

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**«Рязанский государственный медицинский университет имени  
академика И.П. Павлова»**

Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Чобанян Артём Александрович

Персонализированный подход к прогнозированию течения  
облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей

3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Сучков Игорь Александрович

Рязань – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	15
1.1 Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей в структуре заболеваний сердечно-сосудистой системы.....	15
1.2 Варианты течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.....	18
1.3 Роль дисфункции эндотелия в прогрессировании облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей .....	23
1.4 Маркеры повреждения эндотелия и их влияние на прогрессирование облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.....	27
1.4.1 Влияние гипергомоцистеинемии на функциональное состояние эндотелия	27
1.4.2 Влияние гиперинсулинемии на функциональное состояние эндотелия .....	28
1.4.3 Влияние гиперхолестеринемии на течение облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей .....	30
1.5 Генетические предикторы различных типов течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей .....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	36
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	46
3.1 Влияние факторов риска и сопутствующей сердечно-сосудистой патологии на течение облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей .....	46
3.2 Функциональное состояние эндотелия у пациентов с различными типами течения ОААНК .....	52

3.3 Влияние факторов, повреждающих эндотелий на течение облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей (гипергомоцистеинемии, гиперинсулинемии, гиперхолестеринемии) .....	57
3.4 Генетические предикторы различных типов течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей .....	74
3.5 Алгоритм персонализированного подхода к ведению пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.	83
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	86
ВЫВОДЫ .....	92
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	95

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АПФ – ангиотензинпревращающий фермент
- БЦА – брахиоцефальные артерии
- ГМК – гладкомышечные клетки
- ЗПА – заболевания периферических артерий
- ИБС – ишемическая болезнь сердца
- ИМбпST – инфаркт миокарда без подъема сегмента ST
- КА – коэффициент атерогенности
- КИНК – критическая ишемия нижних конечностей
- ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
- ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
- ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности
- ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс
- ЛППП – липопротеиды промежуточной плотности
- ОААНК – облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей
- ОКС – острый коронарный синдром
- ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
- ОХ – общий холестерин
- ПИКС – постинфарктный кардиосклероз
- ПСЦ – первичный сосудистый центр
- ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
- УЗДС – ультразвуковое дуплексное сканирование
- ХАН – хроническая артериальная недостаточность
- ХИУПК – хроническая ишемия, угрожающая потерей конечности
- ЦВБ – цереброваскулярная болезнь
- цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
- ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство
- ЭПФ – эндотелинпревращающий фермент
- ЛРС – печеночная липаза

MACE – Major Adverse Cardiac Events

MALE - Major Adverse Limb Events

MMP – матриксная металлопротеиназа

NO – оксид азота (II)

NOS – синтаза оксида азота

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются наиболее частой причиной смерти и инвалидизации населения в развитых странах [56,74,144]. Несмотря на высокие темпы развития оказания помощи пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), заключающиеся в организации первичных сосудистых центров (ПССЦ) с современными рентгеноперационными, в рамках различных госпрограмм, снижение смертности достигается сложнее предполагаемого. Предложенные современные программы профилактики ССЗ также объективно оказываются малоэффективными. Наличие в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний по данным некоторых авторов является предиктором снижения продолжительности жизни на 7,7 лет, в то время как у лиц, перенесших инфаркт миокарда на 9,2 года [144].

Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей (ОААНК) является тяжелейшим многофакторным заболеванием сердечно-сосудистой системы. Безусловно, данное заболевание в меньших случаях приводит к смерти, чем ишемическая болезнь сердца (ИБС) или острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), однако риск развития данных заболеваний в виде осложнений после проведенной высокой ампутации значительно повышается.

По данным ежегодного отчета академика А.В. Покровского 2018 г. за последние 5 лет отмечается 30% прирост количества реконструктивных вмешательств на артериях нижних конечностей, а процент ампутации при критической ишемии нижних конечностей (КИНК) за это время снизился на 3,6% [46].

Проведение реконструктивно-восстановительных операций на артериях нижних конечностей, безусловно, позволяют купировать явления ишемии конечностей, в тех случаях, в которых это возможно, однако, устранить основную причину её возникновения не удастся. Развитие отдаленных осложнений реконструктивных вмешательств из-за прогрессирования атеросклероза приводит

к необходимости проведения повторных операций, при которых риск ампутаций становится еще выше [7,18].

Проведение тяжелой инвалидизирующей высокой ампутации (выше уровня коленного сустава) является следствием невозможности проведения артериальной реконструкции ввиду несостоятельности периферического русла, а выполнение данной операции по жизненным показаниям происходит вследствие развития ишемии конечности, при которой её спасение оказывается невозможным из-за развития необратимых последствий. Прогноз жизни пациентов после перенесенной высокой ампутации весьма неблагоприятен: в течение первого года после операции выживает 1 из 3 пациентов [158].

Для пациентов с ОААНК характерно наличие атеросклеротического поражения и в других сосудистых бассейнах, ввиду генерализованности данного процесса. По данным регистра REACH более чем у 3 из 5 пациентов (61,5%) с ЗПА имеется сопутствующая сердечно-сосудистая патология – ИБС и ЦВБ. Мультифокальность существенно осложняет задачу специалистов, занимающихся реваскуляризацией; пациенты с гемодинамически значимыми нарушениями сразу в нескольких бассейнах требуют индивидуального подхода и этапности проведения реконструкций. По данным регистра GRACE стационарная смертность после перенесенного ОКС составила 4,5% у пациентов без признаков атеросклероза в других бассейнах, 7,2% у пациентов с сопутствующим атеросклерозом аорты и артерий нижних конечностей, 8,9% у пациентов с перенесенным острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК), а максимальной (9,4%) оказалась в группе, где сочетались два ранее перечисленных предиктора [138].

Большинство пациентов обращаются к сосудистому хирургу на IIБ стадии заболевания по классификации А.В. Покровского-Фонтейна [102]. Именно на данной стадии возникают боли в нижних конечностях при ходьбе на менее протяженные расстояния (до 200 метров), заставляющие пациентов обратиться к профильному специалисту. Исследование LIFE показало, что только 5% пациентов с ЗПА имеют типичную клиническую картину, 30% пациентов имеют

нетипичные проявления, а 65% пациентов переносят данное заболевание асимптомно. По данным Hirsch АТ риск смерти у пациентов с асимптомным течением ЗПА в 5 раз выше, чем у лиц без ЗПА, а при наличии тяжелого симптомного течения увеличивается до 11 раз [117].

По данным разных авторов, степень хронической артериальной недостаточности (ХАН) у 10-40% имеет тенденцию к прогрессированию, а в остальных случаях остается неизменной с момента манифестирования заболевания [53,102]. При оценке пятилетнего прогноза для конечности – в 4-27% случаев проводится ампутация конечности, 70-80% случаев заболевание носит стабильный характер, а в 10-20% случаев отмечается прогрессирование перемежающейся хромоты [158,147]. Именно эти наблюдения помогают сформировать предположение о том, что у всех пациентов ОААНК протекает по-разному. Однако, на сегодняшний день определений и характеристик «типов течения ОААНК» не существует. В случае развития острой ишемии конечности неблагоприятные сердечно-сосудистые события развиваются в 11,7% случаев, смерть наступает у 12,1% пациентов, рецидив острой ишемии конечности развивается у 24%, ампутацию перенесут 27%, реваскуляризация достигается в 63,2% случаев [84].

Учитывая многофакторность данного заболевания, на его течение может оказывать влияние большое количество как внешних, так и внутренних воздействий. Ведущие роли в профилактике атеросклероза играют отказ от курения и ликвидация гиперхолестеринемии, однако, помимо этих всем известных и наиболее изученных факторов риска есть те, роль которых возможно также значима, но менее изучена.

В настоящее время, влияние эндотелиальной дисфункции на развитие ССЗ атеросклеротического генеза не вызывает сомнений. Основным механизмом, запускающим каскад реакций, приводящим к её развитию, является нарушение биодоступности и снижение синтеза оксида азота (II).

Гипергомоцистеинемия – независимый предиктор развития и прогрессирования атеросклероза. Гомоцистеин обладает выраженным



цитотоксическим действием, что приводит к гибели эндотелиоцитов и усилению выраженности эндотелиальной дисфункции.

Важную роль в прогрессировании атеросклеротического процесса играют нарушения углеводного и липидного обменов. Гиперинсулинемия является важным фактором, повреждающим эндотелий, а гиперхолестеринемия - широко изученный маркер атеросклероза.

Исследование генетических маркеров ОААНК позволяет оценить прогноз течения данного заболевания. Полиморфизм -250G>A гена LIPC был изучен в проекции ОААНК, однако, литературных данных о его влиянии на течение заболевания нет. Влияние полиморфного маркера -1607insG гена MMP1 на прогрессирование атеросклеротического процесса ранее не изучалось.

Для пациентов с ОААНК в подавляющем большинстве случаев оперативное лечение предлагается лишь при развитии КИНК, обосновывая данный подход высокими рисками реваскуляризирующих операций [114,128]. Однако, во многих случаях проведение реконструкции остается невозможным ввиду отсутствия русла оттока, в том числе из-за упущенного времени, в связи с ускоренной гибелью периферического русла в условиях отсутствия магистрального кровотока.

Изучение и характеристика типов течения ОААНК, исследование факторов риска развития неблагоприятного течения заболевания, является важной перспективной задачей.

С учетом вышеизложенного были определены цель и задачи данного диссертационного исследования.

### **Степень разработанности темы**

Проблема прогрессирующего течения ОААНК ранее изучалась некоторыми учеными. В 2011 г. авторы А.В. Казанцев и Е.А. Корымасов, исследовав пациентов со IIБ стадией ОААНК (по классификации А.В.Покровского – Фонтейна), предложили их разделять на две группы – с прогрессирующим и не прогрессирующим течением [19]. Критериями деления на группы служили

следующие признаки: уменьшение дистанции безболевого ходьбы в течение года, длительность заболевания, сохранение эффекта от консервативной терапии.

В.А. Лазаренко и соавторы также в 2011 г. опубликовали данные о разном снижении резерва капиллярного кровотока у пациентов с поражением различных сегментов артериального русла нижних конечностей [38].

По данным Р.Н. Шишиной и Т.А. Пчелинцевой, клиническое течение ОААНК у молодых пациентов характеризуется чаще острым началом заболевания в виде тромбозов и поражением одного сегмента, в то время как зрелые пациенты чаще страдают мультифокальным и многоуровневым атеросклерозом, однако, раннее начало ассоциируется с более злокачественным темпом вовлечения в патологический процесс [71].

По нашему мнению, основным критерием прогрессирующего течения ОААНК служит развитие КИНК. Безусловно, качество жизни пациентов даже с минимальными степенями хронической артериальной недостаточности снижено, но отсутствие критической ишемии способствует снижению риска потери конечности. В настоящее время четких критериев, характеризующих понятие «тип течения» ОААНК в литературе не описано.

### **Цель исследования**

Улучшение результатов диагностики, прогнозирования и лечения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей путем определения типа течения заболевания.

### **Задачи исследования**

1. Определение и характеристика понятия «тип течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей», а также выявление факторов риска развития неблагоприятного типа течения данного заболевания;

2. Изучение уровня маркеров функционального состояния эндотелия у пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей;

3. Изучение уровня веществ, повреждающих эндотелий при различных типах течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей;

4. Изучение генетических маркеров неблагоприятного типа течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей;

5. Формирование алгоритма персонализированного подхода к ведению пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.

### **Научная новизна**

Введены и охарактеризованы понятия «неблагоприятный» и «условно благоприятный тип течения» облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей;

Проведено изучение уровня маркеров функционального состояния эндотелия у пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей (средний уровень стабильных метаболитов оксида азота составил  $88,5 \pm 7,3$  мкмоль/л у пациентов с неблагоприятным типом течения;  $161,5 \pm 8,6$  мкмоль/л у пациентов с условно благоприятным типом течения; средний уровень эндотелина-1 составил:  $2,1 \pm 0,1$  нг/мл у пациентов с неблагоприятным типом течения;  $1,6 \pm 0,1$  нг/мл у пациентов с условно благоприятным типом течения);

Изучен уровень биохимических предикторов различных типов течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей (средний уровень гомоцистеина составил:  $20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л у пациентов с неблагоприятным типом течения;  $18,1 \pm 0,6$  мкмоль/л у пациентов с условно благоприятным типом течения; средний уровень базального инсулина составил:  $24,9 \pm 4,6$  мМЕ/л у пациентов с неблагоприятным типом течения;  $8,0 \pm 0,7$  мМЕ/л у пациентов с условно благоприятным типом течения);

Выявлены генетические маркеры неблагоприятного типа течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей (носительство патологического аллеля А полиморфного маркера -250G>А гена LIPC ассоциируется с развитием неблагоприятного типа течения ОААНК);

Сформирован алгоритм персонализированного подхода к ведению пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.

### **Теоретическая значимость работы**

Изучение функционального состояния эндотелия, маркеров его повреждения и генетических предикторов у пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза позволяет расширить теоретические знания об эндотелии, а также определить их место в решении проблемы прогрессирования периферического атеросклероза.

### **Практическая значимость работы**

1. Исследование типов течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей позволило сформировать индивидуальную стратегию в лечении данных пациентов;

2. Изучение биохимических и генетических маркеров-предикторов различных типов течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей позволит в дальнейшем заблаговременно определять тип течения и более точно определять прогноз данного заболевания.

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

1. Определение типа течения облитерирующего атеросклероза необходимо проводить у всех пациентов с данным заболеванием с целью определения индивидуальной стратегии лечения;

2. Функциональное состояние эндотелия существенно отличается у пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей, а сниженный уровень стабильных метаболитов оксида азота, с одновременным повышением уровня эндотелина-1 является предиктором неблагоприятного течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей и свидетельствовать о сниженном эндотелиальном резерве у последних;

3. Определение уровня гомоцистеина, базального инсулина, общего холестерина, липопротеидов низкой плотности и расчет коэффициента

атерогенности имеет прогностическое значение в выявлении неблагоприятного типа течения ОААНК;

4. Наличие неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в анамнезе (инфарктов и инсультов) является предиктором неблагоприятного течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей;

5. Носительство патологического аллеля А в полиморфизме -250 G>A гена LIPС ассоциируется с развитием неблагоприятного типа течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.

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

Основные положения диссертации внедрены в клиническую практику отделений сосудистой хирургии ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи», ГБУ РО «Областной клинический кардиологический диспансер», ГБУ РО «Областная клиническая больница», отделений областной консультативно-диспансерной поликлиники ГБУ РО «Областной клинический кардиологический диспансер», а также в учебный процесс студентов, ординаторов и аспирантов кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии.

#### **Степень достоверности результатов**

Достоверность результатов обеспечена достаточным объемом проведенного исследования с использованием современных лабораторных (иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция) и инструментальных (ультразвуковая доплеросфигмоманометрия, ультразвуковое дуплексное сканирование, ангиография) методов исследования.

#### **Апробация работы**

Результаты данной диссертации были доложены и обсуждены на VI съезде хирургов Юга России (2019 г. Ростов-на-Дону), на XXV Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (2019 г. Москва), на V Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» (2019 г. Рязань), на XXIX World Congress of the International Union of Angiology (2020).

## **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 4 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Получен патент РФ на изобретение № 2722159 «Способ прогнозирования течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей». Получен приоритет на изобретение «Способ прогнозирования неблагоприятного течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей».

## **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 114 страницах и включает в себя следующие разделы: оглавление, список сокращений, введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования и их обсуждений, выводы, практические рекомендации, список используемой литературы. Материал иллюстрирован 20 рисунками, 21 таблицей и 4 клиническими примерами.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей в структуре заболеваний сердечно-сосудистой системы

На сегодняшний день болезни сердечно-сосудистой системы являются наиболее распространенными в развитых странах и разделяют первенство с онкологическими заболеваниями. Обращает на себя внимание и схожесть в прогнозе данных заболеваний. Даже наличие в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний по данным некоторых авторов является предиктором снижения продолжительности жизни на 7,7 лет, в то время как у лиц, перенесших инфаркт миокарда на 9,2 года [144].

Атеросклероз является генерализованным процессом, и с достаточно большой долей вероятности можно встретить у исследуемого пациента атеросклеротические изменения в разных сосудистых бассейнах [11,67,146]. Большинство пациентов с заболеваниями периферических артерий (ЗПА) имеет сопутствующее поражение другого сосудистого бассейна. Об этом достаточно наглядно описано в регистре REACH, где в период с 2003 по 2004 гг. было включено 67888 пациентов, где более чем у 3 из 5 пациентов с ЗПА было выявлено атеросклеротическое поражение цереброваскулярного или коронарного бассейна, а у 2% пациентов определены гемодинамические нарушения во всех трех бассейнах. Основными причинами, за счет которых снижается продолжительность жизни пациентов с ЗПА, являются инфаркт миокарда и ишемический инсульт – риск данных событий в этой группе достаточно высок, однако он становится еще выше у пациентов с мультифокальным атеросклерозом [153].

В регистре GRACE исследовался риск неблагоприятных сосудистых событий в течение 6 месяцев у 32735 пациентов, перенесших острый коронарный синдром (ОКС). Смертность в стационаре составила 4,5% у пациентов без признаков атеросклероза в других бассейнах, 7,2% у пациентов с сопутствующим атеросклерозом аорты и артерий нижних конечностей, 8,9% у пациентов с перенесенным острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК), а

максимальной (9,4%) оказалась в группе, где сочетались два ранее перечисленных предиктора [138].

По данным Subherwal S. и соавторов, исследовавших пациентов с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST (ИМбпST) в течение трех лет, смертность также повышается с увеличением количества поврежденных атеросклерозом артериальных бассейнов. По результатам исследования смертность составила 33% с изолированной ИБС, 49% при вовлечении в процесс периферических артерий и аорты, 52% с ЦВБ и 59% при выявлении атеросклероза во всех трех сосудистых бассейнах [155].

Если посмотреть на данную проблему со стороны пациентов с симптомным ОААНК, то среди них более чем 40% страдают сопутствующими стабильными формами ИБС, 35% имеют постинфарктный кардиосклероз (ПИКС), у 23% в анамнезе было чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ), а у 20% операции коронарного шунтирования [62].

По данным некоторых авторов в течение 1 года у пациентов с ЗПА без упоминания о инфарктах и инсультах в анамнезе наблюдаются следующие исходы: 1,8 % - сердечно-сосудистая смерть, 1,4% - не сердечно-сосудистая смерть, 1,9% - инфаркт миокарда, 1% - госпитализация по поводу нестабильной стенокардии, 0,9% - ишемический инсульт, 1,3% - острая ишемия конечности, 1,2 % - ампутация [84]. В случае развития острой ишемии конечности неблагоприятные сердечно-сосудистые события развиваются в 11,7% случаев, смерть наступает у 12,1% пациентов, рецидив острой ишемии конечности развивается у 24%, ампутацию перенесут 27%, реваскуляризация достигается в 63,2% случаев.

Проблема лечения пациентов с ЗПА ввиду высокого риска развития неблагоприятных сосудистых событий на сегодняшний день является актуальной и требует поиска мультидисциплинарных решений. В настоящее время введены следующие понятия, отражающие нежелательные явления у пациентов с ЗПА: Major Adverse Cardiac Events (MACE) – нежелательные исходы, характерные для всех сердечно-сосудистых событий (инсульт, инфаркт, сердечно-сосудистая



смерть) и Major Adverse Limb Events (MALE) – нежелательные исходы со стороны конечности, включающие в себя острую, хроническую критическую ишемию и ампутацию конечности [43].

Одним из наиболее неблагоприятных прогностических признаков у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК) является развитие критической ишемии нижних конечностей (КИНК) или хронической ишемии угрожающей потерей конечности (ХИУПК). В случае развития КИНК общий прогноз достаточно драматичен и сопоставим с исходами злокачественных новообразований [158]. В литературе также описано, что с увеличением тяжести течения ЗПА повышается риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний. По данным Hirsch AT риск смерти у пациентов с асимптомным течением ЗПА в 5 раз выше, чем у лиц без ЗПА, а при наличии тяжелого симптомного течения увеличивается до 11 раз [117].

Говоря о пациентах перенесших малую ампутацию (ниже уровня коленного сустава), стоит отметить более благополучный прогноз в раннем послеоперационном периоде. Первичное выздоровление ожидает 60% пациентов, вторичное 15%, переход к высокой ампутации происходит в 15% случаев, периоперационная летальность составляет 10%. В отдаленном периоде (через 2 года) можно наблюдать следующую картину: 30% пациентов умрет, в 15% случаев будет выполнена ампутация контралатеральной конечности, 15% ожидает высокая ампутация, а 40% пациентов будут страдать тяжелыми формами ИБС и ЦВБ [82].

Перспективной задачей всех сообществ, занимающихся заболеваниями сердечно-сосудистой системы, является формирование персонализированного подхода к пациентам с атеросклерозом любых сосудистых бассейнов. Учитывая доказанную высокую связанность всех сердечно-сосудистых заболеваний, генерализованность процесса, необходимо адекватно прогнозировать неблагоприятные сердечно-сосудистые события. Для пациентов с ОААНК важно грамотно подходить к оценке прогноза MACE, ввиду высоких рисков их развития как при проведении реконструктивно-восстановительных операций на аорте и

артериях нижних конечностей, так и при назначении агрессивной консервативной терапии.

## **1.2 Варианты течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей (ОААНК) – заболевание, включающее в себя несколько нозологических форм, требующее индивидуального подхода к диагностике и лечению. В настоящее время разработано большое количество консервативных, хирургических и эндоваскулярных способов лечения данного заболевания, которые, не устраняя прогрессирование атеросклеротического процесса, позволяют купировать критическую ишемию нижних конечностей (КИНК).

Вопрос своевременности оказания хирургического пособия остается открытым и широко обсуждаемым среди сосудистых хирургов. Большинство специалистов считают, что оперативное лечение показано исключительно пациентам с уже имеющейся ишемией, угрожающей потерей конечности (III-IV стадии заболевания по Фонтейну-Покровскому), обосновывая высокими рисками осложнений реконструктивно-восстановительных операций. В то же самое время, сосудистые хирурги достаточно часто ( $\approx 20\%$  случаев от всех пациентов с КИНК) встречаются с несостоятельностью периферического русла и, как следствие, невозможностью проведения реконструкции (рис. 1).

В современных клинических рекомендациях по лечению хронической ишемии нижних конечностей IIБ стадия заболевания отмечена как относительное показание к оперативному лечению, однако, четких критериев и условий выбора метода лечения на данный момент нет [43].

Прогноз же при развитии КИНК сопоставим с исходами злокачественных онкологических новообразований: риск смерти в первый год после формирования КИНК составляет 25%, в то время как риск потери конечности – 30% [158]. Масштабный метаанализ определил преобладание (91%) IC стадии ОААНК по

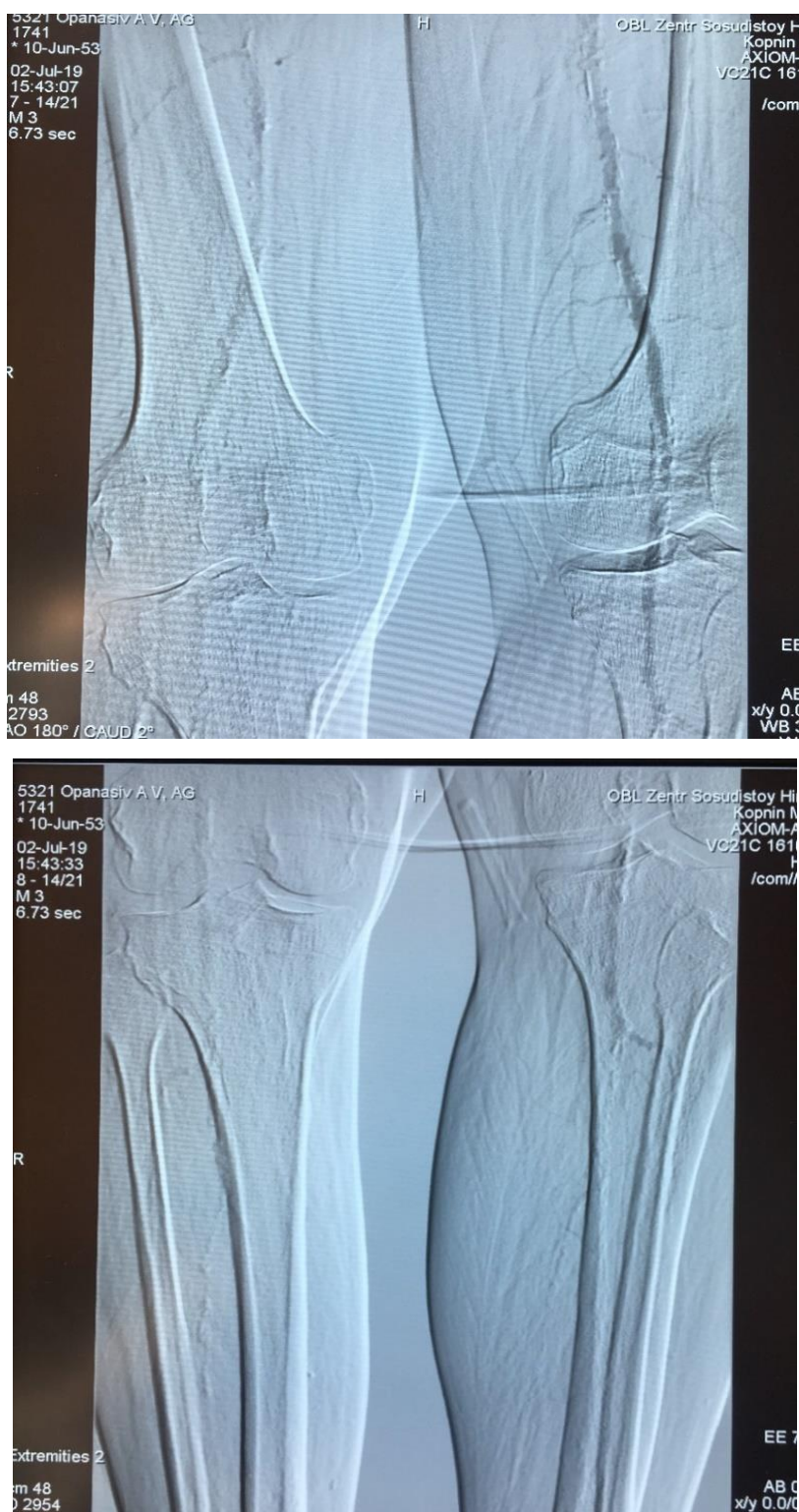


Рис. 1 - Аортоартериография. Ангиограммы пациента с несостоятельным периферическим руслом артерий нижних конечностей (окклюзия подколенных артерий и артерий голени с обеих сторон)

Рутерфорду (соответствует IIБ стадии заболевания по Фонтейну-Покровскому), однако, у 21% этих больных в дальнейшем регистрировалась КИНК и 4-27% из них были проведены ампутации [102]. По данным В.С. Савельева, у 10-40%

больных спустя 3-5 лет от манифестации заболевания развиваются гнойно-некротические дефекты конечностей, в то время как у 60-90% пациентов степень хронической ишемии конечности не прогрессирует [53].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что течение и скорость прогрессирования хронической ишемии у пациентов с ОААНК носят сугубо индивидуальный характер. Однако, компенсаторные механизмы данных явлений не изучены.

Наблюдения за пациентами, получившие подтверждение в литературе, порождают гипотезу о различном течении ОААНК. А.В. Казанцев предложил разделять типы течения заболевания по следующим параметрам: уменьшению дистанции безболевого ходьбы в течение года, эффективности консервативного лечения и длительности заболевания [19].

