

Липина Мария Григорьевна

**Взаимосвязь IL-13 и TGF- β 1 с активностью катепсинов и
показателями воспаления у пациентов
с варикозным расширением вен нижних конечностей**

1.5.4. Биохимия

3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент **Короткова Наталья Васильевна**

доктор медицинских наук, профессор **Калинин Роман Евгеньевич**

Официальные оппоненты:

Котова Юлия Александровна, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики

Стойко Юрий Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой хирургии с курсом хирургической эндокринологии Института усовершенствования врачей

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2026 г. в ___ на заседании диссертационного совета 21.2.060.02, созданного на базе ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, по адресу: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Шевченко, д. 34, корп. 2) и на сайте www.rzgmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор медицинских наук, доцент

Короткова Н.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Варикозное расширение вен нижних конечностей (ВРВНК), так же известное как варикозная болезнь нижних конечностей (ВБНК) представляет собой хронические заболевания вен (ХЗВ) и является одной из распространенных нозологических форм сердечно-сосудистых заболеваний (Калинин Р.Е. и др., 2023, Климакова Ю.Р. и др., 2023, Шанаев И.Н., 2023, Ortega M.A. et al, 2021). ВБНК оказывает существенное влияние на качество жизни пациентов, как на физиологическом, так и на социальном уровне (Kowalewski R. et al, 2010). Основными симптомами являются тяжесть, болезненность, зуд и жжение нижних конечностей, которые при длительном стоянии только усугубляются (Raetz J. et al, 2019). По данным статистических исследований варикозное расширение вен отмечается у 25-33% женщин и 10-20% мужчин, и, по-прежнему, продолжает стремительно расти (Jacobs V.N. et al, 2017).

Факторами риска развития варикозной болезни вен нижних конечностей в настоящее время признаны – ожирение, женский пол, беременность, наследственность и возраст (Потапов М.П. и др., 2024). Последнее время наблюдается тенденция к снижению возраста пациентов с варикозным расширением (Бокерия Л.А. и др, 2015, Студенникова В.В. и др., 2017, Климакова Ю.Р. и др., 2023). Долгое время клапанная недостаточность, венозная гипертензия и рефлюкс считались основными факторами, способствующими развитию варикозного расширения вен (Lim C.S. et al, 2009). Воспаление так же может быть основополагающим звеном в патогенезе варикозной болезни (Gwozdziński L. et al, 2024, Zalewski D. et al, 2024). Большое количество работ указывает на возможность участия факторов роста: трансформирующего фактора роста- β , фактора роста фибробластов- β ; провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-1, интерлейкина-6; матриксных металлопротеиназ: MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9; молекул адгезии: молекулы межклеточной адгезии-1, молекулы адгезии сосудистых клеток-1,

молекулы адгезии тромбоцитов в эндотелиальных клетках-1 (Камаев А.А. и др., 2022, Калинин Р.Е. и др., 2017, Головина В.И. и др., 2021).

Изучаемый биохимический спектр молекул при данной нозологии достаточно широк, тем не менее, практически не встречается сведений о роли цитокинового профиля, белков воспаления и лизосомальных цистеиновых протеиназ в патогенезе варикозной болезни нижних конечностей в зависимости от клинического класса хронического заболевания вен по международной классификации СЕАР.

Таким образом, сохраняется актуальность изучения участия молекул цитокинового ряда в патогенезе различных заболеваний (Propper D.J. et al, 2022). В литературе имеются сведения об участии IL-13 в непосредственной стимуляции экспрессии и повышении активности катепсинов, особенно в эпителиальных и гладкомышечных клетках. Так, показано участие катепсинов S, K и L в процессах фиброза легких и ремоделировании дыхательных путей при бронхиальной астме. Показано, что IL-13 использует катепсины в качестве своих основных эффекторных ферментов для реализации протеолитического и ремоделирующего действия, что является ключевым механизмом хронического воспаления и фиброза в патогенезе ряда заболеваний. Считается, что фиброз, или избыточное формирование соединительной ткани, является ключевым и характерным структурным изменением в стенке варикозно измененной вены. А окислительная модификация белков, в свою очередь, может влиять на активацию TGF- β 1, что вызывает усугубление фиброзных изменений. Это центральное звено патогенеза, которое определяет прогрессирование болезни и ее симптомы.

Таким образом, изучение взаимосвязей интерлейкина-13 и TGF- β 1 с маркерами воспаления и цистеинового протеолиза может иметь важную роль в понимании механизмов развития заболеваний сосудов нижних конечностей, таких, как варикозная болезнь нижних конечностей. Изучаемые показатели могут явиться как потенциальными маркерами для диагностики заболевания, так и потенциальными маркерами в доклинических исследованиях таргетной терапии.

Степень разработанности проблемы

В ряде исследований было показано, что IL-13 принимает участие во многих процессах, сопровождающихся фиброзными изменениями (Minty A. et al, 1993). Так, например, имеются данные, свидетельствующие о том, что IL-13 и цитокины, ассоциированные с Th2-фенотипом, участвуют в репарации ткани, пораженной фиброзом (Wilson M.S. et al, 2009). Фиброз печени, индуцированный шистосомой, вероятно, является IL-13-зависимым. Имеются немногочисленные данные, указывающие на то, что IL-13 участвует в патогенезе склеродермии (Li Z.Y. et al, 2019). Исследования, проводимые на животных, показали повышенные уровни экспрессии IL-13 у моделей с искусственно индуцированным фиброзом, а также, что степень фиброза может быть уменьшена путем элиминации IL-13 (Brunner S.M. et al, 2013). Существуют данные, указывающие на то, что IL-13 снижает экспрессию MMP-13 в фибробластах, что приводит к увеличению выработки коллагена и снижению его разрушения (Malavia N.K. et al, 2008). Дермальные фибробласты имеют рецепторы к IL-13, а культивирование фибробластов с IL-13 активирует образование коллагена (Глухова Е.А. и др., 2022).

