота (II).

При подтвержденной инструментально или биохимически эндотелиальной дисфункции прием МОФФ необходимо продлить до 6 месяцев с целью коррекции функции эндотелия и предотвращения развития у пациента посттромботического синдрома нижних конечностей с явлениями тяжелой хронической венозной недостаточности.

Целесообразно дальнейшее изучение воздействия комбинации препаратов МОФФ и комплекса витаминов В<sub>6,9,12</sub> у пациентов с сниженным ПФЭ, низким уровнем метаболитов оксида азота (II) и гипергомоцистеинемией.

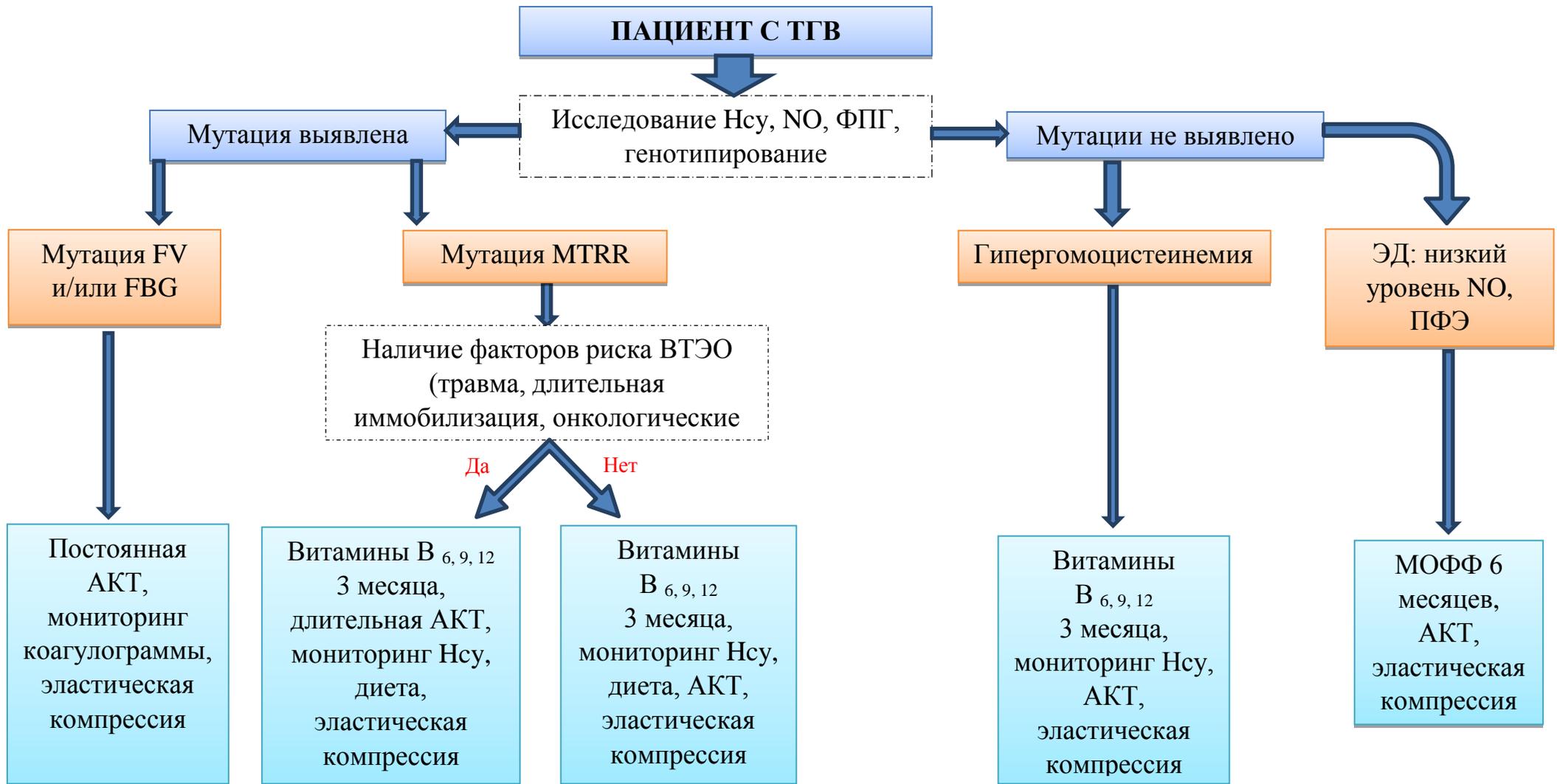


Рис. 24. Алгоритм ведения пациентов с ТГВ с целью профилактики развития тяжелых форм ПТС.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Посттромботической синдром является хроническим заболеванием, осложнением тромбоза глубоких вен, снижает качество жизни пациентов и имеет важные социально-экономические последствия.

Несмотря на то, что проблема посттромботического синдрома является не новой для сосудистой хирургии, результаты многочисленных международных исследований свидетельствуют о необходимости улучшения результатов лечения пациентов с ПТС. Наиболее активные процессы, направленные на улучшение проходимости венозного русла, восстановление эластических свойств стенки поврежденного сосуда, сохранение клапанного аппарата глубоких вен нижних конечностей, протекают в первые месяцы после манифестации тромбоза.

Превалирующей на ранних этапах является консервативная тактика лечения посттромботического синдрома. Однако, ее результаты до сих пор требуют улучшения. Задачей врача является предотвратить развитие у пациента тяжелых форм хронической венозной недостаточности. Более чем у трети больных с тромбозом глубоких вен в будущем развивается ПТС, и у 5% - 10% пациентов развиваются тяжелые формы с образованием трофических язв.

Современные научные изыскания молекулярных механизмов развития патологии в ангиологии обращают внимание на эндотелий, методы диагностики нарушения его функций, возможности ее фармакологической коррекции. Несмотря на общепринятую ведущую роль триады Вирхова в развитии острого тромбоза глубоких вен, с современной позиции ее можно рассматривать как проявление эндотелиальной дисфункции, ведь опосредованы механизмы триады через факторы, синтезируемые эндотелием венозной стенки.

Наиболее подтверждена роль в оценке функции эндотелия определения метаболитов оксида азота в крови пациента. Изучены

показатели при артериальной патологии, активно используется определение NO при острых и хронических заболеваниях вен.

Патологическое воздействие высокого уровня гомоцистеина в крови известно в гинекологической практике, при гипертонической болезни, ишемической болезни сердца. Роль ГГЦ в течение хронических заболеваний вен требует изучения.

Веноактивные препараты, такие как микронизированная очищенная фракция флавоноидов, коррекция гипергомоцистеинемии могут обеспечить облегчение симптомов ПТС.

Дальнейшие исследования направленные на выяснение патофизиологии ПТС, на выявление клинических и биологических факторов риска, на апробацию новых профилактических и терапевтических подходов к посттромботическому синдрому нижних конечностей необходимы, чтобы в конечном счете улучшить отдаленный прогноз.

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

152 пациентам выполнялось определение показателя функции эндотелия при помощи компьютерной фотоплетизмографии, определение уровня NO и гомоцистеина в крови, ультразвуковое дуплексное сканирование вен нижних конечностей. Обследование проводилось при поступлении пациента в стационар и диагностировании ТГВ, через 1, 3, 6 и 12 месяцев. Исследован генетический статус 60 пациентов из трех групп. В качестве контрольной группы, ПФЭ и уровень NO исследован у 21 здорового добровольца. Для оценки ПТС нижних конечностей применялась международная классификация хронических заболеваний вен CEAP.

При обследовании пациентов с острым тромбозом глубоких вен выявлены низкие уровни метаболитов оксида азота (II), снижение показателя функции эндотелия до отрицательных или близких к нулю значений, гипергомоцистеинемия.

При поступлении в I группе уровень NO составил  $38,3 \pm 7,0$  мкмоль/мл, ПФЭ  $-0,85 \pm 1,45\%$ , гомоцистеина  $21,225 \pm 9,4$  ммоль/л. Во II группе при поступлении пациента в стационар концентрация NO  $38,6 \pm 4,9$  мкмоль/мл, показатель функции эндотелия  $-1,0 \pm 1,6\%$  в 1 сутки, Hcy  $21,43 \pm 7,6$  ммоль/л. В III группе уровень NO составил  $40,0 \pm 6,2$  мкмоль/мл, ПФЭ  $-1,0 \pm 1,4\%$ , уровень Hcy  $22,91 \pm 8,7$  ммоль/л. Результаты трех групп сопоставимы на начальных этапах, группы сравнимы по полу, возрасту, структуре заболевания, локализации проксимальной границы тромба на начальных этапах лечения.

Все пациенты согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений получали антикоагулянтные, противовоспалительные препараты, проводилась эластическая компрессия нижних конечностей. Пациенты группы II дополнительно принимали препараты МОФФ с целью оценки их эндотелиотропного эффекта. Группа III принимала таблетированные витаминные препараты (В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, фолиевая кислота), для уменьшения влияния на эндотелий и тромбообразование в целом другого патогенетического фактора – гипергомоцистеинемии.