Таким образом, суммируя данные литературы, к течению ОААНК следует относить следующие понятия: тяжесть ишемии конечности, возраст начала заболевания, скорость прогрессирования симптомов. Возможность определения типа течения заболевания, вероятно, поможет определять прогноз и создавать индивидуальную стратегию лечения пациента. На современном этапе развития сосудистой хирургии отсутствуют определения и классификация данных понятий. Их наличие поможет более адекватно оценивать своевременность оперативного лечения, однако, на данный момент, предикторы различного течения ОААНК остаются не изученными.

Одним из наиболее важных механизмов компенсации кровообращения у пациентов с ОААНК является развитие коллатерального кровообращения. Учитывая, что при разном уровне поражения артерий нижних конечностей включаются разные вспомогательные бассейны, течение заболевания и выраженность симптоматики может значительно отличаться [31].

В.А. Лазаренко и соавторы в 2011 г. опубликовали данные о разном снижении резерва капиллярного кровотока у пациентов с поражением различных сегментов артериального русла нижних конечностей. При окклюзии артерий аорто-подвздошного сегмента капиллярный резерв снижается более чем в

половину (58,12%), у пациентов с бедренно-подколенными и дистальными окклюзиями отмечается примерно равное снижение (38,78% и 39,78%), вероятно связанное со слабым развитием коллатералей у последних [38], роль которых трудно переоценить в компенсации кровообращения в условиях ишемии [21].

Некоторые авторы отмечают взаимосвязь между возрастом манифестации ОААНК и уровнем поражения. Выявлено, что у пациентов молодого возраста статистически чаще встречаются высокие окклюзии (аорто-подвздошные и подвздошно-бедренные), в то время как у зрелых и пожилых бедренно-подколенные [44,71]. По данным Р.Н. Шишиной и Т.А. Пчелинцевой, клиническое течение ОААНК у молодых пациентов характеризуется чаще острым началом заболевания в виде тромбозов и поражением одного сегмента, в то время как зрелые пациенты чаще страдают мультифокальным и многоуровневым атеросклерозом, однако, раннее начало ассоциируется с более злокачественным темпом вовлечения в патологический процесс [71]. В тоже время многоуровневые поражения являются более сложной задачей для специалистов, занимающихся реваскуляризацией.

Большое количество эпидемиологических исследований демонстрирует в два раза более частую встречаемость атеросклероза периферических артерий у мужчин. Фремингемское исследование показало распространённость ЗПА у мужчин 1,9% и 0,8% у женщин (соотношение 2,38) [139]; в Роттердамском исследовании – 2,2% и 1,2% (соотношение 1,83) соответственно [137]. Такое различие, по данным некоторых авторов связано с ведением менее здорового образа жизни лицами мужского пола.

Этническая принадлежность, как не модифицируемый фактор риска, имеет корреляцию с течением периферического атеросклероза. Оценивая этническую специфику в США у пяти этнических групп (не испаноязычные белые, латиноамериканцы, афроамериканцы, азиатские американцы и коренные американцы), было определено более злокачественное течение заболевания у афроамериканцев [75]. Локализация поражения так же имела определенные различия в данном исследовании. У азиатов и афроамериканцев преобладающий

уровень – берцовые артерии, в то время как европеоидная раса чаще страдает окклюзиями проксимальных сегментов [91,119]. Наиболее распространенным уровнем атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей у русских является бедренно-подколенный сегмент [10].

Наличие у пациентов с облитерирующим атеросклерозом сопутствующего сахарного диабета является предиктором неблагоприятного течения заболевания. Исследования отражают взаимосвязь между продолжительностью, тяжестью диабета, инсулинопотребность с тяжелой хронической ишемией нижних конечностей [76,125]. Приблизительно в пять раз увеличивается вероятность ампутации конечности, и в три раза летальность от сердечно-сосудистой катастрофы [123]. Наиболее распространенной локализацией атеросклеротического поражения при сахарном диабете является дистальный сегмент [115], что представляет определенные трудности в сохранении конечности, в связи с более частой несостоятельностью периферического русла у данной когорты пациентов. Кроме ишемии, особую проблему представляют язвенные дефекты стоп, не имеющие тенденцию к заживлению без реваскуляризации. В данном случае инфекция усугубляет риск ампутации конечности [106,160]. Объективные данные о влиянии гиперинсулинемии (важного предиктора развития сахарного диабета) на течение ОААНК в литературе отсутствуют.

На сегодняшний день анализ литературных данных показал, что взаимосвязь между уровнем окклюзии и тяжестью течения существует, но остается неизученным вопрос поражение какого сегмента артериального бассейна нижних конечностей наиболее скоротечно приводит к стадии хронической ишемии угрожающей потере конечности. Исследование и длительное наблюдение за пациентами с различной локализацией окклюзий, а также других факторов риска, возможно, внесло бы определенный вклад в формирование концепции прогнозирования течения.

### **1.3 Роль дисфункции эндотелия в прогрессировании облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

В современном представлении эндотелий – активный эндокринный орган, дисфункция которого является основным звеном патогенеза всех сердечно-сосудистых заболеваний [26]. Эндотелий поддерживает сосудистый гемостаз, осуществляя свои функции, такие как: регуляция тонуса сосудов, транспорта растворенных веществ в клетки сосудистой стенки, хемотаксических, воспалительных и репаративных процессов в ответ на повреждение; контроль адгезии и агрегации тромбоцитов, продуктов метаболизма и диффузии воды [77,40,41]. Свои функции эндотелий реализовывает с помощью синтеза и выделения биологически активных соединений [64].

Дисфункция эндотелия – нарушение равновесия между медиаторами, способствующих адекватной поддержке функционирования всей системы, возникающая при воздействии повреждающих факторов [48]. В проекции типов течения ОААНК дисфункция эндотелия, возможно, имеет ведущую роль, в связи с различной геномикой и метаболомикой конкретного индивидуума. Эндотелий постоянно подвергается воздействию большим количеством факторов, повреждающих его поверхность [34], на что в свою очередь клетки эндотелия формируют ответ в виде синтеза и выделения различных вазоактивных веществ. При смещении равновесия между выделенными вазоконстрикторами и вазодилататорами формируется локальный спазм и повышение тонуса сосудистой стенки, что в дальнейшем приводит к декомпенсации дилатирующей способности эндотелия и извращением ответа эндотелиальных клеток даже в физиологических условиях в сторону вазоконстрикции и пролиферации [66].

Перестройка функций эндотелия происходит в три основных этапа (Voos С.Л., 2000):

- 1 стадия – повышение синтетической активности клеток эндотелия;
- 2 стадия – нарушение баланса между медиаторами, регулирующими тонус сосуда, гемостатическую систему и межклеточные взаимодействия. Нарушается

барьерная функция эндотелия – повышается проницаемость для различных компонентов плазмы крови;

3 стадия – гибель клеток эндотелия, приводящая к истощению функций эндотелия; замедление регенеративных процессов [70].

В свою очередь дисфункция эндотелия является многосоставным процессом, основными этапами которого являются:

1. Нарушение биодоступности NO (большинство научных школ считает именно этот этап основным в формировании дисфункции эндотелия);

2. Повышение активности ангиотензинпревращающего (АПФ) фермента на поверхности клеток эндотелия;

3. Повышение синтеза вазоконстрикторов, основным из которых является эндотелин – 1 эндотелиальными клетками;

4. Нарушение целостности эндотелия – в интиме появляются участки, не покрытые эндотелием.

В атеросклеротически измененных артериях функциональность эндотелия ограничена ввиду его поврежденности и замедления процессов регенерации. Нарушение функций эндотелия выявлялось и у лиц без атеросклероза, но с факторами риска его развития [118]. Именно этот факт подтверждает то, что эндотелиальная дисфункция – одна из основ сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза и может являться маркером прогрессирования заболевания.

Большинство научных школ в настоящее время считает «пусковым механизмом» каскада процессов, приводящих к дисфункции эндотелия – нарушение биодоступности оксида азота. NO является очень нестойким соединением (срок жизни до 30 секунд); его молекула имеет неспаренный электрон, благодаря которому NO практически моментально может вступать в реакцию с другими соединениями и легко проникать через мембраны и в межклеточные пространства [135]. Образуется оксид азота из L-аргинина под воздействием NO-синтаз (NOS) [48].



Большинство авторов определяет NO как местный тканевой гормон, обладающий ярко выраженным вазодилатационным эффектом [13,69]. NO проникает в цитоплазму гладкомышечных клеток, где вступает в реакцию с одной из своих основных мишеней – гуанилциклазой, катализирующей образование циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). Ионы калия и кальция, высвободившиеся из открывшихся калиевых и кальциевых каналов, способствуют расслаблению гладкой мускулатуры. Именно данный процесс является основным механизмом реализации эффектов NO [110].

В свою очередь, данные процессы приводят к расслаблению гладкой мускулатуры сосудов, происходит торможение пролиферации гладкомышечных клеток и агрегации тромбоцитов [149]. Угнетение пролиферации гладкомышечных клеток препятствует развитию гиперплазии интимы. NO также имеет противовоспалительный эффект; он ингибирует синтез цитокинов и молекул адгезии, способствующих прогрессированию атеросклеротического процесса путем привлечения моноцитов к эндотелию и облегчения попадания их в сосудистую стенку. Существуют данные, свидетельствующие о том, что длительное угнетение синтеза NO способствует развитию воспалительного процесса в стенке сосуда и гиперплазии интимы [151]. По данным J. Edwards NO положительно влияет на регуляцию ремоделирования сосудистой стенки [104].

Одним из важнейших свойств NO является его участие в неоангиогенезе [54]. В условиях ишемии это является одним из важнейших адаптационных механизмов, приводящих к компенсации кровообращения ввиду развития коллатерального русла. Под воздействием NO повышается проницаемость эндотелия – благоприятное условие для миграции эндотелиоцитов.

Основными антагонистами оксида азота являются эндотелины, вырабатываемые в ответ на повреждение эндотелия. На сегодняшний день известны три основные изоформы эндотелина, каждая из которых состоит из 21 аминокислотного остатка: эндотелин-1, -2, -3 [170]. Эндотелин-1 и эндотелин-2 отличаются по своей структуре только двумя аминокислотными остатками. В свою очередь эндотелин-1 образуется из Big-эндотелин под воздействием

эндотелинпревращающего фермента (ЭПФ), располагающегося на поверхности и внутри эндотелия [121,152]. Выраженность вазомоторных свойств у эндотелина-1 выше в 140 раз, чем у Big-эндотелина и продуцируется он только эндотелитальными клетками [72,156].

Эндотелин-1 не накапливается в эндотелиальных клетках; он быстро вырабатывается под воздействием адреналина, ангиотензина II и механических воздействий, что подтверждает факт того, что он образуется в ответ на повреждение эндотелия [167]. В низких концентрациях эндотелин-1 способствует высвобождению эндотелий-релаксирующих факторов, при этом повышенный уровень эндотелина-1 вызывает активацию рецепторов ГМК и стойкий сосудистый спазм [163]. В экспериментальных работах на животных с моделированной гиперхолестеринемией отмечено повышение уровня эндотелина-1. Отмечено повышение уровня эндотелина-1 и у пациентов с подтвержденным атеросклерозом коронарных артерий [120,159]. Установлено, что уровень эндотелина-1 коррелирует с тяжестью поражения коронарного русла и клиническим течением ИБС [50]. На сегодняшний день, к прямым эффектам эндотелинов относят их влияние на ГМК сосудов. При взаимодействии с ними формируется вазоконстрикция, фиброз интимы, активируется митогенез, пролиферация клеток [126].

Арзамасцев Д.Д. в своей диссертации в 2012 г. показал статистически значимое повышение уровня эндотелина-1 у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей при сравнении их с контрольной группой. В 2013 г. Калинин Р.Е. и Сучков И.А. отметили склонность к развитию гиперплазии интимы и тромбозов зон реконструкций у оперированных пациентов по поводу ОААНК с повышенным уровнем эндотелина-1, что также свидетельствует о прогрессировании атеросклероза [26].

Таким образом, функциональное состояние эндотелия у пациентов с различным течением ОААНК может существенно отличаться, а уровень маркеров эндотелиальных факторов являться важным предиктором неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Однако, дисфункция эндотелия – следствие

длительного воздействия на эндотелий повреждающих факторов. Для более ранней возможности определения прогноза заболевания стоит оценивать функциональное состояние эндотелия совместно с уровнем соединений, оказывающих повреждающее действие на эндотелий.

#### **1.4 Маркеры повреждения эндотелия и их влияние на прогрессирование облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

##### **1.4.1 Влияние гипергомоцистеинемии на функциональное состояние эндотелия**

С точки зрения определения прогноза течения заболевания, по нашему мнению, более рационально исследовать уровень веществ, повреждающих сосудистый эндотелий. Эндотелиальная дисфункция – следствие длительного воздействия на эндотелий повреждающих веществ; его функциональная перестройка происходит в несколько этапов. В связи с этим, более ранними предвестниками эндотелиальной дисфункции должны стать именно маркеры повреждения эндотелия.

Одним из таких маркеров может служить гомоцистеин – непотеиногенная аминокислота, биосинтезирующаяся из метионина, который попадает в организм вместе с белками животного происхождения. Оптимальная концентрация гомоцистеина поддерживается двумя основными метаболическими путями: транссульфированием с образованием цистеина или реметилизацией (под действием метионинсинтазы гомоцистеин способен превращаться в метионин) [145]. Для адекватного функционирования данных процессов необходимы: фолиевая кислота, цианокобаламин, рибофлавин и пиридоксин [58]. Дефицит данных веществ может привести к развитию гипергомоцистеинемии [141].

Ученым McCully в 1960-70-х гг. была впервые выявлена связь повышенного уровня гомоцистеина и заболеваний сердечно-сосудистой системы; именно тогда было предложено расценивать гомоцистеин как один из факторов риска развития атеросклероза [105].

К причинам развития гипергомоцистеинемии можно отнести: наследственные ферментопатии, дефицит фолатов, нарушения функции почек [65].

По данным О.П. Шевченко повышенный уровень гомоцистеина оказывает негативное воздействие на эндотелий путем увеличения клеточного апоптоза и ускорения старения эндотелиоцитов [68]. Активируются цитокины и различные другие медиаторы клеточной пролиферации и воспаления.

По данным В.А. Лазаренко 2014 г., повышение уровня гомоцистеина ассоциируется со снижением биодоступности оксида азота – механизмом, запускающим каскад реакций, приводящих к развитию дисфункции эндотелия [37]. Гипергомоцистеинемия способствует прогрессированию атеросклеротического процесса за счет увеличения пролиферации гладкомышечных клеток.

Отмечено участие гомоцистеина в реакциях окисления, в процессе которых образуются свободные радикалы, участвующие в блокировке ферментов окислительно-восстановительных реакциях. Данный процесс является основополагающим в теории «оксидативного стресса» [63].

Имеются данные, о том, что гипергомоцистеинемия является прогностическим маркером высокого риска развития атеросклероза коронарных, церебральных и периферических артерий [88], а также прогрессирования атеросклеротического процесса в этих артериях [63], окклюзии венозных аортокоронарных шунтов [122] и рестенозов после чрескожных коронарных вмешательствах [129]. Правильная интерпретация результатов исследования уровня гомоцистеина в совокупности с другими параметрами и клиническим статусом пациентов с ОААНК в дальнейшем поможет определять прогноз данного заболевания и тяжесть его течения.

#### **1.4.2 Влияние гиперинсулинемии на функциональное состояние эндотелия**

Еще одним ценным с точки зрения прогнозирования течения ОААНК маркером может являться уровень инсулина. Он является гормоном, участвующим во всех видах обмена веществ в организме [57]. Инсулин

игнибирует липолиз в печени и жировой ткани, влияя, таким образом, на клиренс липопротеидов низкой и очень низкой плотности – важных маркеров развития атеросклероза [85,113].

Гиперинсулинемия – следствие развившейся инсулинорезистентности, из-за которой по данным Ю.И. Строева формируется «додиабетическая» гипергликемия, способствующая развитию ангиопатии [61].

В работе И.Х. Валеевой и соавторов было отмечено повышение уровня атерогенных фракций липопротеидов у лиц с сопутствующей базальной гиперинсулинемией, а также отмечены начальные проявления дисфункции эндотелия [3].

В условиях гиперинсулинемии некоторые органы и ткани селективно становятся более чувствительными к инсулину [39,143]; эндотелий является в данной ситуации «органом-мишенью». Доказано, что гиперинсулинемия ассоциируется с повышением уровня эндотелина-1 и снижением синтеза оксида азота (II). В состоянии нарушенного баланса между медиаторами, выделяемыми эндотелием, формируются условия для прогрессирования атеросклеротического процесса. Также гиперинсулинемия способствует пролиферации гладкомышечных клеток [150].

Одним из важнейших факторов риска большинства сердечно-сосудистых заболеваний является артериальная гипертензия. Г.А. Екимовским описаны следующие механизмы влияния гиперинсулинемии на артериальное давление:

1) блокировка трансмембранных ионообменных механизмов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  зависимой АТФазы), что приводит к повышению содержания внутриклеточного  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  и уменьшению содержания ионов  $\text{K}^+$ .

2) Уменьшение содержания  $\text{K}^+$  приводит к тому, что сосудистая стенка становится более чувствительной к прессорным воздействиям.

3) В условиях гиперинсулинемии повышается реабсорбция  $\text{Na}^+$  в канальцах нефрона, что приводит к задержке жидкости и развитию гиперволемии и повышению содержания ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  в стенках сосудов.

Также гиперинсулинемия способствует пролиферации гладкомышечных клеток сосудистой стенки, что влечет за собой сужение артериол и увеличение периферического сосудистого сопротивления, повышается сосудистый тонус за счет стимуляции активности симпатической нервной системы. Описанные механизмы приводят к развитию стойкой артериальной гипертензии [132,168].

Сваровская А.В. и соавторы в 2020 году в своей работе показали определенную прогностическую значимость уровня инсулина с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов перенесших ЧКВ [55]. Повышенный уровень инсулина приводит к повышению симпатического тонуса, что в свою очередь повышает сердечный выброс и вазоконстрикцию. В норме инсулин обладает прямым вазодилатирующим действием; инсулининдуцируемая вазодилатация является полностью NO-зависимой.

#### **1.4.3 Влияние гиперхолестеринемии на течение облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

Холестериновой теории развития атеросклероза на сегодняшний день порядка 100 лет. Впервые была создана модель атеросклероза на кроликах А.И. Игнатовским в 1908 г.; животных скармливали яичным желтком, где отмечается повышенное содержание холестерина. В свою очередь Н.Н. Аничков в 1912 году изучал влияние растворенного в растительном масле холестерина кроликам. В обоих случаях у животных формировалось поражение аорты, сходное с человеком. По данным Н.Н. Аничкова и С.С. Халатова, развитие атеросклероза всегда происходит одинаково, а основной причиной развития данного патологического состояния является отложение липидов с большой долей холестерина в стенках артерий. Учеными было впервые выдвинуто предположение о том, что атеросклероз является инфильтративно-гиперпластическим [49].

Н.Н. Аничков был абсолютно уверен в том, что без гиперхолестеринемии невозможно развитие атеросклероза, и связывал накопление холестерина именно с первичным нарушением обмена липидов, а не с превышением возможностей организма к метаболизму и экскреции холестерина.

В настоящее время, влияние гиперхолестеринемии на прогрессирование атеросклеротического процесса подтверждено результатами большого количества исследований, а использование статинов и фибратов в качестве препаратов для снижения уровня холестерина входит во все клинические рекомендации и стандарты оказания медицинской помощи пациентам с любой локализацией атеросклероза.

Большинством обывателей термины холестерин и атеросклероз воспринимаются тождественно. Однако, стоит помнить о том, что оценка уровня общего холестерина не всегда бывает объективна, требуется анализ развернутого липидного спектра. Холестерин является нерастворимым в воде веществом и его транспорт к тканям в чистом виде невозможен. В крови холестерин существует в виде растворимых комплексных соединений – липопротеидах. Выделяют: ЛПВП – осуществляющие транспорт холестерина от периферийных тканей к печени; ЛППП, ЛПНП, ЛПОНП – осуществляют транспорт холестерина, триацилглицеридов и фосфолипидов от печени к тканям; хиломикроны – транспорт холестерина и жирных кислот, поступающих с пищей из кишечника к периферическим тканям и печени.

Большой анализ данных, посвященный изучению различных классов липопротеидов, привел к осознанию их неоднородности, различии в размерах и способности откладываться в сосудистой стенке [161]. С данной позиции оказались наиболее изученными ЛПНП. Именно их концентрацию в плазме крови рекомендуется определять с целью прогнозирования риска сердечно-сосудистых заболеваний [116].

Несмотря на успехи и разработки гиполипидемических лекарственных препаратов, остаются пациенты, у которых на фоне достигнутого целевого уровня ЛПНП и общего холестерина, постоянного приема статинов развиваются неблагоприятные сердечно-сосудистые события, что говорит о неминуемом прогрессировании атеросклеротического процесса [14]

По данным 2009 г. Cooney M. и соавторов низкая концентрация в плазме крови ЛПВП является фактором риска атеросклероза [94]. Carnuta M. в 2017 г.

показал, что в условиях хронического воспаления более мелкие частицы ЛПВП становятся дисфункциональными [86].

И.Н. Озернова и соавторы в 2014 г. показали взаимосвязь между содержанием ЛПОНП и стенозами коронарных артерий [45]. По результатам данного исследования было выявлено повышенное содержание ЛПОНП у пациентов с гемодинамически значимыми стенозами коронарных артерий, в отличие от пациентов с незначимыми стенозами. Таким образом, ЛПОНП могут также служить фактором риска прогрессирования атеросклероза, ввиду выявленного отличия его уровня у пациентов с разным по сложности поражением артериального русла.

В работе 2017 г. Т.В. Найден и соавторов были изучены предикторы изолированных и сочетанных атеросклеротических поражений на субклинической стадии. В данном исследовании уровень общего холестерина достоверно был выше у пациентов с сочетанным поражением, что опять же указывает на определенную связь между тяжестью поражения и нарушениями липидного обмена [140].

А.В. Безденежных и соавторами в 2017 г. были опубликованы результаты исследования факторов риска и критериев оценки прогрессирования некоронарного атеросклероза у пациентов после перенесенного коронарного шунтирования. Уровень общего холестерина и ЛПНП по данным этих авторов являются факторами, ассоциированными с прогрессированием некоронарного атеросклероза [81].

Учитывая данные проанализированной литературы, можно говорить о некоторых маркерах липидного спектра не только как о предикторе атеросклероза, но и как о маркерах прогрессирования атеросклеротического процесса, учитывая различия в их уровнях у пациентов с прогрессирующим течением атеросклероза любой локализации. Дальнейшее исследование у пациентов с различными типами течения ОААНК уровня общего холестерина и ЛПНП, а также других фракций липопротеидов помогут определить их роль в оценке прогноза данного заболевания.



## **1.5 Генетические предикторы различных типов течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

С точки зрения прогнозирования течения любых заболеваний наиболее актуальными являются генетические исследования [22,27]. На сегодняшний день в данной области проделан огромный шаг вперед, однако тест-систем для прогнозирования течения ОААНК не существует. Безусловно, точный прогноз заболевания определить практически невозможно, однако, выявить генетические предпосылки развития и прогрессирования периферического атеросклероза является весьма перспективной задачей.

В литературе описаны исследования, посвященные генам эндотелиальной дисфункции. Хорошо изученными являются NOS-1, NOS-2, NOS-3, AGTR1, MTHFR, JAK [79,112,165]. Полиморфизмы данных генов ассоциируются с теми или иными нарушениями, приводящими к развитию эндотелиальной дисфункции.

Длительное время изучается влияние на течение различных заболеваний матриксных металлопротеиназ, относящихся к семейству коллагеназ, способных разрушать все возможные типы белков внеклеточного матрикса. На сегодняшний день известно порядка 20 членов данного семейства.

В литературе описано участие матриксных металлопротеиназ в ангиогенезе, апоптозе и ремоделировании тканей. Большое количество публикаций посвящено о влиянии данных ферментов на состояние соединительной ткани [9,124]. Имеются данные об их разрушающем воздействии на фиброзную покрышку атеросклеротических бляшек, приводящем к её разрыву, следовательно, тромбозу артерии с развитием клиники острого коронарного синдрома [133]. Изучение матриксных металлопротеиназ и их полиморфных маркеров в данном контексте приобретает наиболее актуальный смысл у пациентов с бессимптомным течением атеросклероза в любом сосудистом бассейне, в виде прогнозирования неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, например, таких как первичный тромбоз артерий нижних конечностей.

В работе Иваношука Д.Е. и соавторов изучалось содержание матриксных металлопротеиназ в атеросклеротических очагах разных стадий развития. Были

исследованы уровни MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-9. По результатам исследования было определено повышение концентрации MMP-1, MMP-7, MMP-9 в нестабильных атеросклеротических бляшках [16].

По данным Flex A. 2007 года носительство патологического аллеля 2G полиморфизма -1607insG гена MMP-1 ассоциируется с повышением активности фермента MMP-1, что ведет к более агрессивному разрушению коллагеновых волокон в атеросклеротической бляшке [109]. По данным этого же автора, гомозиготный генотип 2G2G связан с повышенным риском развития атеросклероза артерий нижних конечностей.

Печеночная липаза является ключевым ферментом метаболизма липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), а также участвует в процессе образования более атерогенной фракции – липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) [59]. Под воздействием липопротеинлипазы происходит превращение ЛПОНП в липопротеиды промежуточной плотности (ЛПП), а их превращение в ЛПНП опосредовано воздействием печеночной липазы, в процессе чего высвобождается холестерин (рис. 2) [89].

Исследования полиморфизма -250 G>A гена печеночной липазы (LIPC) показали взаимосвязь с повышенным уровнем инсулина, липопротеидов низкой и очень низкой плотности, что является в свою очередь факторами риска развития и прогрессирования атеросклероза [60].

В исследовании Е.А. Вильмс и соавторов были отмечены нарушения липидного обмена у мужчин, ассоциированных с носительством аллеля А данного полиморфизма [5]. Аллель -250А встречалась у них в  $31,4 \pm 4,6\%$  случаев ( $p=0,0027$ ). Valdivielso P. было отмечено, что патологический аллель А полиморфизма -250 G>A гена LIPC является предрасполагающим фактором развития ОААНК у пациентов с сахарным диабетом, однако у лиц без диабета данный маркер не был изучен [162].

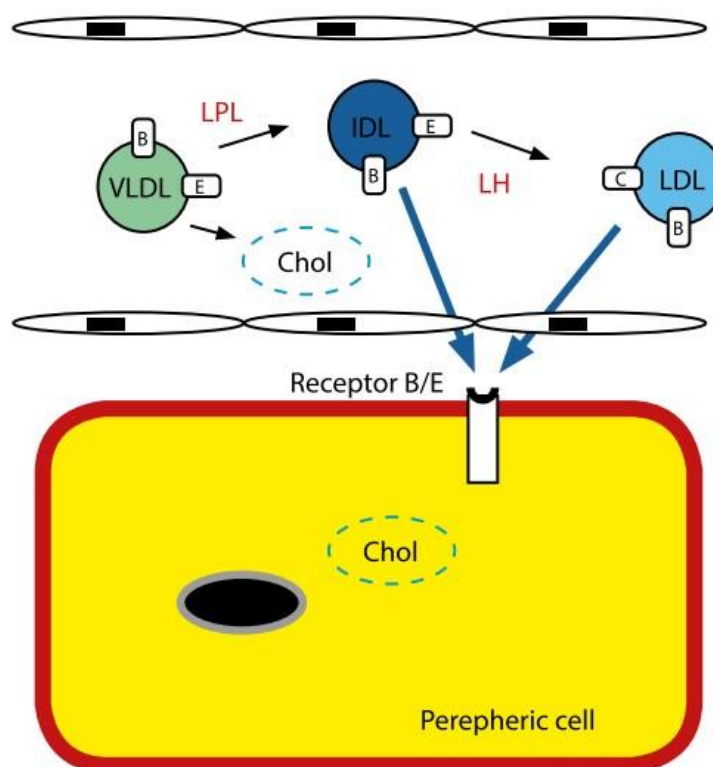


Рис. 2 - Схематическое изображение липогенеза из эндогенных липидов

ЛПЛ/LPL - липопротеинлипаза; ЛПОНП/VLDL - липопротеины очень низкой плотности; ЛПП/IDL - липопротеины промежуточной плотности; ЛПНП/LDL - липопротеины низкой плотности; ПЛ/LH - печеночная липаза; Chol - холестерин

Очевидно, что исследование генетических маркеров дисфункции эндотелия и нарушений липидного обмена у пациентов с различными типами течения ОААНК могут позволить в будущем определять прогноз течения заболевания и развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Наиболее актуальным данный вопрос становится для молодых пациентов с ранним началом ОААНК, а также для лиц с отягощенным семейным и наследственным атеросклеротическим анамнезом, а также перенесших неблагоприятные сердечно-сосудистые события.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на клинических базах кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России – в отделениях сосудистой хирургии ГБУ РО ОККД и ГБУ РО ГКБСМП, а также в отделении областной консультативно-диспансерной поликлиники ГБУ РО ОККД в период с 2018г. по 2020г. Лабораторная часть исследования была выполнена в ЦНИЛ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. По дизайну исследование организовано как проспективное с ретроспективным анализом. В исследовании приняли участие 112 человек, которые были разделены на 3 группы.