Представители семейства TGF- β обладают схожим биологическим действием, но именно TGF- β 1 экспрессируется наиболее активно и играет важную роль в воспалении, ремоделировании и фиброзе сосудов (Москалёв А.В. и др., 2016, Шкорик Е.В. и др., 2014., Yanagihara T. et al, 2023). В настоящее время считается, что основными белковыми факторами, стимулирующими фибротический процесс в органах и тканях человека, являются именно белки суперсемейства TGF- β (Атькова Е.Л. И др., 2017).

Лизосомальные цистеиновые протеазы (катепсины) могут осуществлять протеолитическое расщепление компонентов внеклеточного матрикса (Dai R. et al, 2020, Wilson M.S. et al, 2009). Именно с участием лизосомального протеолиза протекает до 70% деградации белковых молекул (Wu H. et al, 2018). Лизосомальные пептид-гидролазы выполняют множество физиологических функций: процессинг белков с последующей активацией гормонов и ферментов,

регуляция обменных процессов, локализованных в клетке, развитие клеток в специализированную клеточную линию, участвуют в иммунных реакциях и в программируемой гибели клеток, увеличивают проницаемость сосудов за счёт лизиса субэндотелиального матрикса, истончения и фрагментации эндотелиальных клеток (Sendler M. et al, 2016, Anes E. et al, 2022). Участие лизосомальных цистеиновых протеаз опосредовано их воздействием на белки соединительной ткани, что приводит к утрате целостности каркаса сосуда и вследствие этого – к нарушению его нормального функционирования (Becker V. et al, 2015). Кроме выполнения своей ведущей роли – деградации белковых молекул, катепсины выполняют регуляторную функцию, обеспечивая процессинг цитокинов и факторов роста (Гуреева Т.А. и др., 2021).

Воспаление играет ключевую роль в возникновении и прогрессировании хронических заболеваний вен (Климакова Ю.Р. И др., 2023). Согласно научным данным, во время воспалительного процесса происходит увеличение продукции IL-1, IL-6, TNF- α , С-реактивного белка, которые стимулируют эндотелиальный провоспалительный фенотип, характеризующийся увеличением экспрессии молекулы адгезии E-селектина, молекулы адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM-1) и молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) (Шевченко Ю.Л. И др., 2020). Кроме того, при сосудистых заболеваниях происходит ремоделирование эндотелиального гликокаликса. Это способствует нарушению проницаемости, увеличивая проникновение лейкоцитов и способствуя воспалительной реакции (Gawas M. et al, 2022).

Проведенные исследования практически не раскрывают взаимосвязь IL-13 и TGF- β 1 с активностью катепсинов В, L, Н и воспалением в сосудистой стенке у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей, что требует дальнейшего детального изучения.

Цель исследования

Изучить взаимосвязь цитокинов IL-13 и TGF- β 1 с показателями протеолиза и воспаления у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

Задачи исследования

1. Провести количественную оценку IL-13 и TGF- β 1 в гомогенате вен и в сыворотке крови пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей в зависимости от клинического класса ХЗВ по классификации CEAP.

2. Провести количественную оценку показателей воспаления, протеолиза, окислительного стресса (уровня hsCRP, активности катепсинов В, L и Н, уровня ОМБ) в гомогенате вен и в сыворотке крови пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей в зависимости от клинического класса ХЗВ по классификации CEAP.

3. Выявить корреляционные связи между IL-13, TGF- β 1, показателями протеолиза и воспаления у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

4. Выявить диагностические маркеры различных клинических классов ХЗВ по классификации CEAP в гомогенате венозной стенки и в сыворотке крови у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

5. Определить практическое применение диагностических маркеров различных клинических классов ХЗВ по классификации CEAP у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

Научная новизна

Впервые была проведена количественная оценка интерлейкина-13, указывающая на его статистически значимое снижение в 2,2 раза в гомогенате вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP по сравнению с группой сравнения (гомогенатами вен без варикозной трансформации - вен пациентов с атеросклерозом нижних конечностей). Впервые проведена количественная оценка TGF- β 1 и высокочувствительного CRP, свидетельствующая о статистически значимом повышении их уровня в 1,6 и в 1,8 раза соответственно у пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 по международной классификации CEAP в гомогенате варикозно расширенных вен относительно группы сравнения. Впервые показаны разнонаправленные изменения между тканевым и сывороточным уровнем TGF- β 1 при варикозной

болезни, что подчеркивает важность локальной продукции цитокина в стенке вены.

Впервые получены результаты о статистически значимом повышении уровня ОМБ у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2 по классификации СЕАР в 2,8 раза в гомогенате варикозно расширенных вен по сравнению с венами пациентов без варикозной трансформации. Таким образом, продемонстрирована роль маркеров окислительного стресса (ОМБ, РАП) как ранних индикаторов повреждения венозной стенки (класс С1-С2), предшествующих значительным фиброзным изменениям.