В процессе реканализации пораженного сегмента под воздействием тромболитических систем организма и стандартной консервативной терапии в группе I происходит увеличение уровня оксида азота (II) на 17,8% через 1 месяц лечения, затем через 3,6%, и 12% на 29,8%; 35,0% и 43,7% соответственно.

Уровень NO отражает протяженность пораженного сегмента вен, пораженного эндотелия сосудов в различные сроки течения

посттромботического синдрома. Чем выше уровень метаболитов оксида азота (II), тем ниже уровень локализации поражения венозного русла. Проведенное нами сравнение концентрации метаболитов оксида азота (II) и уровня проксимальной границы тромба при поступлении пациента в стационар выявило их корреляционную связь.

Проследив увеличение концентрации метаболитов NO выявлено, что через 1 месяц лечения МОФФ во II группе составило 35,3%, к 3 месяцу достигает 44,3%, к 6 месяцу 51,3%, через 12 месяцев 52,7%. Становится видно, что скачок показателей наиболее выражен в течение первых 6 месяцев терапии. Дальнейший прием венотонизирующих препаратов МОФФ оказывает незначимое влияние на концентрацию метаболитов оксида азота, а, следовательно, его прием следует рекомендовать непрерывно в течение первого полугодия от момента диагностирования ТГВ.

В группе III при приеме гомоцистеинснижающей терапии наблюдается увеличение уровня NO в процессе лечения: на 27,5%; 39,4%; 43,8% и 46,5% в соответствующие сроки.

В группе III динамика менее выражена, нежели во II группе. Это можно объяснить прямым эндотелиотропным действием МОФФ, которого нет у витаминных препаратов.

Через 3 месяца, в течение которых пациенты группы III принимали витамины В<sub>6,12</sub>, фолиевую кислоту концентрация оксида азота (II) в группе I выросла на 29,8%, а группе III на 39,4%. Однако, после возврата пациентов группы III к стандартной консервативной терапии разница в показателях постепенно сокращалась и к 12 месяцу в I группе показатели выросли на 43,7%, а в третьей группе пациентов – на 46,5%. Можно предположить, что для улучшения результатов лечения по сравнению со стандартной консервативной терапией, необходимо продлить сроки

приема витаминов или проводить комбинированную терапию МОФФ и витамины В<sub>6,9,12</sub>.

Результаты определения гомоцистеина в крови пациентов свидетельствуют, что прием витаминного комплекса позволяет добиться эффективного снижения концентрации Нсу. Так концентрация Нсу в группе I через 1 месяц составила  $19,175 \pm 4,4$  ммоль/л; через 3 месяца  $17,38 \pm 4,25$  ммоль/л, через 6 месяцев  $17,2 \pm 3,5$  ммоль/л. Во II группе через месяц терапии МОФФ уровень гомоцистеина составил  $18,96 \pm 5,1$  ммоль/л, через 3 месяца  $16,73 \pm 3,95$  ммоль/л, через 6 месяцев  $16,3 \pm 2,8$  ммоль/л. В III группе концентрация Нсу соответственно  $15,12 \pm 3,75$  ммоль/л,  $11,36 \pm 3,05$  ммоль/л и  $10,3 \pm 2,9$  ммоль/л.

Зависимости значений концентрации гомоцистеина крови от уровня поражения венозной системы нами выявлено не было. Корреляционная связь слабая, индекс корреляции лишь приближается к показательным значениям.

Прием в течение 3 месяцев дополнительно к стандартной консервативной терапии витаминных препаратов В<sub>6,9,12</sub> привели к нормализации показателей Нсу только в 40,6% пациентов в группе III. У остальных обследуемых трех групп сохранились уровни гомоцистеина, соответствующие легкой степени ГГЦ.

После окончания терапии комплексом витаминов в группе III при измерении уровня гомоцистеина крови в срок 6 месяцев изменений концентрации не происходит во всех трех группах. Учитывая, что у 59,4% пациентов сохраняется гипергомоцистеинемия, необходим длительный прием витаминов В<sub>6,9,12</sub> до нормализации показателей.

При исследовании показателя функции эндотелия при помощи неинвазивного метода компьютерной фотоплетизмографии выявлено, что, чем более протяженный сегмент глубоких вен подвергнут поражению, тем ниже ПФЭ, восстановление происходит медленнее. ФПГ позволяет

косвенно оценить функцию эндотелия, масштабы его поражения, проследить динамику ЭД на фоне лечения.

В I группе ПФЭ на фоне лечения вырос на 3,15% через 1 месяц, на 5,65% через 3, на 6,75% за 6 месяцев терапии и на 10,4% за год наблюдения.

В группе II, дополнительно принимавшей МОФФ, ПФЭ увеличивался быстрее, что подтверждает литературные данные о его эндотелиопротективном действии. Положительная динамика составила 4,05%; 7,45%; 11,25% и 13,45% соответственно. Максимальные различия с другими группами достигаются после 6 месяцев приема препарата.

В группе III, получавших в течение 3 месяцев гомоцистеинснижающую терапию, отмечено благоприятное воздействие понижения уровня гомоцистеина на показатель функции эндотелия.

Зарегистрированы следующие динамические прибавки ПФЭ через 1 месяц на 3,75%; через 3 месяца на 6,5%; через 6 месяцев на 7,7% и на 11,65% в течение года наблюдений. Косвенно, это подтверждает данные о повреждающем действии гомоцистеина на эндотелий венозной стенки. Терапия гипергомоцистеинемии путем назначения витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub> эффективно снижает уровень Нсу, увеличивает ПФЭ, нивелирует эндотелиальную дисфункцию и может быть использована в лечении пациентов с ПТС.

В группе здоровых добровольцев показатель функции эндотелия составил  $25,7\% \pm 2,2\%$ . Ни в одной группе пациентов показатели даже через год терапии не достигли столь высоких значений, что свидетельствует о нарушении функции эндотелия не только в период острого тромбоза глубоких вен и процессов активной реканализации, но и на фоне сформированного посттромботического синдрома нижних конечностей. Это приводит к выводу, что динамическое наблюдение за функциональным состоянием эндотелия, и при наличии ЭД,

эндотелиотропная терапия должна осуществляться и после истечения первого года с момента диагностирования ТГВ.

Признаки хронической венозной недостаточности классифицированы по СЕАР. Наибольшая частота выраженных изменений венозной гемодинамики наблюдалась среди пациентов I группы - в 50,9% класс С<sub>3-4</sub>.

Применение венотонизирующих препаратов в группе II привело к снижению частоты развития тяжелых форм хронической венозной недостаточности. Так класс С<sub>3-4</sub> выявлен в 40,6%. Разница между I и II группами 10,3%, что говорит о значимом улучшении результатов лечения пациентов с ТГВ с целью предотвращения развития тяжелой ХВН. В Российских клинических рекомендациях по диагностике и лечению хронических заболеваний вен препараты микронизированной очищенной фракции флавоноидов рекомендованы к применению в терапии ХВН. Наши результаты показывают, необходимость раннего и длительного – до 6 месяцев – лечения МОФФ при остром тромбозе глубоких вен, что позволяет снизить риск развития тяжелой хронической венозной недостаточности в будущем.

В группе III этот процент развития тяжелых форм ХВН достиг отметки в 46,55% - у пациентов, в течение первых 3 месяцев, проходивших лечение с применением витаминов В<sub>6,9,12</sub> сохранялся стойкий отек, появились трофические изменения кожных покровов голени

Гомоцистеинснижающая терапия в течение 3 месяцев приводит к улучшению течения посттромботического синдрома нижних конечностей, уменьшая вероятность развития тяжелых форм ХВН среди общего числа пациентов на 4,35%. по сравнению с пациентами группы I.

По данным УЗДС через 12 месяцев после перенесенного ТГВ в первой группе у 54 пациентов (90,0%) сформировалась смешанная форма ПТС, у 6 (10,0%) - реканализованная форма. Во второй группе у 43

пациентов (71,7%) – смешанная форма, у 17 (28,3%) – реканализованная. В третьей группе у 25 пациентов (78,1%) – смешанная форма посттромботического синдрома, у 7 (21,8%) – реканализованная.

Таким образом, инструментально подтверждено, что лучшие результаты наблюдаются в группе II, принимавшей МОФФ. Среди пациентов этой группы в 28,3% через год терапии достигнута полная реканализация пораженного сегмента глубоких вен.

В нашей работе выявлено, что гетерозиготными носителями мутации FV оказались 25% исследуемых, гомозиготный мутантный аллель среди них выявлен в 20%. Гетерозиготный вариант мутации гена фибриногена среди пациентов с тромбозом глубоких вен выявлен у 30% пациентов с ТГВ, гомозиготы – 5%. Мутация гена метионин-синтазы-редуктазы в гетерозиготном варианте нами обнаружена в 41,7% случаев, в гомозиготном – в 35%.

Наличие у пациента ассоциации мутантных аллелей было выявлено у 29 (48,3%) пациентов. Отмечено, что присутствие нескольких мутантных генов приводит к развитию тяжелых форм посттромботического синдрома. Во всех 29 случаях у пациентов отмечается замедленная реканализация пораженного сегмента с формированием смешанной формы ПТС С<sub>3-4</sub>.