I группу (n=48) составили пациенты с неблагоприятным течением ОААНК. Критерии включения пациентов в данную группу:

1. Пациенты мужского или женского пола от 18 лет и старше;
2. Хроническая ишемия нижних конечностей, обусловленная атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей аорто-подвздошного, подвздошно-бедренного и бедренно-подколенного сегментов;
3. Развитие КИНК в срок менее 5 лет от начала заболевания;
4. Развитие острой ишемии нижних конечностей (первичные или вторичные тромбозы артерий нижних конечностей);
5. Развитие тромбозов зон предшествующей реконструкции в течение 6 месяцев после операции;
6. Наличие в анамнезе ампутации нижней конечности любых уровней по причине ОААНК.

Критерии не включения пациентов в I группу:

1. Сахарный диабет в анамнезе;
2. Хроническая ишемия нижних конечностей неатеросклеротического генеза (артериит, тромбангиит, врожденные аномалии развития или травмы сосудов);
3. Наличие диабетической ангиопатии;

4. Дистальный тип поражения артерий нижних конечностей;
5. Острая ишемия нижних конечностей, вызванная эмболией артерий нижних конечностей, или хроническая ишемия нижних конечностей обусловленная постэмболической окклюзией;
6. Декомпенсация сердечно-сосудистой системы, нарушения функции почек и печени;
7. Наличие локальных новообразований;
8. Беременность.

II группу (n=48) составили пациенты с условно благоприятным течением ОААНК. Критерии включения пациентов в данную группу:

1. Пациенты мужского или женского пола от 18 лет и старше;
2. Хроническая ишемия нижних конечностей, обусловленная атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей аорто-подвздошного, подвздошно-бедренного и бедренно-подколенного сегментов;
3. Отсутствие развития КИНК в течение 5 лет от начала заболевания;
4. Отсутствие прогрессирования степени хронической ишемии нижних конечностей с начала заболевания;
5. Отсутствие развития острой ишемии нижних конечностей (первичные или вторичные тромбозы артерий нижних конечностей);
6. Длительно функционирующие сосудистые реконструкции (более 5 лет), выполненные на IIБ стадии заболевания с полным или не полным регрессом симптоматики (0, I и IIА стадии заболевания) и не требующих повторных или дополнительных оперативных вмешательств;
7. Отсутствие в анамнезе ампутации нижней конечности любых уровней по причине ОААНК.

Критерии не включения пациентов во II группу:

1. Сахарный диабет в анамнезе;

2. Хроническая ишемия нижних конечностей неатеросклеротического генеза (артериит, тромбангиит, врожденные аномалии развития или травмы сосудов);
3. Наличие диабетической ангиопатии;
4. Дистальный тип поражения артерий нижних конечностей;
5. Острая ишемия нижних конечностей, вызванная эмболией артерий нижних конечностей, или хроническая ишемия нижних конечностей обусловленная постэмболической окклюзией в анамнезе;
6. Купированная КИНК путем проведения реконструктивно-восстановительного вмешательства;
7. Декомпенсация сердечно-сосудистой системы, нарушения функции почек и печени;
8. Наличие злокачественных новообразований;
9. Беременность.

Контрольная группа (n=16) была сформирована с целью определения референсных значений. Её составили здоровые добровольцы, сопоставимые по возрасту с исследуемыми пациентами. Основными критериями включения являлось отсутствие атеросклероза во всех сосудистых бассейнах и сахарного диабета.

Всем участниками исследования были проведены: ультразвуковая доплерография с определением лодыжечно-плечевого индекса, ультразвуковое дуплексное сканирование артерий нижних конечностей, ультразвуковое дуплексное сканирование артерий дуги аорты, ангиография (по показаниям). Пациенты получали лечение согласно национальным рекомендациям по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей 2019 г. [43].

Распределение по гендерному признаку между группами было сопоставимо (рис. 3):

- в I группе участвовало 44 мужчины и 4 женщины;
- во II группе участвовало 45 мужчин и 3 женщины.

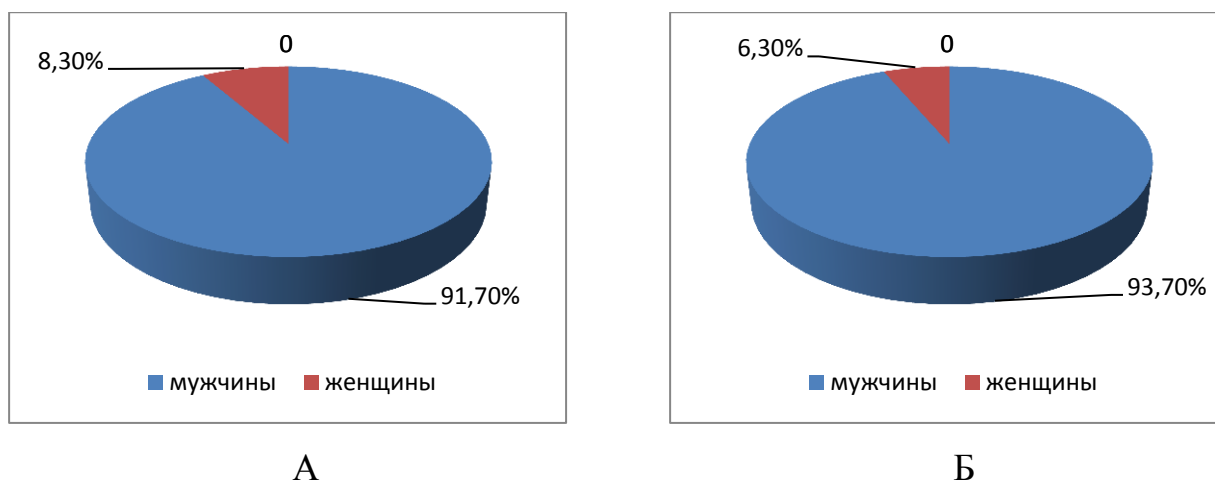


Рис. 3 - Распределение пациентов по гендерному признаку в I группе (А) и во II группе (Б).

Средний возраст пациентов, участвующих в исследовании составил  $61,08 \pm 9,56$  лет в I группе и  $66,08 \pm 7,15$  лет во II группе.

При сборе анамнеза у пациентов важное внимание уделялось длительности их заболевания ОААНК. В I группе пациенты страдали ОААНК в среднем  $2,39 \pm 0,73$  лет, в то время как во II группе  $8,61 \pm 3,30$ .

Определение лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) является важным скрининговым тестом для пациентов с ОААНК. Согласно национальным рекомендациям по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей, определять ЛПИ необходимо пациентам с анамнезом или результатами физикального обследования, предполагающими ОААНК (класс и уровень доказательности IV). Также в рекомендациях отмечено, что проведение данного теста является оправданным у лиц с высоким риском, но без анамнеза или результатов физикального обследования ОААНК (класс и уровень доказательности IIaB).

Дистальный тип поражения артерий нижних конечностей являлся критерием не включения пациентов в исследование из-за наибольшей распространенности его у лиц с сахарным диабетом и развившейся у них диабетической ангиопатии. Фоновый сахарный диабет – широко изученный утяжеляющий фактор течения ОААНК, однако патогенетические особенности прогрессирования атеросклеротического процесса в условиях диабета

существенно отличаются от «классического» атеросклероза, в связи с чем это не входило в задачи данного исследования.

Всего в исследовании приняли участие 7,3% пациентов с преимущественным поражением артерий аорто-подвздошного сегмента, 38,5% пациентов с поражением подвздошно-бедренного сегмента и 54,2% пациентов с поражением бедренно-подколенного сегмента. Распределение пациентов в группах по уровню поражения артериального русла представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение пациентов внутри групп по уровню поражения артерий нижних конечностей

<b>Пораженный сегмент</b>	<b>I группа</b>	<b>II группа</b>
Аорто-подвздошный сегмент, n (%)	3 (6,3%)	4 (8,3%)
Подвздошно-бедренный сегмент, n (%)	18 (37,5%)	19 (39,6%)
Бедренно-подколенный сегмент, n (%)	27 (56,3%)	25 (52,1%)
Многоуровневое поражение	21 (43,8%)	8 (16,6%)

Стадия заболевания (степень хронической артериальной недостаточности (ХАН)) оценивалась на основании классификации А.В. Покровского-Фонтейна – для пациентов с перемежающейся хромотой путем проведения тредмил-теста (использовалась дорожка с углом наклона 0 градусов и скоростью 1 км/ч). Определялось расстояние, пройденное пациентом до начала болевых ощущений в нижних конечностях. Пациенты с перемежающейся хромотой полностью составили II группу (n=48), в то время как в I группе таких пациентов было всего 12,5% (n=6) (таблица 2).

Критериями определения КИНК являлось наличие ишемических болей в покое или наличие язвенно-некротических дефектов на нижних конечностях. Эти пациенты были включены только в группу I.



В 4 случаях (8,3% от пациентов I группы) были включены пациенты с острой тромботической ишемией нижних конечностей, что на наш взгляд является значимым критерием неблагоприятного течения ОААНК.

Таблица 2 - Распределение пациентов внутри групп по стадии заболевания или степени ишемии конечности

Стадия заболевания/ степень ишемии	Группа I	Группа II
ХАН I, n (%)	0	4 (8,3%)
ХАН IIА, n (%)	0	7 (14,6%)
ХАН IIБ, n (%)	6 (12,5%)	37 (77,1%)
ХАН III, n (%)	23 (47,9%)	0
ХАН IV, n (%)	15 (31,3%)	0
Острая ишемия I-III ст. по классификации В.С. Савельева, n (%)	4 (8,3%)	0

Пациентам исследуемых групп была произведена оценка сопутствующей патологии. Наиболее высокий интерес представляло наличие в анамнезе крупных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (инфаркт, инсульт), а также наличие известных гемодинамически значимых стенозов или окклюзий в брахиоцефальных или коронарных артериях. Характеристика сопутствующей сердечно-сосудистой патологии представлена в таблице 3.

Таблица 3 - Характеристика сопутствующей сердечно-сосудистой патологии пациентов, участвующих в исследовании

Сопутствующая сердечно- сосудистая патология	Группа I	Группа II
Гемодинамически значимые стенозы БЦА n, (%)	6 (12,5%)	1 (2,1%)
Инсульт в анамнезе, n (%)	8 (16,6%)	2 (4,1%)
ПИКС в анамнезе, n (%)	16 (33,3%)	4 (8,3%)
Гипертоническая болезнь, n (%)	37 (77,1%)	28 (58,3%)
Стенокардия напряжения	23 (47,9%)	15 (31,3%)

Всем пациентам, включенным в исследование, проводили забор крови из подкожных вен с целью определения уровня ряда биохимических показателей. В

качестве маркеров функционального состояния эндотелия исследовался уровень стабильных метаболитов NO и уровень эндотелина-1. В качестве маркеров повреждения эндотелия исследовались уровни гомоцистеина и базального инсулина. Материал набирался в вакуумные стерильные пробирки объемом 12 мл, после чего производилось центрифугирование.

Для исследования уровня стабильных метаболитов NO использовался набор для количественного определения окиси азота “Total NO/Nitrite/Nitrate Assay R&D Systems”. Реактивы: микропланшет с разбираемыми стрипами (96 ячеек); лиофильно высушенная нитрат-редуктаза; нитрат-редуктазу сохраняющий буфер 1,2 мл; лиофильно высушенный восстановленный  $\beta$ -никотинамид аденин динуклеотида; раствор нитрита натрия (2000 мкмоль/мл) с консервантами 2 флакона по 0,5 мл; концентрат реакционного буфера 30 мл; реактив Грисса I 12 мл; реактив Грисса II 12 мл.

Основной принцип метода – определение общего количества NO, на основании ферментного превращения нитрата в нитрит с участием нитрат-редуктазы. Реакция регистрирует концентрацию нитрита по азо-красителю, образующемуся в результате реакции Грисса.

Для количественного определения уровня эндотелина-1 использовался иммуноферментный набор «Quantikine ELISA Endothelin-1 Immunoassay R&D Systems». Реактивы: микропланшет, покрытый моноклональными антителами к эндотелину-1 (96 лунок); эндотелин-1 конъюгат 21 мл; синтетический эндотелин-1 в белковом буферном растворе с консервантами, лиофилизированный; белковый буферный раствор с консервантами 21 мл; 25x буферный раствор сурфактанта с консервантами 21 мл; стабилизированный раствор перекиси водорода 12 мл; стабилизированный раствор хромогена 12 мл; стоп раствор 6 мл.

Основная суть метода – проведение количественного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) типа «сэндвич». В ходе реакции в лунки микропланшета вносятся стандарты и образцы, после чего происходит связывание эндотелина-1 образца с иммобилизованными антителами. После первой промывки удаляются несвязавшиеся компоненты, а в лунки вносятся

моноклональные антитела к эндотелину-1. Затем проводится вторая промывка, удаляется несвязавшийся конъюгат. После чего добавляется субстратный раствор, взаимодействующий с ферментом с образованием цветного комплекса. Интенсивность окрашивания раствора прямо пропорциональна концентрации эндотелина-1 образца. Цветная реакция останавливается стоп-раствором и интенсивность окрашивания измеряется на микропланшетном фотометре.

Для определения уровня гомоцистеина использовалась тест-система «Homocistene EIA Axis». Используемые реагенты: микропланшет (96 лунок); рабочий буфер 54 мл; аденозин 3,5 мл; SAH-гидролаза 3,5 мл; ферментный ингибитор 55 мл; аденозиндеаминаза 55 мл; а-SAH-антитела 25 мл; ферментный конъюгат 15 мл; субстратный раствор 15 мл; стоп-раствор 20 мл; промывочный буфер, концентрат 60 мл.

Принцип метода: происходит восстановление гомоцистеина, связанного с белком до свободного и его превращение в S-аденозил-L-гомоцистеин (SAH) в отдельной процедуре ферментной реакции, которая предшествует ИФА. Фермент специфичен для L-формы гомоцистеина, в которой последний и присутствует в крови. Твердофазный ИФА основан на конкуренции между SAH в образце и SAH, иммобилизованным в лунках микропланшета, за сайты связывания с моноклональными антителами к SAH. После удаления антител к SAH, не связавшихся в лунках микропланшета, вносятся вторые кроличьи антимышьи антитела, меченые пероксидазой хрена. Активность пероксидазы измеряется на спектрофотометре после добавления субстрата. Полученная абсорбция обратно пропорциональна концентрации общего гомоцистеина в анализируемом образце.

Всем пациентам, включенным в исследование было проведено исследование уровня базальной инсулинемии. Для определения уровня инсулина методом ИФА использовалась тест-система Insulin IRMA KIT.

Пациентам, участвующим в исследовании, было проведено исследование липидного спектра. Проводилось определение уровня общего холестерина, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, триглицеридов, а также рассчитывался индекс атерогенности.

В качестве генетических маркеров различного течения ОААНК были избраны полиморфизмы -1607insG гена MMP-1 и 250G>A гена LIPС. В данной части исследования участвовали 76 человек из всех пациентов, включенных в исследование (n=112). Критерии включения в исследование и сами группы оставались такими же, как и в основной части исследования: группа I (n=34), группа II (n=34), контрольная группа (n=8).

Характеристика пациентов по уровню поражения, участвовавших в данной части исследования представлена в таблице 4.

Таблица 4 - Распределение пациентов внутри групп по уровню поражения артерий нижних конечностей, участвовавших в исследовании генетических полиморфизмов

<b>Пораженный сегмент</b>	<b>I группа</b>	<b>II группа</b>
Аорто-подвздошный сегмент, n (%)	3 (8,8%)	4 (11,8%)
Подвздошно-бедренный сегмент, n (%)	8 (23,5%)	9 (26,4%)
Бедренно-подколенный сегмент, n (%)	23 (67,7%)	21 (61,8%)
Многоуровневое поражение	15 (41,7%)	4 (11,1%)

Генотип пациентов был исследован методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллель-специфичными праймерами «SNP-экспресс». Материалом для исследования являлась кровь пациентов, взятая из кубитальной вены. При проведении данного исследования, анализу подвергается геномная ДНК человека, выделенная из лейкоцитов цельной крови с использованием реагента «ДНК-экспресс-кровь».

Для обработки и хранения материалов диссертации использовался компьютер Asus с объемом ОЗУ 4 Гб и тактовой частотой процессора 2,4 ГГц; использован текстовый редактор Microsoft Word 2010. Статистическая обработка данных проводилась в программах Statistica 13.0 и Microsoft Excel 2010.

Характер распределения данных определялся с помощью теста Шапиро-Уилка. Для определения статистически достоверной разницы показателей двух независимых групп, имеющих нормальное распределение, использовался *t*-критерий Стьюдента. Для оценки статистической достоверности отличий трех и более групп, имеющих нормальное распределение, использовался тест ANOVA. Для оценки статистической значимости различий при распределении данных, которое отличается от нормального, использовали тест Крускала-Уоллиса. Корреляционный анализ производился с помощью критерия Спирмена. Для сравнения групп по качественному признаку использовался критерий Хи-квадрат. За уровень достоверности была принята вероятность различия 95% ( $p < 0,05$ ).

## **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **3.1 Влияние факторов риска и сопутствующей сердечно-сосудистой патологии на течение облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

Атеросклероз является многофакторным заболеванием, и его течение непосредственно зависит от различных индивидуальных аспектов пациента. Скорость прогрессирования симптоматики у пациентов с ОААНК существенно различается, однако на сегодняшний день нет четких структурированных границ определения типа течения данного заболевания.

По нашему мнению, под неблагоприятным (прогрессирующим, нестабильным) типом течения стоит понимать следующие нозологические формы ОААНК и сроки развития симптоматики [28]:

1) развитие хронической ишемии, угрожающей потере конечности (III - IV стадии заболевания) в течение 5 лет от манифестации заболевания;

2) внезапное начало заболевания с клинической картиной острой артериальной непроходимости (острых тромбозов артерий нижних конечностей);

3) потеря нижней конечности (перенесенная ампутация нижней конечности на любом уровне) вследствие развития острой или хронической ишемии нижних конечностей и её безуспешного лечения;

4) развитие острой или хронической ишемии в результате острых тромбозов зон предшествующих реконструкций (протезов, шунтов, стентов, зон баллонных ангиопластик, пластик артерий), требующих оперативного лечения (II А степени острой ишемии нижних конечностей и выше или III - IV стадии заболевания);

5) развитие острой или хронической ишемии нижних конечностей у лиц молодого возраста (до 45 лет).

К условно благоприятному (не прогрессирующему, стабильному) типу течения заболевания относится:

1) длительно течение ОААНК (более 5 лет) с клинической картиной хронической ишемии нижних конечностей, не угрожающей потере конечности (I, IIА и IIБ стадии заболевания);

2) длительно функционирующие сосудистые реконструкции (более 5 лет), выполненные на ПБ стадии заболевания с полным или не полным регрессом симптоматики (0, I и IIА стадии заболевания) и не требующих повторных или дополнительных оперативных вмешательств.

В настоящее время факторы риска заболеваний принято разделять на две подгруппы: модифицируемые – те, на которые программное, комплексное и системное воздействие может существенно ослабить или нейтрализовать патогенную составляющую данных факторов. Под не модифицируемыми факторами риска принято понимать то воздействие, влияние на которое остается невозможным [111,127,136].

Статистически достоверно ( $p=0,0046$ ) пациенты I группы (неблагоприятного течения) были младше пациентов II группы (условно благоприятного течения). Средний возраст пациентов I группы составил  $61,08\pm 9,56$  лет, а пациентов II группы  $66,08\pm 7,15$  лет (таблица 5). Данные результаты говорят о том, что ОААНК у более молодых пациентов протекает агрессивнее. Молодые пациенты больше предрасположены к острому началу заболевания, как правило, в одном из артериальных сегментов, в то время как у более возрастных пациентов чаще встречается многоэтажные и мультифокальные поражения сосудистого русла [71].

Пациенты с условно благоприятным течением (II группы) в нашем исследовании имели достоверно ( $p<0,0001$ ) более длительный анамнез заболевания ( $8,61\pm 3,30$  лет) чем пациенты с неблагоприятным течением ОААНК (II группа) ( $2,39\pm 0,73$  лет), что говорит о более скоротечном приходе к стадии КИНК пациентов с неблагоприятным течением ОААНК (таблица 5). Скорость прогрессирования ишемии нижних конечностей является важным фактором в определении стратегии лечения с ОААНК, в связи с тем, что, как правило, она напрямую зависит от степени поврежденности артериального русла нижних конечностей. Быстрое прогрессирование ишемии характерно для многоэтажных поражений артерий нижних конечностей, а также для пациентов со слабым развитием коллатерального русла.

Таблица 5 - Результаты исследования факторов риска неблагоприятного течения ОААНК

	1 группа (неблагоприятное течение) n=48	2 группа (условно благоприятное течение) n=48	p
Характеристика пациентов			
Средний возраст, лет	61,08±9,56	66,08±7,15	p=0,0046
Длительность заболевания, лет	2,39±0,73	8,61±3,30	p<0,0001
Средний ЛПИ	0,40±0,19	0,61±0,13	p<0,0001
Курение, n, (%), пачка-лет	25 (52,1%) 21,00±9,40	21 (43,8%) 9,62±4,20	p=0,414 p<0,0001
Сопутствующая сердечно-сосудистая патология			
Гемодинамически значимые стенозы БЦА n, (%)	6 (12,5%)	1 (2,1%)	*
МАСЕ в анамнезе, n (%)	24 (50%)	6 (12,5%)	p<0,001
Гипертоническая болезнь, n (%)	37 (77,1%)	28 (58,3%)	p>0,05
Стенокардия напряжения	23 (47,9%)	15 (31,3%)	p>0,05
Уровень поражения артериального русла нижних конечностей			
Аорто-подвздошный сегмент, n (%)	3 (6,3%)	4 (8,3%)	*
Подвздошно- бедренный сегмент, n (%)	18 (37,5%)	19 (39,6%)	p=0,834
Бедренно- подколенный сегмент, n (%)	27 (56,3%)	25 (52,1%)	p=0,683
Многоуровневое поражение, n (%)	21 (43,8%)	8 (16,6%)	p=0,004

Примечание: \* - сравнение невозможно

Многоэтажное поражение артерий нижних конечностей является сложной проблемой с точки зрения проведения реваскуляризации и, как правило, такие пациенты требуют индивидуального гибридного подхода с использованием высокотехнологичных эндоваскулярных технологий. В нашем исследовании термин «многоэтажное поражение» означал наличие гемодинамически значимых стенозов (>70% по диаметру) или окклюзий в двух и более различных сегментах



сосудистого русла нижних конечностей. У пациентов I группы достоверно ( $p=0,004$ ) чаще встречалось многоэтажное поражение (43,8%) сосудов нижних конечностей, чем у пациентов II группы (16,6%), что позволяет говорить о более неблагоприятном течении ОААНК у пациентов с поражением сразу нескольких сегментов артерий нижних конечностей, вероятно связанным с более слабым развитием коллатералей в таких клинических ситуациях (таблица 5).

Согласно полученным данным, статистически значимо ( $p<0,0001$ ) ЛПИ был ниже у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК (I группы). Среднее значение составило  $0,40\pm 0,19$  в то время, как у пациентов с условно благоприятным течением ОААНК -  $0,61\pm 0,13$  (таблица 5). Полученные данные схожи с результатами исследований, которые послужили для создания классификации WIFI (Wound, Ischemia, Foot Infection) [80,96,97,171]. ЛПИ 0,60-0,79 соответствует 1 степени ишемии согласно данной классификации, а цифры 0,40-0,59 соответствуют 2 степени (таблица 6). Согласно таблице оценка риска ампутации конечности в течение 1 года, ишемия 2 степени значительно чаще соответствует высокому риску потери конечности (таблица 7). Сопоставляя эти данные с таблицей оценки потребности и ожидаемой пользы от реваскуляризации, необходимость в проведении реконструкций возникает реже при ишемии I степени (таблица 8). Таким образом – ЛПИ является одним из важнейших факторов оценки прогрессирования ОААНК, а классификация WIFI удобным и достаточно объективным способом стратификации риска потери конечности в течение 1 года.

Достоверно интенсивнее ( $p<0,0001$ ) курили пациенты с неблагоприятным течением ОААНК. Это выражалось в более высоком индексе пачка-лет ( $21,00\pm 9,40$  в I группе;  $9,62\pm 4,20$  во II группе), однако, частота встречаемости курильщиков в I группе (52,1%), достоверно не отличалась ( $p=0,414$ ) чем во II (43,8%) (таблица 5). Данный факт подтверждает, что интенсивность курения, объективно выражающаяся в индексе пачка-лет, значительно влияет на течение ОААНК [32,90,95]. Часто курящие пациенты склонны к более неблагоприятному течению ОААНК.

Таблица 6 - Классификация WIFI [43]

Компонент	Степень	Описание		
<b>W – Wound</b> (характеристика раны)	0	Раны нет (ишемические боли в покое)		
	1	Небольшая поверхностная язва (язвы) в дистальном отделе голени или стопы без гангрены		
	2	Глубокая язва с вовлечением костей, суставов или сухожилий ± Гангренозные изменения, ограничивающиеся фалангами пальцев		
	3	Обширная глубокая язва, распространяющаяся на передний и/или средний отдел стопы ± Вовлечение пяточной кости ± Обширная гангрена		
<b>I – Ischemia</b> (состояние кровоснабжения в нижней конечности)		<b>ЛПИ</b>	<b>Систолическое давление в артерии голени, мм рт. ст.</b>	<b>Пальцевое давление, TcPO<sub>2</sub>, мм рт. ст.</b>
	0	≥0,80	>100	≥60
	1	0,60–0,79	70–100	40–59
	2	0,40–0,59	50–70	30–39
	3	≤0,39	<50	<30
<b>FI – Foot Infection</b> (выраженность инфекционного процесса)	0	Нет симптомов и признаков инфекции		
	1	Локальная инфекция, затрагивающая только кожу и подкожную клетчатку		
	2	Локальная инфекция с гиперемией >2 см или вовлечением более глубоких, чем кожа и подкожная клетчатка, структур		
	3	Синдром системного воспалительного ответа		

Таблица 7 - Оценка риска ампутации нижней конечности в течение 1 года [43]

	I-0				I-1				I-2				I-3			
W-0	OH	OH	H	C	OH	H	C	B	H	H	C	B	H	C	C	B
W-1	OH	OH	H	C	OH	H	C	B	H	C	B	B	C	C	B	B
W-2	H	H	C	B	C	C	B	B	C	B	B	B	B	B	B	B
W-3	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3

Таблица 8 - Оценка ожидаемой пользы/потребности в реваскуляризации нижней конечности [43]

	I-0				I-1				I-2				I-3			
W-0	OH	OH	OH	OH	OH	H	H	C	H	H	C	C	C	B	B	B
W-1	OH	OH	OH	OH	H	C	C	C	C	B	B	B	B	B	B	B
W-2	OH	OH	OH	OH	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
W-3	OH	OH	OH	OH	C	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B
	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3	FI-0	FI-1	FI-2	FI-3

В нашем исследовании наиболее часто встречались пациенты с преимущественным поражением артерий бедренно-подколенного сегмента как в

группе с неблагоприятным течением ОААНК (56,3%), так и с условно благоприятным течением (52,1%) (таблица 5). Данные результаты подтверждают результаты более ранних исследований и скорее говорят о более частой встречаемости поражения данного сегмента именно у европеоидной расы [42]. Статистически значимой разницы между группами получено не было, соответственно уровень окклюзии значимо не влияет на течение ОААНК.