Впервые была установлена высокая положительная корреляционная взаимосвязь между показателями IL-13 и TGF- β 1 в гомогенате варикозных вен у пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 ($r=0,6$; $p=0,03$) по классификации СЕАР. Установлено, что интерлейкин-13 демонстрирует противовоспалительный статус при варикозной болезни нижних конечностей, так как его концентрация ниже относительно группы сравнения в гомогенате вен и группы контроля в сыворотке крови, при этом корреляционные взаимосвязи между IL-13 и hsCRP не установлены. Впервые установлено, что активность катепсинов В, L, Н повышается в большей степени в сыворотке крови, чем в гомогенате пораженных вен; показана ведущая роль катепсина L в ремоделировании стенки вены при варикозной болезни на более ранних стадиях, и катепсина Н – на более поздних. Впервые получены результаты, указывающие на наличие воспалительного процесса при клиническом классе ХЗВ С3-С4, о чём свидетельствует повышение уровня hsCRP как в гомогенате варикозно расширенных вен, так и в сыворотке крови пациентов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Исследование носит преимущественно фундаментальный характер, представленные результаты расширяют современные представления о биохимических изменениях в патогенезе варикозного расширения вен нижних конечностей. Результаты исследования дополняют современную концепцию воспалительно-фибротического ремоделирования венозной стенки данными о

роли специфического цитокинового профиля (IL-13/TGF- β 1) и протеолитической активности. Полученные данные позволяют рассматривать ВБНК не только как гемодинамическую проблему, но и как системное заболевание соединительной ткани с локальными проявлениями. Результаты исследования могут быть использованы в разработке новых потенциальных диагностических биомаркеров, что отразится на диагностике и прогнозе течения варикозной болезни вен нижних конечностей, и ее осложнений. Полученные результаты внедрены в работу междисциплинарного научно-образовательного лабораторного центра, в образовательный процесс на кафедре биологической химии и на кафедре сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Методология и методы исследования

Количественное определение интерлейкина-13 (IL-13), трансформирующего фактора роста- β 1 (TGF- β 1), высокочувствительного С-реактивного белка (CRP) проводили сэндвич-методом ИФА с помощью наборов Cloud-Clone Corp. (Китай). Оценка интенсивности окислительной модификации белков в гомогенатах сосудистой стенки вен проводилась по методу R.L. Levine в модификации Дубининой Е.Е. Комплексная оценка содержания ОМБ проводилась по авторскому патенту на изобретение (Пат. 2524667 РФ, МПК G01N 33/52 Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях / Фомина М.А. [и др.]; Ряз. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова. – 2013102618/15; заявл. 21.01.2013; опубл. 27.07.2014, Бюл. № 21). Определение активности катепсинов В, L и Н в гомогенатах сосудистой стенки вен и в сыворотке крови проводили спектрофлуориметрическим методом по Barrett и Kirschke. Количественное определение содержания белка в гомогенатах сосудистой стенки проводилось по методу Лоури с помощью коммерческого набора НПЦ «Эко-сервис» (Россия).

Работа выполнена на базе междисциплинарного научно-образовательного лабораторного центра, кафедре биологической химии и кафедре сердечно-

сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту

1. Варикозная болезнь нижних конечностей ассоциирована со снижением уровня IL-13 в гомогенатах варикозно измененных вен и в сыворотке крови. У пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 отмечается повышение уровня TGF- β 1 в гомогенатах варикозно расширенных вен; у пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 и С5-С6 по классификации CEAP – снижением в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами.

2. Варикозная болезнь нижних конечностей сопровождается повышением уровня hsCRP у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP как в гомогенате вен, так и в сыворотке крови. У пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6 по классификации CEAP отмечается повышение активности катепсина Н в гомогенате варикозно расширенной вены; у пациентов с клиническими классами ХЗВ С1-С2 и С3-С4 по классификации CEAP – повышение активности катепсинов В, L, Н в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами. Отмечается повышение уровня суммарного содержания продуктов карбонилированных белков в гомогенате варикозно расширенной вены пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2 по классификации CEAP относительно группы сравнения.

3. У пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP в гомогенате вен выявлена сильная положительная корреляционная связь между IL-13 и TGF- β 1 ($r=0,6$; $p=0,03$); сильные положительные корреляционные связи между IL-13 и катепсином Н ($r=0,68$; $p=0,005$); между IL-13 и ОМБ ($r=0,6$; $p=0,03$); между TGF- β 1 и катепсином В ($r=0,75$; $p=0,002$), TGF- β 1 и катепсином L ($r=0,64$; $p=0,009$), TGF- β 1 и катепсином Н ($r=0,61$; $p=0,01$).

4. Выявлено максимальное количество биохимических изменений у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP, которые могут стать потенциальными диагностическими маркерами: снижение IL-13, повышение TGF- β 1, повышение hsCRP в гомогенате венозной стенки

относительно группы сравнения; снижение IL-13 и TGF- β 1, повышение hsCRP и активности катепсинов В, L и Н в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами.

5. Диагностическими маркерами варикозной болезни нижних конечностей могут явиться: маркер воспаления – hsCRP; маркеры протеолиза – катепсины В, L, Н; маркер окислительного стресса – окислительно модифицированные белки.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности полученных результатов обусловлена достаточным объемом экспериментальных данных, полученных с использованием адекватных и современных методов исследования с последующей систематизацией и статистической обработкой. Полученные в ходе исследования результаты были доложены на конференциях: IX Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста» (Рязань, 2023); X Всероссийской научной конференции с международным участием молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», посвященной 175-летию со дня рождения академика И.П. Павлова и 120-летию со дня получения им Нобелевской премии (Рязань, 2024); Ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, посвященной 175-летию со дня рождения И.П. Павлова и 120-летию со дня получения им Нобелевской премии (Рязань, 2024); XI Всероссийской с международным участием научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», посвящённой 75-летию университета на Рязанской земле (Рязань, 2025); Ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, посвящённой 75-летию университета на Рязанской земле (Рязань, 2025).

Личный вклад автора

Автор провел анализ научной литературы по данной тематике, самостоятельно подготовил обзор литературы по направлению темы диссертационной работы, сформулировал цели и задачи, занимался сбором и обработкой биологического материала, проведением лабораторных исследований, статистической обработкой и интерпретацией полученных результатов, подготовкой публикаций по теме диссертационной работы. Личный вклад автора в исследование составляет около 90%.