Класс С<sub>4</sub> выявлен при сочетании гомозиготной мутации Лейдена с гетерозиготной – гена фибриногена и гомозиготной – гена метионин-синтазы-редуктазы; гетерозигота по гену фактора свертывания V в присутствии гомозиготного мутантного варианта по гену фибриногена; гомозигота по F5 и гетерозигота по FBG; генотип G/A гена F5, G/G MTRR, при сочетании гомозиготного варианта мутации трех генов.

Мутации среди пациентов с тромбозом глубоких вен выявляются чаще, чем в среднем в популяции, больший процент гомозиготных вариантов генотипа. Учитывая это, возрастает диагностическая роль генотипирования в ведении этой группы пациентов.

Помимо изучения встречаемости Лейденской мутации, мутации гена фибриногена, MTRR, нами выполнено наблюдение за процессами формирования у пациентов посттромботического синдрома. При наличии мутаций указанных генов, и, в особенности, их ассоциации, пациенты склонны к развитию класса C<sub>3-4</sub> по международной классификации хронических заболеваний вен СЕАР уже в первый год после перенесенного тромбоза глубоких вен. Выявлено, что среди гомозигот по мутантному гену фактора V в 66,7%, во всех случаях по мутантному аллелю гена фибриногена, в 76,2% при мутации гена MTRR высокая ассоциация с классом C<sub>3-4</sub>.

Исследование наследственной тромбофилии оказывает влияние выбор лечебной тактики и повышает приверженность пациента к длительной антикоагулянтной терапии, приему витаминов, участвующих в фолатном цикле.

В результате исследования нами сформулирован алгоритм ведения пациента с момента подтверждения диагноза тромбоза глубоких вен с целью профилактики развития у него тяжелых форм посттромботического синдрома. В нашем исследовании у всех пациентов были выявлены те или иные отклонения изученных показателей, однако в алгоритме предусмотрен вариант, при котором у больного с ТГВ не будут обнаружены генетические мутации, гипергомоцистеинемия.

## ВЫВОДЫ

1. У пациентов с посттромботическим синдромом в крови отмечается низкий уровень метаболитов оксида азота (II), гипергомоцистеинемия, показатель функции эндотелия принимает отрицательные значения или близкие к нулю.
2. Доказана высокая степень корреляции ( $r=0,9178$ ) между данными фотоплетизмографии и уровнем метаболитов оксида азота (II), что подтверждает достаточную эффективность фотоплетизмографии в оценке функции эндотелия.
3. Прием комплекса витаминов В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолиевой кислоты ведет к снижению уровня гомоцистеина, повышению уровня NO и показателя функции эндотелия, что благоприятно влияет на течение ПТС.
4. Применение микронизированной очищенной фракции флавоноидов ведет к коррекции эндотелиальной дисфункции, к достоверному увеличению показателю функции эндотелия ( $p=0,039$ ), концентрации в крови метаболитов оксида азота (II) в первые 6 месяцев лечения ( $p=0,019$ ).
5. Мутация гена метионин-синтазы-редуктазы среди пациентов с ПТС выявленная в 76,7% случаев, может привести к гипергомоцистеинемии и служить фактором развития тяжелых форм ХВН.
6. Лейденская мутация V фактора свертывания или мутация гена фибриногена в 35% случаев встречается в ассоциации с мутацией MTRR. При наличии генетической мутации в нескольких генах системы гемостаза пациент имеет склонность к развитию отечной и трофических форм ПТС.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Компьютерную фотоплетизмографию следует использовать для оценки функции эндотелия у пациентов с посттромботическим синдромом нижних конечностей.
2. При выявлении у больного с ПТС гипергомоцистеинемии целесообразно включить в план лечения витамины В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, фолиевую кислоту.
3. Препарат микронизированной очищенной фракции флавоноидов необходимо назначать на срок 6 месяцев, что значительно улучшает функцию эндотелия.
4. При наличии мутаций фактора свертывания V, гена фибриногена показана длительная антикоагулянтная терапия.
5. При наличии мутации гена метионин-синтазы-редуктазы показан прием витаминного комплекса В<sub>6,9,12</sub> в течение 3 месяцев.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанова, Л.П. Ультразвуковая диагностика заболеваний ветвей дуги аорты и периферических сосудов [Текст] / Л.П. Агаджанова. – М.: Видар, - 2000. - 176 с.
2. Амбулаторное лечение пациентов, перенесших тромбоз глубоких вен: как выполняются врачебные рекомендации? [Текст] / И.А. Золотухин [и др.] // Флебология. – 2010. - № 2 – С. 24-28.
3. Анализ консервативного лечение тромбоза глубоких вен нижних конечностей [Текст] / С.А. Гуреев, А.А. Лызилов, М.Л. Каплан // Материалы международного конгресса «Славянский венозный форум» Витебск, 2015. – С. 101-102.
4. Анализ отдаленных результатов стандартного консервативного лечения пациентов с флеботромбозом [Текст] / В.Я. Хрыщанович [и др.] // Материалы международного конгресса «Славянский венозный форум» Витебск, 2015. – С.160-161.
5. Анализ фармакотерапии тромбоза глубоких вен нижних конечностей (фармакоэпидемиологическое исследование) [Текст] / В. И. Петров [и др.] // Флебология. – 2014. - №3. –С. 32-37.
6. Антипенко П.В. Физиотерапия пациентов с тромбофлебитом вен конечностей и посттромботическим синдромом [Текст] / П.В. Антипенко // Физиотерапевт. – 2012. - № 9. - С.49-54.
7. Арзамасцев, Д.Д. Воспаление сосудистой стенки и гипергомоцистеинемия у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [Текст] / Д.Д. Арзамасцев, А.А. Карпенко, Г.И. Костюченко // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2011. - Т. 17, - №4. – С. 24-28.
8. Баркаган З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии [Текст] / З.С. Баркаган. - М.: Ньюдиамед. - 2000. – 129с.

9. Батрашов, В.А. Основы клинической флебологии [Текст] / В. А. Батрашов [и др.]; под ред. Ю. Л. Шевченко, Ю. М. Стойко. - М.: Шико, - 2013. – 336 с
10. Белоусов, Ю.В. Эндотелиальная дисфункция как причина атеросклеротического поражения артерий при артериальной гипертензии: методы коррекции [Текст] / Ю.В. Белоусов, Ж.Н. Намсараев // Фарматека. – 2006. – №6. – С.12–15.
11. Биофлавоноиды и их значение в ангиологии. Фокус на диосмин [Текст] / В.Ю. Богачев [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19, № 1. – С. 73-80.
12. Богачев, В.Ю. Новые данные о хронической венозной недостаточности [Текст] / В.Ю. Богачев // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2000. – Т. 8, № 2. – С. 119-122.
13. Богачев В.Ю. Фармакотерапия хронической венозной недостаточности нижних конечностей [Текст] / В.Ю. Богачев // Consilium Med. – 2003. - Т.5, №1, прилож.- С.22-26.
14. Бредихин, Р.А. Эффективность препарата «Антистакс» в лечении хронической венозной недостаточности нижних конечностей [Текст] / Р.А. Бредихин, Е.Е. Фомина, И.М. Игнатъев / Хирургия сердца и сосудов. – 2007. - № 1. – С. 40-42
15. Варианты экспериментального моделирования венозной эндотелиальной дисфункции: современное состояние проблемы [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников, А.Н. Новиков // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2014. - № 4. - С. 143-147.
16. Васютков, В.Я. О патогенезе посттромботического синдрома нижних конечностей [Текст] / В.Я. Васютков // Всероссийская конференция по флебологии. Саратов. — 1966.- С. 44—45.

17. Веденский, А.Н. Посттромботическая болезнь [Текст] / А.Н. Веденский. – Л.: Медицина, 1986. – 240 с.: ил.
18. Внедрение новых медицинских технологий в лечение окклюзионных поражений глубоких вен нижних конечностей [Текст] / В.В. Шимко [и др.] // Материалы международного конгресса «Славянский венозный форум» Витебск, 2015. – С. 219-220.
19. Воевода, М.И. Метаболические тромбофилии и острый тромбоз глубоких вен нижних конечностей (сообщение I) [Текст] / М. И. Воевода, С. А. Усов, Д. Н. Ровенских // Флебология. – 2015. - №3. – С. 11-15.
20. Возможности магнитно-резонансной томографии в визуализации бассейна нижней полой вены у пациентов с ХВН [Текст] / Ю.М. Стойко [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т.21, №4 – С. 136. – (Прил. к журн.: Материалы XXXI Междунар. конф. «Избранные страницы сосудистой хирургии» (Москва, 2015)).
21. Генетические детерминанты венозных тромбоэмболических осложнений у больных с переломами костей нижних конечностей [Текст] / С. С. Сасько [и др.] // Флебология. – 2013. - №2. – С. 42-46.
22. Гипергомоцистеинемия и полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы как фактор риска развития артериальных и венозных тромбозов и атеросклеротического поражения сосудов [Текст] / В.М. Шмелева [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. Приложение. - 2001. - №1(5). - С.144-145.
23. Гнездилова, И.В. Исследование роли гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в формировании предрасположенности к тромбофилии [Текст] / И.В. Гнездилова, Л.З. Ахмадишина // Молодой ученый. – 2010. - №1. – С. 123–126.