Сопутствующая сердечно-сосудистая патология имеет важное значение для пациентов с ОААНК, ввиду своего влияния как на общий прогноз жизни пациента. Стоит понимать, что атеросклероз – генерализованный процесс, с большой долей вероятности можно встретить его начальные (гемодинамически не значимые) проявления в разных сосудистых бассейнах.

У пациентов с неблагоприятным течением ОААНК (I группы) стенокардия напряжения встречалась несколько чаще (47,9%), чем у пациентов II группы (31,3%), также как и верифицированная гипертоническая болезнь определялась у 77,1% пациентов I группы, и у 58,3% пациентов во II группе, однако разница оказалась статистически недостоверной ( $p > 0,05$ ) (таблица 5).

В данной работе оценивался анамнез МАСЕ у пациентов исследуемых групп. В I группе пациентов 33,3% пациентов имели в анамнезе инфаркт миокарда, в то время как во II группе ПИКС наблюдался у 8,3% пациентов. Инсульт в анамнезе имели 16,6% пациентов I группы и 4,1% II группы. Статистически значимо ( $p < 0,001$ ) неблагоприятные сердечно-сосудистые события чаще возникали в группе пациентов с неблагоприятным течением ОААНК (связь по критерию V Крамера относительно сильная (0,405)) (таблица 5).

Всем пациентам, включенным в исследование, проводилось ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий (БЦА), с целью поиска нарушения гемодинамики в данном бассейне. В 12,5% случаев пациенты I группы имели гемодинамически значимые стенозы внутренней сонной артерии (таблица 5). Учитывая, что данные нарушения проходимости артерий являются весомым фактором риска развития ишемического инсульта, стенозы каротидной бифуркации также стоит относить к предикторам МАСЕ.

Таким образом, обращает на себя внимание более частая встречаемость в анамнезе неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (МАСЕ) у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК. Данный факт свидетельствует о «злокачественности» течения атеросклероза во всех сосудистых бассейнах, а учитывая полученные статистически достоверные различия в частоте МАСЕ ( $p < 0,001$ ), наличие МАСЕ в анамнезе может являться предиктором неблагоприятного течения ОААНК.

### **3.2 Функциональное состояние эндотелия у пациентов с различными типами течения ОААНК**

В настоящее время, под термином «функциональное состояние эндотелия» понимают уровень способности эндотелия к продуцированию биологически активных соединений, влияющих на регуляцию сосудистого тонуса, атромботическую и антипролиферативную функции [2,20,30].

Важность влияния эндотелиальной дисфункции на патогенез сердечно-сосудистых заболеваний на сегодняшний день не вызывает сомнений и признается большим количеством научных школ [4,15,154].

Так как эндотелий является многофункциональным органом, выделяющим большое количество различных медиаторов, разные ученые изучают различные маркеры, имеющие прямое или косвенное отношение к функциональному состоянию эндотелия [17,92]. В работах описаны как лабораторные методы (определение биохимических маркеров), так и инструментальные (например, ультразвуковое исследование артерий нижних конечностей с определением проб) [98,103,130,134,142,164,166,169,173].

В данной работе оценка функционального состояния эндотелия проводилась на основании определения уровней основных маркеров – стабильных метаболитов оксида азота и эндотелина-1.

Согласно полученным данным средний уровень стабильных метаболитов оксида азота (NO) составил:  $88,5 \pm 7,3$  мкмоль/л в I группе;  $161,5 \pm 8,6$  мкмоль/л во II группе и  $226,0 \pm 28,6$  мкмоль/л в группе здоровых добровольцев (рис. 4).

При сравнении уровня стабильных метаболитов оксида азота (таблица 9, рис. 4), было получено статистически достоверное ( $p < 0,001$  при сравнении I группы;  $p < 0,045$  при сравнении II группы) снижение показателей у групп пациентов с ОААНК ( $88,5 \pm 7,3$  мкмоль/л в I группе;  $161,5 \pm 8,6$  мкмоль/л во II группе) по сравнению со здоровыми добровольцами ( $226,0 \pm 28,6$  мкмоль/л). Полученные результаты говорят об уже развившейся дисфункции эндотелия у пациентов с ОААНК в отличие от здоровых добровольцев, участвующих в исследовании.

В свою очередь, уровень оксида азота статистически значимо ( $p < 0,001$ ) был ниже у пациентов группы неблагоприятного течения ( $88,5 \pm 7,3$  мкмоль/л), по сравнению с группой условно благоприятного течения заболевания ( $161,5 \pm 8,6$  мкмоль/л) (таблица 8, рис. 4).

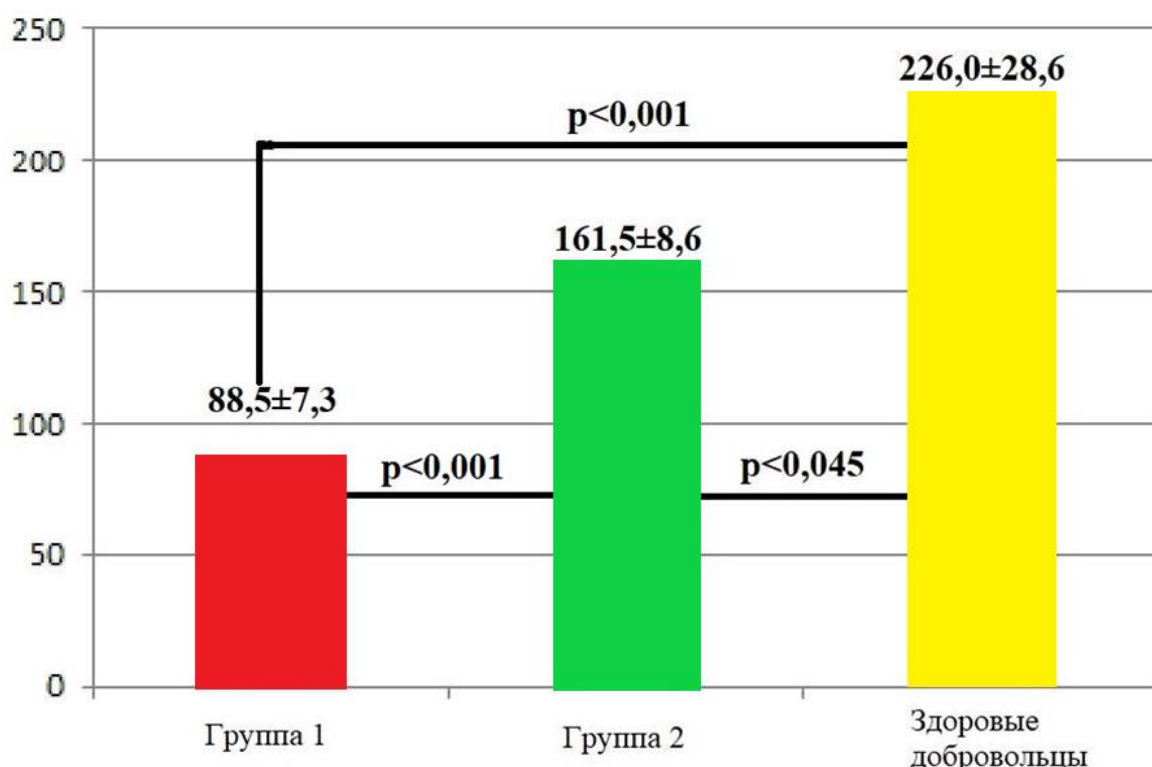


Рис. 4 - Уровень стабильных метаболитов оксида азота в группах исследования (мкмоль/л)

Полученное статистически достоверное отличие при сравнении уровня стабильных метаболитов оксида азота говорят нам о выраженной дисфункции эндотелия у пациентов с ОААНК по сравнению со здоровыми добровольцами.

При этом, также значимо ниже оказался уровень оксида азота у пациентов I группы по сравнению с пациентами II группы, что позволяет нам говорить о более высокой степени выраженности дисфункции эндотелия у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК.

Стоит понимать, что снижение уровня оксида азота является «пусковым механизмом» эндотелиальной дисфункции [51]. При снижении уровня оксида азота, страдает не только вазодилатирующая способность эндотелия, но и теряются его атромбогенные свойства [33]. Имеются данные о положительном влиянии оксида азота, которое может отражаться на течении заболевания. Помимо основных, широко известных вазодилатирующего, противовоспалительного и атромбогенного эффектов оксида азота [29] в литературе описано его участие в неоангиогенезе – одном из основных адаптационных процессов в условиях ишемии [36,100]. Под воздействием оксида азота повышается проницаемость эндотелия, формируются благоприятные условия для миграции эндотелиоцитов [35]. Учитывая, что данные механизмы способствуют развитию коллатералей, это неминуемо сказывается на компенсации кровообращения в конечности и течении заболевания [148].

В 2012 г. Р.Е. Калининым и соавторами было введено и охарактеризовано понятие «эндотелиальный резерв», как возможность адекватного ответа эндотелия на стимулирующие факторы, путем выработки оксида азота [24]. По нашему мнению именно наличие адекватного эндотелиального резерва у пациентов с благоприятным течением ОААНК способствует компенсации кровообращения в конечности и позитивному ответу на консервативную терапию, и как следствие, благоприятному прогнозу течения заболевания

По результатам исследования, средний уровень эндотелина-1 составил:  $2,1 \pm 0,1$  нг/мл в I группе;  $1,6 \pm 0,1$  нг/мл во II группе;  $1,4 \pm 0,1$  нг/мл в группе здоровых добровольцев (таблица 9, рис. 5).

Уровень эндотелина-1 (таблица 9, рис. 5) статистически достоверно ( $p < 0,001$ ) оказался выше в группе неблагоприятного течения ( $2,1 \pm 0,1$  нг/мл) по сравнению с группой условно благоприятного течения ( $1,6 \pm 0,1$  нг/мл). При

сравнении группы неблагоприятного течения ОААНК со здоровыми добровольцами ( $1,4 \pm 0,1$  нг/мл) уровень эндотелина-1 также оказался значимо выше ( $p < 0,001$ ). Уровень эндотелина-1 статистически значимо не отличался ( $p = 0,270$ ) при сравнении группы условно благоприятного течения ( $1,6 \pm 0,1$  нг/мл) и здоровых добровольцев ( $1,4 \pm 0,1$  нг/мл).

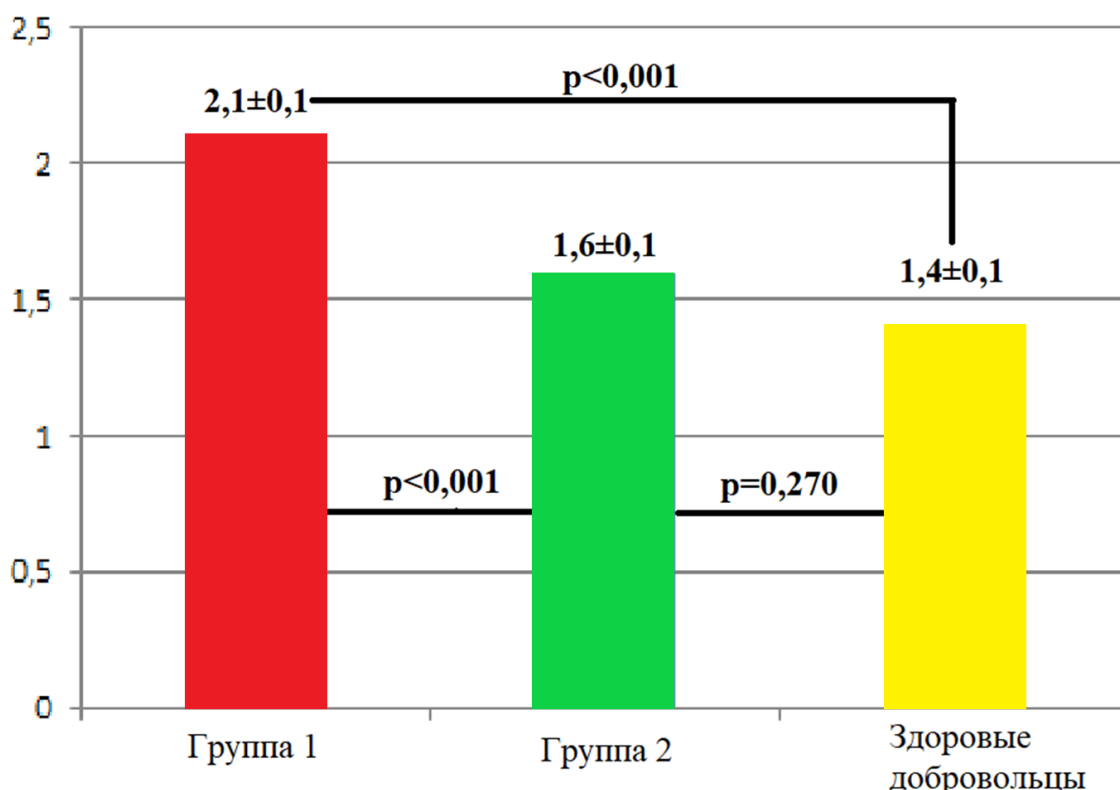


Рис. 5 - Уровень эндотелина-1 в группах исследования (нг/мл)

Таблица 9 - Средние значения исследуемых показателей

Группа	1 (n=48)	2 (n=48)	Здоровые добровольцы (n=16)	p
NO (мкмоль/л)	$88,5 \pm 7,3$	$161,5 \pm 8,6$	$226,0 \pm 28,6$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,045$
Эндотелин-1 (нг/мл)	$2,1 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	$p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$ $p_6 = 0,270$

$p_1$  – сравнение 1 и 2 группы по уровню NO;

$p_2$  - сравнение 1 группы и здоровых добровольцев по уровню NO;

$p_3$  - сравнение 2 группы и здоровых добровольцев по уровню NO;

$p_4$  – сравнение 1 и 2 группы по уровню эндотелина -1

$p_5$  – сравнение 1 группы и здоровых добровольцев по уровню эндотелина -1;

$p_6$  – сравнение 2 группы и здоровых добровольцев по уровню эндотелина -1.

Статистически значимая разница, полученная при сравнении уровня эндотелина-1 у пациентов I и II группы, говорит о преобладании вазоконстрикторных свойств эндотелия, что в свою очередь свидетельствует о более выраженном угнетении функциональной активности эндотелия у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК [47]. Данный факт подтверждает гипотезу о различной выраженности эндотелиальной дисфункции у пациентов с различными типами течения ОААНК.

Уровень эндотелина-1 значимо не отличался при сравнении пациентов II группы и здоровых добровольцев, что свидетельствует об отсутствии существенных различий в выработке вазоконстрикторов у пациентов с условно благоприятным течением ОААНК и здоровыми лицами. В низких концентрациях эндотелин-1 способствует высвобождению эндотелий-релаксирующих факторов, при этом повышенный уровень эндотелина-1 вызывает активацию рецепторов ГМК и стойкий сосудистый спазм [6,172].

Дисфункция эндотелия – постепенный процесс, развивающийся на фоне его повреждения, первым этапом которого большинством научных школ считается именно снижение уровня биодоступности оксида азота, а только потом уже повышение выработки вазоконстрикторов. В атеросклеротически измененных артериях функциональность эндотелия ограничена ввиду его поврежденности и замедления процессов регенерации. Эндотелин-1 не накапливается в эндотелиальных клетках; он быстро вырабатывается под воздействием адреналина, ангиотензина II и механических воздействий, что подтверждает факт того, что он образуется в ответ на повреждение эндотелия [12].

Таким образом, степень выраженности дисфункции эндотелия у пациентов с различными типами течения ОААНК существенно отличается. Оценка выраженности дисфункции эндотелия или исследование его функционального состояния путем определения уровня основных медиаторов – оксида азота и эндотелина-1 является оправданной для возможного определения прогноза течения данного заболевания.



### **3.3 Влияние факторов, повреждающих эндотелий на течение облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей (гипергомоцистеинемии, гиперинсулинемии, гиперхолестеринемии)**

Учитывая, что дисфункция эндотелия является длительным стадийным процессом, возникающим в ответ на повреждение эндотелия, важными предикторами её развития могут являться сами маркеры повреждения.

Повреждения эндотелия могут быть разного характера: химического, физического и механического. Любое реконструктивно-восстановительное вмешательство на сосудах, открытое или эндоваскулярное всегда сопровождается повреждением эндотелия механического характера. К физическим повреждениям эндотелия стоит относить артериальную гипертензию [99,107], которая является важнейшим фактором риска заболеваний атеросклеротического генеза.

В данной работе изучалось влияние следующих химических факторов: гипергомоцистеинемия, гиперинсулинемия и гиперхолестеринемия.

Средний уровень гомоцистеина среди исследуемых пациентов составил:  $20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л в I группе;  $18,1 \pm 0,6$  мкмоль/л во II группе;  $13,0 \pm 0,4$  мкмоль/л в группе здоровых добровольцев (рис.6).

При сравнении уровня гомоцистеина пациентов с ОААНК ( $20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л в I группе;  $18,1 \pm 0,6$  мкмоль/л во II группе) со здоровыми добровольцами ( $13,0 \pm 0,4$  мкмоль/л) было отмечено статистически значимое повышение показателей ( $p < 0,001$  при сравнении обеих групп). Достоверно ( $p < 0,001$ ) выше оказался уровень гомоцистеина у пациентов I группы ( $20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л) ОААНК по сравнению со II группой ( $18,1 \pm 0,6$  мкмоль/л) (рис. 6).

Повышенное содержание гомоцистеина является независимым предиктором развития и прогрессирования атеросклероза [93]. Он обладает выраженным цитотоксическим действием; для защиты от данного воздействия существуют механизмы выведения избытка гомоцистеина с участием фолиевой кислоты и витамина B12.

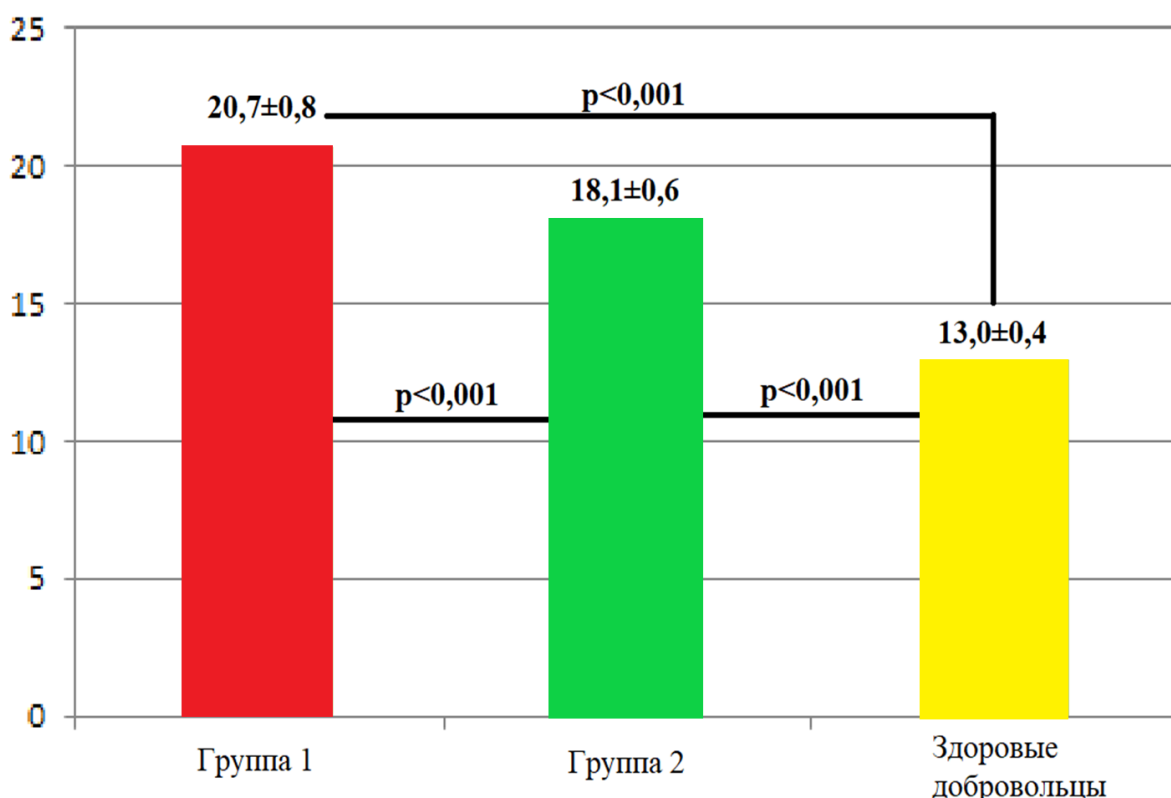


Рис. 6 - Уровень гомоцистеина в исследуемых группах (мкмоль/л)

В плазме крови происходит быстрое окисление гомоцистеина, с образованием большого количества свободных радикалов, повреждающих эндотелиоциты [8,101]. Происходит угнетение вазодилатирующих свойств эндотелия, путем ингибирования синтеза оксида азота и простациклина, вследствие чего сосудистая стенка теряет свою эластичность и способность адекватно реагировать на воздействия внешних факторов.

Также при образовании большого количества свободных радикалов после окисления гомоцистеина, происходит окисление ЛПНП. Окисленные ЛПНП активируют MCP-1 (моноцитарный хемотоксический протеин), привлекающий моноциты в субэндотелиальное пространство из просвета сосуда, что также мы можем считать фактором прогрессирования атеросклеротического процесса.

Полученные результаты сравнения средних значений уровня гомоцистеина в исследуемых группах, говорят о наличии гипергомоцистеинемии у пациентов с ОААНК по сравнению со здоровыми добровольцами, где уровень гомоцистеина соответствовал условным нормальным значениям (<15,0 мкмоль/л).

Однако, уровень гомоцистеина был достоверно ( $p < 0,001$ ) выше в группе пациентов с неблагоприятным течением ОААНК ( $20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л).

Проведенный корреляционный анализ уровня эндотелина-1 и гомоцистеина (рис.7) подтверждают его негативное влияние на функциональное состояние эндотелия. При анализе корреляционной зависимости была выявлена статистически достоверная ( $p < 0,01$ ) положительная связь ( $r = 0,426663$ ) между исследуемыми показателями.

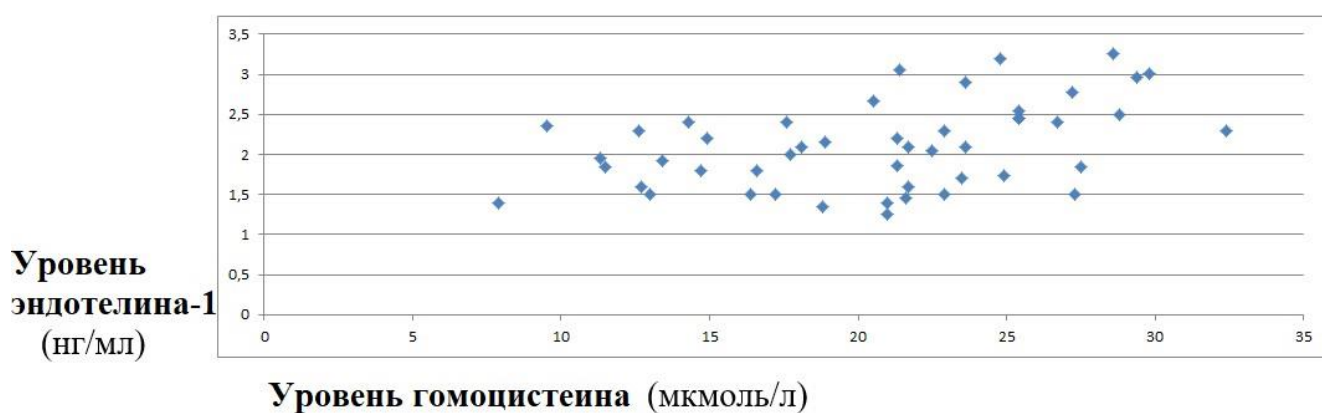


Рис. 7 - График корреляционной зависимости уровня эндотелина-1 и уровня гомоцистеина в группе неблагоприятного течения ОААНК ( $r = 0,426663$ )

Корреляционный анализ проводился во всех исследуемых группах между: уровнем оксида азота и гомоцистеина, уровнем оксида азота и инсулина, уровнем эндотелина-1 и гомоцистеина, уровнем эндотелина-1 и инсулина, однако, других статистически достоверных связей, кроме описанной выше, выявить не удалось.

Таким образом, опираясь на проведенный анализ данных, полученных при исследовании уровня гомоцистеина у пациентов с различными типами течения ОААНК, его можно отнести к предикторам именно неблагоприятного течения данного заболевания.

Инсулин является одним из важнейших гормонов организма, основной функцией которого является регуляция углеводного обмена. Помимо своей

основной функции, инсулин опосредовано может подавлять активность ферментов, расщепляющих жиры [57]. Нами рассматривается гиперинсулинемия как «предиабетическое состояние», при определении которого можно прогнозировать дальнейшее развитие сахарного диабета [83].

Средний уровень базального инсулина в исследуемых группах составил:  $24,9 \pm 4,6$  мМЕ/л в I группе;  $8,0 \pm 0,7$  мМЕ/л во II группе;  $5,1 \pm 0,5$  мМЕ/л в группе здоровых добровольцев (рис. 8).

Уровень базального инсулина достоверно ( $p < 0,001$  при сравнении I группы;  $p < 0,003$  при сравнении II группы) оказался выше в исследуемых группах пациентов с ОААНК, чем у здоровых добровольцев (рис.9). Статистически значимая ( $p < 0,001$ ) гиперинсулинемия была отмечена в группе неблагоприятного течения ОААНК, по сравнению с группой условно благоприятного течения заболевания.