Сведения о внедрении

Результаты, изложенные в диссертационной работе, внедрены в учебный процесс на кафедре биологической химии, на кафедре сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики, в научную деятельность междисциплинарного научно-образовательного лабораторного центра ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 6 статей – в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений, список литературы.

Диссертация изложена на 131 странице печатного текста, иллюстрирована 45 рисунками и 26 таблицами. Список литературы представлен 220 источниками: 79 источников отечественной и 141 источник зарубежной литературы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Представленное исследование получило одобрение на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России от 15.09.2023, протокол № 3.

Объектом исследования явились пациенты с диагнозом варикозная болезнь нижних конечностей. В группу сравнения вошли пациенты с атеросклерозом артерий нижних конечностей. В группу контроля вошли клинически здоровые доноры крови, сопоставимые по возрасту и полу с исследуемой группой. Материалом для исследования послужили гомогенат венозной стенки и сыворотка крови. Забор биологического материала у пациентов испытываемой группы производился во время проведения флебэктомии по поводу варикозного расширения вен. У доноров группы сравнения участки визуально здоровых вен были взяты в процессе бедренно-подколенного шунтирования с использованием аутовены.

В исследование было включено 50 пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей, 30 доноров группы сравнения и 30 здоровых доноров. Испытуемые были разделены на три группы: группа 1 – группа контроля, здоровые доноры сыворотки крови (n=30); группа 2 – пациенты с варикозной болезнью нижних конечностей (n=50); группа 3 – группа сравнения, источник образцов вен, пациенты с атеросклерозом нижних конечностей (n=30). Пациенты с варикозной болезнью нижних конечностей были разделены на три подгруппы в зависимости от клинического класса хронического заболевания вен по международной классификации CEAP: 2.1. подгруппа – пациенты C1-C2 (n=20); 2.2. подгруппа – пациенты C3-C4 (n=20); 2.3. подгруппа – пациенты C5-C6 (n=10).

Образец ткани измельчали и гомогенизировали с добавлением лизис-буфера в стакане гомогенизатора «Potter S» (Sartorius, Германия). Гомогенат

центрифугировали 15 минут 3000 оборотов/минуту, полученный супернатант использовали в качестве материала для исследования.

Забор крови у пациентов производился натошак однократно утром до начала оперативного вмешательства в одно и то же время из локтевой вены в количестве 10 мл в вакуумные пробирки без наполнителя. Образцы оставляли на 2 часа при комнатной температуре. Центрифугировали 20 минут при ускорении 1000g, полученную сыворотку использовали в качестве материала для исследований.

Количественное определение IL-13, TGF- β 1, hsCRP проводили сэндвич-методом ИФА. Определение активности катепсинов В, L и Н проводили спектрофлуориметрическим методом по Barrett и Kirschke. Количественное определение содержания белка в гомогенатах сосудистой стенки проводилось по методу Лоури с использованием стандартизированных коммерческих наборов НПЦ «Эко-сервис» (Россия). Оценка интенсивности окислительной модификации белков в тканях проводилась по методу Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., [et al.], 1990 в модификации Е.Е. Дубининой (Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е.), 1995. Резервно-адаптационный потенциал (РАП) – это доля спонтанной ОМБ в металл-катализируемой; при этом уровень индуцированной принимался за 100% (является расчетным показателем).

Полученные результаты прошли обработку методами непараметрической статистики с использованием программ Microsoft Office Excel, GraphPad Prism 10, IBM SPSS 26 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc. Chicago, IL, United States). Распределение количественных показателей оценивалось с применением критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении средние значения представлялись средней арифметической со средним квадратическим отклонением. При распределении, отличном от нормального, средние значения представлялись медианой и межквартильным интервалом (Me, Q₁-Q₃), для сравнения несвязанных совокупностей применялся критерий Манна-Уитни, связанных – Уилкоксона.

При множественном сравнении использовался дисперсионный анализ, в том числе критерии Краскелла-Уоллеса с дальнейшими апостериорными попарными сравнениями с поправкой Бонферрони. Для анализа взаимосвязи признаков использовали коэффициент корреляции Пирсона (r) для выборки с нормальным распределением, коэффициент Спирмена для выборки с ненормальным распределением. С целью установления основного и второстепенных факторов, влияющих на изучаемые цитокины, проводился многофакторный линейный регрессионный анализ, и однофакторный регрессионный анализ для факторов, которые дали статистически значимые корреляции с зависимыми переменными (y). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В начале исследования был проведен анализ лабораторных данных обследований пациентов с сосудистой патологией: общий анализ крови, биохимический анализ крови, целью которого была объективная оценка состояния органов и систем, выявление патологических нарушений, чтобы исключить их влияние на результаты нашего исследования. Результаты были в пределах референтных значений исследуемых показателей.

При обработке полученных данных было получено, что уровень интерлейкина-13 в гомогенатах варикозно расширенных вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 ниже по сравнению с гомогенатом вен пациентов группы сравнения ($p=0,03$). Также статистически значимо выше был уровень интерлейкина-13 у пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6 по сравнению с клиническим классом С3-С4 ($p=0,04$). С остальными клиническими классами статистически значимых различий выявлено не было. При оценке уровня интерлейкина-13 в сыворотке крови у пациентов с варикозным расширением вен всех клинических классов по классификации СЕАР отмечалось снижение по сравнению с группой контроля, статистически значимое снижение у пациентов с С1-С2 ($p=0,002$) и С5-С6 ($p=0,04$) классами ХЗВ по сравнению с группой контроля (Рисунок 1).