24. Граник, В.Г. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств [Текст] / В.Г. Граник, Н.Б. Григорьев. – М.: Вузовская книга, 2004. – 360 с.: ил.
25. Диспансеризация больных с венозными тромбоэмболическими осложнениями [Текст] / Р.Е. Калинин [и др.] // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. – 2011. - №3. – С.104-109.
26. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия [Текст] / С.П.Власова [и др.]; под ред. П.А.Лебедева. – С.:ООО Офорт Самара, 2010.-192 с. : ил.
27. Дисфункция и повреждение эндотелия (патофизиология, диагностика, клинические проявления и лечение) [Текст] / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко, В.Г. Гудымович. – М.: Лика, 2015. – 166 с.
28. Дисфункция эндотелия как одна из возможных причин возникновения и прогрессирования хронической венозной недостаточности нижних конечностей [Текст] / Ю.М. Стойко [и др.] // Вестн. хирургии им. Грекова. – 2004. – Т. 163, № 2. – С. 122-127.
29. Дисфункция эндотелия при острой и хронической венозной недостаточности [Текст] / Ю.С. Небылицин [и др.] // Новости хирургии. – 2008. – Т. 16, № 4. – С. 141-153.
30. Дисфункция эндотелия у больных хронической венозной недостаточностью нижних конечностей и возможности её коррекции [Текст] / Ю.М. Стойко [и др.] // Новости хирургии. – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 57-64.
31. Дуплексное сканирование в диагностике нарушений венозной гемодинамики при посттромботической болезни [Текст] / С.Ю. Игнатьев [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2002. – Т. 8, № 2 - С. 45.

32. Духанин А.С. Системные флебопротекторные препараты: от активного вещества к клиническому эффекту [Текст] / А.С. Духанин // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т.20, №4 – С. 84-92.
33. Жуков, Б.Н. Безопасность и эффективность эластической компрессии в терапии хронической венозной недостаточности нижних конечностей [Текст] / Б.Н. Жуков, М.А. Мельников // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2011. – Т. 17, - № 3. – С. 153-157.
34. Затейщикова, А.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение [Текст] / А.А. Затейщикова, Д.А. Затейщиков // Кардиология. – 1998. – № 9. – С. 68-80.
35. Идиопатический тромбоз глубоких вен: современные подходы к диагностике и лечению [Текст] / А. В. Варданян [и др.] // Флебология. – 2014. - №2. – С. 16-20.
36. Инструментальное подтверждение классификационных критериев (СЕАР) венозного заболевания [Текст] / Н.Г. Хорев, Д.В. Кузнецова, В.П. Куликов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т.21, №4 – С. 150. – (Прил. к журн.: Материалы XXXI Междунар. конф. «Избранные страницы сосудистой хирургии» (Москва, 2015)).
37. Киричук, В.Ф. Дисфункция эндотелия [Текст] / В.Ф. Киричук, А.И. Глыбочко. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2008. – 110 с.
38. Клинико-ультразвуковой и лабораторный контроль на начальном этапе консервативного лечения пациентов с тромбозами глубоких вен нижних конечностей [Текст] / Е. П. Бурлева [и др.] // Флебология. – 2013. - №2. – С. 4-9.
39. Колобова, О.И. Биохимические основы дисфункции эндотелия при варикозной болезни [Текст] / О.И. Колобова, С.А. Трянкина, И.В. Минаков // Третий Междунар. хирургич. конгресс. – М., 2008. – С. 205.
40. Компрессионная терапия – метод выбора в лечении хронических заболеваний вен нижних конечностей [Текст] / А.В. Варданян

[и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2012. – Т. 18, - №3. – С. 70-76.

41. Кому и когда необходима продленная профилактика венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО)? [Текст] / С.В. Сапелкин // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т.21, №4 – С. 129-130. – (Прил. к журн.: Материалы XXXI Междунар. конф. «Избранные страницы сосудистой хирургии» (Москва, 2015)).

42. Концентрация стабильных продуктов деградации NO и число циркулирующих эндотелиоцитов как дополнительный диагностический критерий для оценки тяжести венозной патологии [Текст] / С.А. Сушков [и др.] // Материалы III Междунар. науч. – практ. конф. «Дисфункция эндотелия». – Витебск. – 2004. – С. 247-251.

43. Корелин С.В. Результаты 10-летнего наблюдения за пациентами, перенесшими тромбоз в системе нижней полой вены [Текст] / С.В. Корелин // Материалы международного конгресса «Славянский венозный форум» Витебск, 2015. – С.37-38.

44. Костюченко Г.И. Гипергомоцистеинемия: клиническое значение, возрастные особенности, диагностика и коррекция [Текст] / Г.И. Костюченко / Клин. геронтол. – 2007. - № 4. – С. 32-40.

45. Лечение острого варикотромбофлебита нижних конечностей ударными дозами микронизированного диосмина [Текст] / А. Ю. Крылов [и др.] // Флебология. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 141-142. – (Прил. к журн.: Материалы VIII науч. – практ. конф. Ассоциации флебологов России с Междунар. участием).

46. Малкоч, А.В. Физиологическая роль оксида азота (Часть I) [Текст] / А.В. Малкоч, В.Г. Майданник, Э.Г. Курбатова // Нефрология и гемодиализ. – 2000. – Т. 2, №1-2. – С. 27-30.

47. Малышев, И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота [Текст] / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Биохимия. – 1998. – Т. 63, №7. – С. 992-1006.

48. Мамаев А.Н., Макацария А.Д., Елыкомов В.А., Цывкина Л.П., Сердюк Г.В., Вострикова Н.В. Способ лечения гипергомоцистеинемии.// Решение о выдаче патента на изобретение от 27.01.2009. Патент РФ № 2360706 от 10.07.2009.
49. Маркауцан, П.В. Изменение интимы вены при замедлении кровотока в эксперименте [Текст] / П.В. Маркауцан, А.А. Баешко, Л.И. Арчакова // Новости хирургии. – 2007. – Т. 15, №4. – С. 42-47.
50. Марков, Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия [Текст] / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – №12. – С. 62-72.
51. Марков Х.М. L-аргинин оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов [Текст] / Х.М. Марков [и др.] // Кардиология. -2005, № 6. - С. 87-95.
52. Медведев, А.П. Возможность применения экстракта красных листьев винограда в амбулаторном лечении пациентов с венозными тромбоэмболическими осложнениями [Текст] / А.П. Медведев, С.В. Немирова, Е.А. Аветисян / Флебология. – 2013. - № 3. – С.34-39.
53. Медикаментозная коррекция негативных флеботропных эффектов гормонозаместительной терапии у женщин [Текст] / Ю.Т. Цуканов [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2009. – Т.15, № 3. – С. 87-91.
54. Метельская, В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке [Текст] / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15-18.
55. Молекулярные механизмы эндотелиальной дисфункции при венозном тромбоэмболизме: современные представления и перспективы дальнейшего изучения (обзор литературы) [Текст] / А.П. Полякова [и др.] // Трансфузиология. – 2011. – Т.12. – С. 1248-1265.

56. Небылицин, Ю.С. Дисфункция эндотелия и её коррекция у пациентов с острым тромбозом глубоких вен нижних конечностей / Ю.С. Небылицин, С.А. Сушков // Флебология. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 135-136. – (Прил. к журн.: Материалы VIII науч. – практ. конф. Ассоциации флебологов России с Междунар. участием).

57. Небылицин, Ю.С. Дисфункция эндотелия при экспериментальном моделировании острой венозной недостаточности [Текст] / Ю.С. Небылицин, С.А. Сушков, А.П. Солодков // Вестник ВГМУ. – 2007. – Т. 6, №2. – С. 1-15.

58. Небылицин, Ю.С. Коррекция окислительного и нитрозилирующего стресса у пациентов с тромбозом глубоких вен нижних конечностей [Текст] / Ю.С. Небылицин, С.А. Сушков, А.П. Солодков // Новости хирургии. – 2010. – Т.18, №1. – С. 52-60.

59. Недоспаев, А.А. Биогенный NO в конкурентных отношениях [Текст] / А.А. Недоспаев // Биохимия. – 1998. – Т.63, №7. – С. 881-904.

60. Окислительное карбонилирование белков стенки сосудов в динамике экспериментального венозного тромбоза [Текст] / Н.В. Фомина [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. - Т. 21, - №1. – С. 29-33.

61. Основы клинической флебологии / Под ред. Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко. 2-е изд., испр. и доп. -М: ЗАО Шико, 2013. - 336 с.

62. Особенности лечения хронических заболеваний вен в России. Предварительные результаты программы «VEIN АСТ» [Текст] / В.Ю. Богачев [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т.21, №2 – С. 76-82.