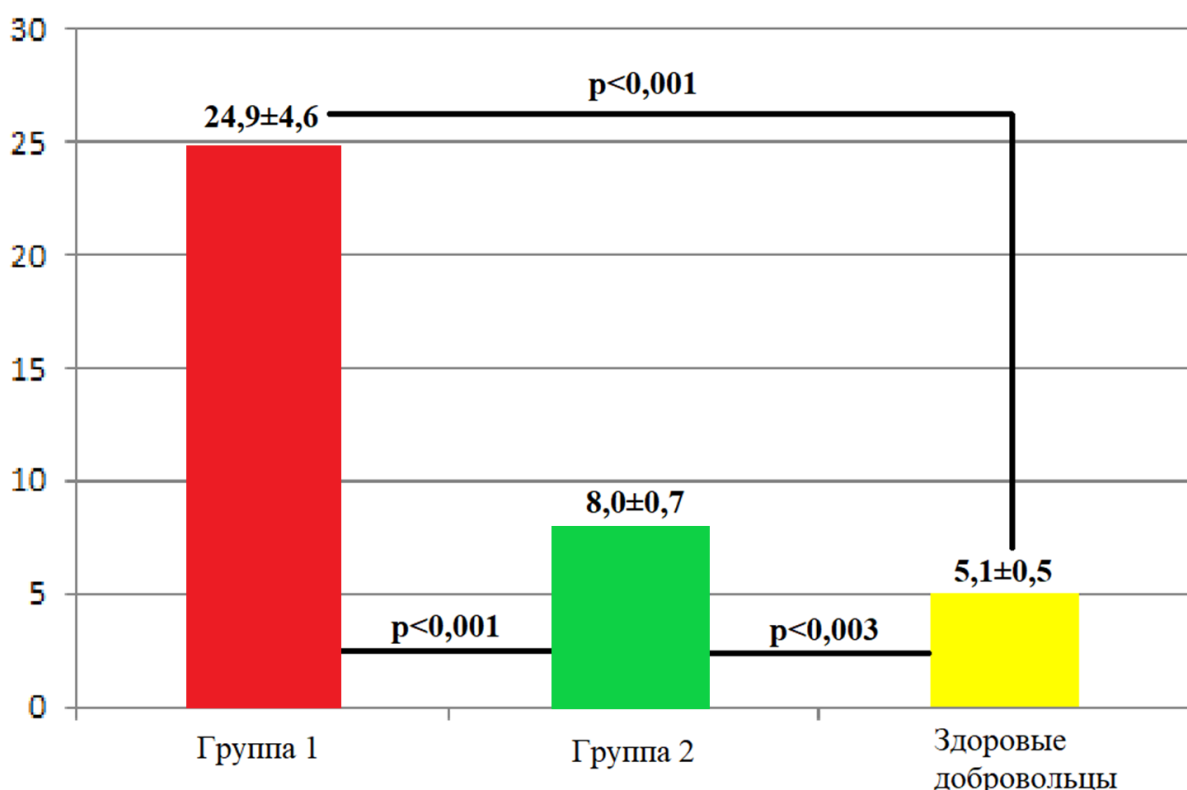


Рис. 8 - Уровень базального инсулина в группах исследования (мМЕ/л)

В результате анализа полученных данных, было определено наличие гиперинсулинемии у пациентов группы неблагоприятного течения ОААНК ( $24,9 \pm 4,6$  мМЕ/л). Уровень базального инсулина в группе условно благоприятного

течения ( $8,0 \pm 0,7$  мМЕ/л) достоверно был выше, чем у здоровых добровольцев ( $5,1 \pm 0,5$  мМЕ/л), однако, данный результат нельзя считать гиперинсулинемией ввиду попадания данных значений в нормальные ( $<20$  мМЕ/л).

В норме инсулин обладает прямым вазодилатирующим действием; инсулининдуцируемая вазодилатация является полностью NO-зависимой [25,108]. Однако, в условиях гиперинсулинемии и инсулинорезистентности, когда эндотелий становится органом-мишенью, повышается активность вазоконстрикторов, симпатический тонус и общее периферическое сосудистое сопротивление.

Гиперинсулинемия является следствием развившейся инсулинорезистентности. Компенсируя дефицит инсулина в тканях, поджелудочная железа начинает синтезировать его еще активнее, вследствие чего может развиваться сахарный диабет 2 типа.

В нашем исследовании наличие сахарного диабета было критерием исключения. У пациентов с уже развившимся и длительно существующим сахарным диабетом существуют определенные особенности патогенеза и течения ЗПА [23], в первую очередь, связанную с уровнем поражения артериального русла. Для пациентов с сахарным диабетом характерно поражение артерий голени и стопы (дистальный тип поражения), трудно поддающееся лечению, где порой единственным способом восстановления кровотока является сложное эндоваскулярное вмешательство, а проблематичное заживление раневых осложнений у таких пациентов порой значительно усугубляет прогноз сохранения конечности [73]. В данной работе наличие дистального поражения также являлось критерием исключения. Еще одним, как правило «ангиографическим» проявлением атеросклеротического повреждения артерий на фоне сахарного диабета является диффузное многоэтажное поражение. У пациентов данной группы такое поражение встречалось в 43,8% случаев, что говорит о более агрессивном поражении артерий нижних конечностей в условиях гиперинсулинемии, при этом не зарегистрированном сахарном диабете.

Таким образом, учитывая результаты данного исследования, сопутствующая гиперинсулинемия значительно утяжеляет течение ОААНК. Своевременное выявление данной проблемы, поиски ее решения и коррекция факторов риска могут улучшить как прогноз со стороны конечности, так и общий прогноз жизни пациента.

Учитывая, что одним из важнейших факторов развития сердечно-сосудистых заболеваний является гиперхолестеринемия [87], нами было проведено исследование липидного спектра у пациентов с различными типами течения ОААНК, результаты которого оказались неоднозначными (таблица 10).

Статистически достоверно ( $p < 0,0001$ ) уровень общего холестерина оказался выше в I группе, по сравнению со II группой и по сравнению со здоровыми добровольцами ( $p < 0,0001$ ), однако, при сравнении по данному параметру II группы и здоровых добровольцев статистически значимой разницы получено не было ( $p = 0,70940$ ). Безусловно, объективно проводить оценку липидограммы сложно – все пациенты с атеросклерозом в нашем исследовании принимали статины, отменить их было невозможно по этическим соображениям.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК выявляется гиперхолестеринемия, в то время как у пациентов с условно благоприятным течением уровень общего холестерина находится в пределах нормальных значений и существенно не отличается от здоровых лиц.

Уровень ЛПВП значимо не отличался при сравнении всех исследуемых групп между собой ( $p$  I-II=0,7692;  $p$  I-ЗД=0,1718;  $p$  II-ЗД=0,3204). Понятие «норма» является не совсем приемлемым для описания уровня ЛПВП. Общепринятыми референсными значениями считается  $>1,0$  ммоль/л у мужчин и  $>1,2$  ммоль/л у женщин. Большинство ученых принято считать, что сниженный уровень ЛПВП является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, а достаточный или высокий оказывает протективное действие [131]. Однако в нашем исследовании наименьший уровень ЛПВП показали здоровые

добровольцы, а наибольший пациенты с неблагоприятным течением ОААНК, несмотря на отсутствие статистически достоверной разницы (таблица 10).

Уровень триглицеридов значимо отличался у пациентов при сравнении I и II групп со здоровыми добровольцами ( $p$  I-ЗД=0,0006;  $p$  II-ЗД=0,0063), но при сравнении групп пациентов с ОААНК между собой достоверной разницы получено не было ( $p=0,1424$ ). Общепринятым референсным значением для триглицеридов считается их уровень  $<1,7$  ммоль/л, в которое попадают только значения, полученные в группе здоровых добровольцев ( $Me=1,25$  ммоль/л;  $Q1=0,8$  ммоль/л;  $Q3=1,685$  ммоль/л) (таблица 10).

Основной атерогенной фракцией являются ЛПНП [1]. В нашем исследовании их уровень статистически достоверно был выше у пациентов I группы как по сравнению со II группой ( $p<0,0001$ ), так и по сравнению со здоровыми добровольцами ( $p<0,0001$ ) (таблица 10). Данный факт говорит нам о более высоком уровне ЛПНП у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК и данный маркер может использоваться как предиктор прогрессирующего типа течения данного заболевания.

Достоверно уровень ЛПОНП был выше только при сравнении группы неблагоприятного течения ОААНК и здоровых добровольцев ( $p=0,0006$ ). При сравнении групп пациентов с ОААНК между собой статистических отличий обнаружено не было ( $p=0,063$ ), что свидетельствует о том, что изолированное использование данного маркера в качестве оценки прогрессирования атеросклероза не оправдано (таблица 10).

Коэффициент атерогенности является важной частью липидограммы, которой часто пренебрегают. Данный индекс рассчитывается по следующей формуле:  $КА = (\text{общий холестерин} - \text{ЛПВП}) / \text{ЛПВП}$ . Некоторые авторы считают повышение данного коэффициента одним из важнейших предикторов развития и прогрессирования атеросклероза [52].

Таблица 10 - Результаты анализа липидного спектра у исследуемых пациентов

<b>Группа</b>	<b>Общий холестерин Ме (Q1-Q3) ммоль/л</b>	<b>ЛПВП Ме (Q1-Q3) ммоль/л</b>	<b>ТГ Ме (Q1-Q3) ммоль/л</b>	<b>ЛПНП Ме (Q1-Q3) ммоль/л</b>	<b>ЛПОНП Ме (Q1-Q3) ммоль/л</b>	<b>Коэффициент атерогенности Ме (Q1-Q3) ммоль/л</b>
<b>I</b>	5,865 (5,745-6,66)	1,395 (0,905-1,58)	2,05 (1,365-3,06)	3,7665 (3,589-4,576)	0,41 (0,273-0,612)	4,025 (2,7-5,792)
<b>II</b>	4,41 (4,255-4,89)	1,12 (0,925-1,58)	1,735 (1,32-2,215)	2,2915 (1,8325- 3,0145)	0,347 (0,264-0,443)	3,407 (1,815-3,825)
<b>Здоровые добровольцы</b>	4,67 (4,005- 4,845)	0,9985 (0,9495- 1,315)	1,25 (0,8-1,685)	2,96 (1,9755-3,1825)	0,25 (0,16-0,337)	3,2025 (2,335-3,845)
<b>p I-II</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,7692	0,1424	<b>&lt;0,0001</b>	0,1424	<b>0,0005</b>
<b>p I-ЗД</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,1718	<b>0,0006</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0006</b>	<b>0,0346</b>
<b>p II-ЗД</b>	0,7094	0,3204	<b>0,0063</b>	0,1718	0,063	0,5345



В нашем исследовании коэффициент атерогенности статистически достоверно ( $p=0,0005$ ) был выше в I группе по сравнению со II группой, что позволяет нам говорить о нем, как о маркере неблагоприятного течения ОААНК, ввиду достоверно более низкого результата у пациентов с условно благоприятным течением ОААНК (таблица 10).

Значимая разница ( $p=0,0346$ ) была также получена при сравнении I группы и здоровых добровольцев по данному признаку, однако, при сравнении пациентов с условно благоприятным течением ОААНК и здоровых добровольцев статистических отличий получить не удалось ( $p=0,5345$ ) (таблица 10).

Подводя итоги исследования липидного спектра у пациентов с различным течением ОААНК, стоит отметить, что у лиц с более выраженными нарушениями липидного обмена, отражающимися в повышенном уровне общего холестерина, ЛПНП, а также более высоком коэффициенте атерогенности ОААНК и в целом атеросклеротический процесс протекает более агрессивно. Изученные маркеры могут являться предикторами неблагоприятного течения данного заболевания.

Исследование уровня биохимических маркеров-предикторов и факторов развития неблагоприятного течения ОААНК позволяет во многом определять прогноз заболевания, а также оценивать необходимость и пользу от своевременной реваскуляризации. Для более наглядного пояснения ниже приведены клинические примеры.

### **Клинический пример № 1**

Пациент К. 67 лет амбулаторно обратился к сосудистому хирургу с жалобами на боли в икроножной мышце при ходьбе на расстояния до 100 метров, возникшие примерно 6 месяцев назад, однако, связывал эти боли с обострением остеохондроза и лечился самостоятельно, не обращаясь за помощью.

При осмотре пациента пульсация на артериях левой нижней конечности определяется только на бедренной артерии, дистальнее отсутствует. Клинический диагноз: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Бедренно-подколенная окклюзия слева, IIБ стадия заболевания. По данным УЗИ артерий нижних конечностей определялась окклюзия поверхностной бедренной артерии

на всем протяжении с удовлетворительным заполнением подколенной артерии и артерий голени по коллатералям. Маркеры течения ОААНК представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Маркеры течения ОААНК пациента №1 на первом визите

ДБХ	84 метра
Стаж заболевания	6 месяцев
ЛПИ	0,58 слева/1,0 справа
Многоуровневое поражение	нет
МАСЕ в анамнезе	нет
Курение в анамнезе	нет
НО	164,8 мкмоль/л
Эндотелин-1	1,55 нг/мл
Гомоцистеин	18,0 мкмоль/л
Базальный инсулин	8,4 мМЕ/л
Общий холестерин	4,335 ммоль/л
ЛПНП	2,1521 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	2,730

Принято решение о госпитализации пациента в отделение сосудистой хирургии для дальнейшего оперативного лечения. Первым этапом в качестве предоперационной диагностики выполнена аортография (рис. 9-10), на которой ангиологический статус, отраженный в результатах УЗИ артерий нижних конечностей полностью подтвержден.

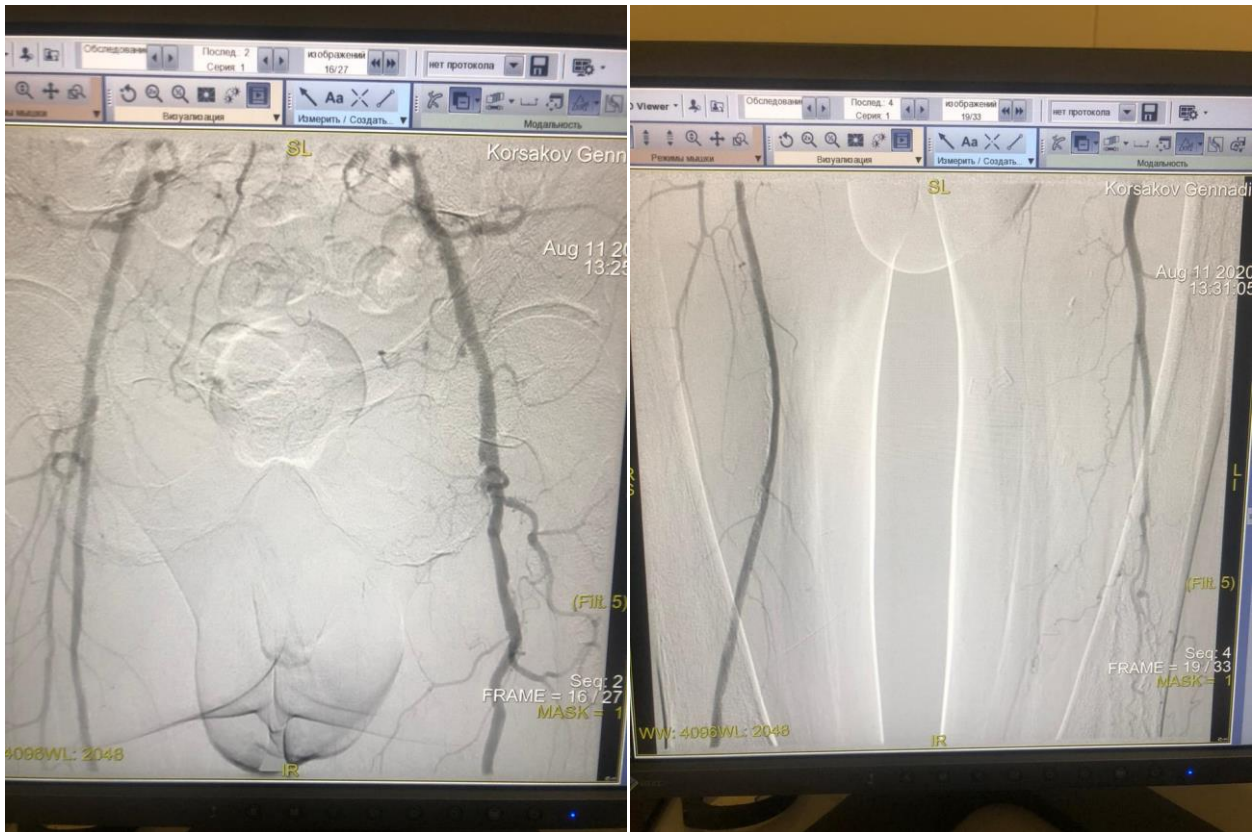


Рис. 9 - Аортоартериография. Проходимый подвздошно-бедренный сегмент, окклюзия поверхностной бедренной артерии от устья слева

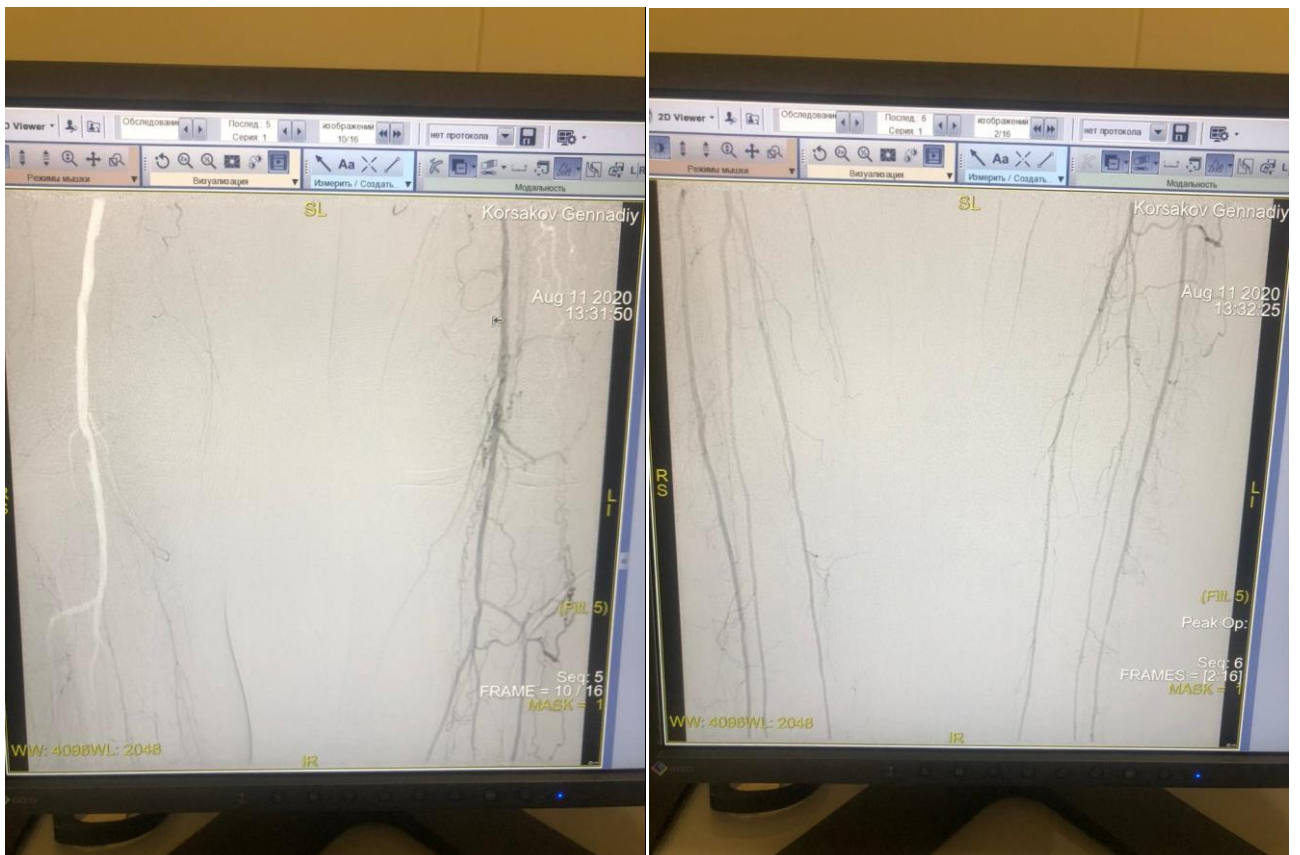


Рис. 10 - Аортоартериография. Коллатеральное заполнение подколенной артерии и артерий голени слева

Пациенту было выполнено бедренно-подколенное шунтирование реверсированной аутовеной (рис. 11-13).



Рис. 11 - Подготовка аутовенозного кондуита

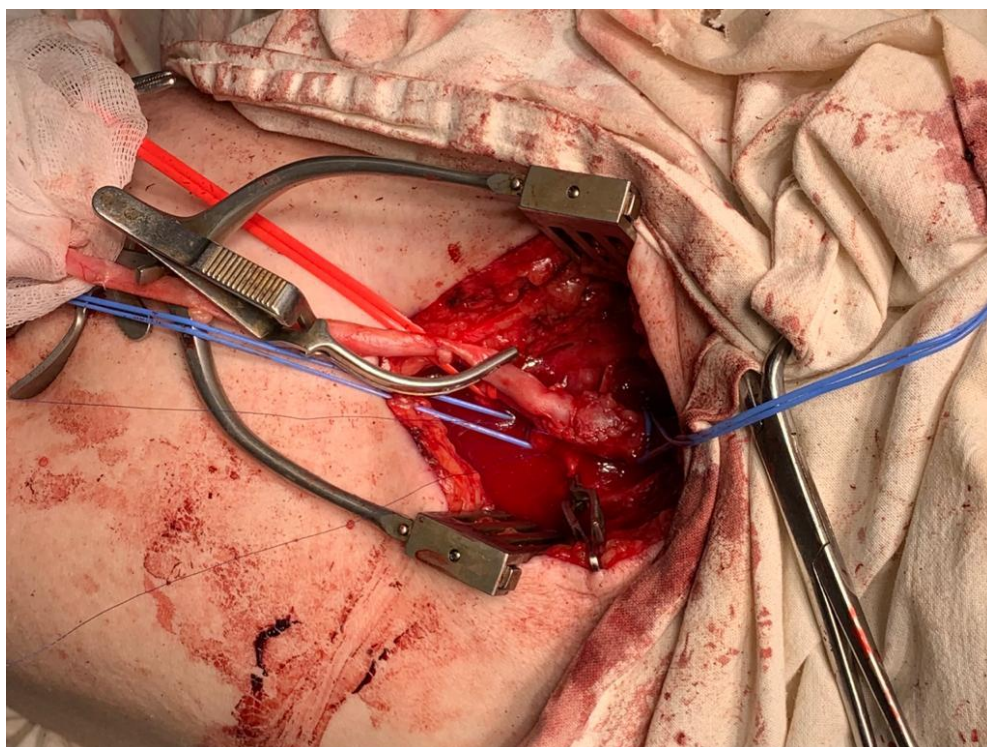


Рис. 12 - Проксимальный анастомоз аутовенозного бедренно-подколенного шунта

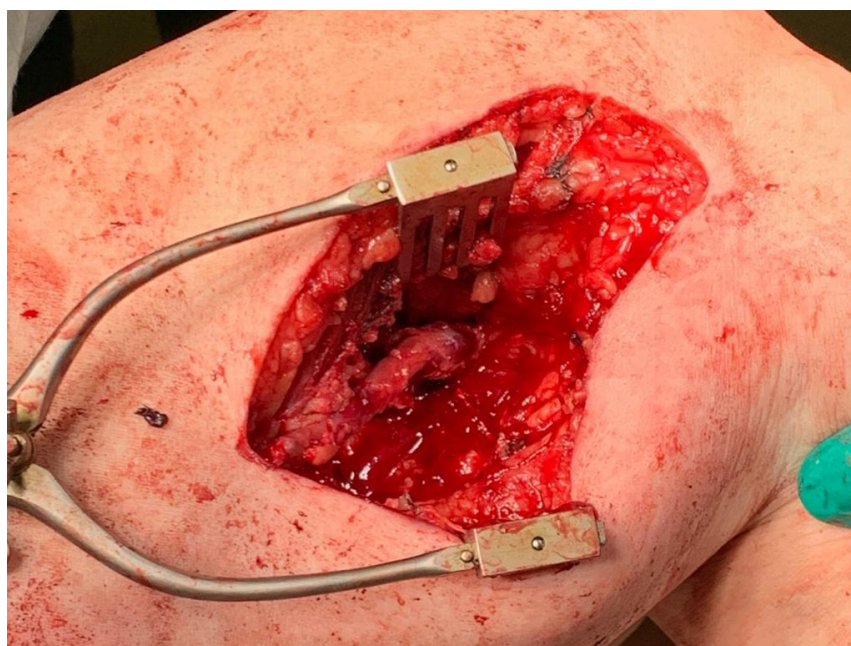


Рис. 13 - Дистальный анастомоз аутовенозного бедренно-подколенного шунта

В послеоперационном периоде отмечается компенсация кровообращения в нижних конечностях, удовлетворительная периферическая пульсация.

В течение трехлетнего наблюдения за пациентом, больших сердечно-сосудистых событий и неблагоприятных событий со стороны конечности отмечено не было. Периферическая пульсация сохраняется, зоны анастомозов по данным УЗИ не имеют гемодинамически значимых стенозов. Маркеры течения заболевания через 3 года после операции представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Маркеры течения ОААНК пациента №1 через 3 года после операции

ДБХ	Ограничения нет
Стаж заболевания	3,5 года
ЛПИ	1,05 слева/1,0 справа
Многоуровневое поражение	нет
МАСЕ в анамнезе	нет
Курение в анамнезе	нет
NO	182,4 мкмоль/л
Эндотелин-1	1,51 нг/мл
Гомоцистеин	15,4 мкмоль/л
Базальный инсулин	9,8 мМЕ/л
Общий холестерин	4,721 ммоль/л
ЛПНП	2,0318 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	2,430

Данный тип течения ОААНК по нашему мнению можно считать условно благоприятным. Безусловно, согласно клиническим рекомендациям и данным,

полученным в нашем исследовании, в данном случае можно было отказаться от оперативного лечения, из-за отсутствия факторов риска развития неблагоприятного течения. Реконструкция была выполнена с целью улучшения качества жизни пациента (увеличения ДБХ). В послеоперационном периоде данных за прогрессирование атеросклеротического процесса также не получено.

### Клинический пример № 2

Пациент Ч. 53 лет амбулаторно обратился к сосудистому хирургу с жалобами на боли в левой нижней конечности при ходьбе на расстояния до 150 метров, возникшие 1 месяц назад.

При осмотре пациента обращает на себя внимание отсутствие пульсации на артериях левой нижней конечности и её ослабление на бедренной артерии справа, а также над ней выслушивается систолический шум. Клинический диагноз: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Подвздошно-бедренная окклюзия слева, стеноз артерий подвздошно-бедренного сегмента справа, IIБ стадия заболевания. ИБС: ПИКС. Учитывая высокий риск прогрессирования ОААНК на основании факторов риска, пациенту было предложено оперативное лечение, от которого он отказался. Маркеры течения ОААНК представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Маркеры течения ОААНК пациента №2 на первом визите

ДБХ	115 метров
Стаж заболевания	1 месяц
ЛПИ	0,31 слева/0,46 справа
Многоуровневое поражение	да
МАСЕ в анамнезе	да
Курение в анамнезе	да (22,4 пачка-лет)
NO	85,4 мкмоль/л
Эндотелин-1	2,04 нг/мл
Гомоцистеин	21,4 мкмоль/л
Базальный инсулин	27,2 мМЕ/л
Общий холестерин	6,207 ммоль/л
ЛПНП	4,0125 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	3,935

Спустя 3 месяца пациент обращается повторно к сосудистому хирургу уже с жалобами на наличие некроза I и II пальца левой стопы (рис. 14). При

физикальном обследовании ангиологический статус не изменился. Маркеры течения выявленные на данном визите представлены в таблице 14.



Рис. 14 - Некроз I и II пальцев левой стопы

Пациент был направлен на госпитализацию в отделение сосудистой хирургии, где была выполнена аортография, на которой определено наличие окклюзии общей и наружной подвздошной артерии слева, критический стеноз общей подвздошной артерии справа, окклюзия подколенной артерии и артерий голени слева (рис. 15-16).