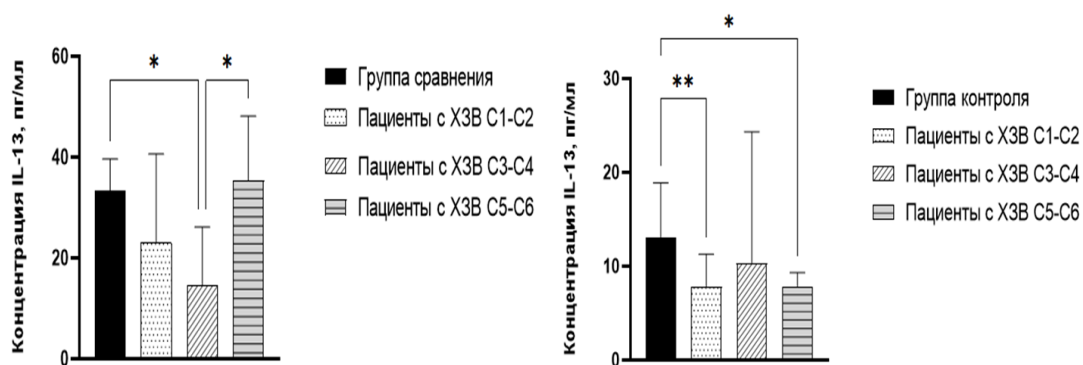


Рисунок 1 – Концентрация IL-13 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, пг/мл

Примечание – * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$)

Проводя анализ результатов определения концентрации TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки вены у пациентов с варикозным расширением, мы получили статистически значимое повышение уровня цитокина при клиническом классе ХЗВ С3-С4 относительно группы сравнения ($p = 0,03$). При межгрупповом анализе также отмечается повышение показателей TGF- β 1 при клиническом классе ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР по сравнению с ХЗВ С1-С2 ($p = 0,03$). Концентрацию TGF- β 1 также оценивали в сыворотке крови пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей. При обработке полученных результатов было установлено статистически значимое снижение показателей TGF- β 1 при клинических классах ХЗВ С3-С4 ($p = 0,01$) и ХЗВ С5-С6 ($p = 0,007$) по сравнению с группой контроля. При межгрупповом анализе статистически значимых различий не выявлено (Рисунок 2).

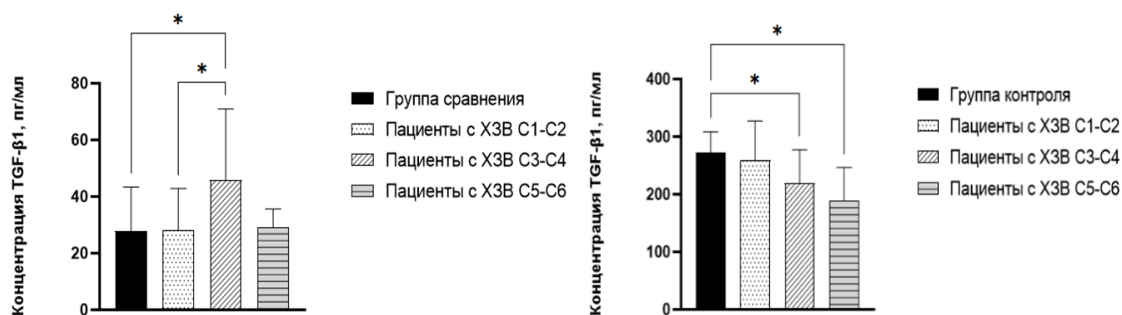


Рисунок 2 – Концентрация TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, пг/мл

Примечание – * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$)

При оценке активности катепсина В в гомогенате сосудистой стенки статистически значимое снижение отмечено у пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 ($p=0,009$) относительно группы сравнения – больных атеросклерозом нижних конечностей.

При оценке активности катепсина В в сыворотке крови было выявлено повышение показателей с клиническим классом ХЗВ С1-С2 ($p=0,02$) и С3-С4 ($p=0,01$) по сравнению с группой клинически здоровых доноров. Межгрупповые различия отмечены между классами ХЗВ С3-С4 и С5-С6 со статистически значимым снижением у ХЗВ С5-С6 (Рисунок 3).

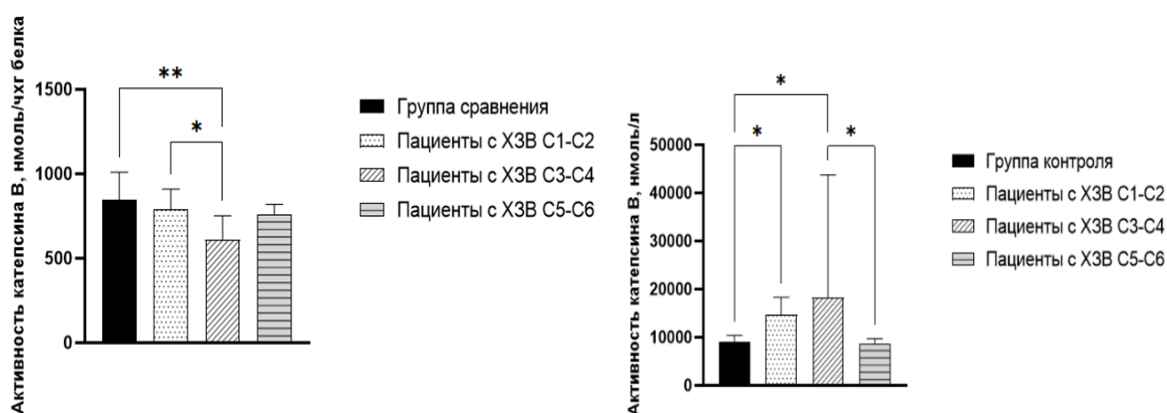


Рисунок 3 – Активность катепсина В в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, нмоль/чхг белка

Примечание – * – статистически значимое отличие ($p<0,05$)
 ** – статистически значимое отличие ($p<0,001$)

При определении активности катепсина L в гомогенате вен было выявлено статистически значимое снижение показателей у пациентов с клиническими классами ХЗВ С1-С2 ($p=0,007$), ХЗВ С3-С4 ($p=0,05$), ХЗВ С5-С6 ($p=0,04$) по сравнению с венами больных атеросклерозом нижних. Межгрупповых различий не обнаружено. В сыворотке крови активность катепсина L статистически значимо повышается по сравнению с контрольной группой при клинических классах ХЗВ С1-С2 ($p=0,02$) и ХЗВ С3-С4 ($p=0,03$) по международной классификации СЕАР.