63. Особенности микроциркуляции у больных с венозными явами по данным лазерной доплеровской флоуметрии [Текст] / М.М. Мусаев, В.А. Дуванский // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т.21, №4 –

С. 104-105. – (Прил. к журн.: Материалы XXXI Междунар. конф. «Избранные страницы сосудистой хирургии» (Москва, 2015)).

64. Особенности течения посттромботической болезни у пациентов, перенесших тромбоз глубоких вен голени и подколенной вены [Текст] / Е. Ю. Солдатский [и др.] // Флебология. – 2015. - №3. – С. 21-26.

65. Отдаленные результаты лечения пациентов, перенесших тромбоз глубоких вен нижних конечностей [Текст] / И.А. Золотухин [и др.] // Флебология. – 2011. - № 1. – С.25-31.

66. Открытая тромбэктомия в лечении острых тромбозов глубоких вен нижних конечностей [Текст] / Е.В. Шайдаков [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т.20, №4 – С. 183-187.

67. Очерки терапевтической флебологии. [Текст] / П.Г. Швальб [и др.]; под ред. П.Г.Швальба, Ю.М. Стойко. – Р.: Узорочье, 2011. – 288с.

68. Оценка эффективности и безопасности различных вариантов антикоагулянтной терапии при венозных тромбозах [Текст] / Р.Е. Калинин [и др.] // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23. № 4. – С. 416-423.

69. Патогенез и профилактика повторных тромбозов и тромбоэмболических осложнений у больных, перенесших тромбоз глубоких вен нижних конечностей [Текст] / А.А. Полянцев [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т. 21, - №4. – С. 137-142.

70. Патология венозного возврата из нижних конечностей [Текст] / П.Г. Швальб, Ю.И. Ухов. – Р: Тигель, 2009. – 152 с.

71. Патрушев, Л.И. Генетические механизмы наследственных нарушений гемостаза [Текст] / Л.И. Патрушев // Биохимия. – 2002. - № 67(1). – С. 40—55.

72. Петриков, А.С. Фармакологическая коррекция гипергомоцистеинемии у больных с венозными тромбоэмболическими осложнениями [Текст] / А.С. Петриков, Я.Н. Шойхет, В.И. Белых // Флебология. – 2012. - № 4. – С.24-27.

73. Петрищев, Н.Н. Дисфункция эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции [Текст] / Н.Н. Петрищев; под ред. Н.Н. Петрищева. – СПб.: ИИЦ ВМА, 2007. – 296 с.: ил.

74. 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.

75. Порембская, О.Я. Европейский венозный форум (Санкт – Петербург, 2-4 июля 2015 г.) [Текст] / О.Я. Порембская, Е.А. Илюхин, Е.В. Шайдаков // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т.21, №4. – С. 145-151.

76. Реография для профессионалов: Методы исследования сосудистой системы: Пособие для врачей функциональной диагностики [Текст] / А.М. Старшов, И.В. Смирнов. - М.: Познавательная книга, 2003. - 80 с.

77. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений [Текст] // Флебология. – 2010. – Т.4, №1 (Прил. 2). – с. 5-37.

78. Рогоза А.Н. Измерение скорости пульсовой волны при пробе с реактивной гиперемией как метод оценки вазомоторной функции эндотелия у больных гипертонической болезнью [Текст] / А.Н. Рогоза А.Н., А.Р. Заирова, Е.В. Ощепкова // Терапевтический архив. - 2008. - № 4. - С. 29-33.

79. Современный взгляд на патогенез хронических заболеваний вен нижних конечностей с позиции эндотелиальной дисфункции / Ю.Л. Шевченко [и др.] // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2011. – Т.6, № 1. – С. 24-27.

80. Содержание гомоцистеина в сыворотке крови и рецидив венозных тромбозов [Текст] / А.С. Петриков [и др.] // Флебология. – 2012. - № 2. – С. 27-30.

81. Сравнительная оценка отдаленных результатов лечения тромбоза глубоких вен голени и бедренно-подколенного сегмента [Текст] / Е.Ю. Солдатский [и др.] // Материалы международного конгресса «Славянский венозный форум» Витебск, 2015. – С. 143-144.

82. Стойко, Ю.М. Клиническая значимость факторов риска хронической венозной недостаточности нижних конечностей и возможности консервативной терапии [Текст] / Ю.М. Стойко // Болезни сердца и сосудов. – 2006. – №4. – С. 64-68.

83. Стойко, Ю.М. Обзор 25-го всемирного конгресса международного общества ангиологов (XXV World congress of the international union of angiology) [Текст] / Ю.М. Стойко, И.М. Игнатьев // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2012. - Т. 18, - №4. – С. 65-69.

84. Структурные изменения сосудистой стенки при экспериментальном моделировании венозного тромбоза [Текст] / Ю.С. Небылицин [и др.] // Медицинский журнал. – 2007. – №4. – С. 82–86.

85. Течение системной воспалительной реакции у больных с тромбозом глубоких вен и возможности ее коррекции антикоагулянтами разных поколений [Текст] / В.В. Сорока [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т.21, №4 – С. 104-105. – (Прил. к журн.: Материалы XXXI Междунар. конф. «Избранные страницы сосудистой хирургии» (Москва, 2015)).

86. Ультразвуковая оценка изменений венозной гемодинамики у больных с посттромботической болезнью при непрерывном приеме флеботоников [Текст] / А.М. Зудин [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2014. - Т. 20, №2. - С.52-57.

87. Флавоноиды: Содержание в пищевых продуктах, уровень потребления, биодоступность [Текст] / В.А. Тутельян [и др.] // Вопр. питания. -2004. - № 6. - С. 42-48.
88. Флебология: руководство для врачей [Текст] / В.С. Савельев [и др.]; под ред. В.С. Савельева. – М.: Медицина, 2001. – 664 с.: ил.
89. Флеботромбоз и врожденная тромбофилия [Текст] / А.И. Шевела [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2011. – Т. 16, - №2. – С. 95-99.
90. Фотоколориметрический метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови [Текст] / Р.Е. Калинин [и др.] // Астраханский мед. журн. – 2010. – Т.5, №1 (Прил.) – С. 188-189. – (Прил. к журн.: Материалы 7-й Междунар. науч. - практ. конф. «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины» (Астрахань, 2010)).
91. Хрыщанович В.Я. Посттромботическая болезнь: диагностика, лечение, профилактика [Текст] / В.Я. Хрыщанович // Новости хирургии. – 2013. – Т. 21. - № 3. – С. 120-128.
92. Шестакова, М.В. Дисфункция эндотелия причина или следствие метаболического синдрома? [Текст] / М.В. Шестакова // РМЖ. - 2001. -Т. 9(2). -С. 88.
93. Шилова, А.Н. Тромбоэмболия легочных артерий на фоне гипергомоцистеинемии [Текст] / А.Н. Шилова, А.А, Карпенко, Ю.Е. Клеванец // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. - Т. 21, - №1. – С. 25-28.
94. Шляхто, Е.В. Клеточные и молекулярно-генетические аспекты эндотелиальной дисфункции [Текст] / Е.В. Шляхто, О.А. Беркович, О.М. Моисеева // Вестник РАМН. – 2010. – №10. – С. 50-52.

95. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе венозной трансформации [Текст] / Ю.Л. Шевченко [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2008. – Т.14, №1. – С. 15-20.

96. Эндотелий: функция и дисфункция [Текст] / З.А. Лупинская [и др.]. – Б.: Изд-во КРСУ, 2008. – 373 с.: ил.

97. Эндотелиотропные эффекты микронизированной очищенной фракции флавоноидов при различных экспериментальных моделях венозной эндотелиальной дисфункции [Текст] / Р. Е. Калинин [и др.] // Флебология. – 2014. - №4. – С. 29-36.

98. Эффективность микронизированной флавоноидной фракции диосмина с геспередином у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [Текст] / О.Д. Наставшева [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т.19, №2 – С. 274-276. – (Прил. к журн.: Материалы XXVIII Междунар. конф. «Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении сосудистых больных» (Новосибирск, 2013)).

99. Эффективность применения препарата Венарус в лечении больных с посттромботической болезнью нижних конечностей [Текст] / И.Н. Сонькин [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2014. – Т.20, №4 – С. 77-83.

100. Acute consumption of flavanol-rich cocoa and the reversal of endothelial dysfunction in smokers [Text] / C. Heiss [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2005. – Vol.46, №7. – P.1276-1283.

101. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women [Text] / D.S. Celermajer [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. - 1994. - Vol.24. - P. 471-476.

102. Agus G.B. Veins. The eloquence of symbols. First edition [Text] / G.B. Agus. - Minerva Medica, 2015. – 108p.

103. A histological and functional description of the tissue causing chronic postthrombotic venous obstruction [Text] / A. J. Comerota [et al.] // *Thromb Res.* – 2015. – Vol.135(5). – P.882-887.

104. A long-term follow-up study of women using different methods of contraception: An interim report [Text] / M. Vessey [et al.] // *J. Biosoc. Sci.* – 1976. – Vol.8. – P.373.