Таблица 14 - Маркеры течения ОААНК пациента №2 на втором визите

ДБХ	Боли в покое
Стаж заболевания	4 месяца
ЛПИ	0,28 слева/0,48 справа
Многоуровневое поражение	да
МАСЕ в анамнезе	да
Курение в анамнезе	да (22,4 пачка-лет)
NO	73,5 мкмоль/л
Эндотелин-1	2,13 нг/мл
Гомоцистеин	23,9 мкмоль/л
Базальный инсулин	25,2 мМЕ/л
Общий холестерин	6,315 ммоль/л
ЛПНП	4,6384 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	4,123



Рис. 15 - Аортоартериография. Окклюзия подвздошных артерий слева, стеноз общей подвздошной артерии справа

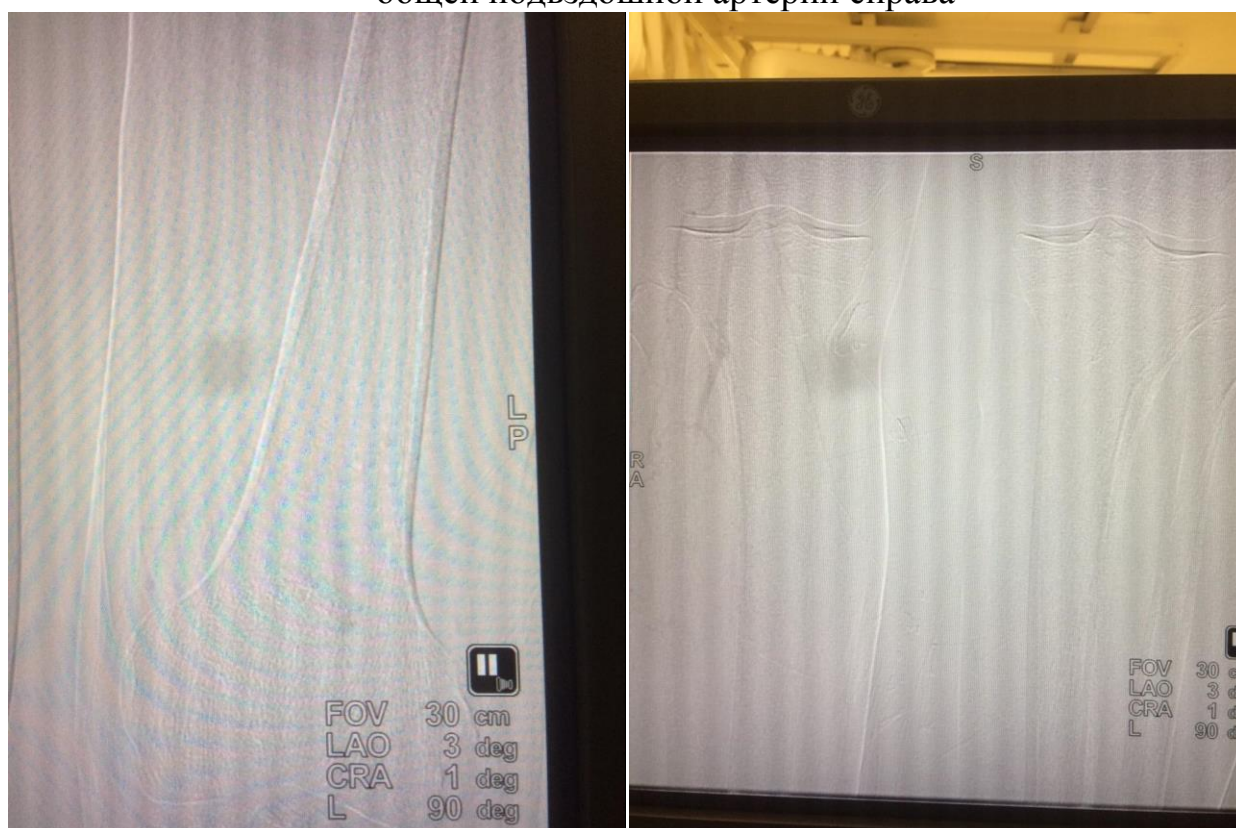


Рис. 16 - Аортоартериография. Окклюзия подколенной артерии и артерий голени слева



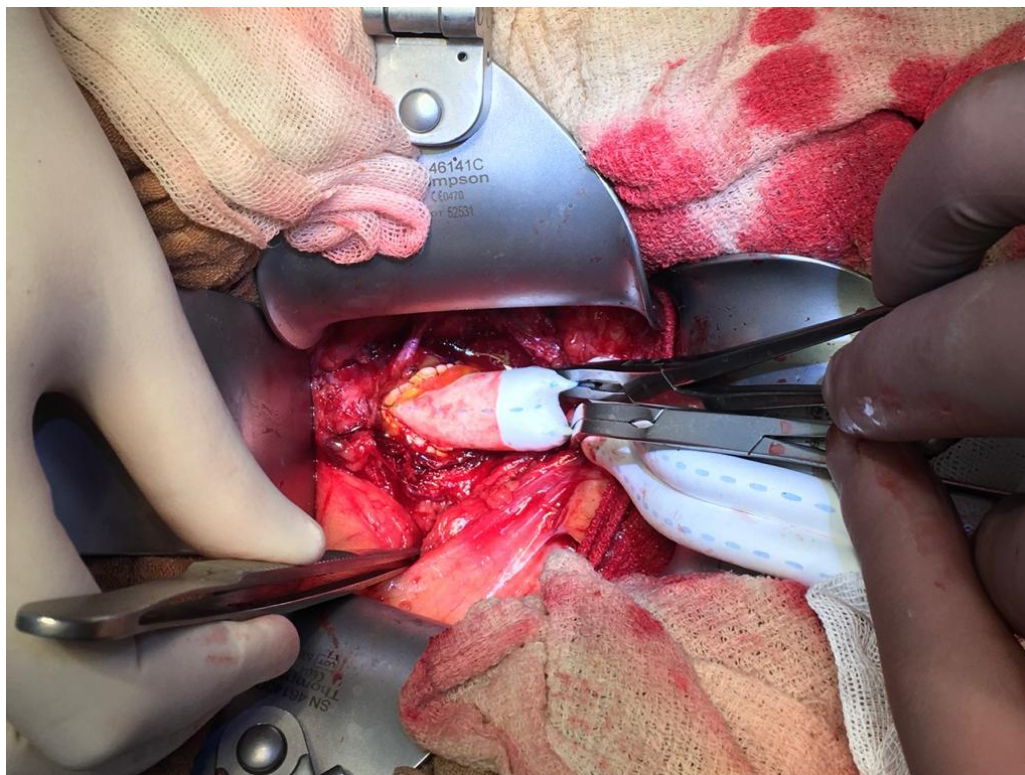


Рис. 17 - Проксимальный анастомоз бифуркационного аорто-бедренного шунта

В данную госпитализацию пациенту выполнено бифуркационное аорто-бедренное шунтирование (аортопрофундальное слева) (рис. 17). После операции пульс на бранше протеза слева, на подколенной артерии справа, достигнута компенсация кровообращения.

Спустя 4 месяца после операции, пациент поступает в отделение сосудистой хирургии с диагнозом: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Тромбоз левой бранши бифуркационного аорто-бедренного шунта, ишемия конечности ПА степени. В таблице 15 представлены маркеры течения ОААНК выявленные на данном визите.

Проведенная ревизия дистального анастомоза и периферического русла оказалась безуспешной; регресса ишемии не наступало на фоне консервативной терапии, в результате развития необратимой ишемии конечности пациенту была выполнена ампутация левого бедра.

Таблица 15 - Маркеры течения ОААНК пациента №2 на третьем визите

ДБХ	Боли в покое (острая ишемия)
Стаж заболевания	8 месяцев
ЛПИ	0 слева/0,64 справа
Многоуровневое поражение	да
МАСЕ в анамнезе	да
Курение в анамнезе	да (22,4 пачка-лет)
НО	72,1 мкмоль/л
Эндотелин-1	2,03 нг/мл
Гомоцистеин	26,9 мкмоль/л
Базальный инсулин	27,4 мМЕ/л
Общий холестерин	6,185 ммоль/л
ЛПНП	4,2384 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	3,998

Данный клинический кейс является явной демонстрацией неблагоприятного течения ОААНК. Маркеры-предикторы говорили уже на первом визите о возможном неблагоприятном прогнозе. Вероятно, проведя операцию до наступления КИНК конечность можно было спасти, ввиду более сохранного эндотелиального резерва на ПБ стадии заболевания.

### **3.4 Генетические предикторы различных типов течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

Изучение генетических предикторов различных заболеваний является важной перспективной задачей современной медицины. Именно генетические предикторы обладают наибольшей чувствительностью в прогнозировании возникновения и течения заболевания.

В данной работе проводилось исследование полиморфизмов -1607insG гена MMP-1 и 250G>A гена LIPC.

При исследовании полиморфизма -250 G>A гена LIPC (таблица 16) выявлены статистически значимые ( $p=0,013$ ) различия наблюдаемых и ожидаемых частот при сравнении групп пациентов с ОААНК и здоровых добровольцев по критерию Хи-квадрат Пирсона с поправкой на правдоподобие; связь по критерию Крамера V положительная (+0,335). При оценке I и II группы по критерию Хи-квадрат Пирсона выявлены достоверные ( $p=0,004$ ) различия

наблюдаемых и ожидаемых частот; связь по критерию Фи положительная (+0,354).

Таблица 16 - Частота распределения генотипов LIPC -250 G>A, %

LIPC -250 G>A				
Исследуемая группа	Генотип GG, % (n)	Генотип GA, % (n)	Генотип AA, % (n)	p ОР (ДИ)
Группа I	29,4% (10)	70,6% (24)	0	p=0,004
Группа II	64,7% (22)	35,3% (12)	0	ОР=2,133 (ДИ 1,214- 3,748)
Здоровые добровольцы	50% (4)	50% (4)	0	p=0,013

Таким образом, патологический аллель А полиморфного маркера -250G>A гена LIPC встречался достоверно чаще среди пациентов I группы, в связи с чем его носительство можно считать предиктором неблагоприятного течения ОААНК.

По данным Chahirou Y. 2018 г. печеночная липаза, являющаяся ключевым ферментом, участвующим в метаболизме липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), также принимает участие в образовании более атерогенной фракции - липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) [89].

В литературе описана взаимосвязь полиморфизма -250 G>A гена LIPC и развития инсулинорезистентности и повышения уровня инсулина, что является еще одним важным фактором риска развития и прогрессирования атеросклероза [5]. В работе Bakker W. [78], посвященной определению роли гипергликемии, инсулинорезистентности и ожирения в развитии дисфункции эндотелия, было определено, что снижение активности печеночной липазы может приводить к прогрессированию атеросклеротического процесса. Данный факт подтверждают результаты нашего исследования – у пациентов с неблагоприятным типом течения ОААНК (I группа) превалировало носительство патологического аллеля А в полиморфизме -250 G>A гена LIPC.

Более раннее исследование Valdivielso P. [162], посвященное изучению данного полиморфизма показало снижение активности печеночной липазы у лиц с сахарным диабетом и носительством аллеля А, однако, у лиц без диабета данный факт не изучался.

Таким образом, согласно результатам данного исследования, гетерозиготное носительство (генотип GA) ассоциируется с повышенным риском развития неблагоприятного течения ОААНК. Отношение рисков – 2,133 с 95% доверительным интервалом 1,214-3,748 (таблица 16).

Гомозигота по первой аллели (генотип GG) является нормой. Согласно результатам нашего исследования, данный генотип достоверно чаще встречался у пациентов с условно благоприятным течением ОААНК (II группа).

При оценке полученных результатов исследования полиморфизма - 1607insG гена MMP1 (таблица 11), различия наблюдаемых и ожидаемых частот по критерию Хи-квадрат Пирсона с поправкой на правдоподобие статистически незначимы, как при сравнении I и II групп ( $p=0,128$ ), так и при сравнении групп пациентов с ОААНК со здоровыми добровольцами ( $p=0,38$ ) (таблица 17).

Таблица 17 - Частота распределения генотипов MMP1 -1607insG, %

MMP1 -1607insG				
Исследуемая группа	Генотип 1G/1G, % (n)	Генотип 1G/2G, % (n)	Генотип 2G/2G, % (n)	p
Группа I	17,65% (6)	64,7% (22)	17,65% (6)	p=0,128
Группа II	35,3% (12)	41,18% (14)	23,52% (8)	
Контрольная группа	25% (2)	50% (4)	25% (2)	p=0,38

Учитывая полученные результаты нашего исследования, полиморфизм - 1607insG гена MMP1 не может использоваться в качестве маркера прогрессирующего течения ОААНК.

Изучение полиморфных маркеров в настоящее время является достаточно распространенным методом исследования среди ученых, ведущих свою научную деятельность в разделе определения прогноза течения каких либо заболеваний. На

наш взгляд, дальнейшее изучение генетических полиморфизмов в проекции различных вариантов течения одного и того же заболевания может внести значительный вклад в определение прогноза для пациента.

### Клинический пример № 3

Пациент Б. 58 лет обратился амбулаторно к сосудистому хирургу с жалобами на боли в икроножных мышцах при ходьбе на расстояния примерно 100-150 м. Со слов пациента, данные боли возникли порядка 3 месяцев назад. В анамнезе у пациента инфаркт миокарда, выполнялось стентирование правой коронарной артерии по экстренным показаниям. При осмотре пациента пульсация определяется только на бедренных артериях с обеих сторон, ниже отсутствует. Клинический диагноз: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Окклюзия артерий бедренно-подколенного сегмента с обеих сторон, IIБ стадия заболевания. По данным УЗИ артерий нижних конечностей определялась окклюзия поверхностной бедренной артерии от устья с обеих сторон с удовлетворительным её заполнением по коллатералям на границе с подколенной артерией. Слева имела место окклюзия передней большеберцовой артерии, малоберцовая и задняя большеберцовая артерии проходимы. Маркеры течения представлены в таблице 18.

Таблица 18 - Маркеры течения ОААНК пациента №3 на первом визите

ДБХ	132 метра
Стаж заболевания	3 месяца
ЛПИ	0,38 слева/0,60 справа
Многоуровневое поражение	да
МАСЕ в анамнезе	да
Курение в анамнезе	нет
NO	102,6 мкмоль/л
Эндотелин-1	2,15 нг/мл
Гомоцистеин	26,9 мкмоль/л
Базальный инсулин	20,4 мМЕ/л
Общий холестерин	5,687 ммоль/л
ЛПНП	4,3287 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	3,625
Генотип -250G>A LIPC	GA

Учитывая, что в данном случае у пациента отсутствовала критическая ишемия (ДБХ 132м, язв и некрозов не обнаружено) пациенту была назначена консервативная терапия согласно клиническим рекомендациям с контрольным визитом к сосудистому хирургу через 6 месяцев.

Спустя 3 месяца после визита пациент повторно обращается к сосудистому хирургу, не дожидаясь контрольного визита. Предъявил жалобы на наличие болей в левой нижней конечности в покое, без физической нагрузки. При физикальном осмотре ангиологический статус больного не изменился, пульс на бедренных артериях отчетливый, ниже не определяется. Клинический диагноз: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Окклюзия артерий бедренно-подколенного сегмента с обеих сторон, III стадия заболевания слева. В таблице 19 представлены маркеры течения заболевания, выявленные на данном визите. В связи с развитием критической ишемии пациент был направлен на госпитализацию в отделение сосудистой хирургии, где первым этапом в качестве дообследования и определения дальнейшей оперативной тактики было выполнено ангиографическое исследование в объеме аортографии, на которой была выявлена окклюзия поверхностной бедренной артерии от устья с удовлетворительным заполнением её на границе с подколенной артерией в нижней трети бедра, а также окклюзией артерий голени (рис. 18-19).

Таблица 19 - Маркеры течения ОААНК пациента №3 на втором визите

ДБХ	Боли в покое
Стаж заболевания	6 месяцев
ЛПИ	0,32 слева/0,58 справа
Многоуровневое поражение	да
МАСЕ в анамнезе	да
Курение в анамнезе	нет
NO	98,1 мкмоль/л
Эндотелин-1	2,32 нг/мл
Гомоцистеин	24,2 мкмоль/л
Базальный инсулин	23,1 мМЕ/л
Общий холестерин	5,660 ммоль/л
ЛПНП	4,4217 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	3,542
Генотип -250G>A LIPC	GA



Рис. 18 - Аортоартериография. Артерии подвздошно-бедренного сегмента полностью проходимы, отмечается окклюзия поверхностной бедренной артерии от устья.

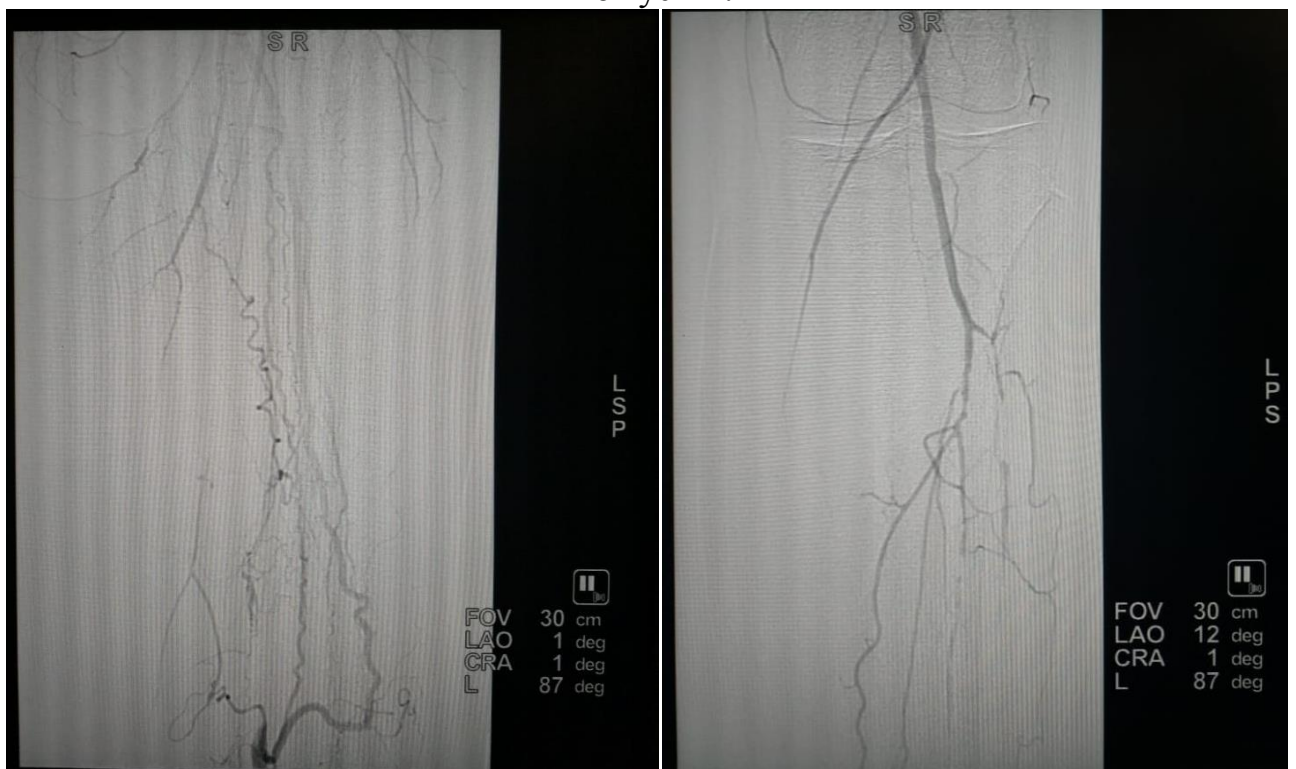


Рис. 19 - Аортоартериография. Окклюзия поверхностной бедренной артерии на всем протяжении с удовлетворительным заполнением подколенной артерии по коллатералям. Окклюзия артерий голени.

Учитывая удовлетворительный сегмент русла оттока в виде проходимой подколенной артерии на всем протяжении и развитой коллатеральной сети на голени, пациенту было выполнено бедренно-подколенное шунтирование синтетическим протезом «Экофлон 8 мм» на левой нижней конечности. Кровообращение в нижней конечности компенсировано, пульс на подколенной артерии после операции. Послеоперационный период гладкий, пациент был выписан на 7 сутки после шунтирования.

Спустя 4 месяца, пациент поступает по экстренным показаниям в отделение сосудистой хирургии с диагнозом: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Тромбоз бедренно-подколенного шунта слева, ишемия ИБ-ПА степени. По данным УЗИ определялся тромбоз шунта и окклюзия проксимального сегмента подколенной артерии. Маркеры течения представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Маркеры течения ОААНК пациента №3 на третьем визите

ДБХ	Боли в покое
Стаж заболевания	10 месяцев
ЛПИ	0 слева/0,62 справа
Многоуровневое поражение	да
МАСЕ в анамнезе	да
Курение в анамнезе	нет
НО	84,2 мкмоль/л
Эндотелин-1	2,25 нг/мл
Гомоцистеин	24,9 мкмоль/л
Базальный инсулин	24,6 мМЕ/л
Общий холестерин	5,736 ммоль/л
ЛПНП	4,4690 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	3,852
Генотип -250G>A LIPC	GA

Пациент был оперирован в условиях гибридной операционной: мобилизован бедренно-подколенный шунт вне зон анастомозов, выполнена тромбэктомия из шунта с получением удовлетворительного антеградного и ретроградного кровотоков, после чего в дистальном направлении произведена баллонная ангиопластика зоны дистального анастомоза и подколенной артерии.



После операции была достигнута компенсация кровообращения в левой нижней конечности, пульсация определялась на подколенной артерии. Пациент выписан в удовлетворительном состоянии.

Через 2 месяца пациент был снова госпитализирован по экстренным показаниям в отделение сосудистой хирургии с диагнозом: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Тромбоз бедренно-подколенного шунта слева, ишемия ПБ степени. По данным УЗИ отмечается окклюзия зоны дистального анастомоза и подколенной артерии. Учитывая высокую угрозу развития необратимой ишемии пациент был оперирован по экстренным показаниям. Интраоперационно была проведена ревизия дистального анастомоза бедренно-подколенного шунта, подколенной артерии и дистального русла на предмет оценки периферического русла для возможного рещунтирования. Однако, русло оттока оказалось неудовлетворительным, в связи с чем пациенту по жизненным показаниям была выполнена ампутация левого бедра.

Таким образом, пациент потерял конечность спустя 1 год от начала появления первых симптомов. Именно такое стремительное развитие неблагоприятных событий со стороны конечности, отсутствие длительного эффекта от реваскуляризирующих операций, на наш взгляд, стоит относить к неблагоприятному течению ОААНК.

Избежать развития данного исхода вероятно можно было оценив факторы риска и пользу от своевременной ревакуляризации. В данном случае было определено носительство патологического аллеля А (генотип GA) полиморфизма 250 G>A в гене LIPC, ЛПИ при первом осмотре составил 0,42, а также перенесенный инфаркт миокарда, что по результатам нашего исследования является факторами риска развития неблагоприятного течения ОААНК. Прооперировав данного пациента на ПБ стадии заболевания, с более благоприятным для функционирования шунта периферическим руслом, данного исхода можно было избежать.

### Клинический пример № 4

Пациент Ц. 69 лет длительно наблюдается у сосудистого хирурга с диагнозом: Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Синдром Лериша, IIБ стадия заболевания. При расспросе больного был выявлен длительный анамнез заболевания (8 лет). Пациент предъявлял жалобы на боли в обеих нижних конечностях при ходьбе около 200 метров. Объективно: пульс на артериях нижних конечностей не определяется, однако кровообращение в конечности компенсировано, подкожные вены заполнены, капиллярная реакция адекватная. По результатам тредмил теста ДБХ составила 189 метров. В анамнезе пациента неблагоприятные сердечно-сосудистые события отсутствуют. ЛПИ на момент осмотра составил 0,65 слева; 0,76 справа и за 8 лет заболевания отрицательной динамики ЛПИ не выявлено. ЛПИ, измеренный при первом обращении составил 0,62 слева; 0,75 справа. При исследовании полиморфизма - 250 G>A в гене LIPC был определен гомозиготный генотип GG (таблица 21).

Таблица 21 – Маркеры течения ОААНК пациента №1 через 3 года после операции

ДБХ	Ограничения нет
Стаж заболевания	8 лет
ЛПИ	0,65 слева/0,76 справа
Многоуровневое поражение	нет
МАСЕ в анамнезе	нет
Курение в анамнезе	нет
NO	168,2 мкмоль/л
Эндотелин-1	1,24 нг/мл
Гомоцистеин	15,6 мкмоль/л
Базальный инсулин	5,3 мМЕ/л
Общий холестерин	4,524 ммоль/л
ЛПНП	2,1594 ммоль/л
Коэффициент атерогенности	2,652
Генотип -250G>A LIPC	GG

Пациент на протяжении 8 лет регулярно (1 раз в полгода) наблюдается у сосудистого хирурга, производится коррекция консервативной терапии согласно клиническим рекомендациям. Ангиологический статус данного пациента не

изменился с момента постановки диагноза. Степень ХАН (стадия заболевания) объективно не менялась при длительном наблюдении.

Такой тип течения заболевания мы считаем условно благоприятным, или стабильным. Прогноз пациентов именно с таким типом течения заболевания значительно лучше, чем у лиц с агрессивно протекающим атеросклерозом.

### **3.5 Алгоритм персонализированного подхода к ведению пациентов с различными типами течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей**

На основании полученных результатов в ходе данного диссертационного исследования, составлен алгоритм персонализированного подхода к пациентам с различными типами течения ОААНК (рис. 20).

Согласно данному алгоритму при первичном обращении пациента за помощью к сосудистому хирургу, после проведения физикального обследования необходимо провести исследование в следующем объеме:

1) оценка наличия в анамнезе больших неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (МАСЕ), возраста пациента, стажа заболевания, курения (расчет индекса пачка-лет);

2) определение ЛПИ, проведение ДС артерий нижних конечностей, брахиоцефальных артерий;

3) исследование уровня стабильных метаболитов оксида азота и эндотелина-1.

4) оценка липидограммы (уровня общего холестерина, ЛПНП, коэффициента атерогенности), уровня базального инсулина и гомоцистеина

5) исследование полиморфизма -250 G>A гена LIPC.

Пациенты, обратившиеся за помощью при уже развившейся КИНК, должны быть незамедлительно направлены на госпитализацию в отделение сосудистой хирургии для проведения реваскуляризации конечности. Эта группа пациентов характеризуется более высоким риском неблагоприятных исходов как со стороны конечности, так и в целом прогноза жизни, в связи с возможными системными осложнениями после проведенной сосудистой реконструкции, поэтому им должна

быть проведена тщательная оценка состояния сосудистого русла других бассейнов.

Для пациентов с ПБ стадией заболевания, имеющих факторы риска развития неблагоприятного течения ОААНК, на наш взгляд, имеет смысл проведения реваскуляризации до наступления КИНК.

Пациенты, впервые обратившиеся на I-IIА стадия заболевания и имеющие вышеописанные факторы риска должны подвергаться более частому осмотру профильных специалистов (кардиолог, сосудистый хирург), а проведение измерения ЛПИ должно стать для них рутинной процедурой.



Рис. 20 - Алгоритм персонализированного подхода к тактике ведения пациентов с различными типами течения ОААНК

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Атеросклероз – сложный многофакторный генерализованный процесс, протекающий в различных сосудистых бассейнах с разной интенсивностью. К большому сожалению, порой из-за атеросклероза разной локализации происходит инвалидизация именно трудоспособного населения. Неблагоприятные сердечно-сосудистые события представляют не только угрозу инвалидизации, но и жизни пациента.

ОААНК является важной социально значимой проблемой, ввиду большого количества проводимых ампутаций в нашей стране. Мультифокальность атеросклеротического процесса существенно утяжеляет прогноз как для сохранения конечности, так и для жизни пациента в целом. Поэтому важно не только оценивать состояние русла конечности, а понимать, что с большой долей вероятности проблема существует и в других бассейнах.

Есть длительно наблюдающиеся пациенты с ОААНК, степень ХАН у которых не прогрессирует, а состояние ангиологического статуса не изменяется долгое время. Как правило, это пациенты с клиникой перемежающейся хромоты, с достаточно большой ДБХ. Этим пациентам назначается стандартная консервативная терапия (ацетилсалициловая кислота и статины) с целью профилактики тромботических осложнений, а также препараты, улучшающие микроциркуляцию в тканях и способствующие развитию коллатерального русла с целью увеличения ДБХ. Эта когорта пациентов не требует проведения реваскуляризации конечности, только в случаях желания пациента улучшить качество своей жизни, когда достигнут определенный предел ДБХ путем назначения лекарственных препаратов.

К сожалению, есть другая подгруппа пациентов, у которых течение ОААНК носит агрессивный характер. У данных пациентов атеросклеротический процесс прогрессирует постоянно, вне зависимости от назначенной консервативной терапии, а препараты, назначаемые им для улучшения качества жизни, оказываются неэффективными. В таких случаях для сосудистого хирурга, важно найти правильное время для проведения реваскуляризации, ввиду того, что

общепринятое положение – оперировать только пациентов с КИНК, в данном контексте может не сработать, ввиду несостоятельности периферического русла для проведения артериальной реконструкции.