Межгрупповых различий выявлено не было (Рисунок 4).

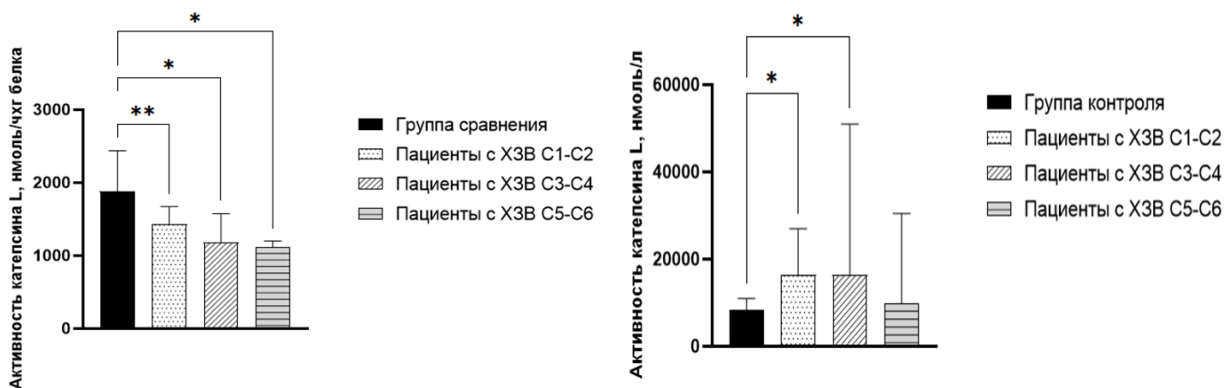


Рисунок 4 – Активность катепсина L в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, нмоль/чхг белка

Примечание – * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$)
 ** – статистически значимое отличие ($p < 0,001$)

При обработке данных по активности катепсина Н в гомогенате варикозно расширенных вен было выявлено статистически значимое повышение при клиническом классе ХЗВ С5-С6 ($p = 0,04$) по сравнению с визуально здоровыми венами, взятыми при бедренно-подколенном шунтировании. При межгрупповом анализе так же отмечается повышение активности катепсина Н при клиническом классе ХЗВ С5-С6 относительно ХЗВ С1-С2 ($p = 0,04$) и ХЗВ С3-С4 ($p = 0,03$). Повышение активности происходит и в сыворотке крови при клинических классах ХЗВ С1-С2 ($p = 0,04$), ХЗВ С3-С4 ($p = 0,001$), ХЗВ С5-С6 ($p = 0,04$) по сравнению со здоровыми донорами (Рисунок 5).

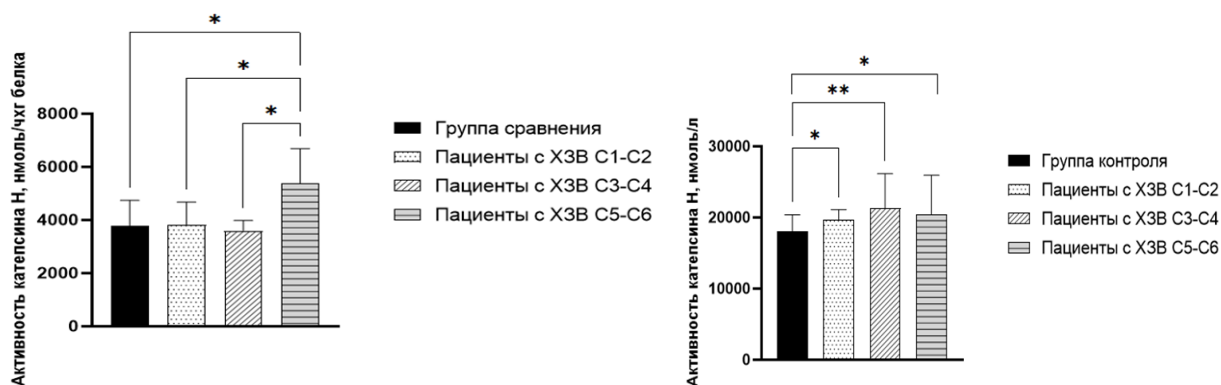


Рисунок 5 – Активность катепсина Н в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, нмоль/чхг белка

Примечание – * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$)
 ** – статистически значимое отличие ($p < 0,001$)

Следующий этап нашего исследования заключался в определении уровня окислительно модифицированных белков в гомогенатах вен при разных клинических классах ХЗВ по международной классификации СЕАР по сравнению с венами пациентов с атеросклерозом нижних конечностей. Были выявлены статистически значимые различия в уровнях спонтанной ОМБ гомогената вен пациентов с ВБНК с клиническим классом ХЗВ С1-С2 и пациентов группы сравнения ($p=0,014$). Общая площадь под кривой спонтанной ОМБ была статистически значимо выше в большей степени за счет нейтральной фракции альдегид-динитрофенилгидразонов (АДНФГ). При остальных классах ХЗВ по классификации СЕАР статистически значимых изменений выявлено не было. Также нами для оценки устойчивости гомогената венозной стенки к окислительному воздействию был проведен анализ резервно-адаптационного потенциала (РАП). За 100 % мы принимали уровень металл-катализируемой ОМБ и оценивали долю спонтанной в ней. При определении доли спонтанной ОМБ в металл-катализируемой у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 в гомогенате венозной стенки наблюдалось статистически значимое снижение РАП относительно группы сравнения.

