

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РЯЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

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

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, доцент
Короткова Наталья Васильевна,
доктор медицинских наук, профессор
Калинин Роман Евгеньевич

Рязань – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1. Варикозная болезнь нижних конечностей: актуальность исследования и основные структурные изменения венозной стенки	16
1.2. Атеросклероз нижних конечностей: основные структурные изменения артериальной стенки	21
1.3. Интерлейкин-13 – строение, общая характеристика, функции, участие в сердечно-сосудистых заболеваниях	22
1.4. Трансформирующий фактор роста- β 1 – строение, общая характеристика, функции, участие в сердечно-сосудистых заболеваниях.....	26
1.5. Взаимосвязь интерлейкина-13 и TGF- β 1 в патогенезе сосудистой патологии, связанной с фиброзом	30
1.6. Вклад цистеиновых катепсинов В, L, Н в ремоделирование сосудистой стенки	32
1.7. Окислительная модификация белков, как одно из звеньев сосудистой патологии	42
1.8. Роль маркеров воспаления в ремоделировании сосудистой стенки.....	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	48
2.1. Характеристика пациентов, включенных в исследование.....	50
2.2. Получение материала для исследования	51
2.2.1. Получение гомогената сосудистой стенки у пациентов и доноров.....	51
2.2.2. Получение сыворотки крови у пациентов и доноров.....	52
2.3. Определение IL-13	52
2.4. Определение TGF- β 1	54
2.5. Определение показателей протеолиза	55
2.5.1. Определение активности катепсинов В, L и Н	55
2.5.2. Оценка уровня спонтанной окислительной модификации белков	56

2.5.3. Оценка уровня металл-катализируемой окислительной модификации белка	57
2.5.4. Оценка резервно-адаптационного потенциала	58
2.6. Определение содержания белка по методу Лоури в гомогенатах сосудистой стенки	58
2.7. Определение высокочувствительного CRP	59
2.8. Методы статистической обработки полученных результатов	60
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	62
3.1. Результаты лабораторных обследований пациентов с сосудистой патологией.....	62
3.2. Изменение концентрации интерлейкина-13 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией.....	63
3.3. Изменение концентрации TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией	66
3.4. Изменение активности катепсинов В, L и Н в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией.....	68
3.5. Изменение уровня окислительной модификации белков в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с сосудистой патологией	74
3.6. Изменение резервно-адаптационного потенциала в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с сосудистой патологией	76
3.7. Изменение концентрации hsCRP в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией	78
3.8. Результаты корреляционного анализа между изучаемыми показателями в гомогенате сосудистой стенки	81
3.9. Результаты корреляционного анализа между изучаемыми показателями в сыворотке крови	86
3.10. Результаты многофакторного регрессионного анализа для пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей	88

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	92
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	97
ВЫВОДЫ	101
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	103
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы 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 [14, 52, 70, 209]. ВБНК оказывает существенное влияние на качество жизни пациентов, как на физиологическом, так и на социальном уровне [141]. Основными симптомами являются тяжесть, болезненность, зуд и жжение нижних конечностей, которые при длительном стоянии только усугубляются [180]. По данным статистических исследований варикозное расширение вен отмечается у 25-33% женщин и 10-20% мужчин, и, по-прежнему, продолжает стремительно расти [172].

Факторами риска развития варикозной болезни вен нижних конечностей в настоящее время признаны – ожирение, женский пол, беременность, наследственность и возраст [45]. Последнее время наблюдается тенденция к снижению возраста пациентов с варикозным расширением [5, 35, 52]. Долгое время клапанная недостаточность, венозная гипертензия и рефлюкс считались основными факторами, способствующими развитию варикозного расширения вен [156]. Воспаление так же может быть основополагающим звеном в патогенезе варикозной болезни [128, 149]. 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 [6, 41, 51].

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 CEAP.

Таким образом, сохраняется актуальность изучения участия молекул цитокинового ряда в патогенезе различных заболеваний [175]. 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 [144]. Так,

например, имеются данные, свидетельствующие о том, что IL-13 и цитокины, ассоциированные с Th2-фенотипом, участвуют в репарации ткани, пораженной фиброзом [217]. Фиброз печени, индуцированный шистосомой, вероятно, является IL-13-зависимым. Имеются немногочисленные данные, указывающие на то, что IL-13 участвует в патогенезе склеродермии [154]. 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 [86]. Существуют данные, указывающие на то, что IL-13 снижает экспрессию MMP-13 в фибробластах, что приводит к увеличению выработки коллагена и снижению его разрушения [158]. Дермальные фибробласты имеют рецепторы к IL-13, а культивирование фибробластов с IL-13 активирует образование коллагена [13].

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 [39, 40, 212]. В настоящее время считается, что основными белковыми факторами, стимулирующими фибротический процесс в органах и тканях человека, являются именно белки суперсемейства TGF- β [8].

Лизосомальные цистеиновые протеазы (катепсины) могут осуществлять протеолитическое расщепление компонентов внеклеточного матрикса [94, 217]. Именно с участием лизосомального протеолиза протекает до 70% деградации белковых молекул [115]. 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 [88, 191]. 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 [120]. Кроме выполнения своей ведущей роли – деградации белковых молекул, катепсины выполняют регуляторную функцию, обеспечивая процессинг цитокинов и факторов роста [64].

Воспаление играет ключевую роль в возникновении и прогрессировании хронических заболеваний вен [52]. 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) [12]. Кроме того, при сосудистых заболеваниях происходит ремоделирование эндотелиального гликокаликса. Это способствует нарушению проницаемости, увеличивая проникновение лейкоцитов и способствуя воспалительной реакции [80].

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 СЕАР, 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.

Благодарности

Автор выражает благодарность научному руководителю, к.м.н., доценту кафедры биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, доценту Коротковой Н.В.; научному консультанту, ректору ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, д.м.н., заведующему кафедрой сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, профессору Калинину Р.Е.; проректору по научной работе и инновационному развитию ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, д.м.н., профессору кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, профессору Сучкову И.А.; д.м.н. доценту, профессору кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России Мжаванадзе Н.Д.; заведующему МНОЛЦ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, д.м.н., доценту Щулькину А.В.; к.м.н., доценту кафедры фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, доценту Никифорову А.А.; заведующему кафедрой биологической химии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, к.м.н., доценту Матвеевой И.В. за всестороннюю помощь на всех этапах подготовки диссертационной работы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Варикозная болезнь нижних конечностей: актуальность исследования и основные структурные изменения венозной стенки

Варикозная болезнь нижних конечностей относится к хроническим заболеваниям вен. Её проявления характеризуются расширением преимущественно поверхностных вен нижних конечностей, несостоятельностью клапанов, нарушением системного и регионарного кровотока, метаболическими расстройствами, что приводит к развитию хронической венозной недостаточности (ХВН) [1]. Несмотря на высокую распространенность и рецидивирующий характер этого заболевания, точные механизмы развития и биохимические изменения остаются неопределенными.

С целью формулировки более точного развёрнутого диагноза, детальной характеристики клинического статуса пациента, выбора адекватной лечебной тактики, мониторинга эффективности назначенной терапии и прогнозирования течения заболевания, а также для более удобного использования в научных исследованиях принята Международная классификация CEAP, согласно которой выделяется несколько разделов для оценки заболевания: клинический (C), этиологический (E), анатомический (A) и патофизиологический (P). В клиническом разделе классификации описывается клинический статус пациента. Поводом для отнесения пациента к тому или иному клиническому классу служит наличие у него наиболее выраженного объективного симптома ХЗВ:

C0 – нет видимых или пальпируемых признаков ХЗВ

C1 – телеангиоэктазии и/или ретикулярные вены

C2 – варикозно измененные подкожные вены

C3 – отеки нижних конечностей.

C4 – трофические изменения кожи и подкожных тканей (пигментация, венозная экзема, индурация).

a – гиперпигментация и/или варикозная экзема

b – липодерматосклероз и/или белая атрофия кожи

C5 – зажившая венозная язва

C6 – открытая (активная) венозная язва

Согласно современным научным данным, в патогенезе варикозного расширения вен нижних конечностей можно выделить несколько факторов, способствующих развитию этого заболевания: пол, возраст, генетическая предрасположенность, образ жизни, гормональная терапия, заболевания опорно-двигательного аппарата, избыточный вес [15]. При этом основными причинами возникновения варикозной болезни вен считаются венозная гипертензия, венозный рефлюкс, дисфункция венозных клапанов и воспаление венозной стенки [10, 152, 165].

По данным морфологических исследований в варикозно расширенных венах имеется два типа участков: гипертрофические и атрофические. В гипертрофических областях отмечается аномальная форма и ориентация гладкомышечных клеток, и накопление внеклеточного матрикса. Атрофические области, наоборот, демонстрируют значительную деградацию внеклеточного матрикса и тканевую инфильтрацию воспалительными клетками [36].

Из-за повышения венозного давления и нарушения напряжения сдвига кровотока в нижних конечностях происходит каскад событий: повреждается эндотелий вен и эндотелиальный гликокаликс (ЭГ), повышается проницаемость эндотелиальных клеток, активируется молекулярная адгезия, инфильтрация лейкоцитов в сосудистую стенку и, в конечном итоге, воспаление вены. Активация лейкоцитов и молекул межклеточной и сосудистой адгезии происходит при изменениях сдвига венозного напряжения и структуры эндотелиального гликокаликса в то время, как причиной высокого уровня цитокинов является повышение гидростатического давления в венах нижних конечностей, а также воспаление и лейкоцитарная инфильтрация сосудистой стенки [76]. Воспалительная реакция оказывает прямое влияние на состав глюкозаминогликанов (ГАГ), а именно на определенные комбинации дисахаридов, которые входят в состав различных типов глюкозаминогликанов:

гепарансульфат, хондроитинсульфат, дерматансульфат, кератансульфат и гиалуронан. Вследствие этого ЭГ истончается и теряет свою барьерную функцию. В свою очередь, сниженная скорость и измененный синтез глюкозаминогликанов могут способствовать воспалению и дисфункции сосудов [181]. Все это и будет ведущими причинами прогрессирующего расширения стенки вен при варикозной патологии.

При варикозном расширении вен происходит ремоделирование сосудистой стенки. В работе Студенниковой В.В. были выявлены следующие гистологические изменения: неравномерная толщина стенок вен со значительными истончениями; наличие фиброзно-мышечных валиков, расположенных на широких участках стенки [61]. В толщине валиков прослеживается следующая особенность: пучки гладкомышечных клеток и коллагеновых волокон перпендикулярны стенке сосуда. Также в широких участках стенок обнаруживается неравномерная гипертрофия гладкомышечных клеток.

Многие авторы акцентируют свое внимание на присутствие фиброза в сосудистой стенке при варикозном расширении вен. Так, в монографии Швальба П. Г. и Ухова Ю. И. описывается микроскопическое исследование стенки вен при варикозной болезни: изменения стенки складываются из различного сочетания процессов перестройки, затрагивающих все структурные компоненты вены [72]. Так, например, изменения интимы проявляются в виде: миоэластоза, миоэластофиброза, склероза и гиалиноза, очаговой дезорганизации соединительной ткани интимы по типу мукоидного набухания. Наиболее часто возникает фиброэластоз створок клапанов с равномерным или неравномерным утолщением. Изменения меди характеризуются образованием интерфасцикулярного (межпучкового) фиброза [121, 179].

Barallobre-Barreiro и соавторы отметили, что варикозные подкожные вены демонстрируют обширное образование неоинтимы с субэндотелиальным фиброзом, утолщение стенки и расширение просвета [125].

Как было сказано ранее, Студенникова В.В. также описала морфологическое строение стенки вен при варикозной болезни нижних конечностей, отметив наличие ярко выраженного субинтимального и межмышечного фиброза [42].

Также в сосудистой стенке наблюдается ремоделирование архитектуры внеклеточного матрикса, при котором происходит разрушение основных стромальных белков – эластина и коллагена. Нарушается регуляция поврежденного, фрагментированного эластина с неупорядоченным распределением коллагена [208]. Происходит повышение уровня коллагена IV типа и снижение уровня коллагена I типа, что в свою очередь приводит к нарушению прочности, гибкости, структурной целостности сосудистой стенки [216].

Были резюмированы гистопатологические нарушения компонентов соединительной ткани при варикозном расширении вен, такие, как дезорганизованное расположение гладкомышечных клеток (ГМК), ремоделирование внеклеточного матрикса, ослабление, фрагментация и нарушение эластических волокон, полная утрата кольцевой слоистой структуры коллагеновых волокон, что позволяет сделать выводы об обширных протеолитических изменениях [208].

При варикозной трансформации вен происходит нарушение баланса между активацией и ингибированием синтеза ферментов, что приводит к быстрому «обороту» (замене) коллагеновых и эластических волокон [42]. Как известно, находясь в активном состоянии, гладкомышечные клетки синтезируют большое количество тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMP-1 – от англ.: Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 -1, TIMP-2 – от англ.: Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-2), что в свою очередь замедляет деградацию вновь синтезированных коллагеновых волокон [79].

Представители группы лизосомальных протеиназ – катепсины, также играют важную роль в ремоделировании внеклеточного матрикса (ВКМ) сосудов.

Они могут разрушать компоненты ВКМ, такие как коллаген и эластин, и стимулировать апоптотические процессы [28].

Ниже представлена современная модель механизма повреждения венозной стенки, включающая в себя основные поэтапные процессы.

Ключевыми факторами ремоделирования стенки вены при варикозном расширении являются изменения в эндотелии, внеклеточном матриксе и гладкомышечных клетках [211] (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Обобщенная схема развития повреждений венозной стенки при варикозной болезни нижних конечностей

1.2. Атеросклероз нижних конечностей: основные структурные изменения артериальной стенки

Для атеросклероза также считается характерным наличие фиброзных изменений сосудистой стенки [73]. Ключевыми стимулами для их развития и прогрессирования выступают гипертензия, гипергликемия, нарушения липидного обмена и избыток гомоцистеина [77]. На начальных этапах атерогенеза ЛПНП взаимодействуют с АФК с образованием продуктов окисления липидов: гидроперекисей и лизофосфолипидов, увеличивающих экспрессию тромбоцитарного фактора роста (PDGF – от англ.: Platelet-derived Growth Factor), усиливающего миграцию ГМК и фактора роста фибробластов (FGF – от англ. Fibroblast growth factors), способствующего пролиферации ГМК. Пролиферация ГМК приводит к утолщению атеросклеротических бляшек и образованию некротического ядра [67].

При этом происходит образование фиброзной ткани в стенках артерий, приводящее к потере эластичности сосудов и прогрессированию атеросклероза [47, 81]. Также показано, что фиброз артерий связан с ренин-ангиотензин-альдостероновой системой, воспалительными факторами, дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов [82]. Так, TGF- β 1 участвует в ремоделировании артерий и накоплении внеклеточного матрикса, индуцируя выработку фактора роста соединительной ткани (CTGF) и FGF [52]. Дисбаланс между матриксными металлопротеиназами (MMP) и их ингибиторами (TIMPs – от англ. Tissue Inhibitors Of Metalloproteinases) влечет за собой накопление коллагена и ремоделирование внеклеточного матрикса, усугубляющее фиброзные изменения артерий [57]. Межклеточные взаимодействия между ГМК, эндотелиоцитами, макрофагами и Т-лимфоцитами также приводят к фиброзным изменениям, где важную роль играет внеклеточный матрикс [219]. Таким образом, фиброз крупных сосудов включает накопление белков внеклеточного матрикса: коллагена и фибронектина [44]. Недостаток эластина или избыток

коллагена в сосудистой стенке приводит к фиброзу сосудов как при варикозном расширении вен нижних конечностей, так и при атеросклерозе [59, 98].

1.3. Интерлейкин-13 – строение, общая характеристика, функции, участие в сердечно-сосудистых заболеваниях

Интерлейкин-13 (IL-13) – белок, состоящий из 146 аминокислот, с молекулярной массой около 13 кДа, ген расположен в хромосоме человека 5q31.1 [145]. Его конформация представлена четырьмя α -спиралями – А, В, С и D [147] (Рисунок 2). IL-13 один из цитокинов с широкими функциональными возможностями, он экспрессируется в большинстве тканей: сердце, легкие, печень, кожа [48]. Признано, что он участвует в регуляции клеточно-опосредованного иммунитета, модулируя клеточную пролиферацию, рост и апоптоз, а также принимает участие в патогенезе и развитии целого ряда заболеваний: бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, шистосомоз, фиброз печени и онкологические заболевания [49, 186].

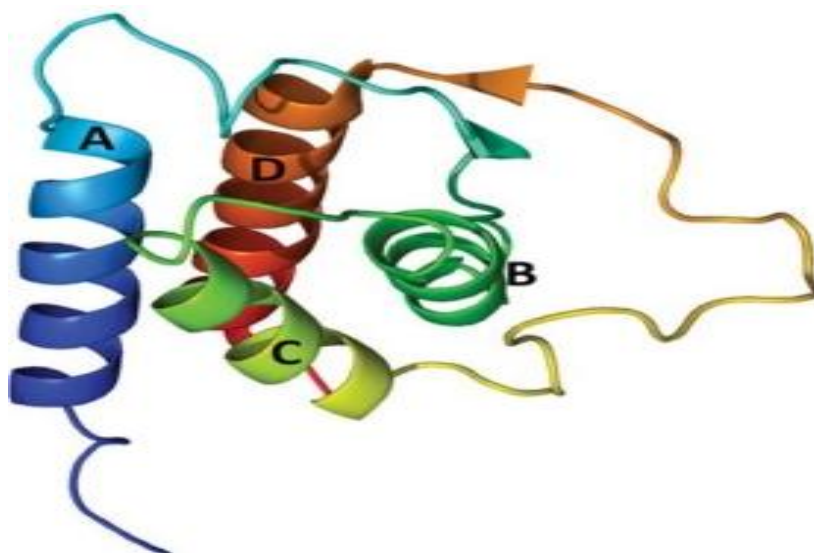


Рисунок 2 – Структура IL-13 (цит. по: Narges Seyfizadeh, 2015) [143]

IL-13 продуцируется преимущественно активированными Th2-клетками, цитотоксическими лимфоцитами, тучными клетками, базофилами, эозинофилами, НК-клетками, мастоцитами. К нему есть два типа рецепторов: состоящих из

субъединиц двух видов IL-13R α 1 и IL-13R α 2 [146] (Рисунок 3). Рецепторы к IL-13 экспрессированы на эндотелиоцитах, базофилах, эозинофилах, В-лимфоцитах, фибробластах, тучных клетках, таким образом, обеспечивая аутокринное действие, а также на макрофагах, моноцитах, на эпителиоцитах дыхательных путей и гладкомышечных клетках [148].

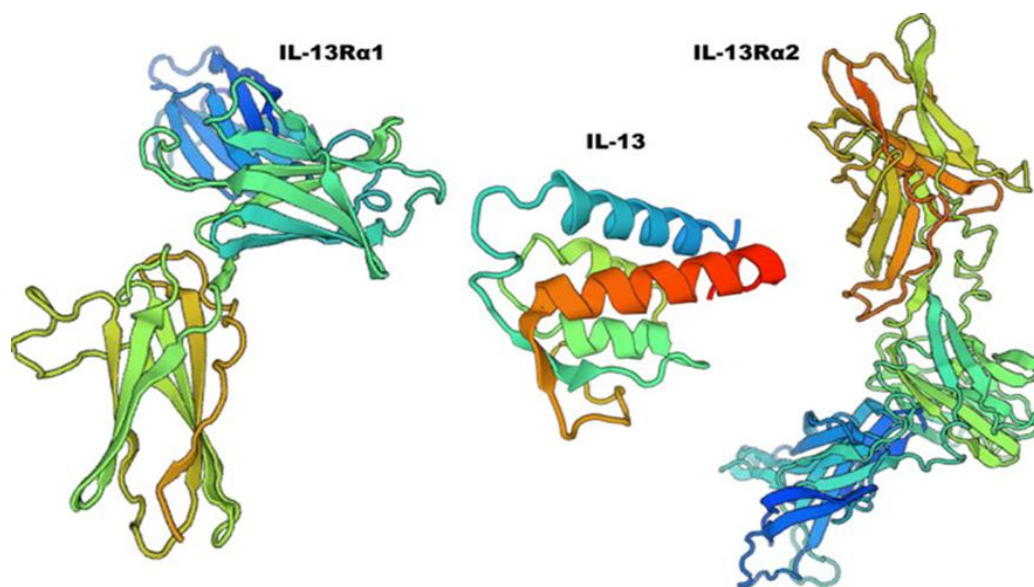


Рисунок 3 – Структура IL-13 и его рецепторов
(цит. по URL: <https://www.rcsb.org/structure/4HWB>)

Интерлейкин-13 оказывает стимулирующее влияние на биосинтез сосудистых молекул клеточной адгезии (ICAM-1 – от англ.: intercellular adhesion molecule-1 и VCAM-1 – от англ.: vascular cell adhesion molecule-1) [20]. Будучи фактором дифференцировки лимфоцитов, IL-13 поддерживает становление гуморального иммунного ответа [195]. Интерлейкин-13 имеет схожие биологические эффекты с интерлейкином-4, однако при воспалительных процессах уровень IL-4, как правило, снижается, а уровень IL-13, по данным некоторых авторов, стабилен [100]. Также интерлейкин-13 принимает участие в иммунных реакциях, будучи модулятором активности моноцитов и В-клеток, но в отличие от интерлейкина-4 напрямую на Т-лимфоциты не влияет, так как Т-лимфоциты не экспрессируют для него рецепторы [203].

На сегодняшний день нет единого мнения о принадлежности IL-13 к функциональному профилю: провоспалительному или противовоспалительному.

Hussein M. и соавторы показали, что при заболеваниях дыхательной системы он имеет провоспалительный эффект [131]. Было доказано, что IL-13 через сложные сигнальные пути JAK/STAT тесно связан с привлечением и активацией эозинофилов, генерацией периостина и фиброгенными процессами, которые являются частью процесса ремоделирования, при воспалительных и фиброзных заболеваниях легких, таких как астма, идиопатический легочный фиброз, системный склероз и легочно-гранулематозное заболевание [132].

Seifzadeh N. отметил, что IL-13 – плеiotропный (полифункциональный) цитокин, действующий через функциональный комплекс IL-13R α 1/IL-4R α , в состав которого входит один из рецепторов интерлейкина-13 – IL-13R α 1 и компонент рецепторов интерлейкина-4 – IL-4R α ; действие реализуется через Янус-киназы (JAK1, JAK3, TYK2) и активацию фактора транскрипции STAT6 [143] (Рисунок 4). IL-13 выполняет широкий спектр функций в фибробластах, индуцируя экспрессию интегринов, периостина, пролиферацию клеток, которые способствуют прогрессированию воспалительных заболеваний дыхательной системы, в частности, бронхиальной астмы [133]. Связывание со вторым рецептором IL-13R α 2 является более высокоаффинным, он является негативным регулятором, действие которого до конца не изучено [139].

Ningjing Qian в своей статье рассмотрел функции IL-13 при заболеваниях сердечно-сосудистой системы различной этиологии и пришёл к выводу, что интерлейкин-13 участвует в воспалительных заболеваниях сердца, таких как миокардит; но также имеет отношение к острым или хроническим сердечно-сосудистым заболеваниям, таким как инфаркт миокарда и сердечная недостаточность [122]. В частности, было установлено, что рецепторы IL-13R α 1 и IL-13R α 2 в сердце активно экспрессируются в кардиомиоцитах, фибробластах, сосудистых гладких клетках и эндотелиальных клетках [167].

Однако, встречаются научные работы, где авторы склоняются к мнению, что при заболеваниях сердечно-сосудистой системы IL-13 играет противоположную роль и оказывает противовоспалительный эффект [134].

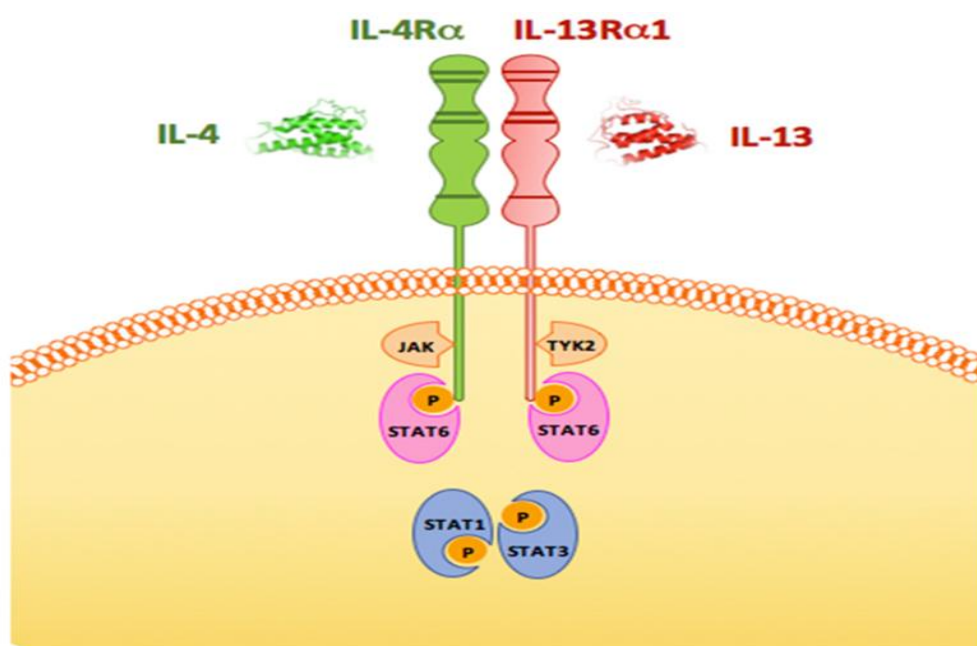


Рисунок 4 – Гетеродимерный рецептор для IL-13 и IL-4 и его сигнализация (цит. по: Simone Mori, 2016) [183]

Ramalingam R. и соавторы показали в своей работе, что интерлейкин-13 принимает непосредственное участие в развитии фиброза легких, так же они сделали предположение, что ингибирование IL-13 приводит к снижению выраженности фиброза и ремоделированию тканей, но в настоящее время эти механизмы остаются малоизученными [123].

В статье Steven O'Reilly говорится, что первоначально IL-13 был описан как цитокин, обладающий ингибирующим действием на воспалительные цитокины [168]. В настоящее время он признан доминирующим цитокином, способствующим развитию фиброза [214].

Тем не менее, потенциальная роль интерлейкина-13 в сердечно-сосудистых заболеваниях остается спорной. Интерлейкин-13 до сих пор остается цитокином с малоизученным механизмом действия и свойствами. Он может играть потенциальную роль в разных физиологических и патологических состояниях организма: участие в процессе старения, в воспалительных и фиброзных заболеваниях, влияние на сердечно-сосудистую систему, что требует дальнейшего изучения.

1.4. Трансформирующий фактор роста- β 1 – строение, общая характеристика, функции, участие в сердечно-сосудистых заболеваниях

TGF- β 1 – многофункциональный полипептид высокой сложности, который принадлежит надсемейству TGF- β и состоит из 112 аминокислотных остатков [197] (Рисунок 5). Является противовоспалительным цитокином первого типа, продуцируется Т-хелперами (Th1) [51]. TGF- β 1 играет важную роль в процессе эмбрионального развития, в физиологическом функционировании органов и систем, при этом принимает участие в патофизиологии аутоиммунных, воспалительных, сердечно-сосудистых заболеваний и фиброза. Именно изоформа TGF- β 1 из всего семейства TGF- β является ведущей в патологии сердечно-сосудистой системы, присутствуя при этом в эндотелиальных клетках, клетках гладкой мускулатуры сосудов, миофибробластах, макрофагах [197]. Помимо этого, он выполняет ряд других, не менее важных функций. В частности, способствует ремоделированию внеклеточного матрикса, стимулирует фиброгенез, регулирует рекрутирование лейкоцитов и фибробластов [101].