105. Anderson E.A. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans [Text] / E.A. Anderson, A.L. Mark // *Circulation.* – 1989. - №79: - P. 93 -100.

106. Antithrombotic therapy for VTE disease: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed. American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines [Text] / C. Kearon [et al.] // *Chest.* – 2012. – Vol.142. – P. 1698—1704.

107. Antioxidant gene therapy for cardiovascular disease: current status and future perspectives [Text] / A. Levonen [et al.] // *Circulation.* – 2008. – Vol.117, №16. – P. 2142-2150. 66. Association of peripheral venous disease with arterial endothelial dysfunction: a proof-of-concept study [Text] / L. Moro [et al.] // *Phlebology.* – 2013. – Vol.28, № 7. – P.366-368.

108. Assessment of endothelial function using peripheral waveform analysis: a clinical application [Text] / C.S. Hayward [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2002. – Vol.40(3). – P.521–528.

109. Assessment of venous thrombosis in animal models [Text] / S.P. Grover [et al.] // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2016. – Vol.36(2). – P.245-252.

110. Association analysis of genetic polymorphisms of factor V, factor VII and fibrinogen chain genes with human abdominal aortic aneurysm [Text] / K. Oszajca [et al.] // *Exp Ther Med.* - 2012. – Vol.4(3). – P.514-518.

111. Bergan, J.J. Chronic venous insufficiency and the therapeutic effects of Daflon 500 mg [Text] / J.J. Bergan // *Angiology*. – 2005. – Vol.56 (Suppl. 1). – P.21-24.
112. Bergan, J.J. Therapeutic approach to chronic venous insufficiency and its complications: place of Daflon 500 mg [Text] / J.J. Bergan, Geert W. SchmidSchönbein, S. Takase // *Angiology*. – 2001. – Vol.52 (Suppl. 1). – P. 43-47.
113. Choosing the appropriate antithrombotic agent for the prevention and treatment of VTE: a case-based approach [Text] / E. A. Nutescu [et al.] // *Ann. Pharmacother.* – 2006. – Vol.40, issue 9. – P. 1558-1571.
114. Chronic venous disease [Text] / J.J. Bergan [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol.355, №5. – P.488-498.
115. Clinical haemorheology and microcirculation [Text] / L. Mannini [et al.] // *Ann. Ist. Super Sanita.* – 2007. – Vol.43, №2. – P. 144-155.
116. Clinical and hemodynamic outcomes in patients with chronic venous insufficiency after oral micronized flavonoid therapy [Text] / A.C.W. Ting [et al.] // *Vascular surgery*. – 2001. – Vol.35, №6. – P.443-447.
117. Clot structure and fibrinolytic potential in patients with post thrombotic syndrome [Text] / A.C. Bouman [et al.] // *Thromb Res.* – 2016. – Vol.137. – P.85-91.
118. Cocoa and cardiovascular health [Text] / R. Corti [et al.] // *Circulation*. – 2009. – Vol.119, issue 10. – P.1433-1441.
119. Colman R.W. Hemostasis and thrombosis. Fourth Edition [Text] / R.W. Colman. - Ph: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. - 1578 p.
120. Comerota, A.J. Deep venous thrombosis and postthrombotic syndrome: invasive management [Text] / A.J. Comerota // *Phlebology*. – 2015. – Vol.30(1). – P.59-66.

121. Comp P. C. Contraceptive choices in women with coagulation disorders [Text] / P.C. Comp, H.A. Zacur // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1990. – Vol.168. – P.1990.

122. Comparison of the antioxidant effects of Concord grape juice flavonoids and  $\alpha$ -tocopherol on markers of oxidative stress in healthy adults [Text] / D.J. O`Byrne [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2002. – Vol.76, №6. – P.1367-1374.

123. Coombes, R. Venous thromboembolism caused 25000 deaths a year, say MPs [Text] / R. Coombes // *BMJ.* – 2005. – Vol. 330, №7491. – P. 559.

124. Correlations between endothelial dysfunction and glycaemia in venous thrombosis pathogenesis [Text] / C. Bădescu [et al.] // *Ann. of RSCB.* – 2012. – Vol.17, issue 1. – P. 143-148.

125. Dahlback B. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C [Text] / B. Dahlback, M. Carlsson, P.J. Svensson // *Proc Natl Acad Sci USA.* - 1993. – Vol.90. - P.1004-1008.

126. Deep vein thrombosis: complication of chronic lymphedema [Text] / D. Radu [et al.] // *Acta Phlebologica.* – 2015. – Vol.16(1). – P.29-35.

127. Determinants of myocardial blood flow response to cold pressor testing and pharmacologic vasodilation in healthy humans [Text] / J.O. Prior [et al.] // *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* – 2007. – Vol.34(1). – P.20–27.

128. Development and validation of a tool for patient reporting of symptoms and signs of the post-thrombotic syndrome [Text] / K.K. Utne [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2016. – Vol.115(2). – P.361-367.

129. Diosmin protects against ethanol-induced hepatic injury via alleviation of inflammation and regulation of TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B activation [Text] / M. Tahir [et al.] // *Alcohol.* – 2013. – Vol.47, №2. – P. 131-139.

130. Diosmin protects rat retina from ischemia/reperfusion injury [Text] / N. Tong [et al.] // Journal of ocular pharmacology and therapeutics. – 2012. – Vol. 28, №5. – P. 459-466.

131. Effects of purified micronized flavonoid fraction (Detralex®) on prophylactic treatment of adjuvant arthritis with methotrexate in rats [Text] / J. Rovenský [et al.] // Issues in rheumatology and autoimmunity. – 2008. – Vol.10, №5. – P. 377-380.

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

133. Endothelial dysfunction in patients with chronic venous disease: an evaluation based on the flow-mediated dilatation test [Text] / W. Komarów [et al.] // International Angiology. – 2015. – Vol.34(1). – P.36-42.

134. Endothelial dysfunction in patients with spontaneous venous thromboembolism [Text] / R. Migliacci [et al.] // Haematologica. – 2007. – Vol.92, №6. – P.812-818.

135. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease [Text] / T. Heitzer [et al.] // Circulation. – 2001. – Vol.104(22). – P.2673–2678.

136. Endothelial function impairment in chronic venous insufficiency: effect of some cardiovascular protectant agents [Text] / F.O. Carrasco [et al.] // Angiology. – 2009. – Vol.60, №6. – P.763-771.

137. Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease [Text] / B. Takase [et al.] // Am J Cardiol. – 1998. – Vol.82. – P.1535–1539.

138. Epidemiology, diagnosis and treatment of chronic leg ulcers: a systematic review [Text] / R. Serra [et al.] // Acta Phlebologica. – 2015. – Vol.16(1)/ - P.9-18.

139. Epidemiology of chronic venous disorders in geographically diverse populations: results from the Vein Consult Program [Text] / E. Rabe [et al.] // *International Angiology*. – 2012. – Vol.31, №2. – P.105-115.
140. Esmon, C.T. What did we learn from new oral antocoagulant treatment? [Text] / C.T. Esmon // *Thromb Res*. – 2012. – Vol.130. – P. 41—43.
141. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening [Text] / P.M. Ridker [et al.] // *JAMA*. - 1997. – Vol.277. - P.1305-1307.
142. Exogenous nitric oxide requires an endothelial glycocalyx to prevent postischemic coronary vascular leak in guinea pig hearts [Text] / D. Bruegger [et al.] // *Crit Care*. – 2008. – Vol.12(3). – P.73.
143. Fibrinogen as a factor of thrombosis: experimental study [Text] / F. Doutremepuich [et al.] // *Am. J. Chin. Med*. – 1998. – Vol.90, №2. – P. 57-64.
144. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants [Text] / C. Yuting [et al.] // *Free Radical Biol. & Med*. – 1990. – Vol.9, №1. – P. 19-21.
145. Gabriel Botella F. Post-thrombotic syndrome: a pending issue [Text] / F. Gabriel Botella // *Med Clin*. – 2016. – Vol.146(2). – P.65-66.
146. Genetic polymorphisms in folate and homocysteine metabolism as risk factors for DNA damage [Text] / N. Botto [et al.] // *Eur. J. Hum. Genet*. – 2003. – Vol.11, №9. – P. 671-678
147. Gibbons G.H. The Emerging Concept of Vascular Remodeling [Text] / G.H. Gibbons, V.J. Dzau // *New Engl. J. Med*. — 1994. — Vol.330, №20. — P. 1431-1438.
148. Glycocalyx and endothelial (dys) function: from mice to men [Text] / B.M. van den Berg [et al.] // *Pharmacol Rep*. – 2006. – Vol.58. – P.75—80.
149. Goldhaber, S.Z. Venous thromboembolism: epidemiology and magnitude of the problem [et al.] // S.Z. Goldhaber // *Best Pract Res Clin Haematol*. – 2012. – Vol.25. – P. 235—242.

150. Gresele, P. Endothelium, venous thromboembolism and ischaemic cardiovascular events [Text] / P. Gresele, S. Momi, R. Migliacci // *Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol.103, №1. – P.56-61.

151. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the international brachial artery reactivity task force [Text] / M.C. Corretti [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2002. – Vol.39(2). – P.257–265.

152. Gush R.J. Discrimination of capillary and arterio - venular blood flow in skin by laser doppler flowmetry [Text] / R.J. Gush, T.A. King [et al.] // *Med Biol Eng Comput.* – 1991. – Vol.29(4). – P.387–392.

153. Hemodynamic significance of collateral blood flow in chronic venous obstruction [Text] / R.L. Kurstjens // *Phlebology.* – 2015. – Vol.30(1). – P.27-34.

154. Henke, P.K. An update on etiology, prevention, and therapy of postthrombotic syndrome [Text] / P.K. Henke, A.J. Comerota // *J Vasc Surg.* – 2011. – Vol.53. – P.500.

155. Hernandez-Molina, G. Thrombotic microangiopathy and poor renal outcome in lupus patients with or without antiphospholipidsyndrome [Text] / G. Hernandez-Molina [et al.] // *Clin Exp Rheumatol.* – 2015. – Vol.33(4). – P.503-508.

156. Falcon, C.R. High prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with juvenile venous thrombosis [Text] / C.R. Falcon // *Arterioscler Thromb.* – 1994. – Vol. 14. – P. 1080-1083.

157. Holst, A.G. Risk factors for venous thromboembolism: results from the Copenhagen city heart study [Text] / A.G. Holst, G. Jensen, E. Prescott // *Circulation.* – 2010. – Vol.121, issue 17. – P.1896-1903.

158. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease [Text] / E. Lonn [et al.] // *N Engl J Med.* – 2006. – Vol.354. - P. 1567–1577.

159. Hull, R.D. Long-term low-molecular-weight heparin and the post-thrombotic syndrome: a systematic review [Text] / R.D. Hull, J. Liang, G. Townshend // *Am J Med.* – 2011. – Vol.124. – P.756.

160. Hügél, U. Prevention of postthrombotic syndrom [Text] / U. Hügél, I. Baumgartner // *Praxis.* – 2015. – Vol.104(24). – P.1329-1335.

161. Idiopathic deep venous thrombosis and arterial endothelial dysfunction in the elderly [Text] / G. Mazzoccoli [et al.] // *AGE.* – 2012. – Vol.34, issue 3. – P. 751-760.

162. Impact of acute exercise on brachial artery flow-mediated dilatation in young healthy people [Text] / Hwang [et al.] // *Cardiovascular Ultrasound.* – 2012. – P.10-39.

163. Improvement of cardiovascular risk prediction: Time to review current knowledge, debates, and fundamentals on how to assess test characteristics [Text] / M. Romanens [et al.] // *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* – 2010. – Vol.17(1). – P.18–23.

164. Intake of red wine increases the number and functional capacity of circulating endothelial progenitor cells by enhancing nitric oxide bioavailability [Text] / P.H. Huang [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2010. – Vol.30, №4. – P.869-877.

165. Interface pressures and stiffness of a reusable “multilayer” bandage (cotton and long stretch bandages) [Text] / J.P. Benigni [et al.] // *Acta Phlebologica.* – 2015. – Vol.16(1). – P.19-22.

166. Jeske W. Reversal of direct oral anticoagulants [Text] / W. Jeske, J. Fareed // *Acta Phlebologica.* – 2015. – Vol.16(2). – P.93-95.

167. Joyner M.J. From belfast to mayo and beyond: the use and future of plethysmography to study blood flow in human limbs [Text] / M.J. Joyner, N.M. Dietz, J.T. Shepherd // *J Appl Physiol.* – 2001. – Vol.91(6). – P.2431–2441.

168. Kreidy, R. Contribution of recurrent venous thrombosis and inherited thrombophilia to the pathogenesis of postthrombotic syndrome [Text] / R. Kreidy // Clin Appl Thromb Hemost. – 2015. – Vol.21(1). – P.87-90.

169. Low incidence of post-thrombotic syndrome in patients treated with new oral anticoagulants and percutaneous endovenous intervention for lower extremity deep venous thrombosis [Text] / M. Sharifi [et al.] // Vasc Med. – 2015. – Vol.20(2). – P.112-116.

170. Labrid, M. Pharmacologic properties of Daflon 500 mg [Text] / M.Labrid // Angiology. – 1994. – Vol.45, №6. – P. 524-530.

171. Lavi, S. The interaction between coronary endothelial dysfunction, local oxidative stress, and endogenous nitric oxide in humans [Text] / S. Lavi // Hypertension. – 2008. – Vol.51, issue 1. – P.127-133.

172. Maleti, O. Reconstructive surgery for deep vein reflux in the lower limbs: techniques, results and indications [Text] / O. Maleti, M. Perrin // Eur J Vasc Endovasc Surg. – 2011. – Vol.41. – P. 837—848.

173. Middeldorp, S. Evidence-based approach to thrombophilia testing [Text] / S. Middeldorp // J Thromb Thrombolys. – 2011. – Vol.31. – P. 275—281.

174. Modulation of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle [Text] / M. Hashimoto [et al.] // Circulation. - 1995. - Vol.92. - P. 3431-3435.

175. Morling, J.R. Rutosides for treatment of post-thrombotic syndrome [Text] / J.R. Morling, S.E. Yeoh, D.N. Kolbach // Cochrane Database Syst Rev. – 2015. – Vol.16. – P.9.

176. Nayak, L. Postthrombotic syndrome: feasibility of a strategy of imaging-guided endovascular intervention [Text] / L. Nayak, C.F. Hildebolt, S. Vedantham // J Vasc Interv Radiol. – 2012. – Vol.23. – P. 1165.

177. Neuroprotective and hepatoprotective effects of micronized purified flavonoid fraction (Daflon®) in lypopolysaccharide-treated rats [Text] / O.M.E.

AbdelSalam [etal.] // Drug discoveries and therapeutics. – 2012. – Vol.6, №6.– P. 306-314.

178. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo [Text] / R. Joannides [et al.] // Circulation. – 1995. – Vol.91. – P.1314–1319.

179. Nitric oxide synthase enzymes in the airways of mice exposed to ovalbumin: NOS2 expression is NOS3 dependent [Text] / M.J. Bratt [et al.] // Mediators of inflammation. – 2010. – Vol. 56 (Suppl. 1). – P. 21-24.

180. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis [Text] / D.S. Celermajer [et al.] // Lancet. - 1992.-Vol.340. - P. 1111-1115.

181. Non-invasive measurement of endothelial function: effect on brachial artery dilatation of graded endothelial dependent and independent stimuli [Text] / P. Leeson [et al.] // Heart. – 1997. – Vol.78(1). – P.22–27.

182. Optimal treatment duration of venous thrombosis [Text] / W. Ageno [et al.] // Thromb Haemost. – 2013. – Vol.11. – P. 151—160.

183. Oral contraceptives and nonfatal cardiovascular disease [Text] / J.B. Porter [et al.] // Obstet. Gynecol. – 1985. – Vol.66. – P.1.

184. Original approach for thrombolytic therapy in patients with ilio-femoral deep vein thrombosis: 2 years follow-up [Text] / L. Friengo [et al.] // Thromb J. – 2015. Vol.13. – P.40.

185. Outcome of venous stenting following catheter directed thrombolysis for acute proximal lower limb venous thrombosis: a prospective study with venous Doppler follow-up at 1-year [Text] / B.C. Srinivas [et al.] // Cardiovasc Interv Ther. – 2015. – Vol.30(4). – P.320-326.

186. Pacher, P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease [Text] / P. Pacher, J.S. Beckman, L. Liaudet // Physiol. Rev. – 2007. – Vol.87, №1. – P. 315-424.

187. Parc, C. Long-term results of catheter-directed thrombolysis combined with iliac vein stenting for iliofemoral deep vein thrombosis [Text] / C. Park, B.J. So [et al.] // *Vasc Specialist Int.* – 2015. – Vol.31(2). – P.47-53.

188. Patients' satisfaction with therapy methods of advanced chronic venous disease [Text] / J. Chudek [et al.] // *International Angiology.* – 2015, ISSN 0392-9590

189. Pesavento, R. Prevention and treatment of the post-thrombotic syndrome and of the chronic thromboembolic pulmonary hypertension [Text] / R. Pesavento, P. Prandoni // *Expert Rev Cardiovasc Ther.* – 2015. – Vol.13(2). – P.193-207.

190. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome [Text] / C.A. Hobbs [et al.] // *Am J Hum Genet.* - 2000. – Vol.67. – P.623-630.

191. Post-thrombotic syndrome: a clinical review [Text] / M.J. Baldwin [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2013. – Vol.11. – P.795.

192. Post-thrombotic syndrome after catheter-directed thrombolysis for deep vein thrombosis (CaVenT): 5-year follow-up results of an open-label, randomised controlled trial [Text] / Y. Haig [et al.] // *Lancet Haematol.* – 2016. – Vol. 3(2). – P. 64-71.

193. Predictors of the post-thrombotic syndrome with non-invasive venous examinations in patients 6 weeks after a first episode of deep vein thrombosis [Text] / L.W. Tick [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2010. – Vol.8. – P.2685.