При оценке результатов уровня концентрации высокочувствительного СРР в гомогенате варикозно расширенных вен было получено статистически значимое повышение показателей у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по сравнению с гомогенатами от пациентов с атеросклерозом ($p=0,03$). При межгрупповом анализе отмечается статически значимое повышение у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по отношению к остальным клиническим классам по классификации СЕАР: ХЗВ С1-С2 ($p=0,0006$), ХЗВ С5-С6 ($p=0,002$). Концентрация высокочувствительного СРР в сыворотке крови у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей демонстрировала статистически значимое повышение у клинического класса ХЗВ С3-С4 ($p=0,03$) по сравнению со здоровыми донорами. Межгрупповых различий между пациентами с варикозной болезнью нижних конечностей выявлено не было (Рисунок 6).

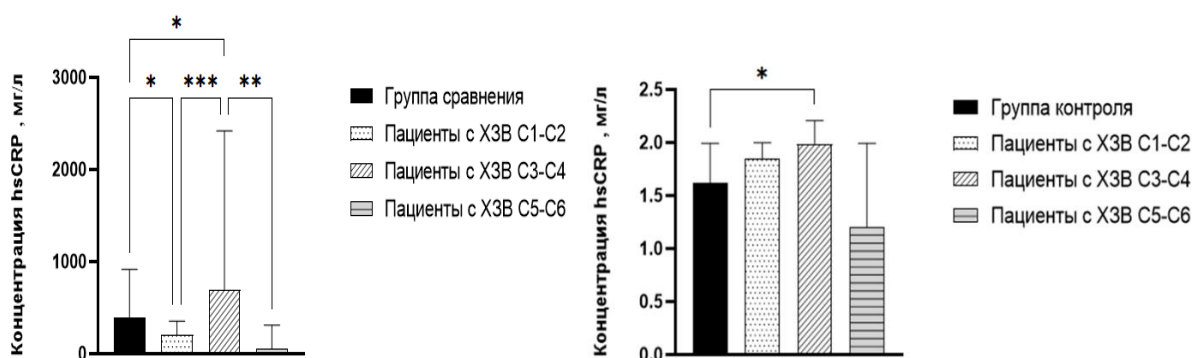


Рисунок 6 – Концентрация hsCRP в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, пг/мл

Примечание – * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$)

Далее нами был проведен корреляционный анализ IL-13 и TGF- β 1 с активностью катепсинов и показателем воспаления в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с варикозным расширением вен при разных клинических классах ХЗВ по классификации CEAP. При клиническом классе ХЗВ С3-С4 по международной классификации CEAP нами были получены следующие корреляционные связи: сильная положительная корреляционная связь между концентрацией IL-13 и TGF- β 1 ($r=0,6$); сильная положительная корреляционная связь между IL-13 и активностью катепсина L ($r=0,7$) и сильная положительная корреляционная связь между IL-13 и активностью катепсина H ($r=0,68$) и ОМБ ($r=0,68$). Для TGF- β 1 клинического класса ХЗВ С3-С4 характерна сильная положительная корреляционная взаимосвязь с показателями протеолиза катепсином В ($r=0,75$), катепсином L ($r=0,64$), катепсином H ($r=0,61$). В сыворотке при клиническом классе ХЗВ С3-С4 для TGF- β 1 характерна сильная положительная корреляционная взаимосвязь с катепсином В ($r=0,75$) и сильная положительная с катепсином H ($r=0,6$).

ВЫВОДЫ

1. Варикозная болезнь нижних конечностей ассоциирована с изменением цитокинового профиля: снижением уровня IL-13 в 2,2 раза у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP, и повышением уровня TGF- β 1 в 1,6 раза у пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 в

гомогенате вен пациентов по сравнению с венами пациентов, не имеющих варикозной трансформации (пациенты с атеросклерозом); снижением уровня IL-13 в 1,7 раза у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2, в 1,6 раза при ХЗВ С5-С6, и TGF- β 1 у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 в 1,1 раз, С5-С6 в 1,2 раза в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами.

2. Варикозная болезнь нижних конечностей сопровождается повышением уровня hsCRP в 1,8 раза у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР, повышением активности катепсина Н в 1,4 раза у пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6, повышением уровня окислительно модифицированных белков у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2 в 2,8 раза по классификации СЕАР в гомогенате варикозно расширенных вен по сравнению с венами пациентов, не имеющих варикозной трансформации (пациенты с атеросклерозом); повышением уровня hsCRP в 1,2 раза у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР, повышением активности катепсинов В и L в 2 раза у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2, С3-С4, повышением активности катепсина Н в 1,5 раза у пациентов с клиническими классами ХЗВ С1-С6 в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами.

3. Выявлены сильные положительные корреляционные связи между IL-13 и катепсином Н в гомогенате варикозно-трансформированной вены пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР ($r=0,68$; $p=0,005$); сильные положительные корреляционные связи между IL-13 и окислительно модифицированными белками в гомогенате вен пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 ($r=0,68$; $p=0,005$). Получена сильная положительная связь между IL-13 и TGF- β 1 в гомогенате вен пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР ($r=0,6$; $p=0,03$).

Отмечены сильные положительные корреляционные связи между TGF- β 1 и катепсином В ($r=0,75$; $p=0,002$), TGF- β 1 и катепсином L ($r=0,64$; $p=0,009$), TGF- β 1 и катепсином Н ($r=0,61$; $p=0,01$) в гомогенате вен пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР. По результатам многофакторного

регрессионного анализа было выявлено, что ведущим фактором, влияющим на TGF- β 1 при варикозной болезни нижних конечностей, является hsCRP.