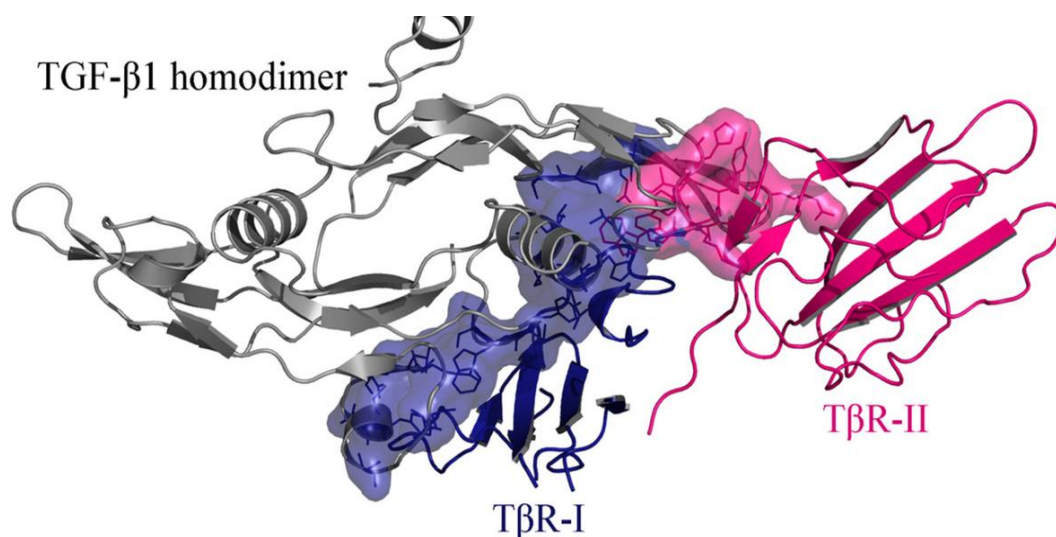


Рисунок 5 – Трехмерная структура TGF- β 1
(цит. по: Xiaoting Chen, 2020) [192]

Имеются данные, что в стенках вен при варикозном расширении отмечается повышенный уровень TGF- β 1. Он принимает участие в росте, развитии, пролиферации гладкомышечных клеток и фибробластов, которые, в свою

очередь, приводят к повреждению стенок вен, что дает старт для прогрессирования варикозной патологии [51].

TGF- β 1 участвует в ремоделировании внеклеточного матрикса венозной стенки, участвует в синтезе и деградации молекул внеклеточного матрикса - коллагена и протеогликанов [141]. Также отмечается, что он может выступать в качестве медиатора сосудистого фиброза [197].

В физиологических условиях фиброз – процесс нормального заживления и восстановления ран. Он является сложным многостадийным процессом с привлечением воспалительных клеток: макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов, высвобождением фиброгенных цитокинов, факторов роста, в частности, TGF- β 1, и активацией фибробластов, продуцирующих коллаген [215]. Однако, если процесс переходит в хроническую форму, длительная активация миофибробластов приводит к чрезмерному и аномальному отложению внеклеточного матрикса и фиброзу [197]. Именно TGF- β 1 индуцирует фиброз путем дифференцировки фибробластов в сократительные миофибробласты, экспрессии α -гладкомышечного актина и чрезмерного производства белков внеклеточного матрикса, таких как коллаген, и ингибирования его деградации [161].

В настоящее время по некоторым литературным данным существует два отдельных сигнальных каскада: внеклеточные регулируемые митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК – от англ.: mitogen activated protein kinases) и TGF- β 1-Smad-сигнальный каскад, через которые TGF- β 1 влияет на фибробласты [51]. Аббревиатура Smad произошла от двух белков: семейства белков SMA (от англ.: Small Worm Phenotype) и MAD (от англ.: Mothers Against Decapentaplegic) [43]. TGF- β 1 секретируется в неактивной (латентной) форме. Внеклеточная активация белка необходима для связывания с соответствующим рецептором, она происходит под действием протеаз и приводит к распаду латентного комплекса TGF- β (Рисунок 6).

Активный TGF- β осуществляет свои биологические функции через связывание с рецепторами трех типов (TGF- β RI, TGF- β RII и TGF- β RIII), которые

представляют собой серин-треониновые киназы, активирующие различные сигнальные пути клетки, такие как Smad и MAPK [28].

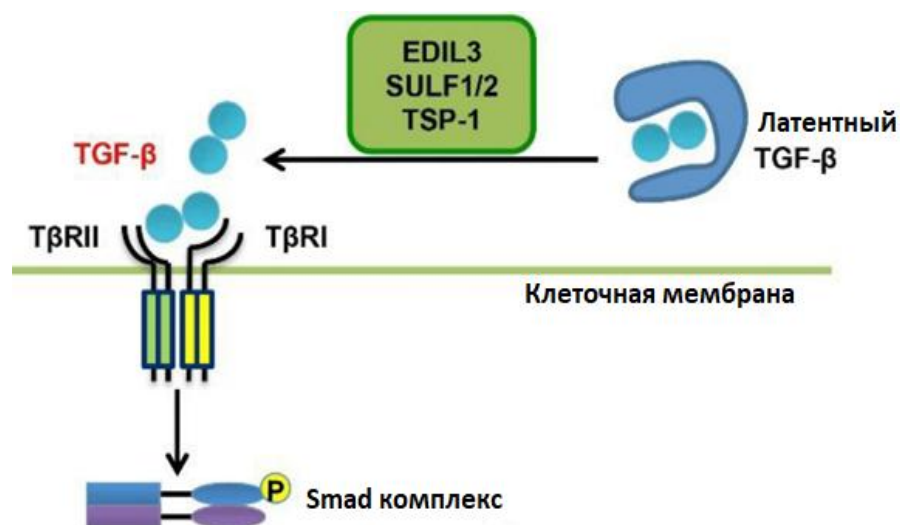


Рисунок 6 – Активация латентного комплекса TGF- β
(цит. по: Shuo Tu, 2019) [101]

MAP-киназы — принимают участие в регуляции клеточной активности (экспрессия генов, дифференциация клеток, митоз, апоптоз) в ответ на внеклеточные стимулы. В ответ на внеклеточные сигналы и действие цитокинов (сигнальные пути MAPK активируются TGF- β 1) [150], способствующих воспалительным процессам или апоптозу, в клетках активируются каскады фосфорилирования. Эти процессы завершаются специфической активацией или подавлением активности факторов транскрипции и других регуляторных белков, что приводит к изменению уровней экспрессии соответствующих генов. С помощью MAPK-каскадных реакций фосфорилирования протеинкиназ и других регуляторных белков осуществляется поэтапное декодирование первичных эффекторных сигналов (аденилатциклазы, фосфолипазы C, синтазы оксида азота), которые передаются от поверхности клеток к ядру или другим внутриклеточным компонентам, и завершаются кооперативными (иммунными) ответами клеток организма [50].

По данным научных исследований установлено, что активация MAP-киназы группы p38 ведет к усилению фиброза [170]. Такой эффект был зафиксирован при лептоменингеальном фиброзе. Активация p38 MAPK достигалась воздействием

трансформирующего фактора роста- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) на первичные менингеальные мезотелиальные клетки – наблюдалось значительное повышение экспрессии фактора роста соединительной ткани CTGF (от англ.: Connective Tissue Growth Factor) и p38 MAPK. Авторы считают, что данный эффект может быть обусловлен ингибированием TGF- β -индуцированной трансдифференцировки фибробластов [9]. TGF- $\beta 1$ непосредственно активирует сигнальный путь Smad, что приводит к избыточной экспрессии профибротических генов [8] (Рисунок 7).

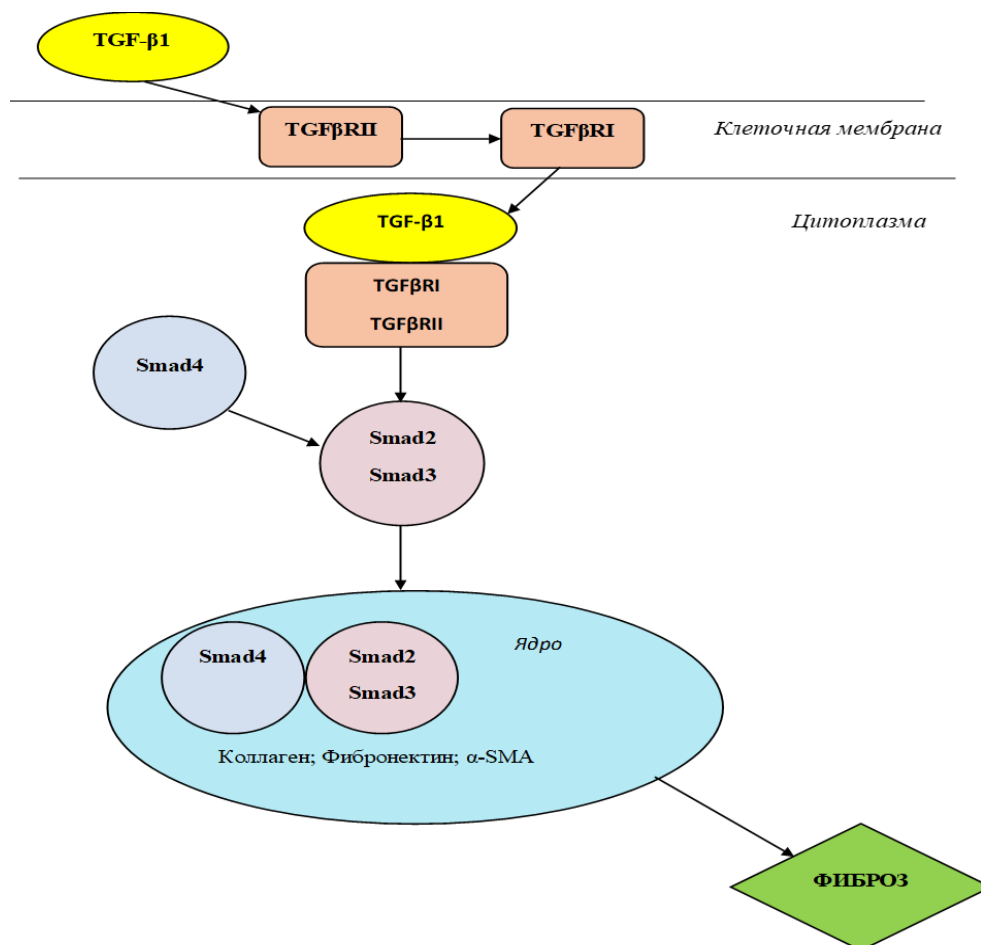


Рисунок 7 – TGF- $\beta 1$ -Smad-сигнальный каскад

Дисфункция регуляции пути TGF- $\beta 1$ /Smad представляет собой ключевой патогенетический механизм тканевого фиброза. Smad2 и Smad3 выступают в роли основных регуляторов, способствующих TGF- $\beta 1$ -опосредованному фиброзу в то время, как Smad7 функционирует как регулятор отрицательной обратной связи в этом пути, тем самым защищая от фиброза, индуцированного TGF- $\beta 1$ [196]. Каскад TGF- β /Smad представляет собой тройной сигнальный комплекс, который

активируется при взаимодействии TGF- β 1 с рецептором II трансформирующего фактора роста β (TGF β RII). В результате этого взаимодействия TGF β RII фосфорилирует рецептор I (TGF β RI), который, в свою очередь, активирует цитоплазматические медиаторы Smad2 и/или Smad3. Эти медиаторы образуют гетеротримерный комплекс со Smad4, который затем транслоцируется в ядро, связывается с консенсусной последовательностью и регулирует транскрипцию профибротических генов: α -SMA, коллаген, фибронектин, что далее ведет к синтезу соответствующих белков [166].

1.5. Взаимосвязь интерлейкина-13 и TGF- β 1 в патогенезе сосудистой патологии, связанной с фиброзом

Сосудистый фиброз характеризуется сужением просвета и утолщением стенки сосуда, что обусловлено чрезмерным отложением внеклеточного матрикса, как в артериях при атеросклерозе, так и в венах при варикозном расширении вен нижних конечностей [153].

Помимо TGF- β , были зарегистрированы и другие важные индукторы фиброза, такие как IL-13 и IL-4 [53, 206]. Ингибирование IL-4 и IL-13 независимым образом показало, что IL-13 является доминирующим эффекторным цитокином при фиброзе [83, 184].

Сигнальный путь IL-13 включает два типа рецепторов IL-13R α 1 и IL-13R α 2 [142] (Рисунок 8). Через рецептор IL-13R α 1 опосредуют свои сигналы интерлейкин-13 и интерлейкин-4, это связано с высоким уровнем генетического сходства между этими цитокинами [157]. Данный тип рецептора обнаруживается в фибробластах. Рецептор IL-13R α 1 играет ключевую роль в формировании гиперчувствительности, основной продукции иммуноглобулина E и синтезе эотаксина [22]. IL-13R α 1 содержит области богатые пролином, которые могут связывать янус-киназы JAK-1 (от англ.: Janus kinase-1), JAK-2 (от англ.: Janus kinase-2), JAK-3 (от англ.: Janus kinase-3) и ТЫК-2 (от англ.: Tyrosine kinase-2), при этом связывание IL-13 с IL-13R α 1 активирует JAK-1, JAK-2 и ТЫК-2 [200].

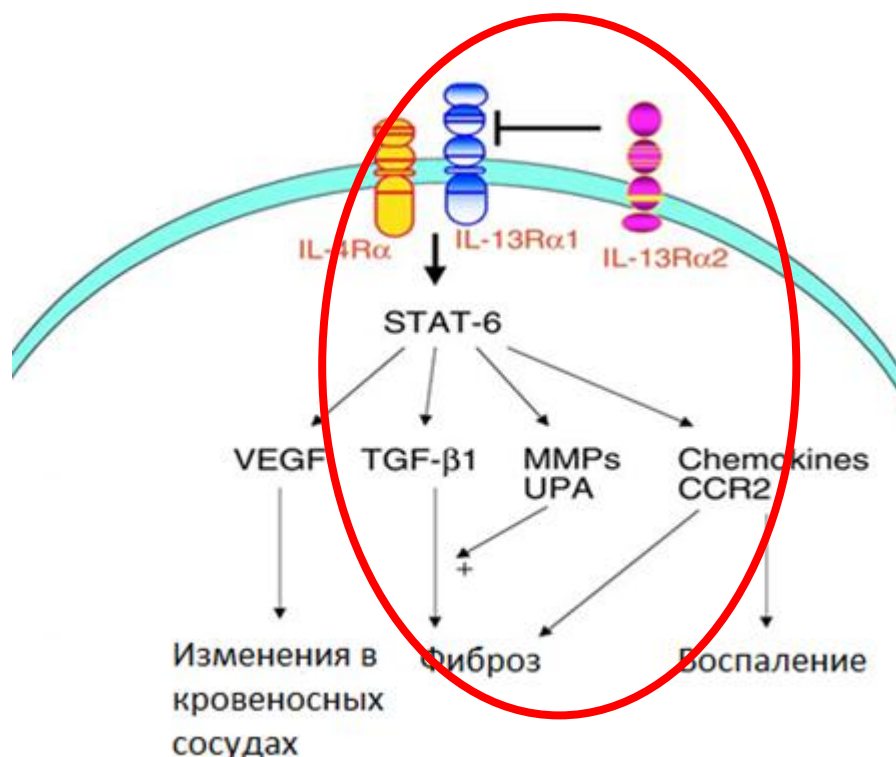


Рисунок 8 – Механизм взаимодействия интерлейкина-13 и TGF-β1 при фиброзе (цит. по: Jack A. Elias, 2003) [208]

Активация молекул Янус-киназы приводит к фосфорилированию тирозина, локализованного на цитоплазматическом домене рецептора, что способствует присоединению STAT-6 и STAT-3 (от англ.: Signal Transducer and Activator of Transcription-3) к рецептору, с последующей их активацией и фосфорилированием [124]. Фосфорилированные мономеры STAT-6 и STAT-3 образуют димеры, перемещаются в ядро и связываются с определёнными участками ДНК для регуляции транскрипции [137]. Активация STAT-6 играет ключевую роль в сигнальных механизмах, запускаемых в ответ на интерлейкин-13 [136]. IL-13 также может активировать STAT-1 и STAT-3 [138]. Два остатка тирозина, содержащиеся в цитоплазматическом домене IL-13Rα1, служат сайтами стыковки для STAT-3 [129]. Передача сигналов IL-13 через IL-13Rα2 ведет к фосфорилированию ERK-1/2 (от англ.: Extracellularly-Regulated Kinase-1/2) и не зависит от STAT-6 [22]. Из-за активации ERK1/2-сигнального пути происходит образование димерного фактора транскрипции AP-1 (от англ.: activator protein-1) [174].

Таким образом, интерлейкин-13 может способствовать развитию фиброза как через прямую активацию фибробластов, так и через непрямой путь, стимулируя выработку TGF- β [21, 102]. IL-13 взаимодействует с α -цепью второго рецептора IL-13 (IL-13R α 2), что приводит к активации промоторной активности TGF- β , при этом он использует белок-активатор AP-1 в качестве сигнального механизма, что способствует усилению его фиброгенного потенциала [86, 135]. IL-13 индуцирует выработку неактивного TGF- β 1 макрофагами, который активируется через повышенную экспрессию MMP-9, что приводит к фиброзу [86]. Также сообщалось о пути фиброгенеза, зависящем от IL-13, но не от TGF- β 1 [207]. Путь продуцирования фиброза IL-13 – прямая активация синтетической и пролиферативной активности фибробластов, эпителиальных и гладкомышечных клеток. IL-13 и TGF- β проявляют прямую профиброгенную активность [19].

1.6. Вклад цистеиновых катепсинов В, L, Н в ремоделирование сосудистой стенки

Лизосомальные цистеиновые протеиназы (КФ 3.4.22) – группа тканевых внутриклеточных ферментов, локализованных в лизосомах и обладающих, главным образом, эндопептидазной активностью. Принадлежат к семейству папаиноподобных цистеиновых протеаз [213]. Катепсины являются лизосомальными протеазами. Их классифицируют на три основные группы в зависимости от каталитического центра: цистеиновые катепсины (В, С, F, Н, К, L, О, S, V, W и X), сериновые катепсины (А и G), и аспарагиновые катепсины (D и E) [24]. Сериновые протеазы составляют до 31% от общей популяции протеаз, экспрессируемых в организме человека, на цистеиновые приходится 25 %, в то время как аспарагиновые протеазы составляют 4% от общего количества [199].

Большинство катепсинов являются эндопептидазами, например, катепсин L. Некоторые катепсины обладают экзопептидазной активностью: карбоксипептидазы – катепсин В, аминопептидазы – катепсин Н, однако катепсин В может обладать эндопептидазной активностью при нейтральном pH [185].

Большинство катепсинов представляют собой относительно небольшие белки с молекулярной массой около 30 кДа, за исключением катепсина С, молекулярная масса которого составляет 50 кДа. Первичная структура большинства катепсинов включает четыре части: тяжелую цепь, легкую цепь, «прорегион» (предшественник) и сигнальный пептид [169] (Рисунок 9).

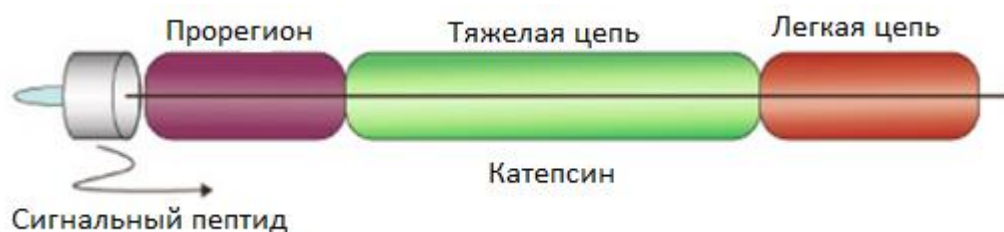


Рисунок 9 – Первичная структура катепсина
(цит. по: Xian Wu Cheng, 2023) [169]

Трансформация первичной структуры способствует созреванию катепсинов [75]. Зрелые катепсины содержат два домена: L (Left) – домен и R (Right) – домен, между которыми располагается активный центр [16]. Для L-домена характерно наличие центральной спирали из 30 остатков, для R-домена характерен β -цилиндрический мотив [114]. Трансформация зрелого катепсина происходит в три этапа: синтез в эндоплазматическом ретикулуме, «дозревание» в кислых значениях pH в эндосоме и окончательная активация [169]. Так как катепсины имеют специфические сайты связывания, то они играют различные биологические роли в передаче сигналов, переносе антигенов, пролиферации и апоптозе [87, 96, 198].

Цистеиновые катепсины – группа протеолитических ферментов, участвующих в различных клеточных процессах, включая деградацию белка [113]. Кроме того, они могут участвовать в деградации компонентов внеклеточного матрикса, влияя тем самым на воспалительный процесс, снижая его выраженность [109]. Они принимают участие в расщеплении внутренних пептидных связей, осуществляют внутриклеточный распад белков, выполняют важную регуляторную функцию. Секретируют и инактивируют ряд ферментов, гормонов, биологически активных белков и пептидов [201]. Эти ферменты

активны в среде с низким рН лизосом и универсальны по своим функциям [97] (Таблица 1).

При некоторых физиологических (инволюция матки после беременности) и патологических состояниях (мышечная дистрофия, воспалительные процессы: ревматоидный артрит, подагра, эмфизема легких и др.) наблюдается повышение активности катепсинов в тканях, что связано с выходом ферментов из лизосом [112]. Катепсины обнаружены практически во всех животных тканях. Наивысшая их активность определяется в печени, селезенке, железистой ткани, фагоцитирующих клетках (макрофагах и полиморфно-ядерных лейкоцитах), а также в быстро растущих и делящихся клетках [25].

Таблица 1 – Характеристика катепсинов (цит. по: Veronika Stoka, 2023) [204]

Семейство	Название белка	Идентификатор записи UniProtKB	Имя гена	Длина (AA)
Пептидаза C1	Катепсин В	П07858	<i>CTSB</i>	339
Пептидаза C1	Катепсин С	П53634	<i>CTSC</i>	463
Пептидаза C1	Катепсин F	В9УБХ1	<i>CTSF</i>	484
Пептидаза C1	Катепсин Н	П09668	<i>CTSH</i>	335
Пептидаза C1	Катепсин К	П43235	<i>CTSK</i>	329
Пептидаза C1	Катепсин L	П07711	<i>CTSL</i>	333
Пептидаза C1	Катепсин O	П43234	<i>CTSO</i>	321
Пептидаза C1	Катепсин S	П25774	<i>CTSS</i>	331
Пептидаза C1	Катепсин V	О60911	<i>CTSV</i>	334
Пептидаза C1	Катепсин W	П56202	<i>CTSW</i>	376
Пептидаза C1	Катепсин X	В9УБР2	<i>CTSZ</i>	303
Пептидаза S10	Катепсин А	П10619	<i>CTSA</i>	480
Пептидаза S1	Катепсин G	П08311	<i>CTSG</i>	255
Пептидаза A1	Катепсин D	П07339	<i>CTSD</i>	412
Пептидаза A1	Катепсин E	П14091	<i>CTSE</i>	396

На протяжении долгого времени цистеиновые катепсины считались протеазами, играющими важную роль для неспецифического объемного протеолиза в эндолизосомальной системе [213]. Но в настоящее время показано, что катепсины считаются ведущими участниками в патологических процессах, при таких заболеваниях, как рак, ревматоидный артрит и различные

воспалительные заболевания [111] (Таблица 2). В настоящее время эти лизосомальные протеазы всё больше привлекают внимание, как важные факторы развития сердечно-сосудистых заболеваний [18].

Таблица 2 – Заболевания, связанные с катепсинами (цит. по: Valeria De Pasquale, 2020) [119]

Катепсин	В активном центре	Идентификатор MEROPS	Патология
Катепсин В	Цистеин	C01.060	Болезнь Альцгеймера, онкология, сердечно-сосудистые заболевания, фиброз печени, панкреатит
Катепсин С	Цистеин	C01.070	Онкология, воспалительные и аутоиммунные заболевания
Катепсин F	Цистеин	C01.018	Болезнь Альцгеймера, онкология
Катепсин Н	Цистеин	C01.040	Аневризма аорты, сахарный диабет I типа, близорукость, нарколепсия
Катепсин К	Цистеин	C01.036	Аневризма аорты, атеросклероз, онкология, хроническая обструктивная болезнь легких, фиброз легких, остеоартрит, остеопороз
Катепсин L	Цистеин	C01.032	Онкология, сердечно-сосудистые заболевания, хроническая болезнь почек, диабетическая нефропатия
Катепсин S	Цистеин	C01.034	Болезнь Альцгеймера, атеросклероз, онкология, хроническая обструктивная болезнь легких, хроническая болезнь почек, метаболический синдром
Катепсин W	Цистеин	C01.037	Гастрит, лейкемия

Катепсин X	Цистеин	C01.013	Нейродегенерация, <i>Helicobacter pylori</i>
Катепсин V	Цистеин	C01.009	Атеросклероз, онкология, гипергомоцистеинемия, миастения, серповидноклеточная анемия
Катепсин A	Серин	S10.002	Сердечно-сосудистые заболевания, галактосиалидоз, мышечная дистрофия
Катепсин G	Серин	S01.133	Аутоиммунные заболевания, муковисцидоз, хроническая обструктивная болезнь легких, ишемическая болезнь сердца, воспалительные заболевания кишечника, панкреатит, ревматоидный артрит
Катепсин D	Аспарат	A01.009	Острые и хронические заболевания почек, онкология, сердечно-сосудистые заболевания, хроническая обструктивная болезнь легких, нейродегенеративные заболевания
Катепсин E	Аспарат	A01.010	Хроническая обструктивная болезнь легких, нейропатии

Роль катепсинов в активации воспалительных молекул (интерлейкинов, хемокинов, фактора некроза опухоли- α), регуляции иммунной системы, содействии миграции клеток, контроле метаболизма холестерина, стимуляции образования новых сосудов, индукции апоптоза, передаче сигналов клеточным процессам и фиброзе тканей подчеркивает их значительное влияние на сердечно-сосудистые заболевания [99].

В последнее время встречается все больше данных, свидетельствующих о том, что цистеиновые катепсины играют важную роль в различных заболеваниях, связанных с атеросклерозом [178], но недостаточно данных о функциональной значимости этого семейства протеаз в патогенезе варикозного расширения вен [99].

Хи N. в своей статье продемонстрировал участие цистеиновых протеаз в патогенезе варикозного расширения вен [140]. Иммуногистохимическим методом были исследованы образцы варикозных и нормальных вен человека. Он описывал, что ремоделирование вен приводит к увеличению экспрессии катепсинов L, B и K и снижению цистатина C при варикозном расширении вен человека. Повышенная экспрессия и активность катепсинов обеспечивает протеолитический механизм ремоделирования вен. Он связан с активацией IL-1 и TNF- α , которые в свою очередь регулируют экспрессию катепсинов в случае варикозного расширения вен. Повышение протеолиза, связанного с воспалением, можно подтвердить повышением активности триптазы и химазы, а также обилием тучных клеток и CD3+T-клеток, которые являются важным источником катепсинов. Следовательно, активация катепсинов и их ингибиторов может способствовать процессу ремоделирования вен за счет эффективной деградации матрикса. Большое количество цистеинил-катепсинов обнаруживается в T-клетках при варикозном расширении вен. Благодаря своей эластинолитической и коллагенолитической активности протеазы могут опосредовать ремоделирование внеклеточного матрикса венозной стенки, инфильтрацию воспалительных клеток, перестройку и миграцию гладкомышечных клеток [140, 162].

Кроме того, некоторые авторы описывают взаимосвязь протеолиза с IL-13 и TGF- β . Они считают, что IL-13 является индуктором матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9) и катепсин-основанного протеолиза, в основном с участием группы сериновых катепсинов, которые в свою очередь активируют TGF- β [78].

Катепсин В (ЕС: 3.4.22.1) является цистеинпептидазой семейства папаиновых, которая экспрессируется во всех тканях. Катепсин В – белок 30 кДа, состоит из двух различных доменов. Они взаимодействуют между собой через расширенный полярный интерфейс, который в свою очередь открывает для субстрата V-образную расщелину активного сайта. Данная протеаза имеет шесть дисульфидных мостиков и два непарных остатка цистеина [90] (Рисунок 10).



Рисунок 10 – Структура катепсина В
(цит. по URL: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07858/entry>)

Катепсин В содержит участок, состоящий из 20 аминокислотных остатков – окклюзионная петля. Этот фрагмент блокирует доступ к активному центру и последовательно удаляет две аминокислоты [202]. При увеличении pH окклюзионная петля становится гибкой, в этом случае катепсин В функционирует как эндопептидаза [173]. При нейтральном или щелочном pH происходит необратимая потеря активности, приводящая к структурным изменениям катепсина В [60]. Экзопептидазную активность он имеет при кислом pH. При этом, делеция окклюзионной петли ведет к образованию катепсина В только с эндопептидазной активностью [204].

Катепсин В участвует в деградации неспецифических белков, которые из внеклеточного пространства попадают в лизосомальную систему через фагоцитоз или эндоцитоз [62]. Разрушение белков приводит к высвобождению пептидов и аминокислот, которые, проникая через лизосомальную мембрану, используются для поддержания клеточного гомеостаза и общей выживаемости [187].