В современных клинических рекомендациях ПБ стадия заболевания отмечена как относительное показание к оперативному лечению. Таким образом, судьба пациента с данной степенью ХАН остается в руках врача, к которому он обратился за помощью, так как четких критериев понятия «относительное показание» на сегодняшний день нет.

У пациентов с развившейся КИНК одновременно повышается как общий сердечно-сосудистый риск, так и риск потери конечности. Вопрос о том, стоит ли оперировать всех пациентов с ПБ стадией заболевания, не дожидаясь развития КИНК оставался бы актуальным, однако, в данном контексте стоит учесть риск проводимой реваскуляризации. Любая сосудистая операция сопряжена с большими рисками осложнений: кровопотеря, местные осложнения, парапротезная инфекция и т.д. Сохранность имеющейся ишемизированной конечности перевешивает возможность ампутации после неудачно проведенной реваскуляризирующей операции.

Вероятно, ответ на вопрос, каких именно пациентов оперировать с ПБ стадией заболевания частично удалось получить в результатах данной диссертации. На наш взгляд пациентов нужно изначально разделять на тех, у кого ОААНК может протекать относительно (условно благоприятно), и тех у кого может развиваться КИНК.

Помочь врачу определить прогноз развития КИНК может исследование факторов риска прогрессирования данного заболевания.

Таким образом, согласно цели и задачам исследования в данной работе был проведен сравнительный анализ факторов риска прогрессирования ОААНК у пациентов с различными типами течения данного заболевания, находившихся на лечении в отделениях сосудистой хирургии ГБУ РО ОККД, ГБУ РО ГКБСМП, а также в отделениях консультативно-диагностической поликлиники ГБУ РО

ОККД. Работа выполнена в рамках плана научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Общее количество человек, участвующих в исследовании составило 112 человек. В исследовании пациенты разделены на три группы.

Первую группу составили пациенты, страдающие неблагоприятным течением ОААНК, у которых развилась КИНК быстрее, чем за 5 лет от начала заболевания.

Во вторую группу включались пациенты с условно благоприятным течением ОААНК, у которых атеросклеротический процесс протекает более гладко, а КИНК не развивалась в течение 5 лет от начала заболевания.

Третью группу составили здоровые добровольцы, с целью определения референсных значений и сравнения полученных результатов с результатами исследования пациентов с ОААНК.

Одной из первых задач исследования было определение и характеристика понятий «неблагоприятный тип течения ОААНК» и «условно благоприятный тип течения ОААНК». Дальнейшие задачи исследования определяли факторы риска развития неблагоприятного типа течения заболевания.

Исследование факторов риска показало, что существуют значимые отличия во множестве сравниваемых параметров у пациентов с различными типами течения ОААНК.

Было определено, что в группе неблагоприятного течения заболевания оказались достоверно более молодые пациенты ( $61,08 \pm 9,56$  лет в I группе;  $66,08 \pm 7,15$  лет во II группе), что на наш взгляд свидетельствует о более агрессивном течении атеросклероза при раннем начале заболевания. Пациенты с условно благоприятным течением ОААНК имели более длительный анамнез заболевания ( $2,39 \pm 0,73$  лет в I группе;  $8,61 \pm 3,30$  лет во II группе), однако этот параметр был изначально оговорен критериями включения в группы.

Исследуя факторы риска заболеваний атеросклеротического генеза нельзя не учитывать один из важнейших токсических факторов развития атеросклероза – курение. Среди пациентов участвующих в исследовании, было определено



влияние интенсивности курения на течение ОААНК. Статистически значимо пациенты группы неблагоприятного течения курили интенсивнее пациентов с благоприятно протекающим ОААНК (индекс пачка-лет  $21,00 \pm 9,40$  в I группе;  $9,62 \pm 4,20$  во II группе).

Попытки исследования влияния локализации атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей на течение заболевания оказались неуспешными, ввиду значительного превосходства в количестве исследуемых пациентов с окклюзиями и стенозами бедренно-подколенного сегмента в обеих группах. Наблюдения подтверждают данные литературы о том, что поражение артерий бедренно-подколенного сегмента является наиболее распространенным среди европейцев.

Если уровень окклюзии по нашим данным достоверно не влияет на течение ОААНК, то многоэтажный характер поражения артериального русла нижних конечностей влияет существенно. Именно у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК была выявлена достоверно значимая ( $p=0,004$ ) частота встречаемости данного типа поражения.

Выявление низкого ЛПИ по результатам нашего исследования также может являться достоверным маркером неблагоприятного течения ОААНК ( $0,40 \pm 0,19$  в I группе;  $0,61 \pm 0,13$  во II группе). На наш взгляд, данный тест должен быть рутинным методом скрининга у пациентов высокой степени риска сердечно-сосудистых осложнений.

Важную роль в оценке прогрессирования ОААНК, как оказалось, вносит наличие больших неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. В нашем исследовании МАСЕ достоверно чаще ( $p < 0,001$ ) встречались в анамнезе больные с неблагоприятным течением ОААНК, на основании чего можно говорить о том, что у таких пациентов атеросклероз во всех бассейнах протекает более агрессивно и именно они должны подвергаться более частому наблюдению кардиологов и сосудистых хирургов. Несмотря на то, что нами не обнаружено статистически достоверной разницы между наличием гемодинамически значимых стенозов БЦА у пациентов исследуемых групп, стоит помнить о том, что именно они являются

предикторами развития ОНМК – одним из больших неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

В работе также было проведено исследование функционального состояния эндотелия у пациентов с различным течением ОААНК. Было выявлено существенное снижение уровня секреции оксида азота эндотелием у больных, страдающих неблагоприятным течением ОААНК ( $88,5 \pm 7,3$  мкмоль/л в I группе;  $161,5 \pm 8,6$  мкмоль/л во II группе) в то время, как уровень эндотелина-1 ( $2,1 \pm 0,1$  нг/мл в I группе;  $1,6 \pm 0,1$  нг/мл во II группе) – важнейшего вазоконстриктора достоверно повышался. Р.Е. Калининым и соавторами было введено понятие «эндотелиальный резерв» - способность ответа эндотелия на стимулирующие факторы, путем выработки оксида азота. В нашем исследовании не было динамического наблюдения и назначения эндотелиотропной терапии, однако, учитывая существенно сниженный изначально уровень оксида азота, можно говорить о сниженном эндотелиальном резерве у пациентов, страдающих неблагоприятным течением ОААНК.

Гипергомоцистеинемия как маркер эндотелиальной дисфункции изучается уже достаточно длительное время. Определение уровня данного маркера, по результатам нашего исследования носит высокую прогностическую ценность для определения типа течения ОААНК, поскольку было выявлено достоверное повышение его уровня у пациентов с неблагоприятным течением ОААНК ( $20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л), по сравнению с пациентами с условно благоприятным течением ( $18,1 \pm 0,6$  мкмоль/л). Также была выявлена достоверная положительная корреляция ( $r=0,426663$ ) между уровнем гомоцистеина и эндотелина-1, что подтверждает прогрессивно негативное влияние данного вещества на функциональное состояние эндотелия.

Гиперинсулинемия по результатам данного исследования достоверно оказывает влияние на течение ОААНК. Было отмечено повышение уровня базального инсулина у пациентов с неблагоприятным течением заболевания ( $24,9 \pm 4,6$  мМЕ/л). В условиях гиперинсулинемии повышается симпатический тонус, общее периферическое сосудистое сопротивление, а также значительно

активируется синтез вазоконстрикторов, что неминуемо будет влиять на прогрессирование атеросклеротического процесса.

При исследовании липидного спектра было определено влияние общего холестерина, ЛПНП и коэффициента атерогенности на тип течения ОААНК. Результаты этой части исследования можно резюмировать тем, что данные маркеры являются не только признаком имеющего атеросклероза, но их значительно повышенный уровень может свидетельствовать о более агрессивном характере заболевания.

Изучение генетических маркеров с целью определения прогноза течения любых заболеваний является наиболее перспективной задачей современной медицины. Чем больше маркеров будет изучено с разных позиций в рамках одного заболевания, тем более точно медицинское сообщество сможет прийти к общему мнению в вопросе прогнозирования формирования и течения заболевания. Нами были исследованы два полиморфных маркера: -250 G>A гена LIPC и -1607insG гена MMP-1. Маркеры были выбраны осознанно, литературных данных о влиянии их на течение атеросклероза практически не было, однако, возможное участие этих ферментов в процессе формирования атеросклеротических бляшек давало нам определенную уверенность в получении объективных результатов.

По результатам нашего исследования полиморфный маркер -1607insG гена MMP-1 существенно не оказывал на течение ОААНК. Частота распределения генотипов существенно не отличалась в исследуемых группах.

Достоверным оказалось влияние полиморфизма 250G>A гена LIPC на течение ОААНК. Статистически значимо ( $p=0,004$ ) у пациентов с неблагоприятным течением заболевания встречалось носительство патологического аллеля А (генотип GA). Таким образом, данный маркер может также использоваться в оценке прогноза течения ОААНК.

## ВЫВОДЫ

1. Неблагоприятный тип течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей характеризуется стремительным развитием критической ишемии нижних конечностей, острой тромботической ишемии, а также развитием тромбозов зон предшествующих реконструкций. Условно благоприятный тип течения характеризуется отсутствием прогрессирования хронической ишемии нижних конечностей и развития критической ишемии, а также длительным функционированием сосудистых реконструкций. Наличие у пациента больших неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (инфарктов и инсультов) в анамнезе, низкого лодыжечно-плечевого индекса ( $0,40 \pm 0,19$ ) и многоэтажного поражения артерий нижних конечностей являются факторами риска развития неблагоприятного течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей ( $p < 0,05$ ).

2. У пациентов с неблагоприятным типом течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей отмечается выраженная дисфункция эндотелия, что проявляется снижением уровня стабильных метаболитов оксида азота ( $88,5 \pm 7,3$  мкмоль/л) и повышением уровня эндотелина-1 ( $2,1 \pm 0,1$  нг/мл) ( $p < 0,05$ ).

3. Уровень стабильных метаболитов оксида азота  $> 88,5 \pm 7,3$  мкмоль/л и уровень эндотелина-1  $< 2,1 \pm 0,1$  нг/мл является предиктором условно благоприятного течения заболевания ( $p < 0,05$ ).

4. Повышения уровня гомоцистеина ( $20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л), базального инсулина ( $24,9 \pm 4,6$  мМЕ/л), общего холестерина  $> 5,865$  ммоль/л [ $5,745$ ;  $6,66$ ], липопротеидов низкой плотности  $> 3,7665$  ммоль/л; [ $3,589$ ;  $4,576$ ] и коэффициента атерогенности  $> 4,025$ ; [ $2,7$ ;  $5,792$ ] являются предикторами развития неблагоприятного течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей ( $p < 0,05$ ).

5. Уровень гомоцистеина  $< 20,7 \pm 0,8$  мкмоль/л, базального инсулина  $< 24,9 \pm 4,6$  мМЕ/л, общего холестерина  $< 5,865$  ммоль/л [ $5,745$ ;  $6,66$ ], липопротеидов низкой плотности  $< 3,7665$  ммоль/л [ $3,589$ ;  $4,576$ ] и коэффициента

атерогенности  $<4,025$  [2,7; 5,792] является маркером условно благоприятного течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей ( $p < 0,05$ ).

6. Носительство патологического аллеля А полиморфного маркера 250G>А гена LРС является предиктором неблагоприятного течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей (отношение рисков=2,133; ДИ 1,214-3,748).

7. Сформулированный алгоритм ведения пациентов с различными типами течения облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей позволяет определять персонализированный подход к определению стратегии лечения пациента.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем пациентам с впервые выявленным облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей необходимо определять тип течения на основании результатов исследования факторов риска, анамнеза сопутствующей сердечно-сосудистой патологии, биохимических маркеров функционального состояния и повреждения эндотелия, а также результатов исследования полиморфных генетических маркеров.

2. Пациенты с неблагоприятным типом течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей должны чаще (1 раз в 3 месяца) наблюдаться у сосудистого хирурга и кардиолога с целью раннего выявления прогрессирования заболевания и коррекции лечения.

3. Для пациентов с неблагоприятным течением облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей должна быть рассмотрена возможность проведения реваскуляризации уже на ИБ стадии заболевания ввиду снижения эндотелиального резерва при развитии критической ишемии нижних конечностей и прогрессивной «гибели» периферического русла в условиях отсутствия магистрального кровотока.

4. Для пациентов с условно благоприятным типом течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей достаточным периодом наблюдения будет являться 1 раз в 6 месяцев.

5. Для пациентов с условно благоприятным типом течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей рекомендовано проведение оперативного лечения только в случае развития критической ишемии нижних конечностей или значимом снижении качества жизни при резко уменьшенной дистанции безболевого ходьбы.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Афанасьева, О.И. Повышенная концентрация липопротеида (а) и наличие подфракций мелких плотных липопротеидов низкой плотности как независимые факторы риска ишемической болезни сердца [Текст] / О.И. Афанасьева, Е.А. Уткина, Н.В. Артемьева и др. // Кардиология. – 2016. – Т. 6. – С. 5-11
2. Афонасьева, Т.Н. Эндотелиальная дисфункция. Возможности ранней диагностики [Текст] / Т.Н. Афонасьева // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. - Т. 18, №11. – С. 101–104
3. Валеева, И.Х. Эндотелиальная дисфункция на ранней стадии метаболического синдрома [Текст] / И.Х. Валеева, Л.Н. Куршакова // - 2010. - Т. 4, № 43. - С. 125–128.
4. Васина, Л.В. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры [Текст] / Л.В. Васина, Н.Н. Петрищев, Т.Д. Власов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2017; - Т. 16, №. – С. 4–15
5. Вильмс, Е.А. Распространенность полиморфизмов генов, ассоциированных с социально-значимыми мультифакториальными заболеваниями, у населения г. Омска [Текст] / Е.А. Вильмс, Т.И. Долгих, Д.В. Турчанинов // Медицинский альманах. - 2012. - №3. - С. 169-172.
6. Владимирская, Т.Э. Характеристика апоптоза клеток коронарных артерий с атеросклеротическими повреждениями [Текст] / Т.Э. Владимирская, И.А. Швед // Клиническая медицина. – 2016. – Т. 94, №9. – С. 672-677. <https://doi.org/10.19921/0023-2149-2016-94-9-650-656>
7. Восканян, Ю.Э. Отдаленные результаты хирургического лечения поздних окклюзий аорто-бедренных трансплантатов у больных с рецидивом критической ишемии нижних конечностей [Текст] / Ю.Э. Восканян и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2000. -Т.6, № 4. - С.81-85.
8. Груздева, О.В. Определение окислительно-модифицированных липопротеинов и антител к ним при осложненном течении инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST [Текст] / О.В. Груздева, О.Л. Барбараш, Ю.А. Дылева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 7. – С. 14–17.

9. Джазаева, М.Б. Матриксные металлопротеиназы: значение в ремоделировании сердца у пациентов с дисплазией соединительной ткани [Текст] / М.Б. Джазаева, Н.Н. Гладких, В.А. Решетников // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2018. - №4.
10. Дониров, Б.А. Об этнических и клинко-анатомических особенностях облитерирующих заболеваний магистральных и периферических артерий нижних конечностей в республике Бурятия [Текст] / Б.А. Дониров, О.Ю. Донирова // Сибирский медицинский журнал. - 2003. - №3. - С. 20-23
11. Ершова, А.И. Атеросклеротическая бляшка в сонных артериях как маркер риска развития сердечно-сосудистых событий в популяции среднего возраста [Текст] / А.И. Ершова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2018. - Т. 17, № 4. - С. 0–3.
12. Жито, А.В. Маркеры эндотелиальной дисфункции: E-селектин, эндотелин-1 и Фактор фон Виллебранда у пациентов с ишемической болезнью сердца, в том числе, в сочетании с сахарным диабетом 2 типа [Текст] / А.В. Жито, А.О. Юсупова, Е.В. Привалова // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2019. – Т.15, №6. – С. 892-899. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2019-15-6-892-899>
13. Зоркин, С.Н. Оксид азота, как показатель эндотелиальной дисфункции при варикоцеле [Текст] / С.Н. Зоркин [и др.] // Андрология и генитальная хирургия 2009. - №2. - С. 144.
14. Зубарева, М.Ю. Резидуальный (остаточный) риск у больных очень высокого риска с атерогенными дислипидемиями, находящихся на терапии статинами. Проспективное исследование “Кристалл”. Часть 1: цель, задачи, дизайн и исходные характеристики включенных пациентов [Текст] / М.Ю. Зубарева, Т.А. Рожкова, Н.Б. Горнякова и др. // Атеросклероз и дислипидемии – 2013. – Т.1, №10. – С. 26-34.
15. Иванов, А.Н., Методы диагностики эндотелиальной дисфункции [Текст] / А.Н. Иванов, А.А. Гречихин, И.А. Норкин и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – Т.13, №4. – С. 4–11



16. Иванощук, Д.Е. Анализ дифференциальной экспрессии матриксных металлопротеиназ в стабильной и нестабильной атеросклеротических бляшках методом полногеномного секвенирования РНК: пилотное исследование [Текст] / Д.Е. Иванощук, Ю.И. Рагино, Е.В. Шахтшнейдер // РКЖ. - 2018. - №8.
17. Инжутова, А.И., Роль эндотелиальной дисфункции в формировании и прогрессировании сердечно-сосудистой патологии [Текст] / А.И. Инжутова, М.М. Петрова // Проблемы женского здоровья. – 2011. – Т. 6, №1. – С. 59–66.
18. Исмаилов, Н.Б. Ранние и поздние осложнения артериальных реконструкций у геронтологических больных [Текст] / Н.Б. Исмаилов, А.В. Веснин // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2008. - Т.14,№1. - С.122-125.
19. Казанцев, А.В. Диагностика прогрессирующего течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей на основе показателей эндотелиальной дисфункции [Текст] / А.В. Казанцев, Е.А. Корымасов // Медицинский вестник Башкортостана. - 2011. - Т. 6, №1. - С. 28-31.
20. Казымлы, А.В. Исследование сывороточного уровня асимметричного диметиларгинина у больных легочной гипертензией [Текст] / А.В. Казымлы, Н.С. Гончарова, А.В. Березина и др. // Артериальная гипертензия. – 2014. - Т. 20, №1. - С. 45–52.
21. Калинин, Р.Е. Варианты клинической анатомии артерий верхних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Н.Д. Мжаванадзе, и др. // Вестник Авиценны. - 2017. - Т. 19, №1. - С. 113-117.
22. Калинин, Р.Е. Влияние генетических полиморфизмов на функционирование постоянного сосудистого доступа у пациентов на диализе [Текст] /Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Егоров и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2019. - Т. 25, № 1. - С. 40-44. DOI: 10.33529/angio2019105
23. Калинин, Р.Е. Возможности комбинированного подхода к лечению пациентов с критической ишемией нижних конечностей при фоновом сахарном диабете [Текст] / Р.Е. Калинин и др. // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. -2018. -Т. 13, № 2. - С. 12–17.

24. Калинин, Р.Е. К вопросу об эндотелиальном резерве у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2012. - Т.7, №2. – С. 14-17.
25. Калинин, Р.Е. Маркеры течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Чобанян // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2021. –Т.27, №2. –С. 17-23.
26. Калинин, Р.Е. Медикаментозная коррекция функционального состояния эндотелия у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников // Казанский медицинский журнал. - 2013. -Т. 94, №2. - С. 181-185.
27. Калинин, Р.Е. Влияние генетических полиморфизмов на функционирование постоянного сосудистого доступа у пациентов на диализе [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Егоров и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2019. - Т. 25, № 1. - С. 40-44. DOI: 10.33529/angio2019105
28. Калинин, Р.Е. Перспективы прогнозирования течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Чобанян // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2019. –Т.7, №2. –С. 274-82.
29. Калинин, Р.Е. Показатели гемостаза у пациентов с атеросклерозом периферических артерий при реконструктивно-восстановительных операциях [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Н.Д. Мжаванадзе, и др. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2018. -№8. – С. 46-49
30. Калинин, Р.Е. Состояние функции эндотелия при артериальных реконструкциях в эксперименте в зависимости от вида синтетических заплат [Текст] / Р.Е. Калинин и др. // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. - 2015. - Т. 10, № 4. - С. 32–35.
31. Калинин, Р.Е. Стресс-лимитирующая система у пациентов с ишемией нижних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков, Н.Д. Мжаванадзе, С.А. Виноградов // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. - 2017. - №3.

32. Калинин, Р.Е. Функциональное состояние эндотелия при различных типах течения атеросклероза артерий нижних конечностей [Текст] / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Чобанян и др. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2021. - Т.14, №2. – С. 189-194. <https://doi.org/10.17116/kardio202114021189>
33. Кательницкий, И.И. Преимущества современных методов профилактики тромботических осложнений у больных с критической ишемией нижних конечностей после выполнения реконструктивных операций [Текст] / И.И. Кательницкий, Иг.И. Кательницкий, Е.С. Ливадняя // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2019. –Т. 27, № 4. - С. 487-494
34. Киричук, В.Ф. Дисфункция эндотелия [Текст] / В.Ф. Киричук, А.И. Глыбочко, А.И. Пономарева // Саратов: Издательство Саратовского медицинского университета. - 2008. - С. 129.
35. Колесник, И.М. Влияние фармакологического прекондиционирования силденафилом и варденафилом на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце [Текст] / И.М. Колесник, В.А. Лазаренко, М.В. Покровский // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2015. - №1. – С. 83-86.
36. Лавриненко, К.И. Коррекция хронической ишемии варденафилом [Текст] / К.И. Лавриненко, Г.С. Маль, А.С. Белоус и др. // Auditorium. – 2016. - Т.9, №1. – С. 44-48.
37. Лазаренко, В.А. Гипергомоцистеинемия: периферический атеросклероз и реконструктивная хирургия [Текст] / В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская, А.В. Сорокин // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». - 2014. - № 4. - С. 63-66.
38. Лазаренко, В.А. Оценка состояния системы микроциркуляции и механизмов регуляции тканевого кровотока у больных облитерирующим атеросклерозом при различных уровнях поражения артериального русла [Текст] / В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская, Е.В. Путинцева // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». - 2011. - №3. - С. 82-86.

39. Макишева, Р.Т. Адаптивный смысл инсулинорезистентности [Текст] / Р.Т. Макишева // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – Т.10. – № 1. – С. 60-67. doi: 10.12737/18557
40. Марков, Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия [Текст] / Х.М. Марков // Кардиология. - 2005. - №12. - С. 62-67.
41. Марков, Х.М. Патогенетические механизмы первичной артериальной гипертензии у детей и подростков [Текст] / Х.М. Марков // Вестник РАМН. - 2001. - № 2. - С. 46-48.
42. Муфасалов, Р.К. Оптимизация тактики лечения при атеросклеротическом поражении бедренно-подколенного сегмента [Текст] / Р.К. Муфасалов, Р.Д. Сабеков, С.М. Жусупов // Наука и здравоохранение. - 2018. - Т. 20. - № 3. - С.60-73.
43. Национальные рекомендации по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей [Текст] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2019. - №25(S2).
44. Новохатько, О.И. Особенности клинического течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей у лиц молодого возраста [Текст] / О.И. Новохатько, В.В. Чернявский // Acta Biomedica Scientifica. - 2005. - №3. - С. 40.
45. Озерова, И.Н. Связь субфракционного спектра липопротеинов низких плотностей с уровнем триглицеридов в крови при разной степени стенозов коронарных артерий [Текст] / И.Н. Озерова, В.А. Метельская, Н.В. Перова и др. // Атеросклероз и дислипидемии. – 2014. - Т. 2. – С. 33-7
46. Покровский, А.В. Состояние сосудистой хирургии в Российской Федерации в 2018 году [Текст] / А.В. Покровский, А.Л. Головюк // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2019. - Т. 25, №2.
47. Полозова, Э.И. Роль иммунологических нарушений, эндотелиальной дисфункции и гемостатических расстройств в генезе артериальной гипертензии при метаболическом синдроме [Текст] / Э.И. Полозова, Е.В. Пузанова, А.А.

- Сеськина // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, №2. – С. 221-230.  
<https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROI-1926>
48. Попова, А.А. Эндотелиальная дисфункция и механизмы ее формирования [Текст] / А.А. Попова, Е.Н. Березикова, С.Д. Маянская // Сибирское медицинское обозрение. - 2010. - Т. 64, №4. - С. 7-11.
49. Протасов, Е.А. Этиология атеросклероза: пищевой холестерин (мнение о проблеме) [Текст] / Е.А. Протасов // Кардиология: новости, мнения, обучение. - 2018. - Т.6, №2. - С. 91–93.
50. Пушкарева, Т.А. Критерии оценки дисфункции эндотелия артерий и пути её коррекции [Текст] / Т.А. Пушкарева // Клинич. лаб. диагностика.- 2008.- №5.- С. 3-7.
51. Радайкина, О.Г. Роль эндотелиальной дисфункции в патологии сердечно-сосудистой системы [Текст] / О.Г. Радайкина, А.П. Власов, Н.А. Мышкина // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2018. - №4. – С. 8-17.  
<https://doi.org/10.23648/UMBJ.2018.32.22685>
52. Рузметова, И.А. Показатели коэффициента атерогенности у больных атеросклерозом брахиоцефальных сосудов [Текст] / И.А. Рузметова, Д.А. Эгамбердиева // Кардиосоматика. - 2017. - Т. 8, № 1. - С. 2017.
53. Савельев, В.С. Патогенез и консервативное лечение тяжелых стадий облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей [Текст] / В.С. Савельев, В.М. Кошкин, А.В. Каралкин // М.: МИА; - 2010. С. – 216.
54. Савустьяненко, А.В. L-аргинин ускоряет заживление ран: новые механизмы и данные клинических исследований [Текст] / А.В. Савустьяненко // Травма. -2018. - Т. 19, №1. - С. 27-33. doi: 10.22141/1608-1706.1.19.2018.127299
55. Сваровская, А.В. Предикторы развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ишемической болезнью сердца, перенесших чрескожное коронарное вмешательство [Текст] / А.В. Сваровская, Е.А. Кужелева, А.А. Аржаник // РКЖ. - 2020. - №6.