4. Максимальное количество диагностических маркеров встречается у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP: снижение IL-13, повышение TGF- β 1, повышение hsCRP в гомогенате венозной стенки по сравнению с венами пациентов, не имеющих варикозной трансформации (пациенты с атеросклерозом); снижение IL-13 и TGF- β 1, повышение hsCRP и активности катепсинов В, L и Н в сыворотке крови по сравнению со здоровыми донорами.

5. В качестве диагностических маркеров варикозной болезни нижних конечностей могут выступать: hsCRP, как маркер воспаления; катепсины В, L, Н, как маркеры протеолиза; окислительно модифицированные белки, как маркер окислительного стресса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение концентрации hsCRP в сыворотке крови можно использовать как маркер и идентификатор воспаления венозной стенки при варикозной патологии.

2. Выявленное повышение уровня hsCRP в гомогенате венозной стенки пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP может явиться теоретическим обоснованием к проведению дальнейших исследований с применением противовоспалительной терапии у данной группы пациентов.

3. Выявленное повышение уровня окислительно модифицированных белков в гомогенате венозной стенки пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2 по классификации CEAP может явиться теоретическим обоснованием к проведению дальнейших исследований с применением антиоксидантной терапии у данной группы пациентов.

4. Определение активности лизосомальных цистеиновых протеаз (катепсинов В, L, Н) в сыворотке крови может применяться для прогнозирования стадийного течения варикозной болезни нижних конечностей и явиться

теоретическим обоснованием к проведению дальнейших исследований с применением ингибиторов протеолиза при варикозной патологии.

5. Максимально выявленное количество биохимических изменений у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации CEAP (снижение IL-13, повышение TGF- β 1, повышение hsCRP в гомогенате венозной стенки, снижение IL-13 и TGF- β 1, повышение hsCRP и активности катепсинов В, L и Н в сыворотке крови; высокая отрицательная корреляционная связь между IL-13 и активностью катепсина Н, высокая отрицательная корреляционная связь между IL-13 и ОМБ) дает основание считать его ключевым в ремоделировании сосудистой стенки и может быть использовано в разработке новых терапевтических стратегий.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России

1. Изменение активности лизосомальных цистеиновых протеиназ в гомогенатах сосудистой стенки при варикозном расширении вен нижних конечностей / **М.Г. Коноплева**, З.С. Газарян, Р.Е.Калинин [и др.] – Текст: непосредственный // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2023.– № 4. – С. 48.

2. Изменение концентрации TGF- β 1 у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей в зависимости от стадии заболевания по классификации CEAP/ **М.Г. Коноплева**, Н.В. Короткова, Р.Е. Калинин [и др.]. – Текст: непосредственный // **Технологии живых систем.** – 2025. – Т. 22, № 3. – С. 5-17.

3. Оценка связи между концентрацией TGF- β 1 и активностью катепсинов в гомогенатах варикозно расширенных вен/ **М.Г. Коноплева**, Н.В. Короткова, Р.Е. Калинин [и др.]. – Текст: непосредственный // **Прикладные информационные аспекты медицины.** – 2025. – Т.28, № 1. – С. 69-75.

4. Оценка концентрации IL-13 и уровня окислительно модифицированных белков в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей / **М.Г. Липина**, Н.В. Короткова, Р.Е. Калинин [и др.]. – Текст: непосредственный // **Прикладные информационные аспекты медицины.** – 2025. – Т. 28, № 4. – С. 101-106.

5. Сравнительная оценка концентрации интерлейкина-13 и уровня окислительной модификации белков у пациентов с сосудистой патологией / Р.Е. Калинин, **М.Г. Липина**, И.А. Сучков [и др.]. – Текст: непосредственный // **Наука молодых (Eruditio Juvenium).** – 2026. – Т. 14, № 1. – С. 113-122.

6. Высокочувствительный С-реактивный белок как маркер воспаления сосудистой стенки при варикозной болезни нижних конечностей / Р.Е. Калинин, **М.Г. Липина**, И.А. Сучков [и др.]. – Текст: непосредственный // **Наука молодых (Eruditio Juvenium)**. – 2026. – Т. 14, № 1. – С. 65-74.

Статьи в других изданиях

1. Интерлейкин-13: связь с воспалением и цистеиновым протеолизом при варикозной трансформации сосудистой стенки / Р.Е. Калинин, **М.Г. Коноплева**, Н.В. Короткова [и др.]. – Текст: непосредственный // **Казанский медицинский журнал**. 2023 – Т. 104. - № 6. – С. 896–906.

2. **Коноплева М.Г.**, Короткова Н.В., Калинин Р.Е., Сучков И.А. Оценка уровня TGF- β 1 в гомогенатах сосудистой стенки у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей // Сборник докладов X Всероссийской научной конференции с международным участием молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», посвященной 175-летию со дня рождения академика И.П. Павлова и 120-летию со дня получения им Нобелевской премии (Рязань, 24-25 октября 2024 г.) / под общ. ред. Р.Е. Калинина, И.А. Сучкова; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань, 2024. – 21-22 с.

3. **Липина М.Г.**, Короткова Н.В. Оценка уровней IL-13 и hCRP в гомогенатах сосудистой стенки у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей // Сборник докладов XI Всероссийской с международным участием научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов «Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста», посвящённой 75-летию университета на Рязанской земле (Рязань, 16-17 октября 2025 г.) / под общ. ред. Р.Е. Калинина, И.А. Сучкова; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань, 2025. – 131-132 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

FGF- β 1 – фактор роста фибробластов- β 1

IL-13 – интерлейкин-13

hsCRP – высокочувствительный С-реактивный белок

ВКМ – внеклеточный матрикс

ВБНК – варикозная болезнь нижних конечностей

ВРВНК – варикозное расширение вен нижних конечностей

ОМБ – окислительная модификация белков

ХЗВ – хроническое заболевание вен