Он участвует во многих физиологических процессах, таких как ремоделирование внеклеточного матрикса (заживление ран), апоптоз и активация

тироксина и ренина. Также катепсин В принимает участие во многих патологических процессах, таких как воспаление, паразитарная инфекция и онкологические заболевания [126]. Согласно последним данным, отмечается, что катепсин В принимает участие в различных сердечно-сосудистых патологических состояниях с повышением его активности: атеросклероз, инфаркт миокарда, гипертония, сердечная недостаточность и кардиомиопатия [89, 116, 159]. В частности, в артериальной интиме катепсин В участвует в разрушении внеклеточного матрикса, включая ламинин, фибронектин, эластин и коллаген IV типа [220].

Катепсины играют важную роль в атерогенезе и ремоделировании внеклеточного матрикса сосудов, разрушая его компоненты, такие как коллаген и эластин, и стимулируют апоптотические процессы. Некоторые катепсины, в том числе катепсин В, колокализуются с макрофагами в атеросклеротических поражениях [27].

Катепсин L (ЕС: 3.4.22.15) – это однодоменный мономерный белок 25 кДа, который экспрессируется повсеместно и первично локализуется в лизосомах. Он является цистеиновой протеазой, принадлежащей к семейству катепсинов, и играет ключевую роль в лизосомальном и аутофагическом протеолизе [151] (Рисунок 11).

Известно, что человеческий ген катепсина L кодирует два различных катепсина: катепсин L1 и катепсин V [106]. Он может функционировать как внутриклеточно, так и внеклеточно, участвуя в таких процессах как ремоделирование внеклеточного матрикса, деградация белка, апоптоз, аутофагия, иммунные реакции. Так же играет ведущую роль при многих заболеваниях: сердечно-сосудистой системы, воспалительных заболеваниях, диабете, фиброзе печени и легких, онкологии [189]. Имеются данные, что при атеросклерозе катепсин L инициирует гибель макрофагов, образование некротического ядра и развитие нестабильности атеросклеротических бляшек [95].



Рисунок 11 – Структура катепсина L
(цит. по URL: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07711/entry>)

Недавние исследования показали, что для фиброза характерны более низкие уровни экспрессии катепсина L в пораженных областях, это позволяет предположить, что он может обладать антифибротическими свойствами [183]. Кроме секреции во внеклеточном матриксе, катепсин L может локализоваться во внеклеточных везикулах [199]. Внеклеточные везикулы – мембраносвязанные частицы, высвобождаемые всеми клетками. Они являются инструментами межклеточных взаимосвязей посредством переноса нуклеиновых кислот и белков [210].

Катепсин Н (ЕС: 3.4.22.16) – одноцепочечный белок 28 кДа (зрелая форма) (Рисунок 12). Является цистеиновой протеазой, повсеместно распространенной в клетках и тканях [92]. При активации катепсин Н может действовать как аминопептидаза, которая участвует в расщеплении одного N-концевого остатка полипептидной цепи. Так же может проявлять себя как эндопептидаза, но с более низкой эффективностью [109]. После активации катепсина Н уже зрелый фермент действует как аминопептидаза, отщепляя один N-концевой остаток от полипептидной цепи [91].

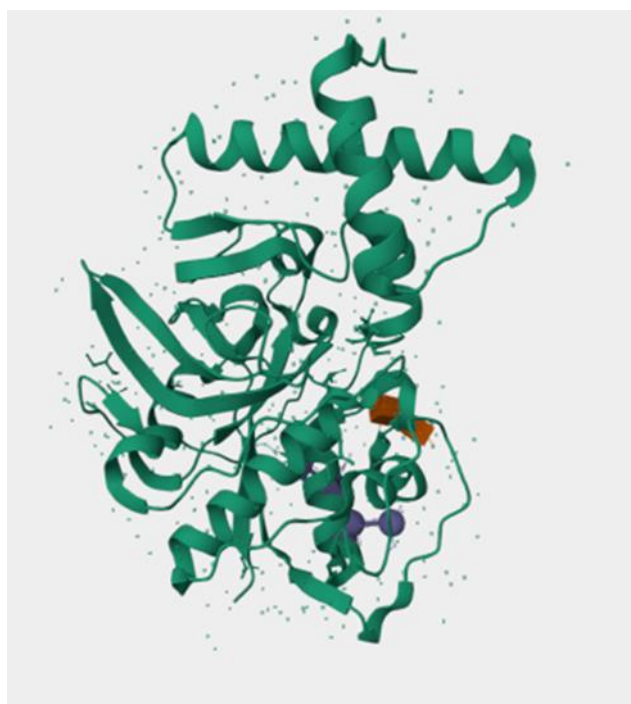


Рисунок 12 – Структура катепсина Н

(цит. по URL: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P09668/entry>)

Октапептид или «мини-цепь» отвечает за аминокатализирующую активность. Домен с активным центром связан с основным доменом дисульфидной связью. «Мини-цепь» расположена в «щели» активного центра с участием углеводных фрагментов [107]. Расположение, основанное на смещении остатков в расщелине активного центра «мини-цепи» и субстрата, позволяет катепсину Н проявлять экзопептидазную активность [108]. Рекombинантный катепсин Н проявляет эндопептидазную активность только при отсутствии «мини-цепи», подтверждая, что «мини-цепь» отвечает за аминокатализирующую активность фермента [46].

Катепсин Н принимает участие во внутриклеточной деградации белка. Экспрессия данной протеазы повышается при таких патологических состояниях, как рак предстательной железы, карцинома молочной железы, меланома [93]. Также свой вклад вносит при бактериальных, вирусных, паразитарных заболеваниях, нейродегенеративных расстройствах, участвует в патогенезе миопии высокой степени, атеросклероза, легочного альвеолярного протеиноза, опухолей, инфаркта миокарда, сахарного диабета 1 типа, нейровоспаления и атрофии мозга [93, 190] (Рисунок 13).

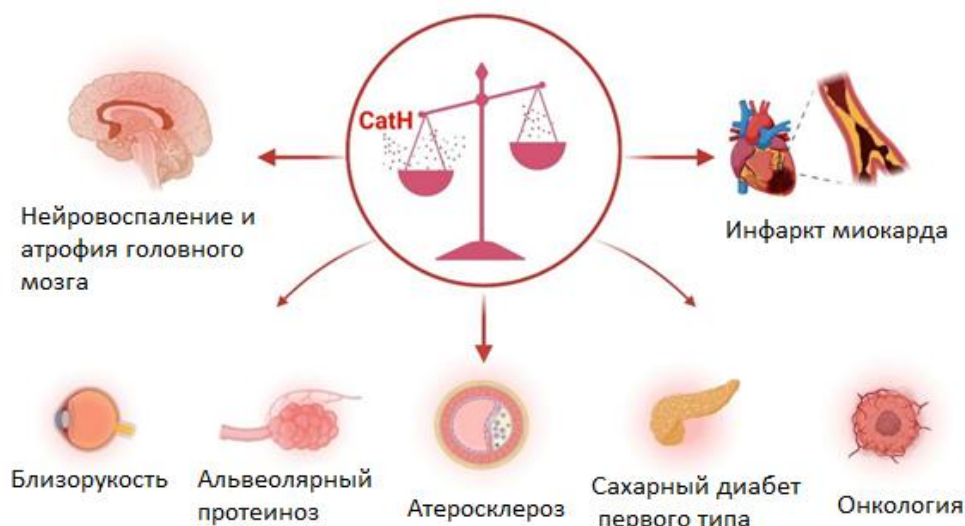


Рисунок 13 – Заболевания, связанные с катепсином Н
(цит. по: Wang Y., 2023) [93]

Таким образом, совместное участие лизосомальных протеиназ В, L и Н и специфических цитокинов IL-13 и TGF- β 1 в патогенезе воспалительно-фибротического процесса при варикозном расширении вен представляется весьма интересным и актуальным.

1.7. Окислительная модификация белков, как одно из звеньев сосудистой патологии

Окислительная модификация белков (ОМБ) – ковалентное преобразование белков, вызванное прямым воздействием активных форм кислорода (АФК) или активных форм азота (АФА) и косвенным взаимодействием с вторичными продуктами окислительного стресса [31]. Нарушается первичная, вторичная и третичная структура с дальнейшей потерей функциональной активности с агрегацией или фрагментацией белковой молекулы [176].

Для определения продуктов ОМБ обычно пользуются методом, описанным Дубининой Е.Е. [37], предусматривающим определение 2,4-динитрофенилгидразонов, образующихся при спонтанной и металл-катализируемой ОМБ, в плазме, сыворотке, клетках и тканях [7, 177].

Основными индукторами ОМБ, в первую очередь, являются активные формы кислорода (Рисунок 14), продукты перекисного окисления липидов и металлы переменной валентности [74].



Рисунок 14 – Типы активных форм кислорода
(цит. по: Renuka Ramalingam Manoharan1, 2024) [164]

Активные формы кислорода генерируются также при асептическом воспалении [56]. Факторами, играющими важную роль в отдельных типах стерильного воспаления, являются окислительно-восстановительные реакции, молекулы, ассоциированные с повреждением (DAMP – от англ.: damage associated molecular pattern), иммуностимулирующие белки теплового шока, а также ремоделирование сосудов [160]. АФК активируют провоспалительные факторы транскрипции: NFκB (от англ.: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) и AP-1, что усиливает экспрессию воспалительных цитокинов и хемокинов. При этом активированные эндотелиальные клетки привлекают моноциты, которые способствуют воспалению и сосудистому повреждению [188].

Также возможно, что в условиях окислительного стресса может наблюдаться окислительная модификация лизосомальных цистеиновых протеиназ. Цистеиновые гидролазы принадлежат к тиолсодержащим белкам клетки и содержат свободную SH-группу остатка цистеина. Вследствие окисления происходит блокировка SH-группы в активном центре, что может привести к потере каталитических свойств фермента [55] (Рисунок 15). Окислительная модификация белков делает их более восприимчивыми к протеолизу [38]. В свою очередь накопление окислительно модифицированных белков снижает работу

лизосомальных протеолитических ферментов, что ведет к окислительному стрессу и запуску антиоксидантной защиты [3].

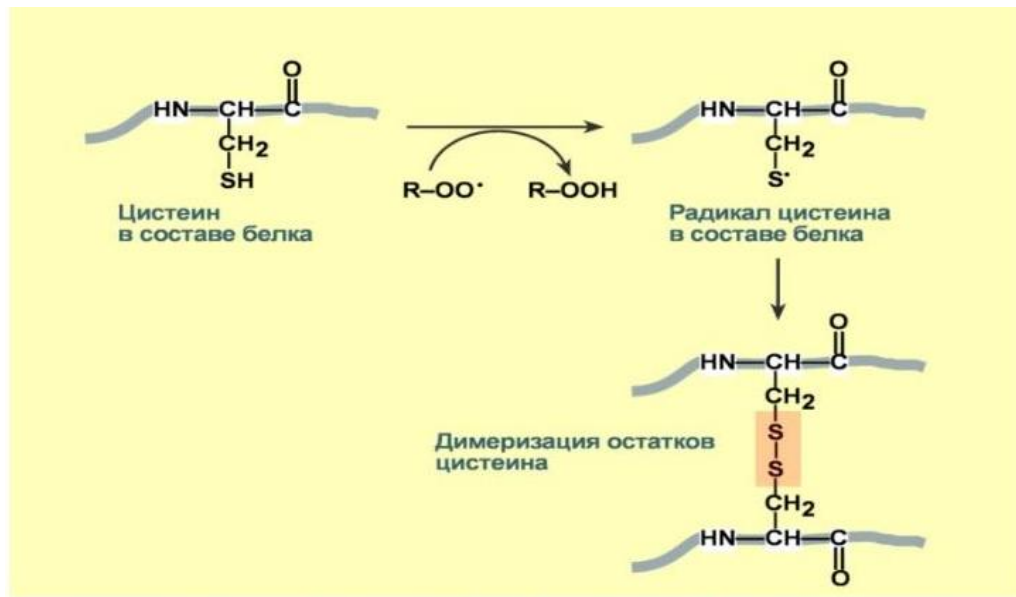


Рисунок 15 – Реакция окисления тиоловых групп [55]

Протеолиз является одним из путей выведения и удаления модифицированных белков, недостаточность которого приводит к их внутриклеточному и внеклеточному накоплению [11] (Рисунок 16).

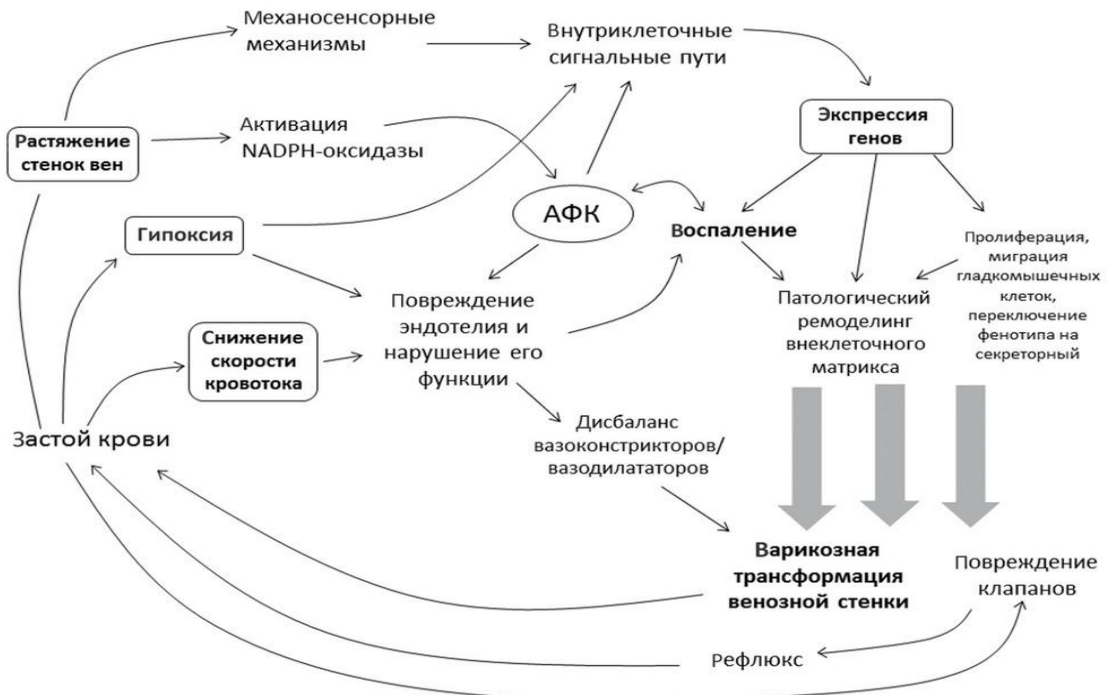


Рисунок 16 – Цикл патологических изменений при варикозной трансформации венозной стенки (цит. по: Шадрина А.С., 2017) [69]

1.8. Роль маркеров воспаления в ремоделировании сосудистой стенки

Одной из теорий патогенеза варикозного расширения вен нижних конечностей является наличие воспаления. Некоторые авторы утверждают, что воспаление имеет место при варикозной болезни [182, 205], другие, наоборот, отрицают этот факт [2].

Венозная патология может развиваться по порочному кругу асептического (стерильного) воспаления с образованием аномального венозного кровотока, с хронической венозной гипертензией и дилатацией с привлечением лейкоцитов. Это приводит к дальнейшему ремоделированию стенок и клапанов вен, повышению артериального давления и высвобождению провоспалительных медиаторов – хемокинов и цитокинов. При начальном воспалительном процессе проницаемость эндотелия увеличивается из-за активации эндотелиальных клеток. Активированный эндотелий запускает адгезию через клеточные молекулы адгезии: (E-селектин, P-селектин, L-селектин), молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1 – от англ. intercellular adhesion molecules), молекулы сосудистой адгезии (VCAM-1 – от англ. vascular adhesion molecules) и миграцию лейкоцитов через стенку вены, которые в свою очередь высвобождают TGF- β 1 и провоспалительные цитокины IL-1, IL-6, фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α). Все это приводит к стимуляции синтеза коллагена фибробластами, утолщению и ремоделированию сосудистой стенки [85, 127].

Исследование Solá Ldel R. также показало роль воспаления в физиопатологии хронического заболевания вен. Было сделано предположение, что венозную гипертензию и изменение макро- и микроциркуляции можно связать с помощью гипотезы «улавливания» лейкоцитов. Лейкоциты инфильтрируют венозную стенку и клапаны, мигрируя через эндотелий посткапиллярных венул, приводя тем самым к разрушению клапана и ремоделированию венозной стенки [211].

Также Tiwary и соавторы сделали вывод, что при варикозном расширении вен повышенный уровень воспалительного маркера, такого как C-реактивный

белок, является показателем повреждения эндотелия, а кровь, полученная из места варикозного расширения вены, имеет значительно повышенные концентрации провоспалительного цитокина IL-6, фибриногена и гемоглобина. Это исследование подтвердило, что у больных с варикозной болезнью активируются воспалительные процессы [34, 193].

Результаты исследования Ulka Sachdev, напротив, показывают, что кровь пациентов с хронической венозной недостаточностью демонстрирует более низкие уровни воспалительных медиаторов IL-6, фактора некроза опухоли- α (TNF- α), по сравнению с контрольной группой, что согласуется с гиповоспалением и с застойным поствоспалительным состоянием [195].

В статье Pfisterer L. и соавторов отмечалось, что до сих пор неизвестно может ли варикозное расширение вен сопровождаться воспалением венозной стенки. Накопление макрофагов наблюдалось как в здоровых, так и в варикозных венах, а провоспалительная адгезия была более выраженной на поздних стадиях развития варикозного расширения вен. Точно так же недавние публикации указывают на то, что воспаление не обязательно может быть связано с развитием варикозного расширения вен. Провоспалительные реакции могут быть следствием, а не причиной развития варикозного расширения вен [171].

Было высказано предположение, что венозная гипертензия и/или гипоксия стенки вызывают активацию эндотелия, молекул адгезии эндотелия и лейкоцитов, молекул межклеточной адгезии, что приводит к активации и миграции лейкоцитов [32, 58]. Данное высказывание и вышеупомянутые примеры могут свидетельствовать об участии воспалительных процессов в ремоделировании сосудистой стенки при варикозном расширении вен.

В развитии атеросклероза ключевую роль играет иммунное воспаление артерий. Баланс интерлейкинов, интерферонов, факторов некроза опухолей определяет степень поражения стенки сосудов [66]. Цитокиновый профиль также участвует в процессах ремоделирования сосудистой стенки с привлечением матриксных металлопротеиназ (MMP-1, MMP-3, MMP-9) [65].

При атеросклерозе происходит сдвиг в сторону активации Th1-лимфоцитов. Пролиферация Th17-клеток лежит в основе многих иммуновоспалительных заболеваний, включая атеросклероз [68].

Баланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами определяет течение воспаления, а нарушение баланса вызывает хроническое воспаление при атеросклерозе. В иммуновоспалительных реакциях участвуют разные цитокины, но ведущая роль у воспалительных цитокинов IL-1 и IL-6 [63].

Роль цитокинов IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, продуцируемых Th2-клетками, в атерогенезе до конца не выяснена. Экспериментальные модели атеросклероза на мышах демонстрируют антиатерогенное действие IL-5 и IL-13. Некоторые исследования указывают на то, что IL-4 может усиливать воспаление, индуцирует апоптоз эндотелиальных клеток и повышает экспрессию провоспалительных цитокинов [127].

Другие исследователи отмечают положительное влияние IL-4 и IL-13, которые стимулируют поляризацию макрофагов в сторону M2-фенотипа, способствующего регенерации тканей после ослабления воспалительного ответа [33].

Исследование *in vivo* показало, что IL-13 ограничивает миграцию макрофагов и стимулирует продукцию коллагена в очагах атеросклероза, а также благоприятно влияет на морфологию атеросклеротических поражений. Дефицит IL-13 у мышей приводил к ускоренному развитию атеросклероза. *In vitro* продемонстрировано, что макрофаги M2-фенотипа, активированные IL-13, обладают более высокой способностью к клиренсу окисленных ЛПНП по сравнению с макрофагами M1-фенотипа, активированными IFN- γ [66].

Необходимо найти роль для каждого из изучаемых показателей в патогенезе заболеваний, связанных с ремоделированием сосудов, так как встречается большое количество научных разрозненных исследований по каждому показателю в отдельности, но единого мнения о их влиянии на сосудистую стенку не установлено.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии со сформулированной целью и задачами был разработан следующий дизайн исследования (Рисунок 17).

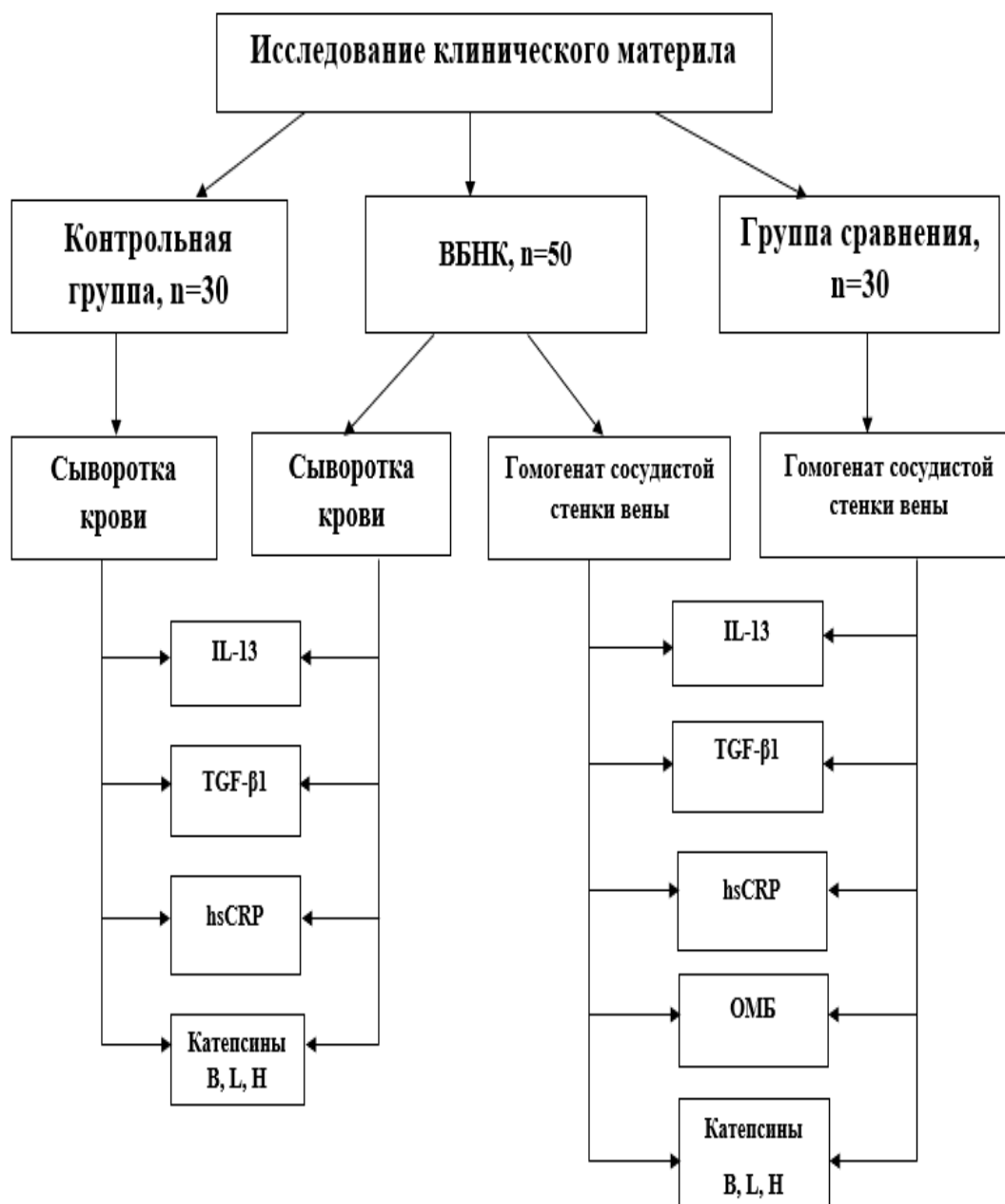


Рисунок 17 – Дизайн исследования

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

Базой проведения исследования стали междисциплинарный научно-образовательный лабораторный центр, кафедра биологической химии и кафедра сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

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. Все они проходили лечение в ГБУ РО «Больница скорой медицинской помощи» и в ГБУ РО «Областная клиническая больница» в 2023-2024 г. Доноры контрольной группы сдавали кровь в отделении переливания крови ГБУ РО «Областная клиническая больница».

Включение пациентов в исследование осуществлялось после их добровольного информированного согласия. В исследование вошли пациенты с подтвержденным диагнозом варикозная болезнь нижних конечностей.

Получения контрольного образца вены здорового человека не представляется возможным по ряду причин. Аутопсийный материал в качестве контроля брать невозможно из-за критического состояния, вследствие начавшихся некробиотических и апоптотических процессов, что ассоциировано с изменением биохимических показателей. Забор образца вены от того же пациента не представляется возможным вследствие того, что варикозная болезнь нижних конечностей не является локальным заболеванием. Это системное заболевание, связанное с синдромом дисплазии соединительной ткани, и отсутствие видимых изменений вены не является доказательством того, что она не затронута патологическим процессом. Забор участков здоровых вен у пациентов

противоречит этическим нормам, и ни один локально-этический комитет не даст одобрение на такого рода исследования. Вследствие этих причин, в качестве материала для сравнения было принято получать образцы при бедренно-подколенном шунтировании, в момент забора вены для венозного доступа или в качестве аутологичного материала при выполнении реконструктивных операций на артериях. Именно при таком вмешательстве представляется возможность взять вену для исследований.

Критериями невключения послужили: пороки развития венозной системы с обструктивным поражением глубоких вен, посттромботический синдром с вторично измененными поверхностными венами, также сопутствующие заболевания, для которых доказано участие лизосомальных цистеиновых протеиназ (сахарный диабет, артриты) и заболевания дыхательной системы, для которых доказано участие цитокинов, любые состояния, сопровождающиеся воспалением (инфекционные, аутоиммунные и онкологические заболевания, травмы). Пациенты и доноры во время нахождения в стационаре не принимали препараты, оказывающие влияние на показатели окислительного стресса и на показатели TGF- β 1, в том числе лозартан, для которого оно доказано; тралокинумаб и лебрикизумаб, для которых характерна блокировка IL-13 и нарушение передачи сигнала его рецепторам IL-13Ra1 и IL-13Ra2. Критерии исключения: летальный исход заболевания.

2.1. Характеристика пациентов, включенных в исследование

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 и (n=50); группа 3 – группа сравнения, источник образцов вен, пациенты с атеросклерозом нижних конечностей (n=30).

Средний возраст доноров составил: $42,5 \pm 4,2$. По полу доноры распределились следующим образом: 20 мужчин (66,7%), 10 женщин (33,3%).

Средний возраст пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей составил $54,4 \pm 10$. По полу пациенты распределились следующим образом: женщин – 32 (64%), мужчин – 18 (36%). 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). Всем пациентам было проведено УЗИ вен нижних конечностей, на котором отмечались следующие изменения: глубокие и поверхностные вены проходимы, компрессия полная, большая подкожная вена несостоятельна, проходима, расширение 10-15 мм.

Средний возраст доноров группы сравнения составил $64,1 \pm 9,2$. Распределение по полу: 27 мужчин (90%), 3 женщины (10%). Из них 5 (16,7%) пациентов I-IIb стадии хронической ишемии атеросклеротической этиологии по классификации А.В. Покровского-Фонтейна, проявляющейся перемежающейся хромотой и 25 (83,3%) пациентов III-IV стадии заболевания с хронической ишемией угрожающей потерей конечностей. Всем пациентам проводили аортоангиографию нижних конечностей, отмечалось наличие окклюзии и стеноза магистральных артерий нижних конечностей.

2.2. Получение материала для исследования

2.2.1. Получение гомогената сосудистой стенки у пациентов и доноров

Забор биологического материала у пациентов испытываемой группы с их информированного согласия производился во время проведения флебэктомии по поводу варикозного расширения вен, образцы ткани были выделены из варикозно трансформированных участков большой подкожной вены. У доноров

контрольной группы участки здоровых вен были взяты в процессе бедренно-подколенного шунтирования с использованием аутовены.

Для получения гомогената ткани извлеченные вены очищали от жировой ткани и взвешивали на электронных весах (Ohaus Adventurer, USA). Затем измельченную ткань сосуда помещали в холодный 0,25 М раствор сахарозы и гомогенизировали в течение 60 секунд при 1500 об/мин в гомогенизаторе «Potter S» (Sartorius, Германия) при температуре не выше 4⁰С. Полученный гомогенат центрифугировали 15 минут 1500 оборотов/минуту для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Супернатант обрабатывали раствором Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1% для разрушения субклеточных мембран и использовали в качестве материала для определения катепсинов [29]. Также образцы ткани гомогенизировали с добавлением лизис-буфера (pH=7,4) в стакане гомогенизатора «Potter S» (Sartorius, Германия). Центрифугировали гомогенат 15 минут 3000 оборотов/минуту на центрифуге Eppendorf 5702R, полученный супернатант использовали в качестве материала для исследований методом ИФА.