56. Сердечно-сосудистые заболевания. Информационный бюллетень N°317 [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – 2015 . - Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/ru/>
57. Сметнев, С.А. Роль пептидных гормонов (адипонектин, лептин, инсулин) в патогенезе атеросклероза [Текст] / С.А. Сметнев, А.Н. Мешков // Рациональная фармакотерапия в кардиологии – 2015. – Т. 11, №5. – С. 522-528
58. Скворцов, Ю. И. Гомоцистеин как фактор риска развития ИБС (обзор) [Текст] / Ю. И. Скворцов, А. С. Королькова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – № 3 (7). – С. 619–624.
59. Солодун, М.В. Особенности гиполипидемической терапии аторвастатином при инфаркте миокарда с позиций персонализированной медицины [Текст] / М.В. Солодун, С.С. Якушин // - 2015. - Т. 5, № 1. - С. 31–35.
60. Стародубова, Ю.Н. Особенности дислипидемии и длительность ревматоидного артрита у женщин [Текст] / Ю.Н. Стародубова, И.В. Осипова // Атеросклероз. - 2017. - Т. 13, № 3. - С. 33.
61. Строев, Ю.И. Классические И Современные Представления О Метаболическом Синдроме [Текст] / Ю.И. Строев // Вестник Санкт-Петербургского Университета. - 2007. - Т. 4. - С. 1–7.
62. Сумин, А.Н. Амбулаторное наблюдение больных атеросклерозом сосудов нижних конечностей с позиции кардиолога [Текст] / А.Н. Сумин, М.А. Косова, Ю.Д. Медведева, А.В. Щеглова, С.А. Макаров, Г.В. Артамонова, Л.С. Барбараш // Российский кардиологический журнал. – 2016. - Т. 12, №140. – С. 58–63.
63. Суханов, С.Г. Гипергомоцистеинемия и коронарный атеросклероз [Текст] / С.Г. Суханов О.Н. Таубер // Вестник СамГУ – Естественнонаучная серия. - 2007. - № 2. - С. 285-293.
64. Сучков, И.А. Коррекция эндотелиальной дисфункции: современное состояние проблемы (обзор литературы) [Текст] / И.А. Сучков // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2012. - №4. - С. 151-157. doi: 10.17816/pavlovj20124151-157

65. Хлыбова, С. В. Влияние гомоцистеина на здоровье и репродукцию. Современный взгляд [Текст] / С.В. Хлыбова, И.Д. Ипастова // Status praesens. – 2015. – № 4. – С. 101–108.
66. Швальб, П.Г. Возможные пути стимуляции выработки оксида азота, как основного индуктора эндотелиальной дисфункции, кардиотропными лекарственными средствами у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [Текст] / П.Г. Швальб, Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2011. - №2. - С. 8. doi: 10.17816/pavlovj201128-8\_
67. Шевченко, О.П. Атеросклероз как системное воспалительное заболевание с волнообразной и генерализованной активностью процесса [Текст] / О.П. Шевченко, О.Ф. Природова // Вестник РГМУ. - 2010. - №1.
68. Шевченко, О.П. Гомоцистеин и его роль в клинической практике (лекция) [Текст] / О. П. Шевченко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – № 11. – С. 25–32.
69. Шевченко, Ю.Л. Эндотелиальная дисфункция в патогенезе венозной трансформации [Текст] / Ю.Л. Шевченко [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2008.- Т.14, №1.- С. 15-21.
70. Шестакова, М.В. Сахарный диабет и артериальная гипертония: каковы препараты первого ряда выбора? [Текст] / М.В. Шестакова // Рос. мед. журн.- 2007. - Т.6, № 9.- С.24-28.
71. Шишина, Р.Н. Возрастные клиничко-лабораторные особенности у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей [Текст] / Р.Н. Шишина, Т.А. Пчелинцева // Клиническая медицина. - 2013. - Т. 91, № 8. - С. 45-48.
72. Черненко, В.В. Уровень эндотелина-1 и циркулирующих десквамированных эндотелиоцитов (ЦЭК) в сыворотке крови больных СД 2 типа [Текст] / В.В. Черненко [и др.] // От научных достижений до внедрения в практику: материалы съезда кардиологов и терапевтов центра России.- М.; Рязань, 2008.- С.342-343.
73. Юдин, В.А. Аутовенозная реваскуляризация артерий нижних конечностей с вариантной анатомией периферического русла и прогрессирующим течением

атеросклеротического процесса [Текст] / Юдин В.А., Виноградов С.А., Крылов А.А. и др. // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. - 2019. - Т. 27, № 6. - С. 1093–1097.

74. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries [Text] // Eur. J. Vasc. Endovasc Surg. - 2017; 16-21, 1078-5884. DOI: 10.1016/j.ejvs.2017.07.018

75. Allison, M. Ethnic-specific prevalence of peripheral arterial disease in the United States [Text] / M. Allison, E. Ho, J. Denenberg. Am J Prev Med // - 2007. – 32. - P. 328–333. doi: 10.1016/j.amepre.2006.12.010

76. Althouse, A. BARI 2D Study Group. Risk factors for incident peripheral arterial disease in type 2 diabetes: results from the Bypass Angioplasty Revascularization Investigation in type 2 Diabetes (BARI 2D) [Text] / A. Althouse, J. Abbott, A. Forker [et al.] // Trial. Diabetes Care. – 2014. – 37. - P. 1346–1352. doi: 10.2337/dc13-2303.

77. Asher, E. Haimovici's vascular surgery [Text] / E. Asher, L. Hollier, D. Strandness // 5th ed. New York: Wiley-Blackwell. - 2004. - P. 1260.

78. Bakker, W. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity [Text] / W. Bakker, E. Eringa, P. Sipkema // Cell Tissue Res. - 2009. – 335 (1). – P. 165–189. doi: 10.1007/s00441-008-0685-6

79. Bank, N. Mechanism of vasoconstriction induced by chronic inhibition of nitric oxide in rats [Text] / N. Bank, H. Aynedjian, G. Khan // Hypertension.- 1994.- 24 (3). - P. 322–328.

80. Beropoulos, E. Validation of the Wound, Ischemia, foot Infection (WIFI) classification system in nondiabetic patients treated by endovascular means for critical limb ischemia [Text] / E. Beropoulos, K. Stavroulakis, A. Schwindt // J. Vasc. Surg. - 2016. - 64. - P. 95–103. doi: 10.1016/j.jvs.2016.01.040.

81. Bezdenezhnykh, A. The risk factors and evaluation criteria of progression of atherosclerosis in one year post coronary bypass [Text] / A. Bezdenezhnykh [et al.] / Russ. J. Cardiol. - 2017. - 5. – P. 117–125



82. Bhatt, D. International prevalence, recognition, and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis [Text] / D. Bhatt [et al.] // JAMA. – 2006. – 295. – P. 180-18
83. Bitra, V.R. Prediabetes and Alzheimer's Disease [Text] / V.R. Bitra, D. Rapaka, A. Akula // Indian J Pharm Sci. - 2015. - 5. - P. 511–514.
84. Bonaca, M. Acute Limb Ischemia and Outcomes With Vorapaxar in Patients With Peripheral Artery Disease: Results From the Trial to Assess the Effects of Vorapaxar in Preventing Heart Attack and Stroke in Patients With Atherosclerosis-Thrombolysis in Myocardial Infarction 50 (TRA2°P-TIMI 50) [Text] / M. Bonaca [et al.] // Circulation. – 2016. – 133. – P. 997-1005
85. Carmena, R. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis [Text] / R. Carmena, P. Duriez, J. Fruchart // Circulation. – 2004. – 109 (23). – P. 2-7
86. Carnuta, M. Dysfunctional high-density lipoproteins have distinct composition, diminished anti-inflammatory potential and discriminate acute coronary syndrome from stable coronary artery disease patients [Text] / M. Carnuta, C. Stancu, L. Toma // Scientific reports. – 2017. – 7. – P. 72-95. doi:10.1038/s41598-017-07821-5.
87. Catapano, A.L. 2016 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) [Text] / A.L. Catapano, I. Graham, G. De Backer [et al.] // Atherosclerosis. – 2016. – 253. – P. 281-344.
88. Cavusoglu, E. Editorial comment: plasma homocysteine, coronary risk factors and serum nitrite in coronary artery disease and vascular syndrome X [Text] / E. Cavusoglu // Anadolu-Cardiyol Derg. – 2003. – 3 (1). – P. 35-7.
89. Chahirou, Y. Adipokines: mechanisms of metabolic and behavioral disorders [Text] / Y. Chahirou, A. Mesfioui, A. Ouichou [et al.] // Obesity and metabolism. – 2018. - 15(3). – P. 14-20. doi: 10.14341/OMET9430
90. Cheezum, M.K. Association of tobacco use and cessation with coronary atherosclerosis [Text] / M.K. Cheezum, A. Kim, M.S. Bittencourt [et al.] // Atherosclerosis. – 2017. – 257. – P. 201-7. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.016.

91. Cheng, S. Epidemiology of Atherosclerotic Peripheral Arterial Occlusive Disease in Hong Kong [Text] / S. Cheng, C. Albert, L. Hung // *World Journal of Surgery*. – 1999. – 23. – P. 202-206.
92. Cho, Y.I. Endothelial shear stress and blood viscosity in peripheral arterial disease [Text] / Y.I. Cho, D.J. Cho, R.S. Rosenson // *Current Atherosclerosis Reports*. – 2014. – 4 (16). – P. 404–410.
93. Chrysant, S.G. The current status of homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: a mini review [Text] / S.G. Chrysant, G.S. Chrysant // *Expert Rev Cardiovasc Ther*. – 2018. – 16(8). – P. 559-65. doi:10.1080/14779072.2018.1497974
94. Cooney, M. How much does HDL cholesterol add to risk estimation? A report from the SCORE Investigators [Text] / M. Cooney, A. Dudina, D. De Bacquer [et al.] // *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. – 2009. – 16 (3). – P. 304-14. doi:10.1097/HJR.0b013e3283213140.
95. Csordas, A. The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke [Text] / A. Csordas, D. Bernhard // *Nat Rev Cardiol*. – 2013; (10). – P. 219-30. DOI:10.1038/nrcardio.2013.8
96. Cull, D.L. An early validation of the Society for vascular surgery lower extremity threatened limb classification system [Text] / D.L. Cull, G. Manos, M.C. Hartley // *J. Vasc. Surg*. – 2014. – 60 (6). – P. 1535–1542. doi: 10.1016/j.jvs.2014.08.107
97. Darling, J.D. Predictive ability of the SVS WiFi classification system following infrapopliteal endovascular interventions for CLI [Text] / J.D. Darling, J.C. McCallum, P.A. Soden [et al.] // *J. Vasc. Surg*. – 2016. – 64 (3). – P. 616–622. doi: 10.1016/j.jvs.2016.03.417.
98. Davenport, A.P. Endothelin [Text] / A.P. Davenport, K.A. Hyndman, N. Dhaun [et al.] // *Pharm. rev*. – 2016; – 68. – P. 357–418
99. de Wit, C. Connexins and gap junctions in the EDHF phenomenon and conducted vasomotor responses [Text] / C. de Wit, T.M. Griffith // *Pflugers Arch*. – 2010. – 459(6). – P. 897–914. doi:10.1007/s00424–010–0830–4
100. Deev, R. Results of 5-year follow-up study in patients with peripheral artery disease treated with PL-VEGF165 for intermittent claudication [Text] / R. Deev, I.

- Plaksa, I. Bozo // *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*. – 2018. - 12(9). – P. 237-246. <https://doi.org/10.1177/1753944718786926>
101. Di Pietro, N. Physiology and pathophysiology of oxLDL uptake by vascular wall cells in atherosclerosis [Text] / N. Di Pietro, G. Formoso, A. Pandolfi // *Vascul Pharmacol*. – 2016. – 84. – P. 1-7. doi: 10.1016/j.vph.2016.05.013
102. Dua, A. Epidemiology of Peripheral Arterial Disease and Critical Limb Ischemia [Text] / A. Dua, C. Lee // *Tech Vasc Interv Radiol*. - 2016. – 19 (2). - P. 91-95. doi: 10.1053/j.tvir.2016.04.00
103. Dufлот, T. A sensitive LC-MS/MS method for the quantification of regioisomers of epoxyeicosatrienoic and dihydroxyeicosatrienoic acids in human plasma during endothelial stimulation [Text] / T. Dufлот, T. Pereira, C. Roche [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2017. - 409(7). – P. 1845–55.
104. Edwards, J. Adenosine A1 receptors in neointimal hyperplasia and in-stent stenosis in Ossabaw miniature swine [Text] / J. Edwards [et al.] // *Coron. Artery Dis*. - 2008. - 19 (1). - P.27-31.
105. Eren, E. Homocysteine, Paraoxonase-1 and Vascular Endothelial Dysfunction: Omnibus viis Romam Pervenitur [Text] / E. Eren, H. Ellidag, O. Aydin // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2014. – 8 (9). - P. 1–4
106. Faglia, E. Early and five-year amputation and survival rate of diabetic patients with critical limb ischemia: data of a cohort study of 564 patients [Text] / E. Faglia, G. Clerici, J. Clerissi [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg*. – 2006. – 32. – P. 484–490. doi: 10.1016/j.ejvs.2006.03.006.
107. Félétou, M. Endothelium-dependent hyperpolarizations: past beliefs and present facts [Text] / M. Félétou, P.M. Vanhoutte // *Ann Med*. – 2007. - 39 (7). – P. 495–516
108. Ferrari, P. Insulin, insulin sensitivity and hypertension [Text] / P. Ferrari, P. Weidmann // *J Hypertens*. – 1990. - 8(6). – P. 491–500
109. Flex, A. Pro-inflammatory genetic profiles in subjects with peripheral arterial occlusive disease and critical limb ischemia [Text] / A. Flex, E. Gaetani, F. Angelini // *J. Intern. Med*. — 2007. — 262. — P. 124–130.

110. Forstermann, U. Nitric oxide synthase isozymes, characterization, purification, molecular cloning and function [Text] / U. Forstermann [et al.] // Hypertension.- 1994. - 23.- P.1121-1131.
111. Fox, K. The myth of 'stable' coronary artery disease [Text] / K. Fox, M. Metra, J. Morais [et al.] // Nat Rev Cardiol. – 2020. - 17(1). – P. 9-21. DOI:10.1038/s41569-019-0233-y.
112. Gardemann, A. TT genotype of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism is associated with the extent of coronary atherosclerosis in patients at high risk for coronary artery disease [Text] / A. Gardemann [et al.] // Eur. Heart J.- 1999.- 10.- P.584-592.
113. Girard, J. Insulin's effect on the liver: "direct or indirect?" continues to be the question [Text] / J. Girard // Clin Invest. – 2006. – 116 (2). – P. 302-4
114. Glushkov, N. Choice of the revascularization method for patients with multi-level lesion of lower limb arteries [Text] / N. Glushkov // Clin. Exp. Surg. - 2019. – 7 (1). – P. 62–68.
115. Haltmayer, M. Impact of atherosclerotic risk factors on the anatomical distribution of peripheral arterial disease [Text] / M. Haltmayer, T. Mueller, W. Horvath // Int Angiol. – 2001. – 20. – P. 200–207
116. Hirayama, S. Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease [Text] / S. Hirayama, T. Miida // Clin Chim Acta. – 2012. – 414. – P. 215-24
117. Hirsch, A. Peripheral Arterial Disease Detection, Awareness, and Treatment in Primary Care [Text] / A. Hirsch [et al.] // JAMA. – 2001. – 286. – P. 1317-1324
118. Hodgson, J. Endothelial Dysfunction in coronary arteries precedes ultrasonic or angiographic evidence of atherosclerosis in patients with risk factors [Text] / J. Hodgson [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol.- 1992.- 19 (3).- P.323.
119. Huber, T. Operative mortality rates after elective infrarenal aortic reconstructions [Text] / T. Huber, T. Harward, T. Flynn [et al.] // J. Vase. Surg. – 1995. –22 (287). – P. 294.
120. Hui, D. Intimal hyperplasia in murine models [Text] / D.Y. Hui // Curr. Drug. Targets.- 2008.- Vol.9,№3.- P. 251-260.

121. Inoue, A. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes [Text] / A. Inoue // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1989. – 86. – P. 2863.
122. Iwama, Y. Relation between plasma homocysteine levels and saphenous vein graft disease after coronary artery bypass grafts [Text] / Y. Iwama, H. Mokuno, Y. Watanabe // Jpn. Heart J. – 2001. – 42. – P. 553-562. doi: 10.1536/jhj.42.553
123. Jude, E. Peripheral arterial disease in diabetic and nondiabetic patients: a comparison of severity and outcome [Text] / E. Jude, S. Oyibo, N. Chalmers // Diabetes Care. – 2001. – 24. – P. 1433–1437
124. Kalinin, R. Application of Magnesium Drugs and Their Influence on the Indicators of Connective Tissue Dysplasia in Patients with Varicose Veins [Text] / R. Kalinin, I. Suchkov, A. Pshennikov // Nov Khirurgii. 2018. -26 (1). P. 51-59. doi:10.18484/2305-0047.2018.1.51
125. Kallio, M. Development of new peripheral arterial occlusive disease in patients with type 2 diabetes during a mean follow-up of 11 years [Text] / M. Kallio, C. Forsblom, P. Groop [et al.] // Diabetes Care. – 2003. – 26. – P. 1241–1245
126. Kanaide, H. The effects of endothelin on vascular tonus [Text] / H. Kanaide // Braz. J. Med. Biol. Res. – 1995. – 28 (1). – P. 7-17.
127. Kanorskii, S.G. Coronary artery disease with a high risk of complications: How to identify such patients and choose management tactics? [Text] / S.G. Kanorskii // Ration. Pharmacother. Cardiol. - 2020. – 16. - 3. – P. 465–473.
128. Kashyap, V.S. The management of severe aortoiliac occlusive disease: endovascular therapy rivals open reconstruction [Text] / V.S. Kashyap, M.L. Pavkov, J.F. Bena // J. Vasc. Surg. - 2008. – 48 (3). - P. 1451–1457.
129. Koch, W. Homocysteine status and polymorphisms of methylenetetrahydrofolatereductase are not associated with restenosis after stenting in coronary arteries [Text] / W. Koch, G. Ndrepepa, J. Mehilli // Arterioscler. Thromb.Biol. – 2003. – 23 (12). - P. 2229-2234. doi: 10.1161/01.atv.0000105055.68038.29

130. Kudo, I.K. The Relationship between Endothelial Dysfunction and Endothelial Cell Markers in Peripheral Arterial Disease [Text] / I.K. Kudo, T.T. Toyofuku, Y. Inoue // PLoS ONE. – 2016. - 11(11): e0166840.
131. Landray, M.J. Effects of extended-release niacin with laropiprant in high-risk patients [Text] / M.J. Landray, R. Haynes, J.C. Hopewell [et al.] // N Engl J Med. – 2014. - 371(3). – P. 203-12.
132. Landsberg, L. Obesity-related hypertension: pathogenesis, cardiovascular risk, and treatment. A position paper of The Obesity Society and the American Society of Hypertension [Text] / L. Landsberg, L.J. Aronne, L.J. Beilin [et al.] // J Clin Hypertens (Greenwich). – 2013. - 15(1). – P. 14–33.
133. Lin, J. Impact of matrix metalloproteinases on atherosclerosis [Text] / J. Lin, V. Kakkar, X. Lu // Curr Drug Targets. 2014. – 15 (4). - P. 442-53. doi:10.2174/138945011566614021111580
134. Lin, J.J. Increased serum thrombomodulin level is associated with disease severity and mortality in pediatric sepsis [Text] / J.J. Lin, H.J. Hsiao, O.W. Chan // PLoS ONE. – 2017. - 12(8): e0182324
135. Lowenstein, C. Nitric oxide: a physiologic messengers [Text] / C. Lowenstein, J. Dinerman, S. Snyder // Ann. intern. Med.- 1994.- 120. - P. 227-237.
136. Ma, T.T. Effect of evidence-based therapy for secondary prevention of cardiovascular disease: Systematic review and meta-analysis [Text] / T.T. Ma, I.C.K. Wong, K.K.C. Man [et al.] // PLoS One. – 2019. - 14(1). DOI:10.1371/journal.pone.0210988.
137. Meijer, W. Peripheral arterial disease in the elderly: the Rotterdam Study [Text] / W. Meijer, A. Hoes, D. Rutgers [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 1998. – 18. – P. 185–192
138. Mukherjee, D. GRACE Investigators: Impact of prior peripheral arterial disease and stroke on outcomes of acute coronary syndromes and effect of evidence-based therapies (from the Global Registry of Acute Coronary Events) [Text] / D. Mukherjee, K. Eagle, E. Kline-Rogers [et al.] // Am J Cardiol. – 2007. – 100. - P. 1-6

139. Murabito, J. Prevalence and clinical correlates of peripheral arterial disease in the Framingham Offspring [Text] / J. Murabito, J. Evans, K. Nieto [et al.] // *Am Heart J.* – 2002. – 143. – P. 961–965
140. Nayden, T. Predictors of subclinical isolated and combined atherosclerotic lesions in middle-aged men and its correlation with metabolic syndrome [Text] / T. Nayden // *Arter. Hypertens.* - 2017. – 23 (1). - P. 56–68.
141. Obersby, D. Plasma total homocysteine status of vegetarians compared with omnivores: a systematic review and meta-analysis [Text] / D. Obersby, D. Chappell, A. Dunnett [et al.] // *British Journal of Nutrition.* - 2013. – 109. – P. 785–794.
142. Omanwar, S. NO (Nitric Oxide) to Type 2 Diabetes Induced Endothelial Dysfunction: Crosstalk with ET-1 (Endothelin-1) [Text] / S. Omanwar, C. Gupta, N. Dhyani [et al.] // *J. of Toxicol.* - 2017; - 2(1): e555578
143. Pashentseva, A.V. Insulin resistance in therapeutic clinic [Text] / A.V. Pashentseva, A.F. Verbovoy, L.A. Sharonova // *Obe. Metab.* - 2017. – 14 (2). - P. 9–17.
144. Peeters, A. A cardiovascular life history. A life course analysis of the original Framingham Heart Study cohort [Text] / A. Peeters [et al.] // *Eur Heart J.* – 2002. – 23. - P. 458-466
145. Perła-Kajan, J. Paraoxonase 1 and homocysteine metabolism [Text] / J. Perła-Kajan, H. Jakubowski // *Amino Acids.* – 2012. – 43. – P. 1405–1417
146. Shapovalova, A.G. Rehabilitation of patients after acute cerebrovascular accident followed by hemodynamically significant stenoses of the brachiocephalic arteries [Text] / A.G. Shapovalova // *Pacific Med. J.* - 2020. - 3. - P. 25–29.
147. Sigvant, B. The Risk of Disease Progression in Peripheral Arterial Disease is Higher than Expected: A Meta-Analysis of Mortality and Disease Progression in Peripheral Arterial Disease [Text] / B. Sigvant [et al.] // *Eur J Vasc Endovasc Surg* – 2016. – 51. – P. 395–403.
148. Silvestre, J. Post-ischaemic neovascularization and inflammation [Text] / J. Silvestre, Z. Mallat, A. Tedgui [et al.] // *Cardiovascular Research.* – 2008. – 78. – P. 242–249. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvn027>

149. Siobhan, M. NADPH Oxidase 4 Promotes Endothelial Angiogenesis Through Endothelial Nitric Oxide Synthase Activation [Text] / M. Siobhan [et al.] // *Circulation*. - 2011. - 124. - P.731-740.
150. Smetnev, S. The role of peptide hormones (adiponectin, leptin, insulin) in the pathogenesis of atherosclerosis [Text] / S. Smetnev, A. Meshkov // *Ration. Pharmacother. Cardiol.* - 2015. - 11 (5). - P. 522–528.
151. Solhaug, M. Nitric oxide in the developing kidney [Text] / M. Solhaug [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* - 1996. - 10 (4). - P.529-539.
152. Spinar, J. Big endothelin, chronic heart failure [Text] / J. Spinar // *Vnitr. Lek.* - 2002. - 48. - P. 3-7.
153. Steg, G. One-Year Cardiovascular Event Rates in Outpatients With Atherothrombosis [Text] / G. Steg [et al.] // *JAMA*. - 2007. - 297(11). - P. 1197-1206. doi:10.1001/jama.297.11.1197
154. Storch, A.S. Methods of endothelial function assessment: description and applications [Text] / Storch A.S., de Mattos J.D., Alves R. // *Int. J. Cardiovasc. Sci.* - 2017. - 30(3). - P. 262–73.
155. Subherwal, S. Polyvascular disease and long-term cardiovascular outcomes in older patients with non-ST-segment-elevation myocardial infarction [Text] / S. Subherwal, D.L. Bhatt, S. Li // *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. - 2012. - 5. - P. 541-549
156. Sugimoto, I. Conservative treatment for patients with intermittent [Text] / I. Sugimoto [et al.] // *International Angiology*. - 2010. - 29 (2). - P. 55-60.
157. Sukhanov, S. Hyperhomocysteinemia and coronary atherosclerosis [Text] / S. Sukhanov, O. Tauber // *Vestnik of Samara university. Natural science series*. - 2007. - 2. - P. 285-293.
158. TASC II. Management of peripheral arterial disease (PAD). TransAtlantic Inter-Society Consensus II (TASC II) [Text] // *Eur J Vasc Endovasc Surg Vol 33, Supplement 1, 2007*



159. Tsihlis, N. Isopropylamine NONOate (IPA/NO) moderates neointimal hyperplasia following vascular injury [Text] / N.D. Tsihlis [et al.] // *J Vasc Surg.*- 2010.- 51 (5). - P. 1248-1259.
160. Uccioli, L. Long-term outcomes of diabetic patients with critical limb ischemia followed in a tertiary referral diabetic foot clinic [Text] / L. Uccioli, R. Gandini, L. Giurato [et al.] // *Diabetes Care.* – 2010. – 33. – P. 977–982. doi: 10.2337/dc09-0831.
161. Utkina, E. The heterogeneity of lipoproteins and their role in the development of cardiovascular diseases [Text] / E. Utkina, O. Afanasieva, S. Pokrovsky // *Russ. J. Cardiol.* - 2019. – 24 (5). - P. 82–89.
162. Valdivielso, P. Association of the -250G/A promoter polymorphism of the hepatic lipase gene with the risk of peripheral arterial disease in type 2 diabetic patients [Text] / P. Valdivielso, M. Ariza, C. de la Vega-Roman // *J. Diabet. Complic.* - 2008. - 22. - P. 273–277.
163. Vatter, H. Cerebrovascular characterization of clazosentan, the first nonpeptide endothelin receptor antagonist clinically effective for the treatment of cerebral vasospasm [Text] / H. Vatter // *J. Neurosurg.* – 2005. – 102. – P. 1101-1107.
164. Wang, N. Urinary 11-dehydro-thromboxane B2 levels are associated with vascular inflammation and prognosis in atherosclerotic cardiovascular disease [Text] / N. Wang, K.C Vendrov, B.P. Simmons // *Prostaglandins and Other Lipid Mediators.* – 2018. – 134. – P. 24–31.
165. Wang, X. A smoking-dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene [Text] / X.L. Wang [et al.] // *Nat Med.*- 1996. - 2. - P.41-45.
166. Willeit, P. Asymmetric Dimethylarginine and Cardiovascular Risk: Systematic Review and Meta- Analysis of 22 Prospective Studies [Text] / P. Willeit, D.F. Freitag, J.A.J. Laukkanen [et al.]. *Am. Heart Assoc.* – 2015. (4): e001833
167. Willey, K. Nitric oxide-medulation of the E-1 signaling pathway in cardiovascular system [Text] / K.E. Willey, A.P. Davenport // *Brit. J. Pharmacology.* – 2001. – 132. – P. 213-220

168. Woerdeman, J. Insulin sensitivity determines effects of insulin and meal ingestion on systemic vascular resistance in healthy subjects [Text] / J. Woerdeman, R.I. Meijer, E.C. Eringa // *Microcirculation*. – 2016. - 23(1). – P. 62–8.
169. Wu, M.D. Platelets and von Willebrand factor in atherogenesis [Text] / M.D. Wu, T.M Atkinson, J.R. Lindner // *BLOOD*. – 2017. - 129 (11). – P. 1415-19.
170. Yanagisawa, M. Molecular biology and biochemistry of the endothelins [Text] / M. Yanagisawa, T. Masaki // *Trends Pharmacol Sci*. – 1989. – 10 (9). – P. 374-378.
171. Zhan, L.X. The Society for Vascular Surgery (SVS) lower extremity threatened limb classification system based on Wound, Ischemia, and foot Infection (WIFI) correlates with risk of major amputation and time to wound healing [Text] / L.X. Zhan, B.C. Branco, D.G. Armstrong // *J. Vasc. Surg.* - 2015. - 61. - P. 939–944. doi: 10.1016/j.jvs.2014.11.045.
172. Zhang, LP. Association between endothelial nitric oxide synthase gene (G894T) polymorphism and essential hypertension in uygur population [Text] / L.P. Zhang, S.Z. Wang, X.X. Zhao [et al.] // *Chinese journal of cardiovascular diseases*. – 2006. – 34. – P. 403-406.
173. Zobel, E.H. Symmetric and asymmetric dimethylarginine as risk markers of cardiovascular disease, all-cause mortality and deterioration in kidney function in persons with type 2 diabetes and microalbuminuria [Text] / E.H. Zobel, B.J. von Scholten, H. Reinhard // *Cardiovasc. Diabetol*. – 2017. (16). – P. 88.