194. Prevalence of post-thrombotic syndrome after cardiac catheterization [Text] / M.J. Luceri [et al.] // *Pediatr Blood Cancer.* – 2015. – Vol.62(7). – P.1222-1227.

195. Price D.T. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical perspective [Text] / D.T. Price, P.M. Ridker // *Ann Intern Med.* – 1997. – Vol.127. – P.895—903.

196. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited / A.S. Wolberg [et al.] // *Anesth. Analg.* – 2012. – Vol.114, issue 2. – P. 275-285.

197. Prospective study of natural history of deep vein thrombosis: early predictors of poor late outcomes [Text] / A.M. van Rij [et al.] // *Ann Vasc Surg.* – 2013. – Vol.27. – P.924.

198. Protective effect of diosmin against diabetic neuropathy in experimental rats [Text] / D. Jain [et al.] // *Journal of integrative medicine.* – 2014. – Vol.12, №1. – P.35-41.

199. Rabinovich, A. Predictive value of markers of inflammation in the postthrombotic syndrome: a systematic review: inflammatory biomarkers and PTS [Text] / A. Rabinovich, J.M. Cohen, S.R. Kahn // *Thromb Res.* – 2015. – Vol.136(2). – P.289-297.

200. Ramelet, A.A. Daflon 500 mg: symptoms and edema: clinical update [Text] / A.A. Ramelet // *Angiology.* – 2005. – Vol.56 (Suppl. 1). – P. 25-31

201. Rapid non-invasive analysis of vascular function in pre-eclampsia [Text] / L.C Melson [et al.] // *Hypertens. Pregnancy J.* – 2000. – Vol.19 (Suppl. 1). – P. 120-124.

202. Relationship between peripheral and coronary function using laser doppler imaging and transthoracic echocardiography [Text] / F. Khan [et al.] // *Clin Sci (Lond).* – 2008. – Vol.115(9). – P.295–300.

203. Relationship between venous and arterial thrombosis: a review of the literature from a causal perspective [Text] / W.M. Lijfering [et al.] // *Seminars in thrombosis and hemostasis.* – 2011. – Vol.37, №8. – P. 885-896.

204. Risk of post-thrombotic syndrome after subtherapeutic warfarin anticoagulation for a first unprovoked deep vein thrombosis: results from the REVERSE study [Text] / R.S. Chitsike [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2012. – Vol.10. – P.2039.

205. Rosendaal, F.R. Genetics of venous thrombosis [Text] / F.R. Rosendaal, P.H. Reitsma // *J Thromb Haemost.* – 2009. – Vol.7(1). – P. 301—304.
206. Roussin A. Effective management of acute deep vein thrombosis: direct oral anticoagulants [Text] / A. Roussin // *International Angiology.* – 2015. – Vol.34(1). – P.16-29.
207. Sanjay P. Assessment of vascular disease using arterial flow mediated dilatation [Text] / P. Sanjay, D.S. Celermajer // *Pharmacological reports.* – 2006. – Vol.57. – P.3-7.
208. Schulman, S. How I treat with anticoagulants in 2012: new and old anticoagulants, and when and how to switch [Text] / S. Schulman, M.A. Crowther // *Blood.* – 2012. – Vol.119. – P. 3016—3023.
209. Silambarasan, T. Diosmin, a bioflavonoid reverses alterations in blood pressure, nitric oxide, lipid peroxides and antioxidant status in DOCA-salt induced hypertensive rats [Text] / T. Silambarasan, B. Raja // *Eur. J. Pharmacol.* – 2012. – Vol.679, №1-3. – P. 81-89.
210. Sinescu, C. Idiopathic venous thromboembolism and thrombophilia [Text] / C. Sinescu, M. Hostiuc, D. Bartos // *J Med Life.* – 2011. – Vol.4(1). – P. 57—62.
211. Six-month exercise training program to treat post-thrombotic syndrome: a randomized controlled two-centre trial [Text] / S.R. Kahn [et al.] // *CMAJ.* – 2011. – Vol.183. – P.37.
212. Skuterud Wik, H. Long-term outcome after pregnancy-related venous thrombosis [Text] / H. Skuterud Wik, A. Flem Jacobsen, P. Morten Sandset // *Thromb Res.* – 2015. – Vol.135(1). – P.1-4.
213. Smith, P.C. Daflon 500 mg and venous leg ulcer: new results from a metaanalysis [Text] / P.C. Smith // *Angiology.* – 2005. – Vol.56 (Suppl. 1). – P. 3339.

214. Study of prognostic factors and prevalence of post-thrombotic syndrome in patients with deep vein thrombosis in Spain [Text] / J. Ordi [et al.] // *Med Clin.* – 2016. – Vol.146(2). – P.49-54.

215. Subramani, S. Ameliorative effect of diosmin, a citrus flavonoid against streptozotocin-nicotinamide generated oxidative stress induced diabetic rats [Text] / S. Subramani, L. Pari // *Chemico-Biological Interactions.* – 2012. – Vol.195, №1. – P. 43-51.

216. Sulodexide suppresses inflammation in patients with chronic venous insufficiency [Text] / T. Urbanek [et al.] // *International Angiology.* – 2015. – Vol.34(6). – P.589-596.

217. Systemically circulating oxidative species in human deep venous thrombosis [Text] / G. Re [et al.] // *European Journal of Emergency Medicine.* – 1998. - vol. 5. - Vol.1. - P. 9–12.

218. Svensson P.J. Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis [Text] / P.J. Svensson, B. Dahlback // *N Engl J Med.* - 1994. – Vol.330. - P.517-522.

219. ten Cate-Hoek, A.J. Post thrombotic syndrome: are elastic stockings on their last legs? The role of compression in prevention and treatment [Text] / A.J. ten Cate-Hoek [et al.] // *Ned Tijdschr Geneeskd.* – 2015. – Vol.159. – P.8726.

220. The antiphospholipid syndrome-association with venous thrombosis and endothelial dysfunction [Text] / A.L. Dumitrascu [et al.] // *Ultraschall in Med.* – 2006. – Vol.27 (Suppl. 1). – P.5-6.

221. The effect of a flavonoid fractions diosmin + hesperidin on radiation-induced acute proctitis in a rat model [Text] / A. Sezer [et al.] // *J. Cancer Res. Ther.* – 2011. – Vol.7, №2. – P. 152-156.

222. The effect of diosmin-hesperidin combination treatment on the lipid profile and oxidative-antioxidative system in high-cholesterol diet-fed rats

[Text] / Y. Alptekin [et al.] // Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2011. – Vol.19, №1. – P. 55-61.

223. The endothelial dysfunction in chronic venous disease: a systematic review [Text] / S. De Franciscis [et al.] // Acta Phlebologica. – 2015. – Vol.16(2). – P.69-76.

224. The folic acid endophenotype and depression in an elderly population [Text] / N. Naumovski [et al.] // J Nutr Health Aging. – 2010. – Vol.14(10). – P.829-833.

225. The protective effect of diosmin on hepatic ischemia reperfusion injury: an experimental study [Text] / Y. Tanrikulu [et al.] // Bosn. J. Basic Med. Sci. – 2013. – Vol.13, №4. – P. 218-224.

226. The role of inflammation in post-thrombotic syndrome after pregnancy-related deep vein thrombosis: A population-based, cross-sectional study [Text] / H.S. Wik [et al.] // Thromb Res. – 2016. – Vol.138. – P.16-21.

227. 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.

228. The Walnut Creek Contraceptive Drug Study: A prospective study of the side effects of oral contraceptives [Text] / S. Ramcharan [et al.] // J. Reprod. Med. – 1980. – Vol.25. – P.360.

229. Thrombophilia and the risk of post-thrombotic syndrome: retrospective cohort observation [Text] / L. Spiezia [et al.] // J Thromb Haemost. – 2010. – Vol.8. – P.211.

230. Tie, H.T. Compression therapy in the prevention of postthrombotic syndrome: a systematic review and meta-analysis [Text] / Medicine. – 2015. – Vol.94(31). – P.1318.

231. 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.

232. 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.

233. Venous thromboembolism in hospitalized patient: a public health crisis [Text] / T. Baglin [et al.] // J Thromb Haemost. – 2009. – Vol.7(1). – P.287-290.

234. Vita, J.A. Endothelial function [Text] / J.A. Vita // Circulation. – 2011. – Vol.124, №25. – P. 906-912.

235. Wahl, U. Thrombosis and post-thrombotic syndrome as a consequence of an accident [Text] / U. Wahl, T. Hirsch // Unfallchirurg. – 2015. – Vol.118(10). P.867-880.

236. Wautrecht, J.C. News in the work-up of deep vein thrombosis (DVT) [Text] / J.C. Wautrecht // Rev Med Brux. – 2015. – Vol.36(4). – P.327-332.

237. Wu, J. Inhibition of inducible nitric oxide synthase promotes vein graft neoadventitial inflammation and remodeling [Text] / J. Wu, R.M. Wadsworth, S. Kennedy // J. Vasc. Res. – 2011. – Vol.48, №2. – P. 141-149.