2.2.2. Получение сыворотки крови у пациентов и доноров

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 [29]. Образцы оставляли на 2 часа при комнатной температуре. Центрифугировали 20 минут при ускорении 1000g центрифуге Eppendorf 5702R, полученную сыворотку использовали в качестве материала для исследований.

2.3. Определение IL-13

Определение IL-13 проводили сэндвич-методом ИФА с помощью набора Cloud-Clone Corp. (каталожный номер SEA060Hu) (Китай). Этот набор

предназначен для количественного определения IL-13 как в сыворотке крови, так и в гомогенатах тканей человека.

Принцип метода. Определение IL-13 основано на сэндвич-методе ИФА. Микропланшет сорбирован антителами специфичными к IL-13. Стандарты или образцы добавляются в определенные лунки планшета с антителами, конъюгированными с биотином и специфичными к IL-13. Затем авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена, добавляется в каждую лунку планшета и проводится инкубация. После добавления ТМБ цвет изменяется только в лунках, содержащих IL-13, антитела с биотином и авидин с пероксидазой хрена. Ферментативная реакция прекращается добавлением раствора серной кислоты. Оптическая плотность измеряется фотометрическим методом на длине волны 450 нм. Концентрация IL-13 в образцах рассчитывается в соответствии с калибровочной кривой.

Ход определения. Определяли лунки, в которые будут вноситься разведенные стандарты, бланки и образцы (7 лунок для стандартов и 1 для бланка). В соответствующие лунки добавляли по 100 мкл разведенных стандартов, образцов и бланк. Заклеивали плёнкой и инкубировали 1 час при температуре 37°C. Жидкость из лунок удаляли без промывки. Далее добавляли по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента А в каждую лунку. Заклеивали плёнкой и инкубировали 1 час при температуре 37°C. Удаляли жидкость и промывали каждую лунку 350 мл промывающего раствора. После чего оставляли на 1-2 минуты. Полностью удаляли оставшуюся жидкость из всех лунок вытряхиванием на фильтровальную бумагу. Процедуру повторяли 3 раза. После последней промывки удаляли остатки жидкости вытряхиванием. Затем в каждую лунку добавляли по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента В. Заклеивали плёнкой и инкубировали 30 минут при температуре 37°C. После добавляли 90 мкл ТМБ в каждую лунку, заклеивали плёнкой и инкубировали 10 минут при температуре 37°C. Жидкость приобретала голубой цвет. После добавления 50 мкл Стоп-реагента в каждую лунку жидкость становилась желтой. Результаты считывали незамедлительно на иммуноферментном анализаторе

StatFax 2100 (microplatereader) (Awareness technology Inc. Palm City, FL 34990, USA) на длине волны 450 нм. Результаты выражали в пг/мл [23].

2.4. Определение TGF- β 1

Определение TGF- β 1 проводили сэндвич-методом ИФА с помощью набора Cloud-Clone Corp. (каталожный номер SEA124Hu) (Китай). Этот набор предназначен для количественного определения TGF- β 1 как в сыворотке крови, так и в гомогенатах тканей человека.

Принцип метода. Определение TGF- β 1 основано на сэндвич-методе ИФА. Микропланшет сорбирован антителами, конъюгированными с биотином и специфичными к TGF- β 1. Стандарты или образцы добавляются в определенные лунки планшета. Затем авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена добавляется в каждую лунку планшета и проводится инкубация. После добавления ТМБ цвет изменяется только в лунках, содержащих TGF- β 1, антитела с биотином и авидин с пероксидазой хрена. Ферментативная реакция прекращается добавлением раствора серной кислоты. Оптическая плотность измеряется фотометрическим методом на длине волны 450 нм. Концентрация TGF- β 1 в образцах рассчитывается в соответствии с калибровочной кривой.

Ход определения. Определяли лунки для внесения разведенных стандартов, бланка и образцов, 7 лунок для стандартов и 1 для бланка. В соответствующие лунки добавляли по 100 мкл разведенных стандартов, образцов и бланк. Заклеивали плёнкой и инкубировали 1 час при температуре 37°C. Удаляли жидкость из лунок без промывания. Затем добавляли в каждую лунку по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента А, заклеивали плёнкой и инкубировали 1 час при температуре 37°C. 4. Жидкость удаляли и каждую лунку промывали 350 мкл промывающего раствора и оставляли на 1-2 минуты. Удаляли оставшуюся жидкость из всех лунок вытряхиванием на фильтровальную бумагу (процедуру повторяли 3 раза). После последней промывки удаляли остатки жидкости вытряхиванием. В каждую лунку добавляли по 100 мкл рабочего

раствора детектирующего реагента В, заклеивали плёнкой и инкубировали 30 минут при температуре 37°C. Добавляли 90 мкл ТМБ в каждую лунку, заклеивали плёнкой и инкубировали 10 минут при температуре 37°C, избегая попадания света. Жидкость приобретала голубой цвет. После добавления 50 мкл Стоп-реагента в каждую лунку жидкость становилась желтой. Незамедлительно считывали результаты на иммуноферментном анализаторе StatFax 2100 (microplatereader) (Awareness technology Inc. Palm City, FL 34990, USA) на длине волны 450 нм. Результаты выражали в пг/мл [23].

2.5. Определение показателей протеолиза

2.5.1. Определение активности катепсинов В, L и Н

Определение активности катепсинов В, L и Н в гомогенатах сосудистой стенки вен и в сыворотке крови проводили спектрофлуориметрическим методом по Barrett и Kirschke [82], с измерением флюоресцирующего продукта реакции 7-амидо-4-метилкумарина, который образуется при расщеплении специфических флюорогенных субстратов: для катепсина В – Na-карбобензоксигенин-аргинин-7-амидо-4-метилкумарин (Na-CBZ-Arg-Arg-7-амидо-4-метилкумарин, «Sigma», USA); для катепсина L – Na-карбобензоксигенин-L-фенилаланил-аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (N-CBZ-Phe-Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, USA); для катепсина Н – аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (Arg-7-амидо-4-метилкумарин, «Sigma», USA).

Принцип метода. Количественное определение 7-амидо-4-метилкумарина в соответствующих катепсином субстратах, образующихся в результате энзиматического гидролиза пептидной связи.

Ход определения. К 0,1 мл исследуемого образца (гомогенат сосудистой стенки и сыворотка крови) добавляли 0,4 мл субстратно-буферного раствора, включающего в себя 20 мкл соответствующего субстрата, 8 мкл дитиотриетол и 2 мкл ЭДТА в буферном растворе с соответствующим значением рН, перед этим

раствор инкубировали в течение 2-х минут при 37°C. Полученную реакционную смесь инкубировали в течение часа при 37°C, после чего реакцию останавливали добавлением 2,0 мл раствора холодного 0,1М ацетатного буфера с рН 4,0. Контрольная проба включала те же компоненты без исследуемого материала с изучаемым ферментом, который вносился в конце инкубации непосредственно после добавления ацетатного буфера рН 4,0. Активность катепсинов определяли на спектрофлуориметре Shimadzu RF6000 производства «Shimadzu Corporation» (Япония), при $\lambda=360$ нм (возбуждение) и $\lambda=440$ нм (эмиссия). Активность ферментов выражали в нмоль 7-амидо-4-метилкумарина/г белка для гомогената сосудистой стенки и в нмоль 7-амидо-4-метилкумарина/ч×л для сыворотки крови [23].

2.5.2. Оценка уровня спонтанной окислительной модификации белков

Оценка интенсивности окислительной модификации белков в гомогенатах сосудистой стенки вен проводилась по методу R.L. Levine в модификации Дубининой Е.Е. [35].

Принцип метода. Оценка степени окислительной модификации белков (ОМБ) базируется на химической реакции между карбонильными и иминогруппами, присутствующими в окисленных аминокислотных остатках, и 2,4-динитрофенилгидразином. В результате этой реакции образуются 2,4-динитрофенилгидразоны, которые обладают характерным поглощением света в ультрафиолетовой и видимой частях спектра.

Ход определения. К 0,1 мл гомогената сосудистой стенки добавляли 1 мл 20% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) для осаждения белков. В контрольные образцы вносили 1 мл 2М раствора соляной кислоты (HCl), а в опытные – 1 мл 0,01М раствора 2,4-динитрофенилгидразина (ДНФГ) в 2М растворе HCl. Пробирки выдерживали в темноте в течение 60 минут. Затем образцы подвергали центрифугированию в течение 15 минут при 3000 оборотах в минуту. Надосадочную жидкость удаляли. Полученные осадки трижды

промывали смесью 96% этилового спирта и этилацетата в соотношении 1:1 для удаления остатков ДНФГ. После высушивания осадки растворяли в 8М растворе мочевины. Измерение оптической плотности образовавшихся динитрофенилгидразонов проводили с помощью спектрофотометра «СФ-2000». Содержание ОМБ в гомогенатах сосудистой стенки вен выражали в единицах оптической плотности на грамм белка [23].

2.5.3. Оценка уровня металл-катализируемой окислительной модификации белка

Оценка интенсивности окислительной модификации белков в гомогенатах сосудистой стенки вен проводилась по методике R.L. Levine, адаптированной Дубининой Е.Е. Окислительные процессы инициировались с помощью реакции Фентона: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}\cdot + \text{OH}^-$

Принцип метода. Для усиления образования карбонильных производных белков в реакционную смесь добавляли ионы металла (Fe^{2+}). Затем оценивали количество образовавшихся карбонильных производных, возникших под действием реактива Фентона, путем измерения поглощения света на 12 различных длинах волн (230, 254, 270, 280, 356, 363, 370, 428, 430, 434, 520, 535 нм).

Ход определения. Для определения металл-катализируемой окислительной модификации белков в пробирки добавляли 0,1 мл 4 мМ раствора сульфата железа (FeSO_4), 0,1 мл 1 мМ раствора ЭДТА и 0,1 мл 3% раствора перекиси водорода (H_2O_2). Пробирки выдерживали в темноте в течение 60 минут. Затем образцы центрифугировали 15 минут при 3000 оборотах в минуту, надосадочную жидкость сливали. Полученные осадки трижды промывали смесью 96% этилового спирта и этилацетата в соотношении 1:1 для удаления остатков ДНФГ. После высушивания осадки растворяли в 8М растворе мочевины. Измерения оптической плотности образовавшихся динитрофенилгидразонов проводили на спектрофотометре «СФ-2000». Содержание ОМБ в гомогенатах сосудистой стенки вен выражали в единицах оптической плотности на грамм белка [23].

2.5.4. Оценка резервно-адаптационного потенциала

Резервно-адаптационный потенциал (РАП) – это разница между спонтанной ОМБ и металл-катализируемой; при этом уровень индуцированной принимается за 100% (является расчетным показателем). Чем больше разница между спонтанной и индуцированной по реакции Фентона ОМБ, тем выше адаптация к окислительному стрессу [23].

2.6. Определение содержания белка по методу Лоури в гомогенатах сосудистой стенки

Для количественного определения белка в гомогенатах сосудистой стенки был применен метод Лоури, с использованием коммерческого набора «Эко-сервис» (Россия).

Принцип метода. Метод Лоури – колориметрический метод количественного определения белков в растворе. В основе метода лежит взаимодействие ароматических аминокислотных остатков в белках с реактивом Фолина-Чокальтеу, что происходит в комбинации с биуретовой реакцией, нацеленной на пептидные связи. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации белка в исследуемой пробе. Измерения осуществлялись на спектрофотометре «ПЭ-5300ви» при фиксированной длине волны 750 нм. Оптический путь кюветы составлял 10 мм, а температурный диапазон поддерживался в пределах 18-25°C.

Ход определения. Непосредственно перед проведением анализа подготавливали рабочий раствор, смешивая 2% раствор карбоната натрия в 0,1М растворе гидроксида натрия с 0,5% раствором сульфата меди в 1% растворе цитрата натрия. К 0,4 мл опытной пробы добавляли 2 мл подготовленного рабочего раствора, перемешивали и инкубировали 10 минут при комнатной температуре. Затем в реакционную смесь добавляли 0,2 мл реактива Фолина-Чокальтеу, инкубировали 20 минут при комнатной температуре и измеряли

оптическую плотность опытной пробы относительно холостой при длине волны 750 нм. Расчёт содержания белка в образце проводили по калибровочному графику. Результаты выражали в г/л [29].

2.7. Определение высокочувствительного CRP

Определение высокочувствительного С-реактивного белка (hsCRP) проводили сэндвич-методом ИФА с помощью набора Cloud-Clone Corp. (каталожный номер HEA821Hu) (Китай). Этот набор предназначен для количественного определения CRP как в сыворотке крови, так и в гомогенатах тканей человека.

Принцип метода. Определение hsCRP основано на сэндвич-методе ИФА. Микропланшет сорбирован антителами, специфичными к hsCRP. Стандарты или образцы добавляются в лунки с антителами, конъюгированными с биотином и специфичными к hsCRP. В каждую лунку добавляется авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена и проводится инкубация. После добавления ТМБ в лунках, содержащих hsCRP, антитела с биотином и авидин с пероксидазой хрена цвет изменяется. После добавления раствора серной кислоты ферментативная реакция прекращается. Оптическая плотность измеряется фотометрическим методом на длине волны 450 нм. Концентрация hsCRP в образцах рассчитывается в соответствии со стандартной кривой.

Ход определения. Определяли лунки для разведенных стандартов, бланка и образцов (7 лунок для стандартов и 1 для бланка). В соответствующие лунки добавляли по 100 мкл разведенных стандартов, образцов и бланк. Заклеивали плёнкой и инкубировали 1 час при температуре 37°C. После чего удаляли жидкость из лунок без промывания. В каждую лунку добавляли по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента А и инкубировали 1 час при температуре 37°C. 4. Жидкость удаляли и лунки промывали 350 мкл промывающего раствора, оставляли на 1-2 минуты. Оставшуюся жидкость полностью удаляли из всех лунок вытряхиванием на фильтровальную бумагу,

повторяя процедуру 3 раза. После последней промывки удаляли остатки жидкости вытряхиванием. Добавляли по 100 мкл рабочего раствора детектирующего реагента В в каждую лунку, заклеивали плёнкой и инкубировали 30 минут при температуре 37°C. Затем в каждую лунку добавляли 90 мкл ТМБ, заклеивали плёнкой и инкубировали 10 минут при температуре 37°C, жидкость приобретала голубой цвет. После добавления 50 мкл Стоп-реагента в каждую лунку жидкость становилась желтой. Результаты считывали незамедлительно на иммуноферментном анализаторе StatFax 2100 (microplatereader) (Awareness technology Inc. Palm City, FL 34990, USA) на длине волны 450 нм. Результаты выражали в пг/мл [23].

2.8. Методы статистической обработки полученных результатов

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 , Q_1 - Q_3), 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 $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Результаты лабораторных обследований пациентов с сосудистой патологией

В начале исследования был проведен анализ лабораторных данных обследований пациентов с сосудистой патологией: общий анализ крови (Таблица 3), биохимический анализ крови (Таблица 4), целью которого была объективная оценка состояния органов и систем, выявление патологических нарушений, чтобы исключить их влияние на результаты нашего исследования. В частности, исключить анемию у испытуемых, так как препараты и методы терапии анемии могут повлиять на показатели уровня окислительной модификации белков.

Таблица 3 – Общий анализ крови пациентов с сосудистой патологией

Показатель	Норма	Группа сравнения	ХЗВ С1-С2	ХЗВ С3-С4	ХЗВ С5-С6
Гемоглобин, г/л	110–160	125,7±9,7	142±7,1	147,6±6,3	133,1±3,7
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	3,5–5,6	3,67±0,34	4,74±0,3	4,83±0,56	3,93±0,78
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	165–320	238,5±55,3	213±41	269±35,2	257±59,3
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	3,5–9,1	8,04±2,62	6,3±1,76	8,1±1,02	5,41±2,22
Моноциты, %	4–8	7,05±1,95	5,1±0,87	5,3±1,12	7,3±0,89
Лимфоциты, %	20–50	23±3,67	37±3,02	24±6,9	31±7,87
Нейтрофилы, %	35–55	47±2,95	51±5,89	47±7,65	52±3,56
СОЭ, мм/ч	0–12	7±5,62	8±4,12	8,7±3,2	7,08±3,78

Таблица 4 – Биохимический анализ крови пациентов с сосудистой патологией

Показатель	Норма	Группа сравнения	ХЗВ С1-С2	ХЗВ С3-С4	ХЗВ С5-С6
АЛТ, Ед/л	≤41	20,61±9,46	18,7±6,98	14,5±11,7	11,8±7,9
АСТ, Ед/л	≤38	23,54±6,59	14,3±6,78	16,7±5,56	13,4±7,87
Креатинин, мкмоль/л	≤106	87±23,83	79±28,76	72,9±18,6	42±12,46
Холестерин, ммоль/л	≤5,0	3,7±2,56	3,12±1,67	4,05±0,98	3,9±2,03
Общий билирубин, мкмоль/л	≤22	11,5±4,45	12,7±4,56	12,1±7,23	16,7±4,56
Мочевина, ммоль/л	2,5–7,1	3,7±3,3	3,9±1,54	5,06±2,12	2,1±3,34
Глюкоза, ммоль/л	4,2–6,1	5,86±2,07	5,9±1,03	5,2±2,01	4,5±1,37
Общий белок, г/л	67–86	63,6±6,9	82±4,76	73,5±5,34	76±7,32

Результаты общего анализа крови и биохимического анализа крови пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей и пациентов группы сравнения с атеросклерозом нижних конечностей были в пределах референтных значений исследуемых показателей. Статистически значимых различий между показателями выявлено не было.

3.2. Изменение концентрации интерлейкина-13 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией

На первом этапе исследования мы оценивали концентрацию интерлейкина-13 в гомогенате сосудистой стенки вены у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей разных клинических классов ХЗВ по классификации CEAP и у пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей. Также концентрация

данного цитокина определялась в сыворотке крови у пациентов с варикозным расширением и у клинически здоровых доноров.

При обработке полученных данных было получено, что уровень интерлейкина-13 в гомогенатах варикозно расширенных вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 (Me=14,56 [Q25=6,04; Q75=25,11] пг/мл) ниже по сравнению с гомогенатом вен пациентов группы сравнения (Me=33,43 [Q25=19,87; Q75=39,65] пг/мл) ($p=0,03$). Также статистически значимо выше был уровень интерлейкина-13 у пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6 (Me=35,36 [Q25=33,19; Q75=48,10] пг/мл) по сравнению с клиническим классом С3-С4 ($p=0,04$). С остальными клиническими классами статистически значимых различий выявлено не было (Рисунок 18).

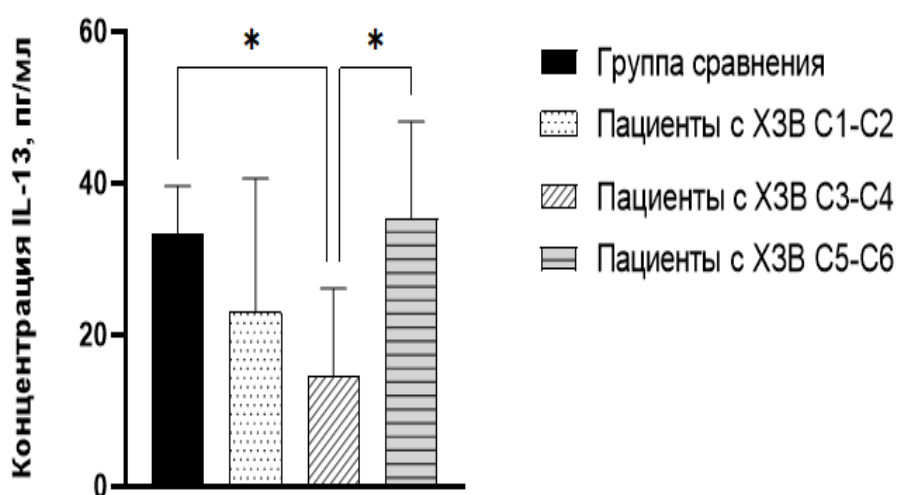


Рисунок 18 – Концентрация IL-13 в гомогенате сосудистой стенки пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, пг/мл
Примечание – * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$)

При оценке уровня концентрации 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 (Me=7,81 [Q25=4,96; Q75=11,29] пг/мл) ($p=0,002$) и С5-С6 (Me=7,86 [Q25=3,80; Q75=9,31] пг/мл) ($p=0,04$) классами ХЗВ по сравнению с группой контроля (Me=13,08 [Q25=8,44; Q75=18,89] пг/мл) (Рисунок 19).

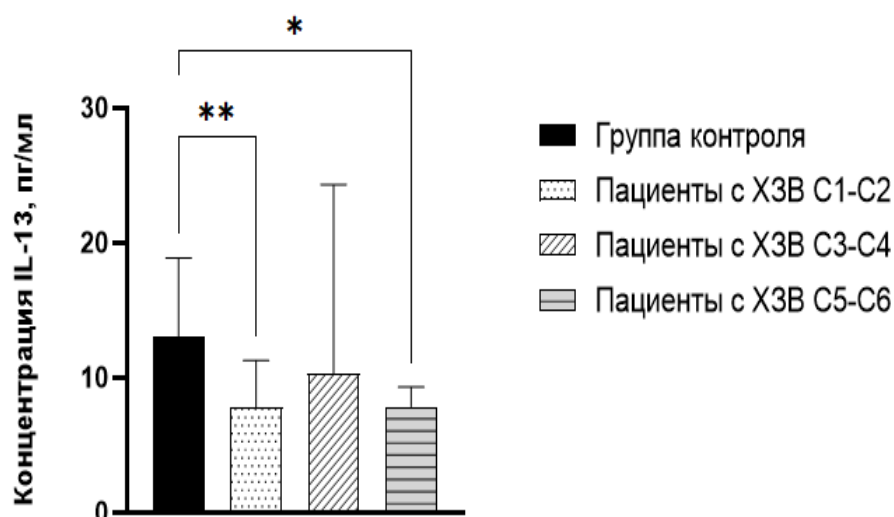


Рисунок 19 – Концентрация IL-13 в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе контроля, пг/мл

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

Также нами был проведен корреляционный анализ между концентрацией IL-13 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови при клинических классах ХЗВ С1-С6 по классификации СЕАР (Таблица 5).

Таблица 5 – Корреляционные взаимосвязи между концентрацией IL-13 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов с разными клиническими классами ХЗВ по международной классификации СЕАР

IL-13	Корреляция
ХЗВ С1-С2 (гомогенат)	$r=0,25$ ($p>0,05$)
ХЗВ С1-С2 (сыворотка)	
ХЗВ С3-С4 (гомогенат)	$r=0,27$ ($p>0,05$)
ХЗВ С3-С4 (сыворотка)	
ХЗВ С5-С6 (гомогенат)	$r=0,51$ ($p<0,05$)
ХЗВ С5-С6 (сыворотка)	

У пациентов при классе ХЗВ С5-С6 по классификации СЕАР была выявлена средняя положительная корреляционная взаимосвязь между показателями IL-13 в гомогенате вены и сыворотке крови ($r=0,51$).

3.3. Изменение концентрации TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией

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 (Me=43,68 [Q25=29,69; Q75=58,39] пг/мл) относительно группы сравнения (Me=26,52 [Q25=16,84; Q75=39,31] пг/мл) ($p=0,03$). 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 (Me=27,63 [Q25=16,55; Q75=32,97] пг/мл) ($p=0,03$). С остальными стадиями статистически значимых изменений выявлено не было (Рисунок 20).

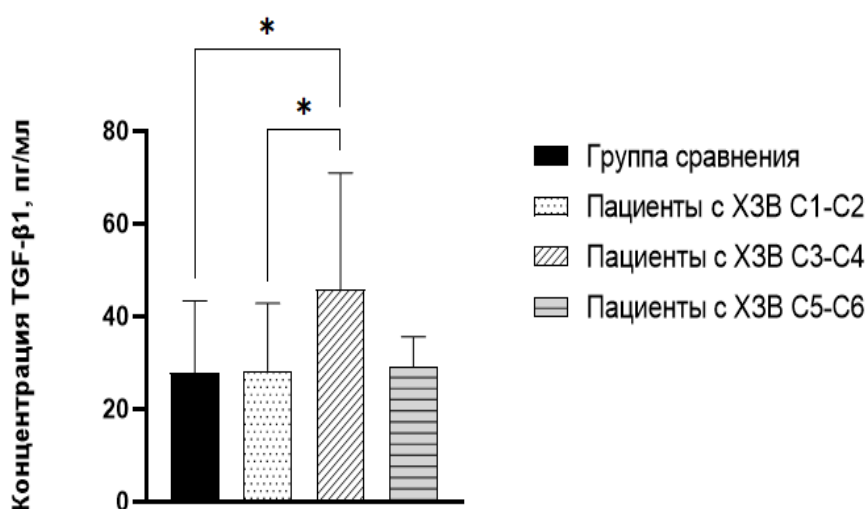


Рисунок 20 – Концентрация TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, пг/мл
Примечание – * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$)

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 (Me=235,1 [Q25=215,8; Q75=259,7] пг/мл) ($p=0,01$) и ХЗВ С5-С6 (Me=216,2 [Q25=130,0; Q75=219,7] пг/мл) ($p=0,007$) по сравнению с группой контроля (Me=278,3 [Q25=248,9; Q75=296,5] пг/мл)

(Рисунок 21). При межгрупповом анализе статистически значимых различий не выявлено.

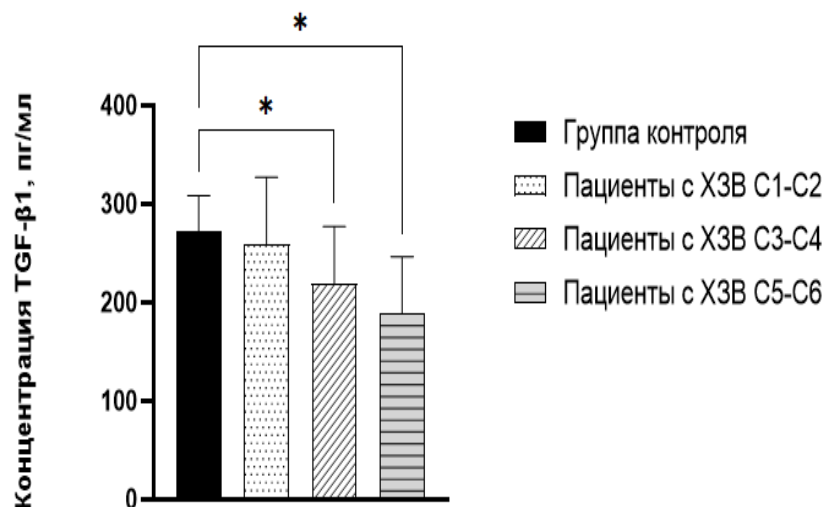


Рисунок 21 – Концентрация TGF-β1 в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе контроля, пг/мл

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

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

Далее нами был проведен корреляционный анализ концентраций TGF-β1 в гомогенате венозной стенки и в сыворотке крови при разных клинических классах хронического заболевания вен по классификации CEAP (Таблица 6).

Таблица 6 – Корреляционные взаимосвязи между концентрацией TGF-β1 в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови на разных клинических классах хронического заболевания вен по международной классификации CEAP

TGF-β1	Корреляция
ХЗВ С1-С2 (гомогенат)	$r = -0,38$ ($p < 0,05$)
ХЗВ С1-С2 (сыворотка)	
ХЗВ С3-С4 (гомогенат)	$r = 0,20$ ($p > 0,05$)
ХЗВ С3-С4 (сыворотка)	
ХЗВ С5-С6 (гомогенат)	$r = 0,32$ ($p < 0,05$)
ХЗВ С5-С6 (сыворотка)	

Были выявлены умеренная отрицательная корреляционная взаимосвязь $r = -0,38$ ($p < 0,05$) и умеренная положительная корреляционная взаимосвязь $r = 0,32$ ($p < 0,05$) между концентрацией TGF-β1 в гомогенате стенки вен и в сыворотке

крови у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей при клинических классах ХЗВ С1-С2 и С5-С6 соответственно.

3.4. Изменение активности катепсинов В, L и Н в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией

Для оценки состояния лизосомального цистеинового протеолиза мы определяли активность цистеиновых катепсинов В, L и Н в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови.

При оценке активности катепсинов В в гомогенате сосудистой стенки статистически значимое снижение отмечено у пациентов с клиническими классами ХЗВ С3-С4 (Me=612,1 [Q25=438,1; Q75=751,7] нмоль/чхг белка) ($p=0,009$) относительно группы сравнения больных атеросклерозом нижних конечностей (Me=846,2 [Q25=716,2; Q75=1009] нмоль/чхг белка) (Рисунок 22).

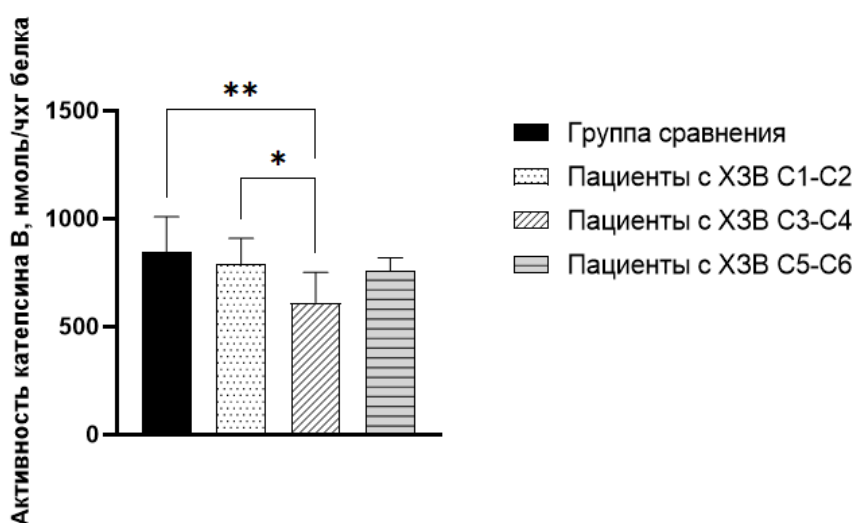


Рисунок 22 – Активность катепсина В в гомогенате сосудистой стенки пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, нмоль/чхг белка

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

При оценке активности катепсина В в сыворотке крови было выявлено повышение показателей с клиническим классом ХЗВ С1-С2 (Me=14673 [Q25=8831; Q75=18257] нмоль/л) ($p=0,02$) и С3-С4 (Me=18321 [Q25=13761;

Q75=43756] нмоль/л) ($p=0,01$) по сравнению с группой клинически здоровых доноров (Me=9135 [Q25=8794; Q75=10351] нмоль/л). Межгрупповые различия отмечены между классами ХЗВ С3-С4 и С5-С6 со статистически значимым снижением у ХЗВ С5-С6 (Me=8740 [Q25=8476; Q75=9704] нмоль/л) ($p=0,02$) (Рисунок 23).

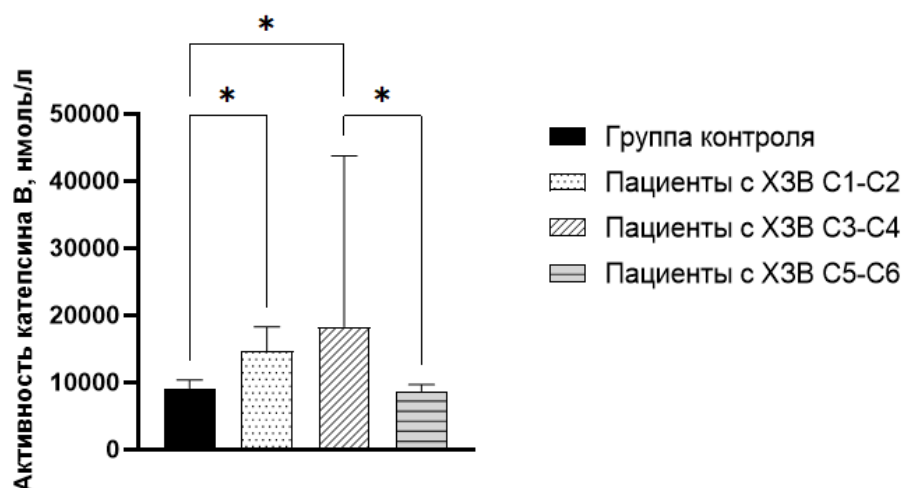


Рисунок 23 – Активность катепсина В в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе контроля, нмоль/л
Примечание – * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$)

Мы провели корреляционный анализ активности катепсина В в гомогенате венозной стенки и в сыворотке крови с разными клиническими классами ХЗВ по классификации СЕАР (Таблица 7).

Таблица 7 – Корреляционные взаимосвязи между активностью катепсина В в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови на разных клинических классах хронического заболевания вен по международной классификации СЕАР

Катепсин В	Корреляция
ХЗВ С1-С2 (гомогенат)	$r=0,36$ ($p<0,05$)
ХЗВ С1-С2 (сыворотка)	
ХЗВ С3-С4 (гомогенат)	$r=-0,59$ ($p<0,05$)
ХЗВ С3-С4 (сыворотка)	
ХЗВ С5-С6 (гомогенат)	$r=0,17$ ($p>0,05$)
ХЗВ С5-С6 (сыворотка)	

Была выявлена умеренная положительная корреляционная взаимосвязь $r=0,36$ ($p<0,05$) между активностью катепсина В в гомогенате стенки вен и в

сыворотке крови у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей с клиническим классом ХЗВ С1-С2 и средняя отрицательная корреляционная взаимосвязь $r=-0,59$ ($p<0,05$) при классе ХЗВ С3-С4.

При определении активности катепсина L в гомогенате вен было выявлено статистически значимое снижение показателей у пациентов с клиническими классами ХЗВ С1-С2 (Me=1431 [Q25=1003; Q75=1672] нмоль/чхг белка) ($p=0,007$), ХЗВ С3-С4 (Me=1185 [Q25=990,3; Q75=1577] нмоль/чхг белка) ($p=0,05$), ХЗВ С5-С6 (Me=1122 [Q25=1057; Q75=1202] нмоль/чхг белка) ($p=0,04$) по сравнению с венами больных атеросклерозом нижних конечностей (Me=1881 [Q25=1369; Q75=2440] нмоль/чхг белка). Межгрупповых различий не обнаружено (Рисунок 24).

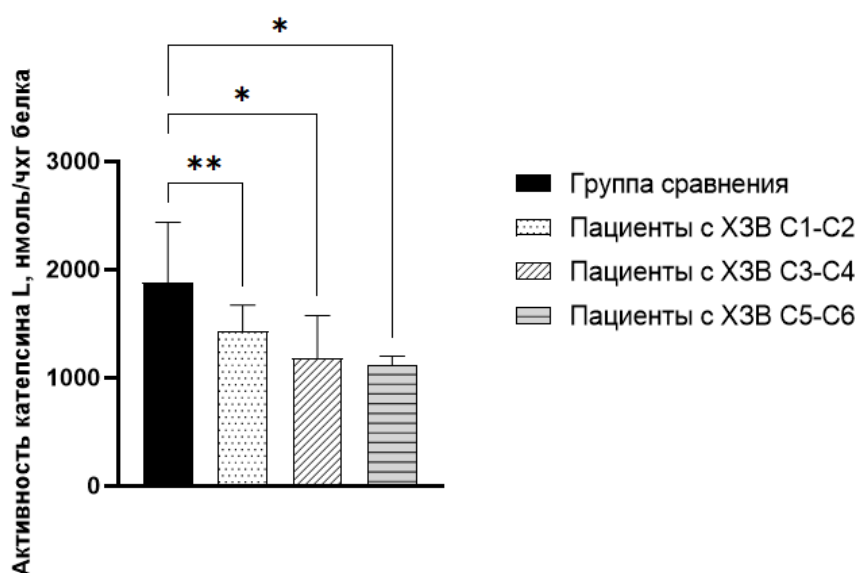


Рисунок 24 – Активность катепсина L в гомогенате сосудистой стенки пациентов пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, нмоль/чхг белка

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

В сыворотке крови активность катепсина L статистически значимо повышается по сравнению с контрольной группой (Me=8287 [Q25=7179; Q75=10970] нмоль/л) при клинических классах ХЗВ С1-С2 (Me=16409 [Q25=6386; Q75=26902] нмоль/л) ($p=0,02$) и ХЗВ С3-С4 (Me=16370 [Q25=9598; Q75=50994] нмоль/л) ($p=0,03$) по международной классификации CEAP. Межгрупповых

различий между пациентами с варикозным расширением вен нижних конечностей выявлено не было (Рисунок 25).

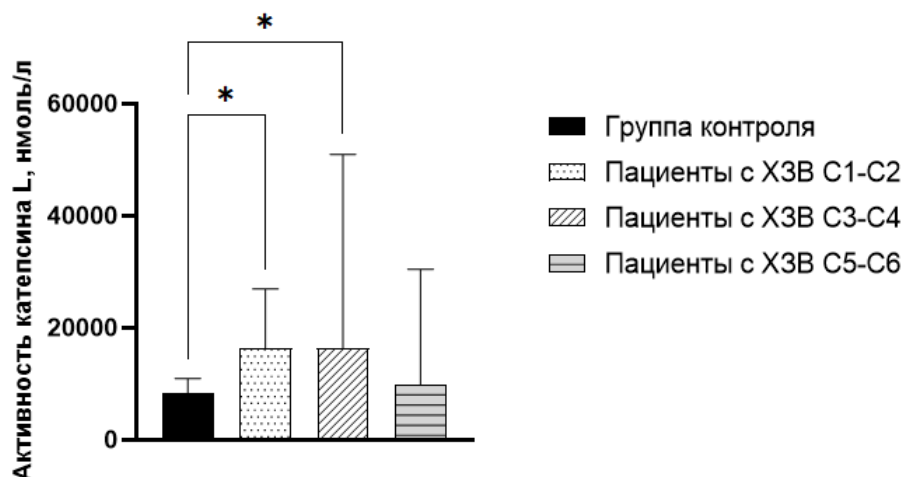


Рисунок 25 – Активность катепсина L в сыворотке крови пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе контроля, нмоль/л
Примечание – * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$)

Статистически значимые корреляционные взаимосвязи между активностью катепсина L в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке были выявлены при клинических классах ХЗВ С3-С4 и С5-С6 по классификации СЕАР (Таблица 8).

Таблица 8 – Корреляционные взаимосвязи между активностью катепсина L в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови на разных клинических классах хронического заболевания вен по международной классификации СЕАР

Катепсин L	Корреляция
ХЗВ С1-С2 (гомогенат)	$r = -0,05$ ($p > 0,05$)
ХЗВ С1-С2 (сыворотка)	
ХЗВ С3-С4 (гомогенат)	$r = 0,43$ ($p < 0,05$)
ХЗВ С3-С4 (сыворотка)	
ХЗВ С5-С6 (гомогенат)	$r = 0,71$ ($p < 0,05$)
ХЗВ С5-С6 (сыворотка)	

При клиническом классе ХЗВ С3-С4 присутствует умеренная положительная ($r = 0,43$), а при ХЗВ С5-С6 сильная положительная ($r = 0,71$) корреляционная взаимосвязь между показателями в гомогенате вены и в сыворотке крови.

При обработке данных по активности катепсина Н в гомогенате варикозно расширенных вен было выявлено статистически значимое повышение при клиническом классе ХЗВ С5-С6 (Me=5387 [Q25=4470; Q75=6690] нмоль/чхг белка) ($p=0,04$) по сравнению с визуально здоровыми венами, взятыми при бедренно-подколенном шунтировании (Me=3771 [Q25=3001; Q75=4744] нмоль/чхг белка). При межгрупповом анализе так же отмечается повышение активности катепсина Н при клиническом классе ХЗВ С5-С6 относительно ХЗВ С1-С2 (Me=3826 [Q25=3202; Q75=4675] нмоль/чхг белка) ($p=0,04$) и ХЗВ С3-С4 (Me=3594 [Q25=3225; Q75=3983] нмоль/чхг белка) ($p=0,03$) (Рисунок 26).

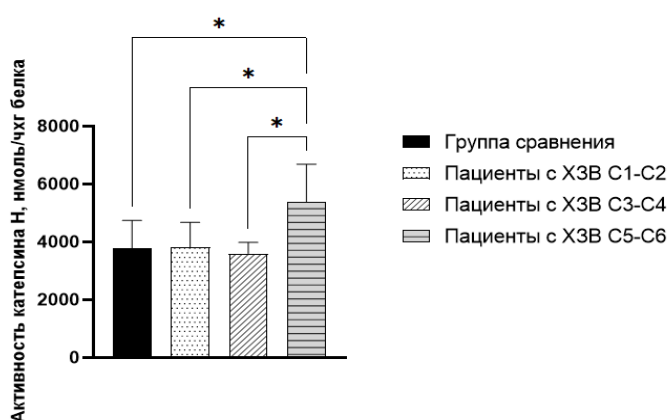


Рисунок 26 – Активность катепсина Н в гомогенате сосудистой стенки пациентов пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, нмоль/чхг белка

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

При анализе активности катепсина Н в сыворотке крови (Рисунок 27) отмечается похожая тенденция как у протеаз, описанных выше.

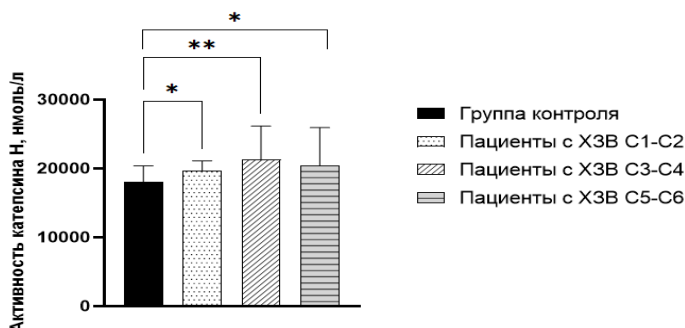


Рисунок 27 – Активность катепсина Н в сыворотке крови пациентов пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе контроля, нмоль/л

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

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

Повышение активности происходит при клинических классах ХЗВ С1-С2 (Ме=19637 [Q25=18571; Q75=21108] нмоль/л) ($p=0,04$), ХЗВ С3-С4 (Ме=21260 [Q25=20291; Q75=26160] нмоль/л) ($p=0,001$), ХЗВ С5-С6 (Ме=20470 [Q25=17758; Q75=25941] нмоль/л) ($p=0,04$) по сравнению со здоровыми донорами сыворотки крови (Ме=18082 [Q25=15736; Q75=20393] нмоль/л).

Между активностью катепсина Н в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови при разных клинических классах ХЗВ по международной классификации СЕАР были выявлены статистически значимые корреляционные взаимосвязи (Таблица 9).

Таблица 9 – Корреляционные взаимосвязи между активностью катепсина Н в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови на разных клинических классах хронического заболевания вен по международной классификации СЕАР

Катепсин Н	Корреляция
ХЗВ С1-С2 (гомогенат)	r=0,18 ($p>0,05$)
ХЗВ С1-С2 (сыворотка)	
ХЗВ С3-С4 (гомогенат)	r=0,44 ($p<0,05$)
ХЗВ С3-С4 (сыворотка)	
ХЗВ С5-С6 (гомогенат)	r=-0,52 ($p<0,05$)
ХЗВ С5-С6 (сыворотка)	

При клинических классах ХЗВ С3-С4 и ХЗВ С5-С6 присутствует умеренная положительная ($r=0,44$) и средняя отрицательная ($r=-0,52$) корреляционная взаимосвязь между показателями в гомогенате вены и в сыворотке крови.

По полученным результатам можно сделать вывод, что активность катепсинов В и L в гомогенате вен от пациентов с атеросклерозом выше, чем активность данных катепсинов при варикозном поражении вен, а активность катепсина Н напротив повышена при клиническом классе ХЗВ С5-С6 варикозного расширения вен по сравнению с гомогенатами вен, взятых от пациентов с атеросклерозом нижних конечностей.

3.5. Изменение уровня окислительной модификации белков в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с сосудистой патологией

Следующий этап нашего исследования заключался в определении уровня окислительной модификации белков (ОМБ) в гомогенатах вен при разных клинических классах ХЗВ по международной классификации СЕАР по сравнению с венами пациентов с атеросклерозом нижних конечностей (Рисунки 28, 29, 30).

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) (Таблица 10). При остальных классах ХЗВ по классификации СЕАР статистически значимых изменений выявлено не было (Таблицы 11, 12).

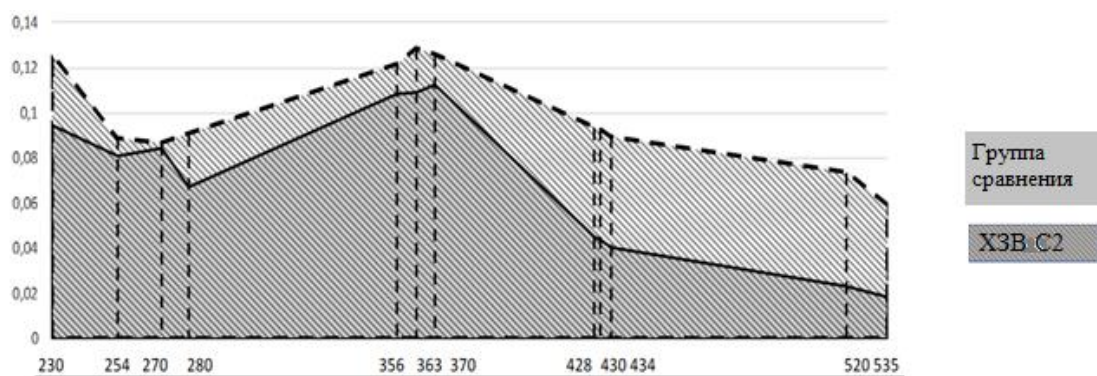


Рисунок 28 – Спектр поглощения продуктов спонтанной ОМБ гомогената вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2

Таблица 10 – Сравнительный анализ спектра поглощения продуктов спонтанной ОМБ гомогената вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2

Группа	САДНФГ (нейтр.)	СКДНФГ (нейтр.)	САДНФГ (осн.)	СКДНФГ (осн.)	S общ.
Сравнения	12,38 [6,81; 35,58]	6,53 [2,6; 15,33]	6,88 [1,94; 17,46]	1,1 [0,34; 3,13]	29,58 [16,92; 66,04]

ХЗВ С1-С2	47,22*↑ [17,45; 260,57] p=0,008	20,39*↑ [9,39; 93,45] p=0,012	13,51 [6,2; 42,63]	1,96 [0,88; 5,06]	82,68*↑ [38,18; 401,7] p=0,014
Примечание – * – статистически значимое отличие (p < 0,05)					

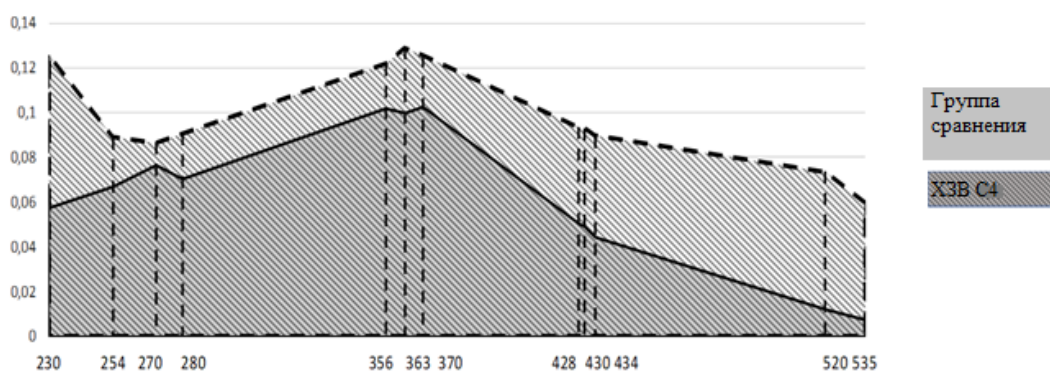


Рисунок 29 – Спектр поглощения продуктов спонтанной ОМБ гомогената вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4

Таблица 11 – Сравнительный анализ спектра поглощения продуктов спонтанной ОМБ гомогената вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4

Группа	САДНФГ (нейтр.)	СКДНФГ (нейтр.)	САДНФГ (осн.)	СКДНФГ (осн.)	S общ.
Сравнения	12,38 [6,81; 35,58]	6,53 [2,6; 15,33]	8,17 [2,73; 12,93]	1,48 [0,36; 2,79]	29,58 [16,92; 66,04]
ХЗВ С3-С4	11,09 [6,39; 46,6]	5,09 [3,13; 16,9]	2,89 [1,79; 28,6]	0,36 [0,2; 5,31]	19,8 [11,3; 93]

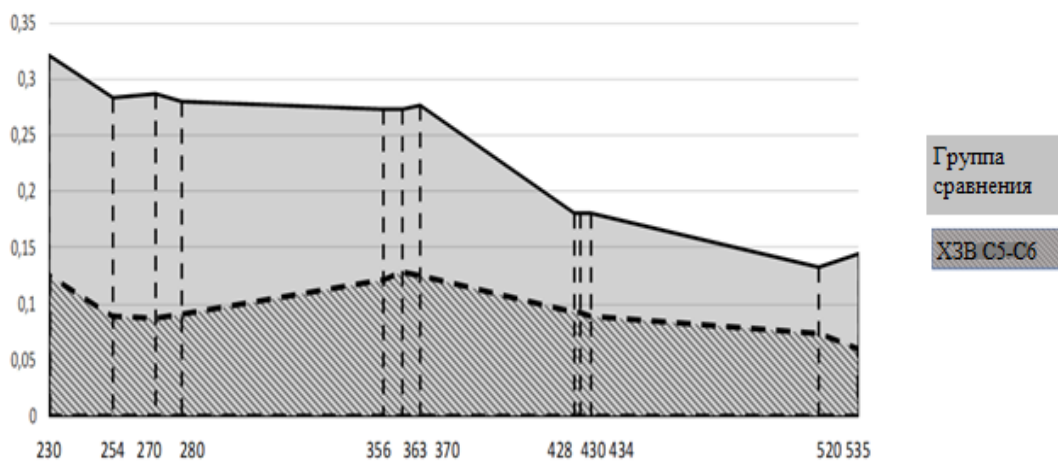


Рисунок 30 – Спектр поглощения продуктов спонтанной ОМБ гомогената вен пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6

Таблица 12 – Сравнительный анализ спектра поглощения продуктов спонтанной ОМБ гомогената вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6

Группа	САДНФГ (нейтр.)	СКДНФГ (нейтр.)	САДНФГ (осн.)	СКДНФГ (осн.)	S общ.
Сравнения	12,38 [6,81; 35,58]	6,53 [2,6; 15,33]	8,17 [2,73; 12,93]	1,48 [0,36; 2,79]	29,58 [16,92; 66,04]
ХЗВ С5-С6	7,96 [2,84; 52,69]	1,95 [0,71; 20,13]	3,77 [0,62; 13,75]	0,98 [0,09; 2,25]	14,88 [4,26; 88,4]

3.6. Изменение резервно-адаптационного потенциала в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с сосудистой патологией

Также нами для оценки устойчивости гомогената венозной стенки к окислительному воздействию был проведен анализ резервно-адаптационного потенциала (РАП). На рисунках 31-34 представлены данные резервно-адаптационного потенциала гомогената венозной стенки. За 100 % мы принимали уровень металл-катализируемой ОМБ и оценивали долю спонтанной в ней. По уровню РАП можно судить о накоплении у пациентов дополнительных альдегидных и кетонных производных при добавлении в реакционную среду окислительной смеси.



Рисунок 31 – Резервно-адаптационный потенциал гомогената венозной стенки пациентов группы сравнения



Рисунок 32 – Резервно-адаптационный потенциал гомогената венозной стенки пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2



Рисунок 33 – Резервно-адаптационный потенциал гомогената венозной стенки пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4

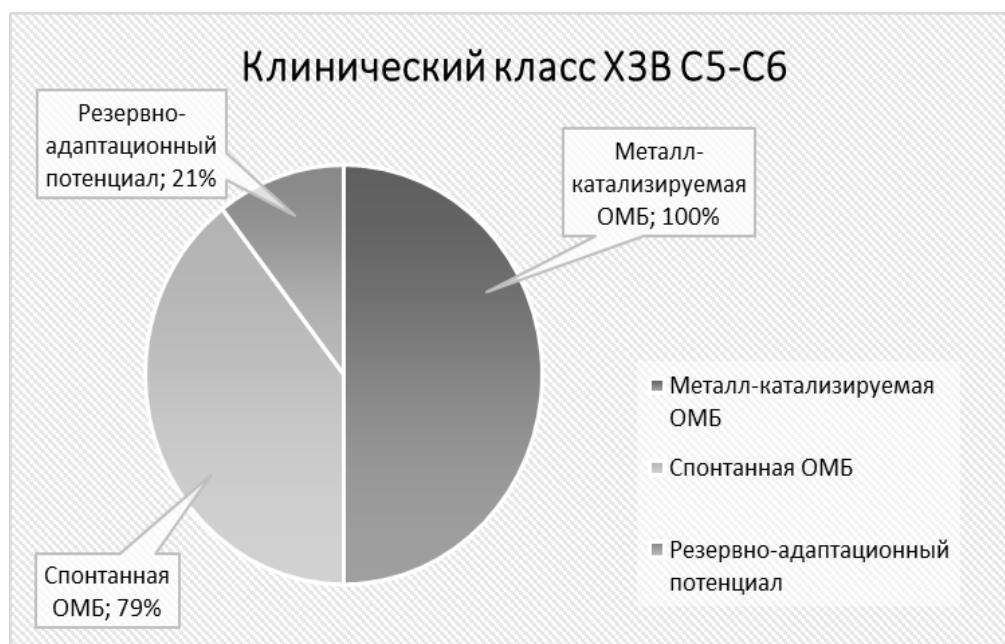


Рисунок 34 – Резервно-адаптационный потенциал гомогената венозной стенки пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6

При определении доли спонтанной РОС в металл-катализируемой у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 в гомогенате венозной стенки наблюдалось снижение РАП относительно группы сравнения (Таблица 13).

Таблица 13 – Резервно-адаптационный потенциал гомогената венозной стенки

	Группа сравнения	ХЗВ С1-С2	ХЗВ С3-С4	ХЗВ С5-С6
РАП (%)	21	34	8*	21
Примечание – * – статистически значимое отличие от группы сравнения (p=0,04)				

По данным результатам можно судить об истощении резервных способностей организма у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по отношению к окислительному стрессу.

3.7. Изменение концентрации hsCRP в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови у пациентов с сосудистой патологией

В качестве показателя воспаления мы взяли высокочувствительный С-реактивный белок – неспецифический маркер воспаления, связанный с

кардиорисками, реагирующий на острую фазу, участвует в системной реакции на вялотекущее воспаление [130]. В настоящее время стало общепризнанным, что воспалительный процесс в стенках сосудов характерен как для атеросклероза, так и для варикозной болезни [104, 155].

При оценке результатов уровня концентрации высокочувствительного CRP в гомогенате варикозно расширенных вен было получено статистически значимое повышение показателей у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 (Me=698,9 [Q25=559,3; Q75=2419]) по сравнению с гомогенатами от пациентов с атеросклерозом (Me=395,5 [Q25=96,71; Q75=915,6]) (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 CEAP: ХЗВ С1-С2 (Me=209,5 [Q25=105,2; Q75=352,8] мг/л) (p=0,0006), ХЗВ С5-С6 (Me=53,59 [Q25=50,72; Q75=311] мг/л) (p=0,002) (Рисунок 35).

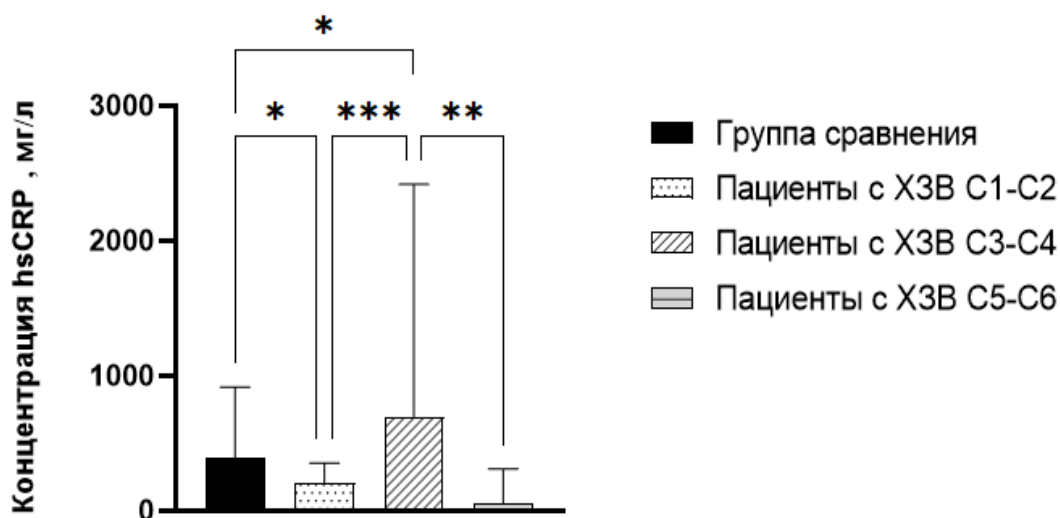


Рисунок 35 – Концентрация hsCRP в гомогенате сосудистой стенки пациентов разных клинических классов ХЗВ и в группе сравнения, мг/л

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

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

*** – статистически значимое отличие (p < 0,0001)

Концентрация высокочувствительного CRP в сыворотке крови у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей демонстрировала статистически значимое повышение у клинического класса ХЗВ С3-С4 (Me=1,99 [Q25=1,91; Q75=2,2] мг/л) (p=0,03) по сравнению со здоровыми донорами (Me=1,6

[Q25=0,8; Q75=1,99] мг/л). Межгрупповых различий между пациентами с варикозной болезнью нижних конечностей выявлено не было (Рисунок 36).

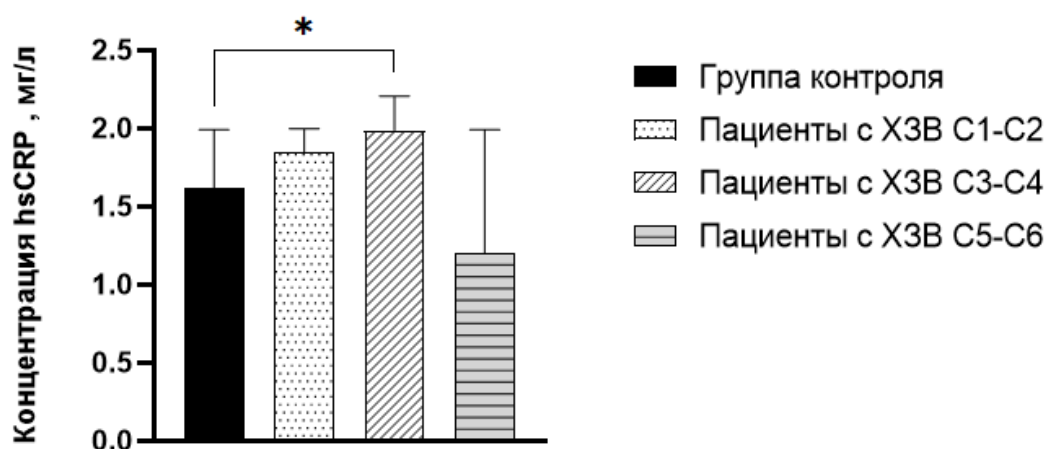


Рисунок 36 – Концентрация hsCRP в сыворотке крови пациентов с разными клиническими классами ХЗВ и в группе контроля, мг/л
Примечание – * – статистически значимое отличие ($p < 0,05$)

Нами также проведен корреляционный анализ между концентрацией hsCRP в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови на разных клинических классах ХЗВ по международной классификации CEAP (Таблица 14).

Таблица 14 – Корреляционные взаимосвязи между концентрацией hsCRP в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови при разных клинических классах ХЗВ по классификации CEAP

hsCRP	Корреляция
ХЗВ С1-С2 (гомогенат)	$r=0,35$ ($p<0,05$)
ХЗВ С1-С2 (сыворотка)	
ХЗВ С3-С4 (гомогенат)	$r=-0,19$ ($p>0,05$)
ХЗВ С3-С4 (сыворотка)	
ХЗВ С5-С6 (гомогенат)	$r=-0,52$ ($p<0,05$)
ХЗВ С5-С6 (сыворотка)	

При клиническом классе ХЗВ С1-С2 была обнаружена умеренная положительная корреляционная взаимосвязь между данным показателем в стенке вены и в сыворотке крови ($r=0,35$), и средняя отрицательная корреляционная взаимосвязь при клиническом классе С5-С6 ($r=-0,52$).

3.8. Результаты корреляционного анализа между изучаемыми показателями в гомогенате сосудистой стенки

Далее нами был проведен корреляционный анализ IL-13 и TGF- β 1 с активностью катепсинов и показателем воспаления в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с варикозным расширением вен при разных клинических классах ХЗВ по классификации СЕАР.

При клиническом классе ХЗВ С1-С2 по международной классификации СЕАР была выявлена умеренная положительная корреляционная взаимосвязь между показателями IL-13 и TGF- β 1 ($r=0,42$) (Таблица 15).

Таблица 15 – Корреляционный анализ между показателями у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2 по классификации СЕАР в гомогенате сосудистой стенки

ХЗВ С1-С2	IL-13	TGF- β 1	Cat B	Cat L	Cat H	ОМБ	hsCRP
IL-13	$r=1,00$	$r=0,42$ ($p=0,01$)	$r=0,13$ ($p>0,05$)	$r=0,38$ ($p=0,03$)	$r=0,22$ ($p>0,05$)	$r=-0,04$ ($p>0,05$)	$r=-0,25$ ($p>0,05$)
TGF- β 1	$r=0,42$ ($p=0,01$)	$r=1,00$	$r=0,09$ ($p>0,05$)	$r=0,07$ ($p>0,05$)	$r=0,06$ ($p>0,05$)	$r=0,12$ ($p>0,05$)	$r=0,05$ ($p>0,05$)

При клиническом классе ХЗВ С3-С4 по международной классификации СЕАР нами были получены следующие корреляционные связи: сильная положительная корреляционная связь между концентрацией IL-13 и TGF- β 1 ($r=0,6$) (Рисунок 37); сильная положительная корреляционная связь между IL-13 и активностью катепсина L ($r=0,7$) (Рисунок 38) и сильная положительная корреляционная связь между IL-13 и активностью катепсина H ($r=0,68$) (Рисунок 39) и ОМБ ($r=0,68$) (Рисунок 40). Для TGF- β 1 клинического класса ХЗВ С3-С4 характерна сильная положительная корреляционная взаимосвязь с показателями

протеолиза катепсином В ($r=0,75$) (Рисунок 41), катепсином L ($r=0,64$) (Рисунок 42), катепсином Н (Рисунок 43) ($r=0,61$) (Таблица 16).

Таблица 16 – Корреляционный анализ между показателями у пациентов при клиническом классе ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР в гомогенате сосудистой стенки

ХЗВ С3-С4	IL-13	TGF- β 1	Cat B	Cat L	Cat H	ОМБ	hsCRP
IL-13	$r=1,00$	$r=0,6$ ($p=0,03$)	$r=-0,46$ ($p=0,05$)	$r=0,7$ ($p=0,006$)	$r=0,68$ ($p=0,03$)	$r=0,68$ ($p=0,005$)	$r=-0,3$ ($p>0,05$)
TGF- β 1	$r=0,6$ ($p=0,03$)	$r=1,00$	$r=0,75$ ($p=0,002$)	$r=0,64$ ($p=0,009$)	$r=0,61$ ($p=0,01$)	$r=0,54$ ($p=0,03$)	$r=-0,5$ ($p=0,04$)

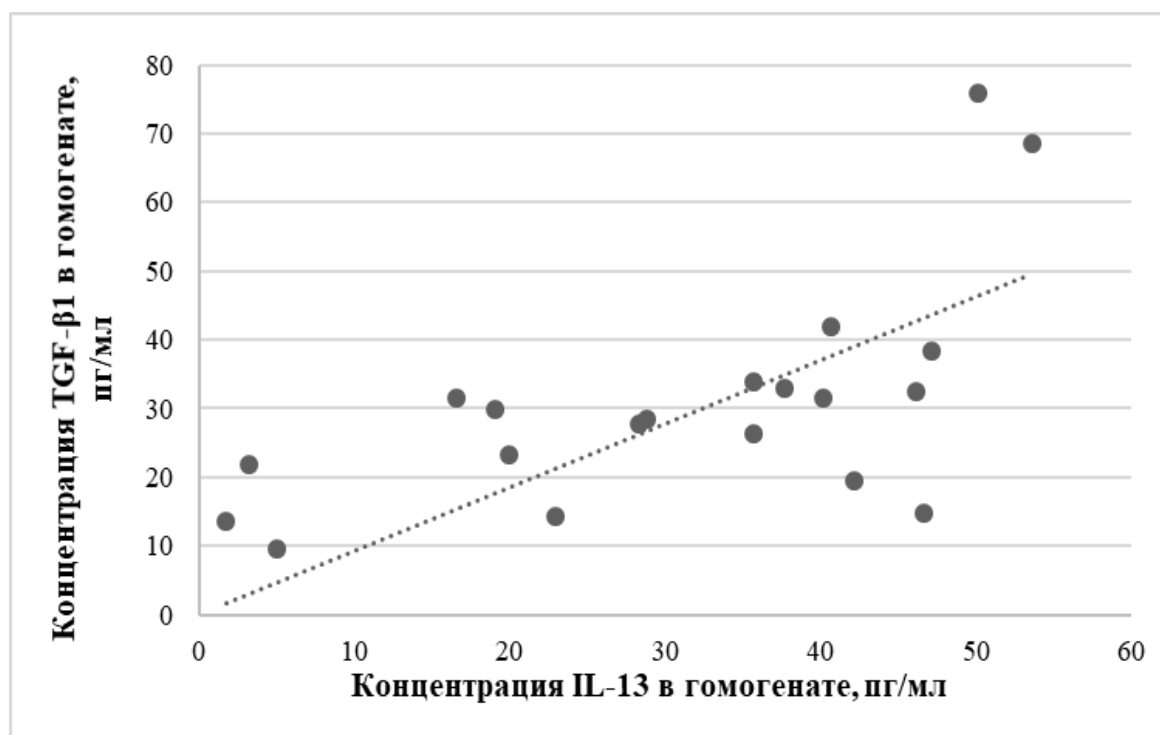


Рисунок 37 – Корреляционный анализ между концентрацией IL-13 и TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

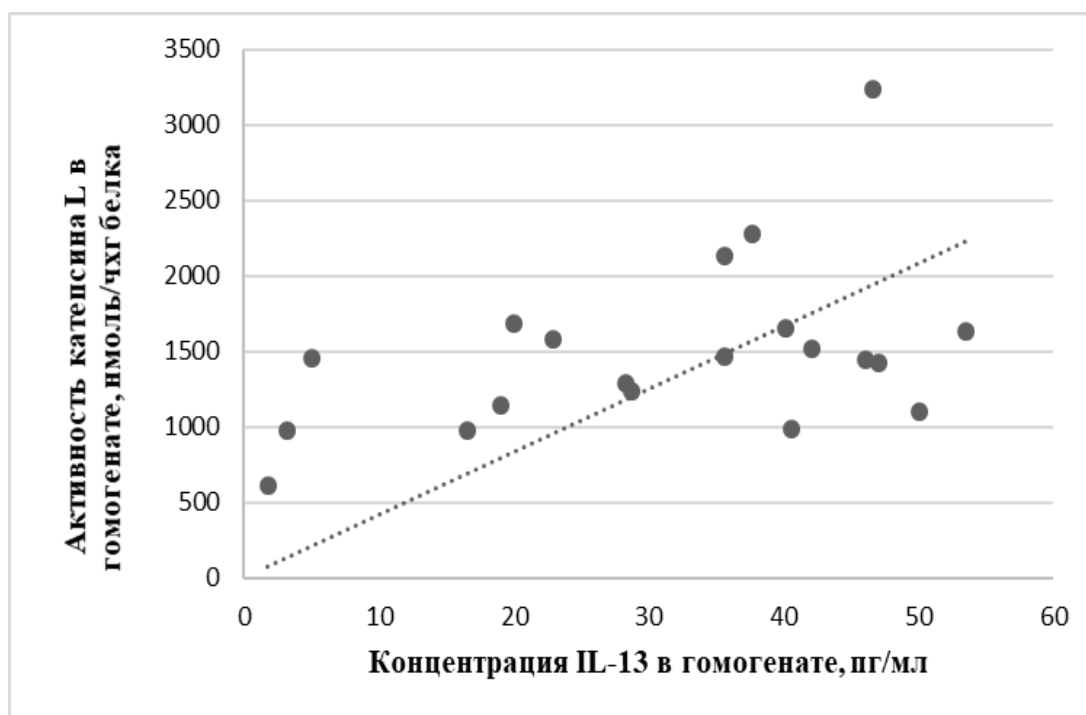


Рисунок 38 – Корреляционный анализ между концентрацией IL-13 и активностью катепсина L в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

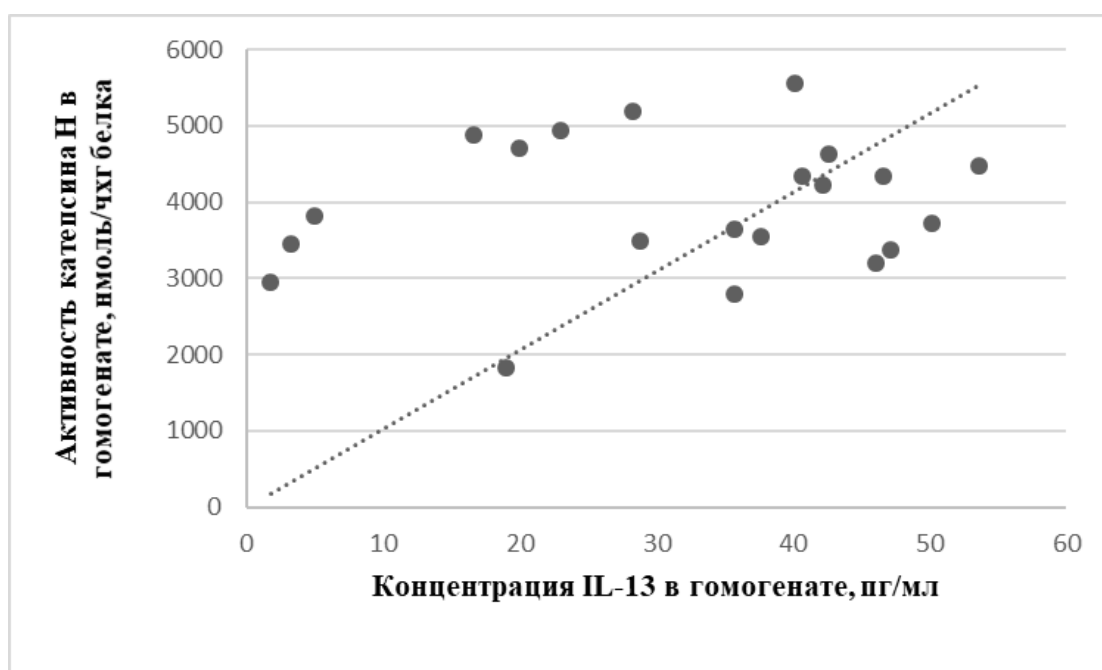


Рисунок 39 – Корреляционный анализ между концентрацией IL-13 и активностью катепсина H в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

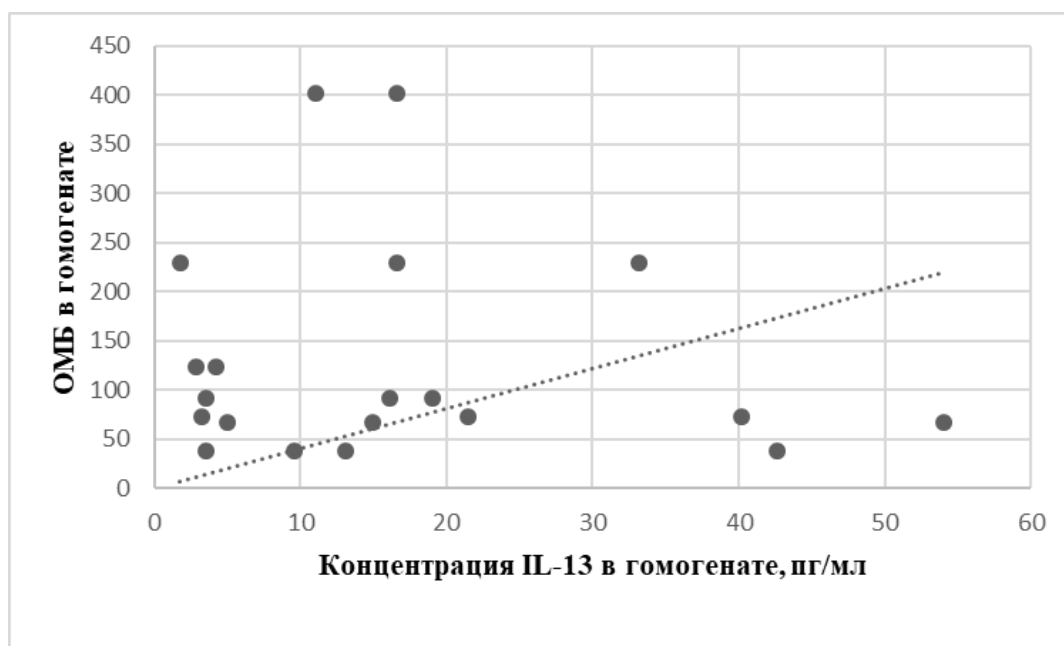


Рисунок 40 – Корреляционный анализ между концентрацией IL-13 и уровнем ОМБ в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

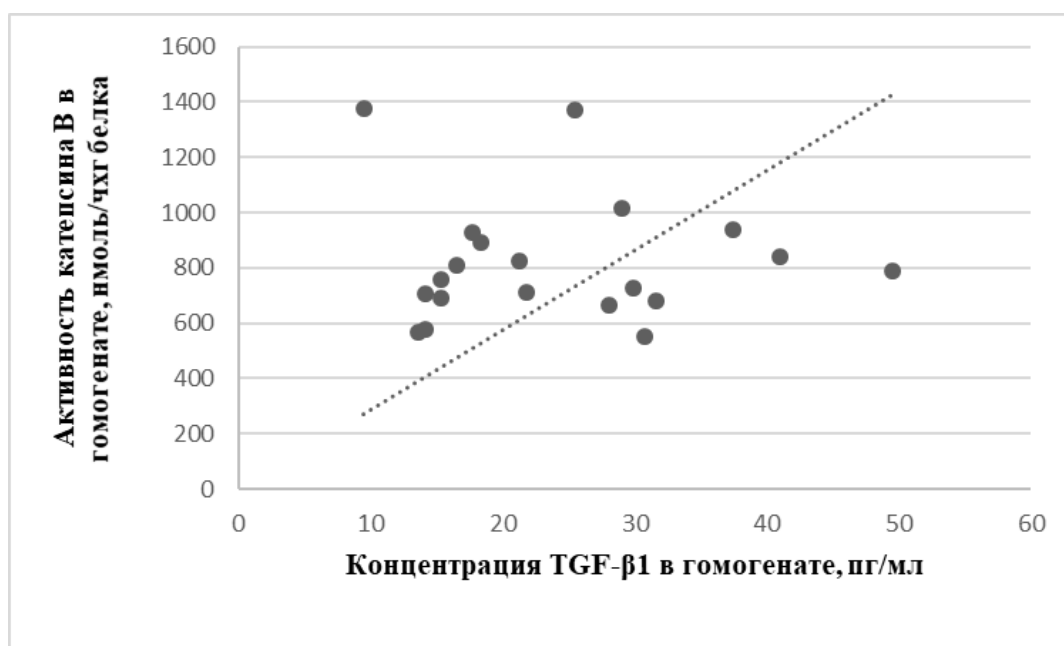


Рисунок 41 – Корреляционный анализ между концентрацией TGF-β1 и активностью катепсина В в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

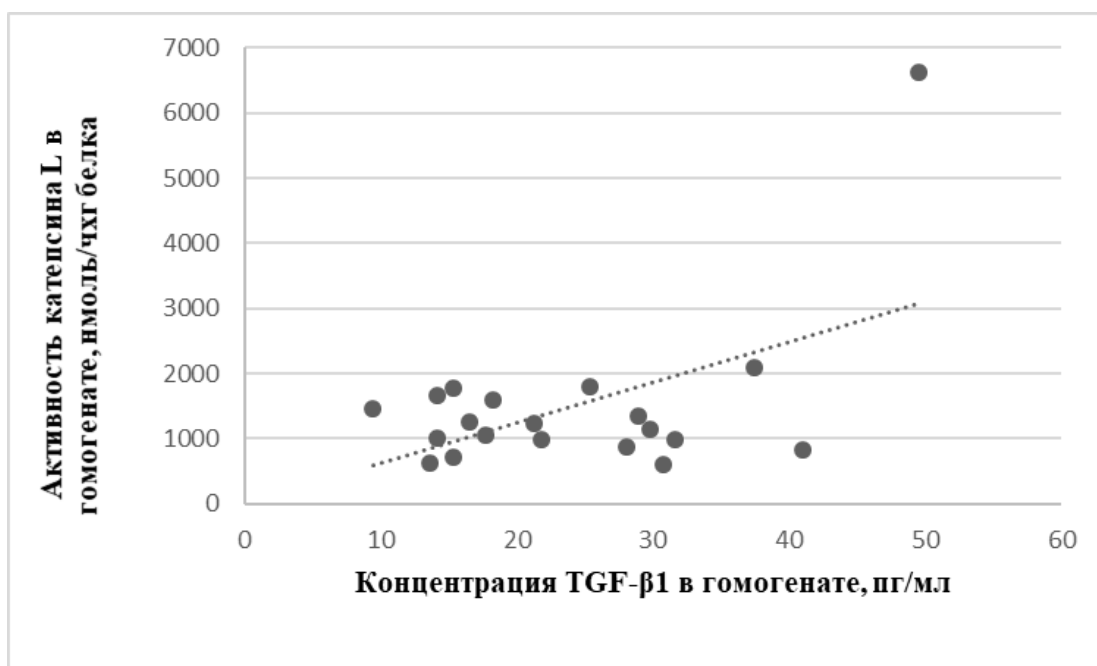


Рисунок 42 – Корреляционный анализ между концентрацией TGF-β1 и активностью катепсина L в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

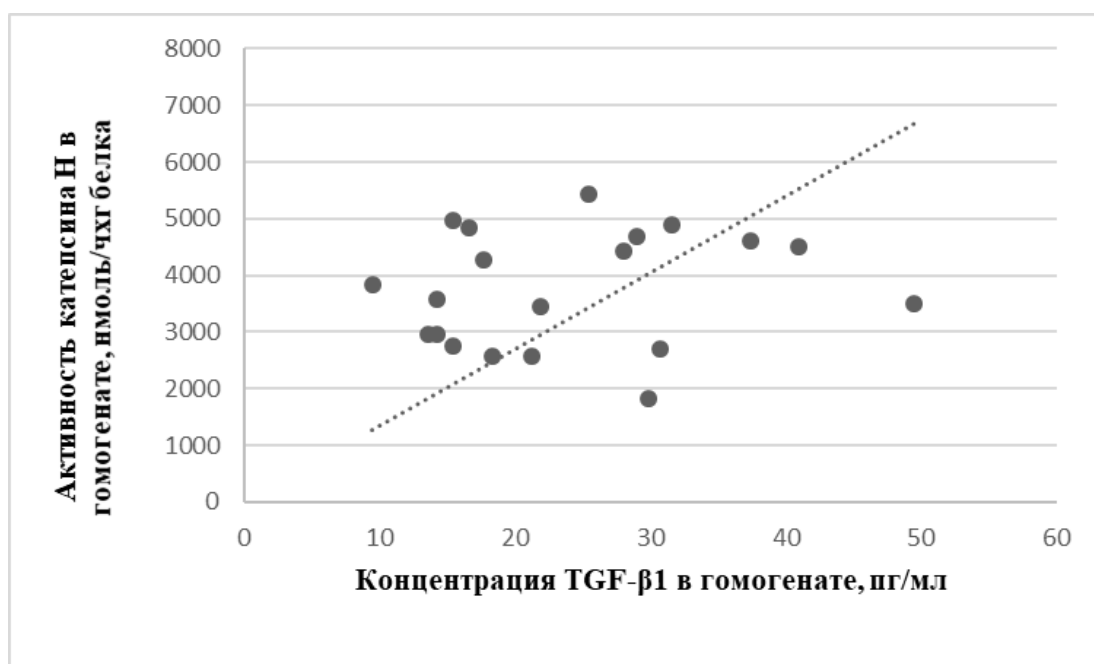


Рисунок 43 – Корреляционный анализ между концентрацией TGF-β1 и активностью катепсина H в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

Корреляционный анализ между показателями у пациентов с клиническим классом ХЗВ С5-С6 по международной классификации СЕАР статистически значимых связей не выявил.

3.9. Результаты корреляционного анализа между изучаемыми показателями в сыворотке крови

Следующий этап нашего исследования заключался в проведении корреляционного анализа IL-13 и TGF- β 1 с активностью катепсинов и показателем воспаления в сыворотке крови у пациентов с разными клиническими классами ХЗВ по международной классификации СЕАР.

В нашей работе для клинического класса ХЗВ С1-С2 характерны следующие корреляционные связи: умеренная положительная корреляционная взаимосвязь между показателями TGF- β 1 и высокочувствительным СРБ ($r=0,33$), между TGF- β 1 и активностью катепсина L ($r=0,39$) (Таблица 17).

Таблица 17 – Корреляционный анализ между показателями у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2 по классификации СЕАР в сыворотке крови

ХЗВ С2	IL-13	TGF- β 1	Cat B	Cat L	Cat H	hsCRP
IL-13	$r=1,00$	$r=-0,14$ ($p>0,05$)	$r=-0,14$ ($p>0,05$)	$r=-0,18$ ($p>0,05$)	$r=0,15$ ($p>0,05$)	$r=0,21$ ($p>0,05$)
TGF- β 1	$r=-0,14$ ($p>0,05$)	$r=1,00$	$r=0,18$ ($p>0,05$)	$r=0,39$ ($p=0,03$)	$r=0,18$ ($p>0,05$)	$r=0,33$ ($p=0,05$)

При клиническом классе ХЗВ С3-С4 для TGF- β 1 характерна сильная положительная корреляционная взаимосвязь с катепсином В ($r=0,75$) (Рисунок 44) и сильная отрицательная с катепсином Н ($r=0,6$) (Рисунок 45) (Таблица 18).

Таблица 18 – Корреляционный анализ между показателями у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3 по классификации СЕАР в сыворотке крови

ХЗВ С3-С4	IL-13	TGF- β 1	Cat B	Cat L	Cat H	hsCRP
IL-13	$r=1,00$	$r=-0,04$ ($p>0,05$)	$r=-0,32$ ($p>0,05$)	$r=-0,24$ ($p>0,05$)	$r=-0,38$ ($p>0,05$)	$r=-0,31$ ($p>0,05$)
TGF- β 1	$r=-0,04$ ($p>0,05$)	$r=1,00$	$r=0,75$ ($p=0,02$)	$r=0,54$ ($p>0,05$)	$r=0,6$ ($p=0,05$)	$r=-0,1$ ($p>0,05$)

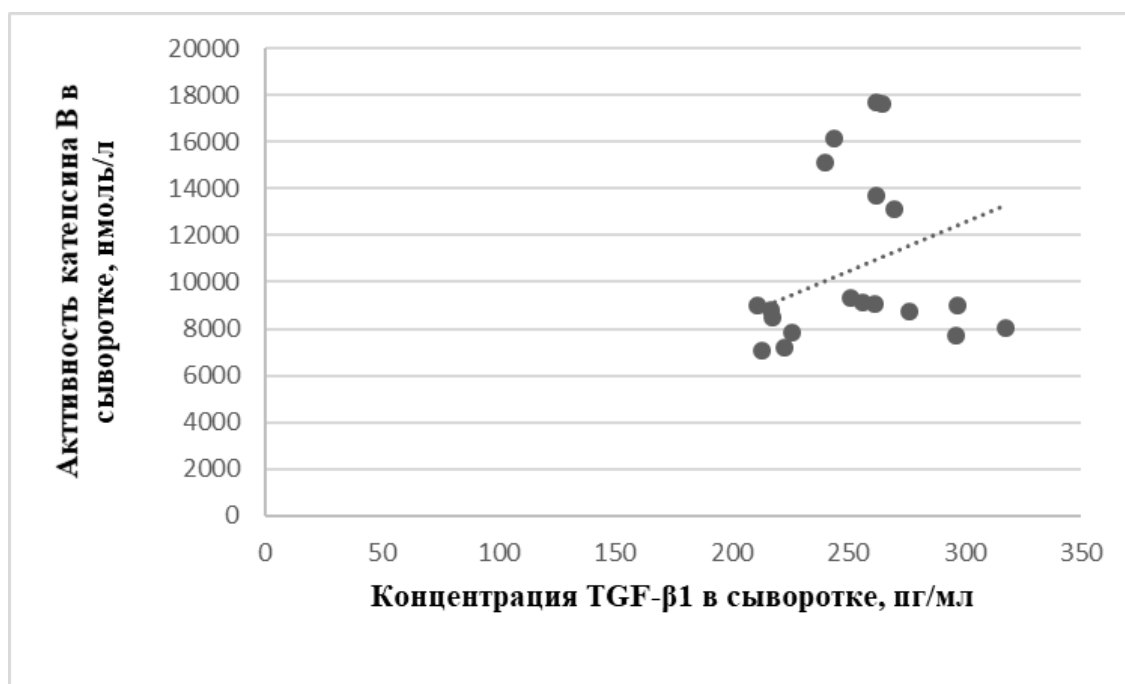


Рисунок 44 – Корреляционный анализ между концентрацией TGF-β1 и активностью катепсина В в сыворотке крови у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

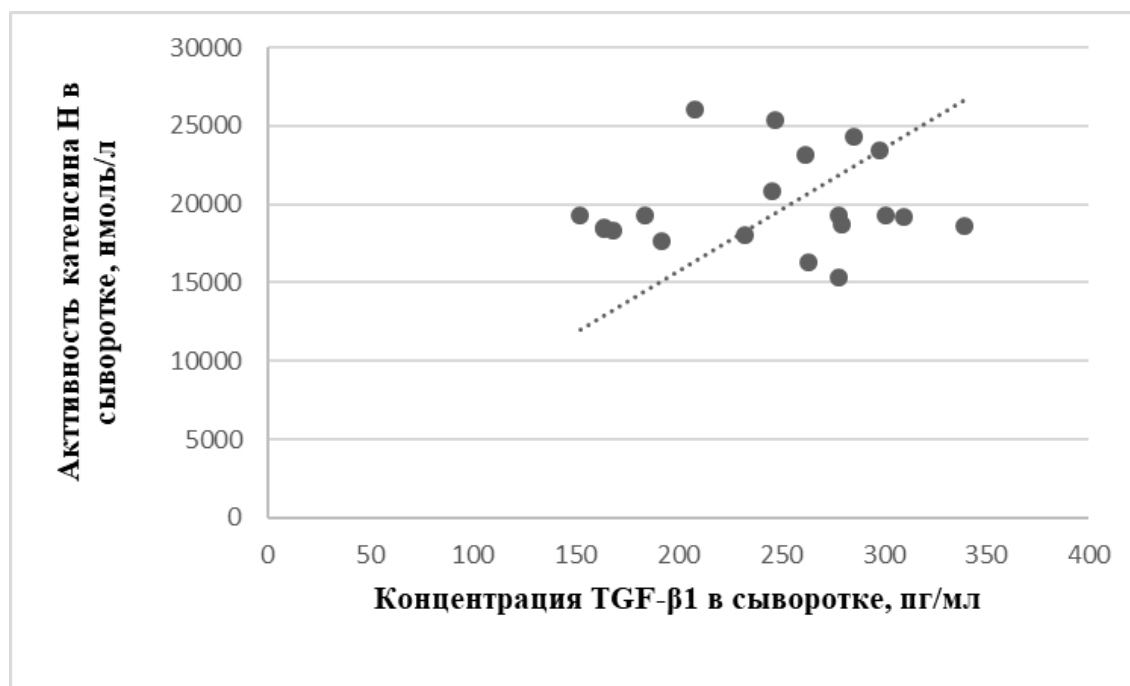


Рисунок 45 – Корреляционный анализ между концентрацией TGF-β1 и активностью катепсина Н в сыворотке крови у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР

Проведенный нами корреляционный анализ между показателями цитокинового ряда, протеолиза и воспаления в сыворотке крови у пациентов с

клиническим классом ХЗВ С5-С6 по международной классификации СЕАР статистически значимых связей не выявил.

3.10. Результаты многофакторного регрессионного анализа для пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей

Далее был проведен корреляционный анализ и многофакторный линейный регрессионный анализ для установления основных и второстепенных факторов, оказывающих влияние на цитокины IL-13 и TGF- β 1, при варикозной болезни нижних конечностей в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови (Таблицы 19, 20, 21, 22, 23, 24).

Таблица 19 – Оценка корреляционных связей зависимости IL-13 и TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с ВБНК с показателями воспаления, активности катепсинов и ОМБ

	IL-13	TGF- β 1
hsCRP	-0,309 (S)* (p=0,029)	0,113 (S) (p=0,436)
CatB	0,030 (P) (p=0,836)	-0,231 (P) (p=0,107)
CatL	0,291 (S)* (p=0,040)	0,041 (S) (p=0,775)
CatH	0,149 (P) (p=0,302)	-0,066 (P) (p=0,647)
ОМБ	-0,089 (S) (p=0,664)	-0,092 (S) (p=0,653)

Примечание – * – S-критерий Спирмена; P-критерий Пирсона

Таблица 20 – Результаты многофакторного регрессионного анализа для пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей в гомогенате сосудистой стенки

IL-13	R	R ²	Значимость
	0,328	0,108	0,785
	Значимый фактор	Уравнение регрессии	Значимость
	-	-	-

TGF-β1	R	R ²	Значимость
	0,458	0,210	0,410
	Значимый фактор	Уравнение регрессии	Значимость
	hsCRP	$Y=7,734*10^{-6}X^2-0,029X+33,853$	0,020
CatL	$Y=X^{0,643}+0,187$	0,044	

Таблица 21 – Оценка корреляционных связей зависимости IL-13 и TGF-β1 в сыворотке крови у пациентов с ВБНК с показателями воспаления и активностью катепсинов

	IL-13	TGF-β1
hsCRP	0,116(S) (p=0,428)	0,120(S) (p=0,413)
CatB	-0,055(S) (p=0,707)	0,289(S)* (p=0,044)
CatL	-0,165(S) (p=0,256)	0,379(S)* (p=0,070)
CatH	0,144(S) (p=0,325)	-0,013(S) (p=0,927)

Примечание – * – S-критерий Спирмена; P-критерий Пирсона

Таблица 22 – Результаты многофакторного регрессионного анализа для пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей в сыворотке крови

IL-13	R	R ²	Значимость
	0,165	0,027	0,872
	Значимый фактор	Уравнение регрессии	Значимость
	-	-	-
TGF-β1	R	R ²	Значимость
	0,398	0,158	0,101
	Значимый фактор	Уравнение регрессии	Значимость
	CatL	$Y=0,001X+233,933$	0,027

Таблица 23 – Оценка корреляционных связей зависимости IL-13 и TGF-β1 в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с атеросклерозом с показателями воспаления, активности катепсинов и ОМБ

	IL-13	TGF-β1
hsCRP	0,274(S) (p=0,142)	0,261(S) (p=0,164)
CatB	0,003(P) (p=0,987)	0,183(P) (p=0,333)
CatL	0,057(P) (p=0,765)	0,135(P) (p=0,475)
CatH	0,289(P) (p=0,121)	-0,209(P) (p=0,268)
ОМБ	-0,183(P) (p=0,664)	-0,164 (P) (p=0,698)

Примечание – * – S-критерий Спирмена; P-критерий Пирсона

Таблица 24 – Результаты многофакторного регрессионного анализа для пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей в гомогенате сосудистой стенки

IL-13	R	R ²	Значимость
	0,838	0,702	0,587
	Значимый фактор	Уравнение регрессии	Значимость
	-	-	-
TGF-β1	R	R ²	Значимость
	0,788	0,621	0,696
	Значимый фактор	Уравнение регрессии	Значимость
	-	-	-

Проведенный корреляционный анализ подтвердил зависимость IL-13 от высокочувствительного С-реактивного белка статистически значимой отрицательной корреляционной связью $r = -0,309$ ($p = 0,029$) в гомогенате сосудистой стенки при варикозном расширении вен. Также в гомогенате сосудистой стенки выявлена статистически значимая положительная корреляционная взаимосвязь между IL-13 и катепсином L $r = 0,291$ ($p = 0,40$). Можно предположить, что на уровень IL-13 в сосудистой стенки варикозно ремоделированных вен влияют как молекулы цистеинового протеолиза, так и молекулы воспаления.

В сыворотке крови при варикозном расширении вен были выявлены корреляции средней силы между TGF- β 1 катепсином В $r=0,289$ ($p=0,044$) и катепсином L $r=0,379$ ($p=0,70$).

По результатам многофакторного регрессионного анализа были выявлены факторы, оказывающие влияние на цитокин TGF- β 1, в гомогенате сосудистой стенки у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей: высокочувствительный С-реактивный белок и катепсин L.

В сыворотке крови при варикозном расширении вен для TGF- β 1 ведущим фактором явился катепсин L.

Таким образом, было показано влияние лизосомального цистеинового протеолиза и воспалительного процесса на TGF- β 1 при варикозной патологии.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время заболевания сердечно-сосудистой системы занимают лидирующие позиции среди основных причин смертности и инвалидизации взрослого трудоспособного населения, в связи с чем исследование данной патологии является актуальной задачей для всего научного сообщества. Кроме того, в последние годы отмечается рост исследований в области сосудистой патологии, в том числе, варикозной болезни нижних конечностей.

В научной литературе встречается мало информации о роли цитокинового ряда, процессах протеолиза, окислительной модификации белков, воспаления в варикозной трансформации венозной стенки.

Целью нашего исследования стало изучение взаимосвязи специфических для процессов фиброза IL-13 и TGF- β 1 с показателями цистеинового протеолиза (катепсины В, L, Н), с показателем окислительного стресса (ОМБ) и показателем воспаления (высокочувствительный СРБ) у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей у пациентов с разными клиническими классами ХЗВ по международной классификации СЕАР. В качестве группы сравнения брали биоматериал (визуально здоровую вену) в процессе проведения бедренно-подколенного шунтирования от пациентов с атеросклерозом нижних конечностей.

В ходе работы было выявлено снижение концентрации IL-13 в гомогенате вен относительно группы сравнения у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4. При этом уровень цитокина возрастает у пациентов с клиническим классом С5-С6 и по значению равен группе сравнения. Повышение можно обосновать тем, что, вероятно, IL-13 выступает как показатель фиброза венозной стенки на поздних стадиях ХЗВ и показатель фиброза артериальной стенки при атеросклерозе.

При ХЗВ С3-С4 в гомогенате варикозно расширенных вен было выявлено повышение концентрации TGF- β 1 по сравнению с группой сравнения в 1,6 раза, при этом в сыворотке крови концентрация TGF- β 1 снижалась по сравнению с группой контроля в 1,2 раза. Морфологические изменения стенки варикозных вен

характеризуются утолщением интимы из-за гиперплазии эластических волокон внутренней оболочки и гипертрофии мышечных волокон в средней оболочке вены. Развивается фиброз внутренней оболочки вен, эластичные волокна утолщаются, а внутренняя мембрана разрушается. Такие изменения и могут приводить к увеличению уровня TGF- β 1 в гомогенате варикозно расширенных вен, начиная с клинического класса ХЗВ С3-С4 [58]. Для представленного клинического класса характерно повышение концентрации TGF- β 1 в гомогенате сосудистой стенки и снижение в сыворотке крови, что говорит об усугублении фиброзных изменений и подчеркивает важность локальной продукции изучаемого цитокина в стенке варикозно трансформированных вен у пациентов данного клинического класса.

В сыворотке крови пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 отмечается статистически значимое увеличение активности лизосомальных цистеиновых катепсинов В, L, Н по сравнению с группой контроля, что говорит о повышении активности протеолитических процессов. Известно, что в развитии трофических изменений кожи и подкожной клетчатки, наблюдаемых у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по классификации СЕАР, ключевую роль играют протеолитические процессы. При хроническом венозном застое лейкоциты высвобождают протеолитические ферменты, которые разрушают белки, включая фибрин, откладывающийся в тканях. Это приводит к утолщению, фиброзу и рубцеванию кожи и подкожной клетчатки. Кроме того, расщепление белков протеазами приводит к накоплению продуктов распада, которые усиливают воспаление и нарушают микроциркуляцию, усугубляя повреждение кожи [17]. По данным нашего исследования можно сделать вывод, что именно для клинического класса ХЗВ С3-С4 характерны более выраженные изменения биохимических показателей как в гомогенате вен, так и в сыворотке крови.

Полученные в отношении катепсинов результаты, можно обосновать тем, что в стенке вен TGF- β 1 способен напрямую снижать активность ключевых катепсинов, особенно В и L; при этом могут быть задействованы следующие механизмы. Во-первых: повышение рН в лизосомах. Катепсины – это кислые

протеазы, которые работают в кислой среде лизосом. TGF- β 1 способен вызывает защелачивание лизосом (повышение внутрилизосомального pH). Во-вторых, TGF- β 1, по данным ряда авторов, стимулирует секрецию цистатина С — естественного ингибитора катепсинов. Снижение активности катепсинов при повышенном TGF- β 1 целенаправленный фиброгенный механизм, ведущий к утолщению и уплотнению венозной стенки [197].

Однако при клиническом классе ХЗВ С5-С6 по классификации CEAP отмечается повышенная активность катепсина Н в гомогенате сосудистой стенки и снижение концентрации TGF- β 1 в сыворотке крови у пациентов с ВБНК. Согласно ранее проведенным исследованиям было показано, что активность катепсина Н повышается во фракции полиморфноядерных лейкоцитов, повышение активности катепсина Н на последних стадиях ХЗВ в нашем исследовании, вероятно, связано с феноменом лейкоцитарной агрессии и максимальной инфильтрацией нейтрофилами стенки вен [29].

Статистически значимых корреляционных связей между показателями при данном клиническом классе ни в гомогенате сосудистой стенки, ни в сыворотке крови выявлено не было. Клинический класс ХЗВ С5-С6 характеризуются развернутой клапанной недостаточностью, что считается необратимым этапом развития болезни. Морфология трофической язвы, характерной для данного класса, имеет признаки иммунного воспаления с проявлением продуктивной инфильтрации и фибриноидным некрозом. Для венозной трофической язвы характерны атрофические, дистрофические, регенераторные изменения эпителиальной и соединительной ткани, а также одновременное развитие альтеративного, экссудативного и продуктивного воспаления [71].

В гомогенате сосудистой стенки при клиническом классе ХЗВ С1-С2 происходит повышение уровня ОМБ, это говорит о развитии окислительного стресса в стенке варикозной вены. При этом в сыворотке крови у пациентов данного клинического класса отмечается повышение активности лизосомальных цистеиновых катепсинов В, L, Н, что свидетельствует об усилении протеолитических процессов с целью деградации повреждённых белков.

Полученные результаты можно связать с тем, что именно при клиническом классе ХЗВ С1-С2 начинаются основные изменения как мышечной оболочки, так и адвентиции. В основе патологии лежит нарушение состава основного вещества соединительной ткани и структуры волокон внеклеточного матрикса. По литературным данным повышение активности катепсинов при сердечно-сосудистых заболеваниях связано с деградацией внеклеточного матрикса [179]. Появляются как гипертрофированные, так и атрофичные мышечные клетки - процесс трофической недостаточности. Параллельно происходит накопление коллагена в стенках вен с очагами некрозов и кальцификацией. В мышечной оболочке и адвентиции вен отмечается пролиферация эндотелия и гладкомышечных клеток. Данные изменения являются проявлением и следствием эндотелиальной дисфункции [71].

Одним из механизмов развития эндотелиальной дисфункции является окислительный стресс – увеличение образования активных форм кислорода (АФК) или снижение активности антиоксидантных систем организма. Основными генераторами АФК в сосудистой стенке являются НАДФН-оксидаза, ксантинооксидаза, митохондриальные ферменты, липоксигеназа и миелопероксидаза [4].

АФК легко окисляют молекулы ненасыщенных жирных кислот, которые входят в состав мембран клеток венозной стенки. Вследствие чего компенсаторные процессы гипертрофии и пролиферации гладкомышечных клеток приводят к развитию эндотелиальной дисфункции и изменению периферической гемодинамики, тем самым способствуя развитию варикозного расширения вен [54].

Отмечается снижение значения РАП в гомогенате сосудистой стенки при клиническом классе С3-С4. По данным результатам можно судить об истощении резервных способностей организма по отношению к окислительному стрессу. Истощение резервов на стадии С3–С4 обусловлено переходом от компенсированного к декомпенсированному состоянию. Снижение уровня РАП у пациентов с клиническим классом ХЗВ С3–С4 по классификации СЕАР может

служить теоретическим обоснованием к проведению доклинических исследований с применением антиоксидантной терапии.

С клинического класса ХЗВ С3-С4 начинается хронизация процесса. В отличие от двух предыдущих классов, данный класс ассоциирован с началом воспаления. В представленном исследовании были получены результаты, свидетельствующие о повышении концентрации hsCRP у пациентов с клиническим классом С3-С4 как в гомогенате варикозно трансформированной вены, так и в сыворотке крови у пациентов. С-реактивный белок запускает систему комплемента, вызывает апоптоз, активацию эндотелиальных клеток, привлечение лейкоцитов и агрегацию тромбоцитов. Повышение уровня С-реактивного белка указывает на наличие воспалительного процесса, который может привести к повышению уровня провоспалительных цитокинов. Запуск воспалительного каскада вызывает дисфункцию эндотелия и активацию пути коагуляции [105].

Кроме того, если брать во внимание результаты многофакторного регрессионного анализа, именно hsCRP является ведущим фактором, влияющим на TGF- β 1, что подтверждает участие воспалительного процесса в сосудистой стенке варикозно ремоделированных вен.

Таким образом, варикозная болезнь нижних конечностей сопровождается статистически значимым повышением концентрации высокочувствительного С-реактивного белка в гомогенате вены пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 по международной классификации CEAP по сравнению с гомогенатом вен пациентов с атеросклерозом; и в сыворотке крови пациентов с клиническим классом С3-С4 по сравнению со здоровыми донорами. Это характеризует наличие воспалительного процесса, и может послужить теоретическим обоснованием к проведению доклинических исследований с применением противовоспалительной терапии у данной группы пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование, направленное на изучение взаимосвязи интерлейкина-13 и трансформирующего фактора роста- β 1 с активностью катепсинов и показателями воспаления у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей, позволило выявить ряд закономерностей, характеризующих патофизиологические механизмы ремоделирования венозной стенки при хронических заболеваниях вен. Объектом исследования явились три группы испытуемых: контрольная группа (группа 1) – клинически здоровые доноры крови без варикозного расширения вен нижних конечностей, которые сдавали кровь в отделении переливания крови ГБУ РО «Областная клиническая больница»; экспериментальная группа (группа 2) – пациенты варикозной болезнью нижних конечностей, данная группа была разделена на подгруппы по клиническим классам ХЗВ по классификации CEAP - 2.1. подгруппа – пациенты C1-C2; 2.2. подгруппа – пациенты C3-C4; 2.3. подгруппа – пациенты C5-C6; группа сравнения (группа 3) – пациенты с атеросклерозом нижних конечностей, источник образцов вен. Пациенты 2 и 3 группы проходили стационарное лечение в ГБУ РО «Больница скорой медицинской помощи» и в ГБУ РО «Областная клиническая больница». Всеми пациентами и донорами были подписаны добровольное информированное согласие для участия в исследовании. В качестве материалы для исследования использовались гомогенат сосудистой стенки вен и сыворотка крови.

В ходе работы установлено, что патогенетические процессы при варикозной болезни развиваются стадийно, в тесной зависимости от клинического класса заболевания по классификации CEAP, и затрагивают как локальные (гомогенат сосудистой стенки), так и системные (сыворотка крови) звенья гомеостаза.

В исследовании продемонстрировано, что IL-13, обладающий профибротическими свойствами, проявляет свою активность преимущественно на поздних клинических стадиях ХЗВ (C5-C6), а также при атеросклеротическом поражении нижних конечностей. Напротив, снижение уровня IL-13 при

клинических классах С3-С4 указывает на его регуляторную роль в управлении протеолизом, что, вероятно, опосредовано влиянием на матриксные металлопротеиназы и их взаимодействие с катепсинами.

Выявлена разнонаправленность изменений TGF- β 1: повышение его концентрации в гомогенате вен при классах ХЗВ С3-С4 на фоне снижения в сыворотке крови. Локальное накопление TGF- β 1 в сосудистой стенке отражает активацию фиброгенеза, направленного на поддержание структурного гомеостаза внеклеточного матрикса через стимуляцию синтеза коллагенов I и III типов и трансформацию фибробластов в миофибробласты.

Установлено, что начальные этапы ремоделирования венозной стенки (классы ХЗВ С1-С2) ассоциированы с активацией окислительного стресса и протеолиза, затрагивающих структурные белки (эластин, коллаген, фибронектин). Прогрессирование заболевания при клиническом классе ХЗВ С3-С4 характеризуется истощением резервов антиоксидантной защиты (снижение РАП) на фоне максимальной активности катепсинов В, L, Н, что служит предиктором деструктивных изменений. На терминальных стадиях (ХЗВ С5-С6) наблюдается снижение активности катепсинов и уровня окислительной модификации белков, что, вероятно, связано с истощением ферментативных систем и завершением фазы активного ремоделирования.

Значимым результатом явилось определение начала системного и локального воспалительного процесса. У пациентов с клиническим классом ХЗВ С3-С4 зафиксирован устойчивый рост высокочувствительного С-реактивного белка как в сыворотке крови, так и в гомогенате сосудистой стенки. Данный факт позволяет рассматривать класс С3-С4 как критический этап перехода от дисфункции к выраженному воспалительному ремоделированию вен.

На заключительном этапе работы систематизированы данные в сводных таблицах (Таблицы 25, 26), отражающих направленность и выраженность изменений изучаемых показателей (IL-13, TGF- β 1, катепсины, hsCRP, параметры окислительного стресса) в гомогенате сосудистой стенки и в сыворотке крови пациентов в зависимости от клинического класса ХЗВ.

Таблица 25 – Изменения показателей в зависимости от клинического класса ХЗВ в гомогенате сосудистой стенки

Гомогенат вен	Группа сравнения	ХЗВ C1-C2	ХЗВ C3-C4	ХЗВ C5-C6
IL-13			↓*	
TGF-β1			↑*	
Катепсин В			↓*	
Катепсин L		↓*	↓*	↓*
Катепсин Н				↑*
ОМБ		↑*		
РАП			↓*	
hsCRP			↑*	
Примечание - * - статистически значимое отличие (p < 0,05)				

Таблица 26 – Изменения показателей в зависимости от клинического класса ХЗВ в сыворотке крови

Сыворотка крови	Группа контроля	ХЗВ C1-C2	ХЗВ C3-C4	ХЗВ C5-C6
IL-13		↓*		↓*
TGF-β1			↓*	↓*
Катепсин В		↑*	↑*	
Катепсин L		↑*	↑*	
Катепсин Н		↑*	↑*	↑*
hsCRP			↑*	
Примечание - * - статистически значимое отличие (p < 0,05)				

Таким образом, совокупность полученных данных свидетельствует о том, что взаимосвязь между цитокинами (IL-13, TGF- β 1), активностью лизосомальных катепсинов и маркерами воспаления носит динамический характер и определяет направленность процессов деградации и фиброзирование венозной стенки при прогрессировании варикозной болезни. Полученные результаты расширяют существующие представления о патогенезе хронических заболеваний вен и могут служить основой для разработки новых диагностических подходов и стратегий таргетной терапии, направленных на модуляцию протеолитической активности и фибротических процессов.

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 CEAP, 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 CEAP 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 CEAP, 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 CEAP ($r=0,68$; $p=0,005$); 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 CEAP ($r=0,6$; $p=0,03$).

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 CEAP. 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 СОКРАЩЕНИЙ

AP-1 – активирующий белок-1 (англ.: activating protein-1)

CTGF – фактор роста соединительной ткани (англ.: connective tissue growth factor)

ERK-1/2 – внеклеточно регулируемая киназа-1/2 (англ.: extracellularly-regulated kinase-1/2)

FGF- β – фактор роста фибробластов- β (англ.: fibroblast growth factor- β)

hsCRP – высокочувствительный С-реактивный белок (англ.: high-sensitivity C-reactive protein)

ICAM-1 – молекулы межклеточной адгезии-1 (англ.: intercellular adhesion molecule-1)

IL-13 – интерлейкин-13 (англ.: interleukin-13)

JAK – янус-киназы (англ.: janus kinase)

МАРК – митоген-активируемые протеинкиназы (англ.: mitogen-activated protein kinase)

ММП – матриксные металлопротеиназы (англ.: matrix metalloproteinases)

PECAM-1 – молекулы адгезии тромбоцитов в эндотелиальных клетках-1 (англ.: platelet/endothelial cell adhesion molecule-1)

STAT-6 – преобразователь сигнала и активатор транскрипции-6 (англ.: signal transducer and activator of transcription-6)

TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста- β 1 (англ.: transforming growth factor- β 1)

ТИМР – тканевой ингибитор металлопротеиназ (англ.: tissue inhibitor of metalloproteinases)

TNF- α – фактор некроза опухоли- α (англ.: tumor necrosis factor- α)

VCAM-1 – молекулы адгезии сосудистых клеток-1 (англ.: vascular cell adhesion molecule-1)

АФА – активная форма азота

АФК – активная форма кислорода

ВКМ – внеклеточный матрикса

ВБНК – варикозная болезнь нижних конечностей

ВРВНК – варикозное расширение вен нижних конечностей

ГАГ – глюкозаминогликаны

ГМК – гладкомышечные клетки

ДНФГ – динитрофенилгидразин

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ОМБ – окислительная модификация белков

ТХУ – трихлоруксусная кислота

ХЗВ – хроническое заболевание вен

ЭГ – эндотелиальный гликокаликс

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алекберзаде, А.В. Варикозная болезнь нижних конечностей: учебно-методическое пособие для студентов медицинских вузов / А.В. Алекберзаде, Е.М. Липницкий. – М.: Изд-во ФГБОУ ВО Первый Московский государственный университет имени И.М. Сеченова, 2017. – 25 с. – Текст : непосредственный.
2. Аскерханов, Р.П. Вопросы этиологии и патогенеза варикозного расширения вен нижних конечностей / Р.П. Аскерханов. –Текст : непосредственный // Флебология. – 2010. – Т. 4, №4. – С. 45–47.
3. Аутофагия как механизм защиты при окислительном стрессе / Н.К. Зенков, А.В. Чечушков, П.М. Кожин [и др.]. – Текст : непосредственный // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 195–214.
4. Бакулин, И.С. Эндотелиальная дисфункция и окислительный стресс при церебральном атеросклерозе и возможности их патогенетической коррекции / И.С. Бакулин, М.М. Танащян, А.А. Раскуражев. –Текст : непосредственный // Нервные болезни. – 2018. – №2. – Р. 3-10.
5. Бокерия, Л.А. Оптимизация хирургического лечения больных с варикозной болезнью нижних конечностей / Л.А. Бокерия, М.В. Михайличенко, В.И. Коваленко. –Текст : непосредственный // Российский медицинский журнал. – 2015. – Т. 21, № 1. – С. 10-14.
6. Варикозное расширение вен / А.А. Камаев, В.Л. Булатов, П.Е. Вахрастьян [и др.]. – Текст : непосредственный // Флебология. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 41-108.
7. Влияние окислительного стресса на редокс-состояние и реализацию апоптотической программы нейтрофильных лейкоцитов периферической крови / Т.В. Жаворонок, Е.А. Степовая, Г.В. Петина [и др.]. – Текст : непосредственный // Фундаментальные исследования. – 2007. – № 12. – С. 383.
8. Влияние цитокина TGF- β и других факторов на процесс регенерации / Е.Л. Атькова, Д.А. Рейн, В.Д. Ярцев, А.М. Суббот. –Текст : непосредственный // Вестник офтальмологии. – 2017. – Т.133, №4. – С. 89-96.

9. Воздействие на митогенактивируемые протеинкиназы как новое направление регуляции роста соединительной ткани / И.А. Шурыгина, М.Г. Шурыгин, Н.В. Зеленин, Н.И. Аюшинова. – Текст : непосредственный // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 86–93.

10. Гемодинамические нарушения при варикозной болезни / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, И.Н. Шанаев, В.А. Юдин. – Текст : непосредственный // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2021. – Т. 9, № 1. – С. 68–76.

11. Глебов, А.Н. Роль кислородосвязывающих свойств крови в развитии окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом / А.Н. Глебов, Е.В. Шульга, В.В. Зинчук. – Гродно, 2011. – 216 с. – Текст : непосредственный.

12. Гликокаликс — определяющий фактор в развитии эндотелиальной венозной дисфункции и возможности ее коррекции / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко, В.Г. Гудымович [и др.]. – Текст : непосредственный // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2020. – Т. 26, № 4. – С. 71–76.

13. Глухова, Е.А. Опыт применения дупилумаба у пациентов с тяжелым атопическим дерматитом / Е.А. Глухова, Е.Д. Кувшинова, В.А. Ревякина. – Текст : непосредственный // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2022. – №3. – С.14-23.

14. Два редких варианта анатомии сосудов бедренного треугольника у одного пациента: клиническое наблюдение / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Э.А. Климентова [и др.]. – Текст : непосредственный // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. – 2023. – Т. 31, №1. – С.127-136.

15. Дибиров, М.Д. Исследование биохимических показателей в биоптатах стенок вен нижних конечностей при варикозной болезни / М.Д. Дибиров, Т.П. Вавилова, А.В. Минаев. – Текст : непосредственный // Флебология. – 2019. – Т.13, №2. – С.141-145.

16. Дилакян, Э.А. Лизосомные цистеиновые протеиназы при неопластической трансформации / Э.А. Дилакян, И.В.Цветкова. – Текст : непосредственный // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, вып. 5. – С. 485-500.

17. Замечник, Т.В. Иммуногистохимические показатели ремоделирования тканей венозной стенки у пациентов с варикозной болезнью в стадии развития С4-С5 по СЕАР / Т.В. Замечник, Л.Н. Рогова, С.И. Ларин. – Текст : непосредственный // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 271-272.

18. Значение катепсинов в патогенезе и прогрессировании атеросклероза / А.С. Головкин, Е.В. Григорьев, В.Г. Матвеева, Е.А. Великанова. –Текст : непосредственный // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2012. – Т. 5, №4. – С.9–12.

19. Игнатович, Т.В. Иммунопатогенез фиброза / Т.В. Игнатович, М.М. Зафранская. – Текст : непосредственный // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2019. – № 1. – С. 6-17.

20. Изменение уровня провоспалительных цитокинов у женщин с заболеваниями шейки матки, ассоциированными с папилломавирусной инфекцией / Т.А. Невежкина, М.С. Тулупова, Л.С. Матюшкина, А.А. Потапенко. – Текст : непосредственный // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2018. – № 4. – С. 57-59.

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

22. Исследование экспрессии рецепторов к IL-13, генов IL-13R в бронхах крыс с овальбумин-индуцированной бронхиальной астмой / Л.Е. Блажевич, О.Е. Смирнова, В.М. Кирилина, П.М. Маслюков. –Текст : непосредственный // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2023. – Т.109, №4. – С. 530–544.

23. Иштулин, А.Ф. Взаимосвязь биохимических показателей спермоплазмы с подвижностью сперматозоидов у пациентов с бесплодием : специальность 1.5.4. «Биохимия» : диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук / Иштулин Артем Федорович; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. — Рязань, 2024. — 124 с. — Текст : непосредственный.

24. Катепсин Д — управление хрупким балансом / О. Миянович, А.И. Петушкова, А. Бранкович [и др.]. — Текст : непосредственный // Фармацевтика. — 2021. — №13. — С. 837.

25. Катепсины // Большая медицинская энциклопедия (БМЭ) / под ред. Б.В. Петровского. — 3-е изд. — Москва: Советская Энциклопедия, 1979. — Т. 10. — С. 528 с. —Текст : непосредственный.

26. Каштальян, О.А. Цитокины как универсальная система регуляции / О.А. Каштальян, Л.Ю. Ушакова. — Текст : непосредственный // Медицинские новости. — 2017. — № 9. — С. 3–7.

27. Клеточные и тканевые маркеры атеросклероза / Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.Н. Сухоруков [и др.]. —Текст : непосредственный // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. — 2020. — Т. 9,№ 2. — С. 102-113.

28. Клеточные и тканевые маркёры атеросклероза / Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.Н. Сухоруков [и др.]. — Текст : непосредственный // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. — 2020. — Т. 9,№ 2. — С.102–113.

29. Короткова, Н.В. Активность катепсинов L и H при заболеваниях вен нижних конечностей : специальность 03.01.04 «Биохимия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Короткова Наталья Васильевна; Научно-исследовательский институт питания РАМН. — Москва, 2015. — 150 с. — Текст : непосредственный.

30. Курабекова, Р.М. Трансформирующий фактор роста- $\beta 1$ при трансплантации печени / Р.М. Курабекова, О.П. Шевченко, О.М. Цирульникова. — Текст : непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2015. — Т. 17,№ 3. — С. 76-82.

31. Кяримов, И.А. Свободно-радикальное окисление как фактор изменения функционального состояния белковых молекул / И.А. Кяримов, В.Д. Шевченко, В.В. Арушанова. — Текст : непосредственный // Повышение эффективности реализации фундаментальных научных исследований как условие долгосрочного

устойчивого развития России : сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции (28 июля 2020 г.). – Белгород : ООО Агентство перспективных научных исследований (АПНИ), 2020. – С. 5-10.

32. Лукьянова, Ю.С. Основные патофизиологические и молекулярные механизмы хронических заболеваний вен и их фармакологическая коррекция / Ю.С. Лукьянова, М.В. Покровский. – Текст : непосредственный // Клиническая фармакология и терапия. – 2019. – № 3. – С.52–61.

33. Лямина, С.В. Поляризация макрофагов в современной концепции формирования иммунного ответа / С.В. Лямина, И.Ю. Малышев. – Текст : непосредственный // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10-5. – С. 930-935.

34. Маркёры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы) / Т.В. Степанова, А.Н. Иванов, Н.Е. Терешкина [и др.]. – Текст : непосредственный // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64, №1. – С. 34–41.

35. Механизмы развития и особенности варикозной болезни вен нижних конечностей в детском и молодом возрасте / В.В. Студенникова, Л.О. Севергина, А.Н. Дзюндзя, И.А. Коровин. – Текст : непосредственный // Архив патологии. – 2017. – Т. 79, № 4. – С.56-60.

36. Морфологические изменения в стенке задних большеберцовых вен при варикозной болезни нижних конечностей / С.А. Сушков, О.Д. Мяделец, И.В. Самсонова [и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 73–79.

37. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Порогов. – Текст : непосредственный // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т.41, №1. – С. 24-26.

38. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования / Л.Е. Муравлева, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Ключев [и др.]. –

Текст : непосредственный // *Фундаментальные исследования*. – 2010. – № 1. – С. 74-78.

39. Особенности биологии трансформирующего ростового фактора- β и иммунопатология / А.В. Москалёв, А.С. Рудой, А.В. Апчел [и др.]. – Текст : непосредственный // *Вестник российской военно-медицинской академии*. – 2016. – № 2(54). – С.206-216.

40. Оценка роли трансформирующего фактора роста- $\beta 1$ в развитии осложнений у пациентов с ишемической болезнью сердца после аортокоронарного шунтирования / Е.В. Шкорик, Е.В. Маркелова, А.А. Силаев [и др.]. – Текст : непосредственный // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – Т. 7, № 3. – С. 604-609.

41. Патогенез варикозной болезни: роль матриксных металлопротеиназ и ионов магния / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Камаев, А.С. Пшенников. – Текст : непосредственный // *Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова*. – 2017. – Т. 12, №1. – С. 88-91.

42. Патогенез несостоятельности стенки вены при варикозной болезни / В.В. Студенникова, Л.О. Севергина, Г.В. Синявин [и др.]. – Текст : непосредственный // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. – 2019. – №10. – С. 69–74.

43. Перенков, А.Д. Пособие к семинарским занятиям по курсу «Молекулярная онкология». Часть 1. Сигнальные пути опухолевых клеток : учебно-методическое пособие / А.Д. Перенков. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2022. – 62 с. – Текст : непосредственный.

44. Пуятягина, А.Н. Внеклеточный матрикс сердца и постинфарктный репаративный фиброз (часть 1) / А.Н. Пуятягина, Л.Б. Ким. – Текст : непосредственный // *Журнал медико-биологических исследований*. – 2016. – № 4. – С. 54-66.

45. Распространенность и факторы риска варикозной болезни в Ярославской области / М.П. Потапов, Ю.В. Новиков, И.Н. Староверов, П.П.

Потапов. – Текст : непосредственный // Флебология. – 2024. – Т.18,№3. – С.232-245.

46. Рекомбинантный человеческий катепсин Н, лишенный мини-цепи, является эндопептидазой / О.В. Васильева, М.В. Долинар, В. Турк, Б. Турк. – Текст : непосредственный // Биохимия. – 2003. – Т. 42. – С.13522–13528.

47. Ремоделирование артерий эластического типа при артериальной гипертензии. Новые диагностические подходы / Е.С. Павочкина, Н.Ф. Берестень, Н.В. Мещанкина [и др.]. – Текст : непосредственный // Медицинский алфавит. – 2017. – №2(22). – С.32-37.

48. Рецепторы к интерлейкину-4 и -13: строение, функция и генетический полиморфизм / В.Н. Минеев, Л.Н. Сорокина, В.И. Трофимов [и др.]. – Текст : непосредственный // Пульмонология. – 2010. – № 3. – С.113-119.

49. Роль генетического полиморфизма IL-13 в развитии бронхиальной астмы у детей / С.Ю. Терещенко, М.В. Смольникова, Э.В. Каспаров [и др.]. – Текст : непосредственный // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22,№ 5. – С. 907-914.

50. Роль MAP-киназных механизмов в регуляции клеточного роста / И.А. Шурыгина, М.Г. Шурыгин, Н.В. Зеленин, Г.Б. Гранина. – Текст : непосредственный // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – Т. 89,№ 6. – С. 36-40.

51. Роль цитокинов в патогенезе варикозной болезни / В.И. Головина, Е.И. Селиверстов, О.И. Ефремова, И.А. Золотухин. –Текст : непосредственный // Флебология. – 2021. – Т.15,№2. – С.117-126.

52. Роль эндотелиальной дисфункции и воспаления при хроническом заболевании вен нижних конечностей (обзор литературы) / Ю.Р. Климакова, А.С. Пшенников, В. О. Поваров, А. А. Камаев. – Текст : непосредственный // Наука молодых (Eruditio Juvenium) . – 2023. – Т. 11,№ 2. – С. 241–256.

53. Синяева, А.С. Молекулярные пути прогрессирования фиброза миокарда. Возможности терапии / А.С. Синяева, Е.В. Филиппов. – Текст :

непосредственный // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2024. – Т. 12, №3. – С.478–487.

54. Системный оксидантно-антиоксидантный статус и его связь с клеточным метаболическим профилем венозной стенки у больных варикозной болезнью нижних конечностей классов С4-С6 / Е.А. Садовская, А.А. Черемисина, О.Р. Шакиров [и др.]. – Текст : непосредственный // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. – 2023. – № 3. – С. 70-74.

55. Соколовский В.В. Тиолдисульфидная система и биоритмы / В.В. Соколовский. – Текст : непосредственный // Сборник избранных трудов IV Международного Конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». – 2006. – С.121-131.

56. Стерильное воспаление при преэклампсии и угрозе преждевременных родов / В.И. Щербаков, И.М. Поздняков, А.В. Ширинская, М.В. Волков. – Текст : непосредственный // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2022. – Т. 66, № 1. – С. 127–134.

57. Суханова, Г.А. Роль матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в развитии осложнений при заболеваниях почек у детей / Г.А. Суханова, А.А. Терентьева, Н.Н. Кувшинов. – Текст : непосредственный // Бюллетень сибирской медицины. 2015. – Т. 14, № 3. – С. 35-39.

58. Сушков, С.А. Сравнительный анализ морфологических изменений в глубоких венах при разных формах варикозной болезни / С.А. Сушков, О.Д. Мяделец, Г.Д. Коробов. – Текст : непосредственный // Флебология. 2012. – Т. 6, № 3. – С. 46-51.

59. Терегулов, Ю.Э. Изменения эластических свойств артерий и гемодинамические процессы / Ю.Э. Терегулов, С.Д. Маянская, Е.Т. Терегулова. – Текст : непосредственный // Практическая медицина. – 2017, № 2 (103). – С. 14-20.

60. Трухан, И.С. Роль лизосом в онкогенезе: акцент на деградацию внеклеточного матрикса / И.С. Трухан, Н.Н. Дремина, И.А. Шурыгина. – Текст : непосредственный // Acta Biomedica Scientifica. – 2020. – Т. 5, № 6. – С. 77-87.

61. Ультроструктурная характеристика механизмов варикозной трансформации вен различной локализации / В.В. Студенникова, Л.О. Севергина, И.А. Коровин [и др.]. – Текст : непосредственный // Архив патологии. – 2020. – Т. 82, №6. – С.16–23.
62. Фаенкова, В.П. Распад стрептокиназы под действием почечного катепсина В / В.П. Фаенкова, Т.Ф. Субботина, Л.В. Галебская. – Текст : непосредственный // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2003. – Т. 44, № 1. – С. 40-43.
63. Цвингер, С.М. Особенности цитокинового баланса у больных остеоартрозом и атеросклерозом / С.М. Цвингер, А.В. Говорин, А.М. Караченова. – Текст : непосредственный // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – №6. – С. 70-74.
64. Цистеиновские катепсины: строение, физиологические функции и их роль в канцерогенезе / Т.А. Гуреева, О.С. Тимошенко, Е.В. Кугаевская, Н.И. Соловьева. –Текст : непосредственный // Биомедицинская химия. – 2021. – Т.67, №6. – С.453-464.
65. Цитокиновый контроль процесса ангиогенеза / Е.И. Амчиславский, Д.И. Соколов, Э.А. Старикова, И.С. Фрейдлин. – Текст : непосредственный // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 5-6. – С. 493-506.
66. Цитокины и атеросклероз – новые направления исследований / С.В. Дутова, Ю.В. Саранчина, М.Р. Карпова [и др.]. – Текст : непосредственный // Бюллетень сибирской медицины. – 2018. – Т. 17, №4. – С. 199–207.
67. Чаулин, А.М. Современные представления о патофизиологии атеросклероза. Часть 1. Роль нарушения обмена липидов и эндотелиальной дисфункции (обзор литературы) / А.М. Чаулин, Ю.В. Григорьева, Д.В. Дупляков. – Текст : непосредственный // Медицина в Кузбассе. – 2020. – №2. – С. 34-41.
68. Чистяков, Д.А. Регуляторные Т-клетки при атеросклерозе и стратегии индуцирования эндогенного атеропротекторного иммунного ответа / Д.А. Чистяков, И.А. Собенин, А.Н. Орехов. – Текст : непосредственный // Immunol Lett. – 2013. – Т. 151, № 1-2. – С. 10-22.

69. Шадрина, А.С. Молекулярные механизмы развития варикозной болезни нижних конечностей / А.С. Шадрина, И.А. Золотухин, М.Л. Филипенко. – Текст : непосредственный // Флебология. – 2017. – Т. 11, № 2. – С. 71-75.

70. Шанаев, И.Н. Атипичные формы варикозной болезни вен нижних конечностей: особенности диагностики и оперативного лечения / И.Н. Шанаев, В.С. Корбут, Р.М. Хашумов. – Текст : непосредственный // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2023. – Т. 31, № 4. – С. 551-562.

71. Швальб, П.Г. Морфологические основы клинической классификации СЕАР и их терапевтическое значение / А.П. Швальб, А.Е. Качинский. – Текст : непосредственный // Флебология. – 2012. – Т. 6, № 3. – С. 10-15.

72. Швальб, П.Г. Патология венозного возврата из нижних конечностей / П.Г. Швальб, Ю.И. Ухов. – Рязань: Полиграфический комплекс «Тигель», 2009. – 152 с. – Текст : непосредственный.

73. Шварц, Я.Ш. Фиброзный процесс при атеросклерозе / Я.Ш. Шварц, Е.А. Чересиз. – Текст : непосредственный // Атеросклероз. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 57-66.

74. Шлапакова, Т. И. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии / Т. И. Шлапакова, Р. К. Костин, Е. Е. Тягунова. – Текст : непосредственный // Биоорганическая химия. – 2020. – Т. 46, № 5. – С. 466-485.

75. Экспрессия, внутриклеточная локализация и созревание цистеиновых катепсинов в эмбриональной и опухолевых культурах клеток почки / А.С. Фролова, Н.К. Тихомирова, И.И. Киреев [и др.]. – Текст : непосредственный // Биохимия. – 2023. – Т. 88, № 7. – С. 1268-1280.

76. Эндотелиальный гликокаликс в обеспечении функции сердечно-сосудистой системы / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко, В.Г. Гудымович, Т.Ю. Черняго. – Текст : непосредственный // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2020. – Т. 15, № 1. – С. 107–112.

77. Этиология и патогенез атеросклероза / А.А. Доронин, В.А. Павлина, Л.В. Сивакова, И.Л. Гуляева. – Текст : непосредственный // *European Journal of Natural History*. – 2022. – № 4. – С. 31-35.

78. Юпатова, З.Г. Изучение уровней интерлейкина-13 у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени / З.Г. Юпатова, В.А. Прищепенко. – Текст : непосредственный // *Инновации в медицине и фармации - 2020 : материалы дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, Минск, 12 октяб. 2020 г. / под ред. С. П. Рубниковича, В. Я. Хрыщановича. – Минск, 2020. – С. 514-517.*

79. Ярмолинская, М.И. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия / М.И. Ярмолинская, А.С. Молотков, В.М. Денисова. – Текст : непосредственный // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2012. – Т. 61, № 1. – С.113–125.

80. A Comprehensive Review on Varicose Veins: Preventive Measures and Different Treatments / M. Gawas, A. Bains, S. Janghu [et al.]. – Text : visual // *Journal of the American Nutrition Association*. – 2022. – Vol. 41, № 5. – P. 499–510.

81. Alonso-Herranz, L. Mechanisms of fibrous cap formation in atherosclerosis / L. Alonso-Herranz, J. Albarrán-Juárez, J.F. Bentzon. – Text : visual // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2023. – Vol. 10. – P. 1254114.

82. An emerging view on vascular fibrosis molecular mediators and relevant disorders: from bench to bed / R. Hua, H. Gao, C. He [et al.]. – Text : visual // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2023. – Vol.10. – P. 1273502.

83. An IL-13 inhibitor blocks the development of hepatic fibrosis during a T-helper type 2-dominated inflammatory response / M.G. Chiaramonte, D.D. Donaldson, A.W. Cheever, T.A. Wynn. – Text : visual // *Journal of Clinical Investigation*. – 1999. – Vol.104, № 6. – P. 777-85.

84. Barrett, A.J. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L / A.J. Barrett, H. Kirschke. – Text : visual // *Methods in Enzymology*. – 1981. – V.80. – P. 535-561.

85. Birdina, J. The morphofunctional changes in the wall of varicose veins / J. Birdina, M. Pilmane, A. Ligers. – Text : visual // *Annals of Vascular Surgery*. – 2017. – Vol. 42. – P.274–284.
86. Brunner, S.M. IL-13 signaling via IL-13R α 2 triggers TGF- β 1-dependent allograft fibrosis / S.M. Brunner, G. Schiechl, R. Kesselring. – Text : visual // *Transplantation Research*. – 2013. – Vol. 16,№ 2. – P.11.
87. Cathepsin B Activatable Fluorescent Probe for Antitumor Efficiency Feedback: Attempt To Detect Certain Apoptotic Cells / Q. Yu, D. Xu, S. Chen [et al.]. – Text : visual // *Analytical Chemistry*. – 2025. – P. 39882717.
88. Cathepsin B activity initiates apoptosis via digestive protease activation in pancreatic acinar cells and experimental pancreatitis / M. Sendler, S. Maertin, D. John [et al.]. – Text : visual // *Biological Chemistry*. – 2016. – Vol. 291,№ 28. – P. 14717–31.
89. Cathepsin B deficiency attenuates cardiac remodeling in response to pressure overload via TNF- α /ASK1/JNK pathway / Q.Q. Wu, M. Xu, Y. Yuan [et al.]. – Text : visual // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. – 2015. – Vol. 308,№ 9. – P. H1143-54.
90. Cathepsin B: Active site mapping with peptidic substrates and inhibitors / J. Schmitz, E. Gilberg, R. Löser [et al.]. – Text : visual // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2019. – Vol. 27,№ 1. – P. 1–15.
91. Cathepsin H functions as an aminopeptidase in secretory vesicles for production of enkephalin and galanin peptide neurotransmitters / W.D. Lu, L. Funkelstein, T. Toneff [et al.]. – Text : visual // *Journal of Neurochemistry*. – 2012. – Vol. 122,№ 3. – P. 512-22.
92. Cathepsin H indirectly regulates morphogenetic protein-4 (BMP-4) in various human cell lines / M. Rojnik, Z. Jevnikar, B. Mirkovic [et al.]. – Text : visual // *Radiology and Oncology*. – 2011. – Vol. 45,№ 4. – P. 259–266.
93. Cathepsin H: Molecular characteristics and clues to function and mechanism / Y. Wang, J. Zhao, Y. Gu [et al.]. – Text : visual // *Biochemical Pharmacology*. – 2023. – Vol. 212. – P. 115585.

94. Cathepsin K: The Action in and Beyond Bone / R. Dai, Z. Wu, H.Y. Chu [et al.]. – Text : visual // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2020. – Vol. 8. – P. 433.
95. Cathepsin L is significantly associated with apoptosis and plaque destabilization in human atherosclerosis / W. Li, L. Kornmark, L. Jonasson [et al.]. – Text : visual // *Atherosclerosis*. – 2009. – Vol. 202, № 1. – P. 92-102.
96. Cathepsin L of *Fasciola hepatica* meliorates colitis by altering the gut microbiome and inflammatory macrophages / J.Z. Gong, J.J. Huang, M. Pan [et al.]. – Text : visual // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2025. – Vol. 286. – P.138270.
97. Cathepsins: Proteases that are vital for survival but can also be fatal / S. Patel, A. Homaei, H.R. El-Seedi, N. Akhtar. – Text : visual // *Biomed Pharmacother*. – 2018. – Vol. 105. – P. 526–532.
98. Cellular and molecular basis of Venous insufficiency / E.S. Pocock, T. Alsaigh, R. Mazor [et al.]. – Text : visual // *Vascular Cell*. – 2014. – Vol. 6. – P. 24.
99. Cheng, X.W. The role of cysteinyl cathepsins in venous disorders / X.W. Cheng, T. Sasaki, M. Kuzuya. – Text : visual // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2014. – Vol. 112, № 1. – P. 216–218.
100. Chomarat, P. Interleukin-4 and interleukin-13: their similarities and discrepancies / P. Chomarat, J. Banchereau. – Text : visual // *International Reviews of Immunology*. – 1998. – Vol. 17, № 4. – P. 1-52.
101. Chronic Venous Insufficiency: Transforming Growth Factor- β Isoforms and Soluble Endoglin Concentration in Different States of Wound Healing / D. Ligi, L. Croce, G. Mosti [et al.]. – Text : visual // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol.18, № 10. – P. 2206.
102. Clarke, D.L. Matrix regulation of idiopathic pulmonary fibrosis: the role of enzymes / D.L. Clarke, A.M. Carruthers, T. Mustelin. – Text : visual // *Fibrogenesis Tissue Repair*. – 2013. – Vol. 20, № 6. – P. 6-10.
103. Contextual Regulation of TGF- β Signaling in Liver Cancer / S. Tu, W. Huang, C. Huang [et al.]. – Text : visual // *Cells*. – 2019. – Vol. 8. – P. 1235.

104. Corrigendum to "NLRC5 modulates phenotypic transition and inflammation of human venous smooth muscle cells by activating Wnt/ β -catenin pathway via TLR4 in varicose veins / T. Fang, S. Sun, B. Zhao [et al.]. – Text : visual // *Microvascular Research*. –2022. – Vol. 144. – P.104420.

105. C-reactive protein is a predictor for lower-extremity deep venous thrombosis in patients with primary intracerebral hemorrhage / G. Wang, B.F. Wu, W.J. Zhao [et al.]. – Text : visual // *European Journal of Medical Research*. – 2024. – Vol. 29. – P. 311.

106. Critical Role of Cathepsin L/V in Regulating Endothelial Cell Senescence / C. Li, Z. Liu, M. Chen [et al.]. – Text : visual // *Biology (Basel)*. – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 42.

107. Crystal structure of porcine cathepsin H determined at 2.1 Å resolution: Location of the mini-chain C-terminal carboxyl group defines cathepsin H aminopeptidase function / G. Guncar, M. Podobnik, J. Pungercar [et al.]. – Text : visual // *Structure*. – 1998. – Vol. 6. – P. 51–61.

108. Crystal structure of Stefin A in complex with cathepsin H: N-terminal residues of inhibitors can adapt to the active sites of endo- and exopeptidases / S. Jenko, I. Dolenc, G. Guncar [et al.]. – Text : visual // *Journal of Molecular Biology*– 2003. – Vol. 326. – P. 875–885.

109. Crystal structures of human procathepsin H / Y. Hao, W. Purtha, C. Cortesio [et al.]. – Text : visual // *PLoS One*. – 2018. – Vol.13, № 7. – P. e0200374.

110. Cysteine cathepsins and autoimmune diseases: A bidirectional Mendelian randomization / Y. Wu, Q. Li, Y. Lou [et al.]. – Text : visual // *Medicine (Baltimore)*. – 2024. – Vol. 103, № 43. – P. e40268.

111. Cysteine cathepsins and their extracellular roles: Shaping the microenvironment / E. Vidak, U. Javoršek, M. Vizovišek, B. Turk. – Text : visual // *Cells*. – 2019. – Vol. 8, № 3. – P. 264.

112. Cysteine cathepsins: cellular roadmap to different functions / K. Brix, A. Dunkhorst, K. Mayer, S. Jordans. – Text : visual // *Biochimie*. – 2008. – Vol. 90, № 2. – P. 194–207.

113. Cysteine cathepsins: From diagnosis to targeted therapy of cancer / A.E. Rot, M. Hrovatin, B. Bokalj [et al.]. – Text : visual // *Biochimie*. – 2024. – Vol. 226. – P. 10-28.
114. Cysteine cathepsins: from structure, function and regulation to new frontiers / V. Turk, V. Stoka, O. Vasiljeva [et al.]. – Text : visual // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2012. – Vol.1824,№ 1. – P.68-88.
115. Cysteine protease cathepsins in atherosclerotic cardiovascular diseases / H. Wu, Q. Du, Q. Dai [et al.]. – Text : visual // *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. – 2018. – Vol. 25,№ 2. – P. 111-123.
116. Cysteine protease cathepsins in cardiovascular disease: from basic research to clinical trials / C.L. Liu, J. Guo, X. Zhang [et al.]. – Text : visual // *Nature Reviews Cardiology*. – 2018. – Vol. 15,№ 6. – P. 351-370.
117. Cytokines and venous leg ulcer healing — a systematic review / E.A. Burian, L. Sabah, T. Karlsmark [et al.]. – Text : visual // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23,№ 12. – P. 6526.
118. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification / C. Liu, D. Chu, K. Kalantar-Zadeh [et al.]. – Text : visual // *Advanced Science*. – 2021. – Vol. 8,№ 15. – P. 2004433.
119. De Pasquale, V. Cathepsins in the Pathophysiology of Mucopolysaccharidoses: New Perspectives for Therapy / V. De Pasquale, A. Moles, L.M. Pavone. – Text : visual // *Cells*. – 2020. – Vol. 9,№ 4. – P. 979.
120. Degradation of the endothelial glycocalyx in clinical settings: searching for the sheddases / B. Becker, M. Jacob, S. Leipert [et al.]. – Text : visual // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2015. – Vol. 80,№ 3. – P. 389–402.
121. Dhanarak, N. Comparative histopathological study of the venous wall of chronic venous insufficiency and varicose disease / N. Dhanarak, B. Kanchanabat. – Text : visual // *Phlebology*. – 2016. – Vol. 31,№ 9. – P. 649–653.
122. Emerging role of interleukin-13 in cardiovascular diseases: A ray of hope / N. Qian, Y. Gao, J. Wang, Y. Wang. – Text : visual // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2021. – Vol. 25,№ 12. – P. 5351–5357.

123. Enhanced protection from fibrosis and inflammation in the combined absence of IL-13 and IFN- γ / T.R. Ramalingam, R.L. Gieseck, T.H. Acciani [et al.]. – Text : visual // *The Journal of Pathology*. – 2016. – Vol. 239, № 3. – P. 344–354.

124. Escamilla-Gil, J.M. Understanding the Cellular Sources of the Fractional Exhaled Nitric Oxide (FeNO) and Its Role as a Biomarker of Type 2 Inflammation in Asthma / J.M. Escamilla-Gil, M. Fernandez-Nieto, N. Acevedo. – Text : visual // *BioMed Research International*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 5753524.

125. Extracellular matrix remodelling in response to venous hypertension: proteomics of human varicose veins / J. Barallobre-Barreiro, R. Oklu, M. Lynch [et al.]. – Text : visual // *Cardiovascular Research Journal*. – 2016. – Vol. 110, № 3. – P. 419–430.

126. Frlan, R. Inhibitors of cathepsin B / R. Frlan, S. Gobec. – Text : visual // *Current Medicinal Chemistry*. – 2006. – Vol. 13, № 19. – P. 2309–2327.

127. Gene Expression Profile in Interleukin-4-Stimulated Human Vascular Endothelial Cells / Y.W. Lee, S.Y. Eum, K.C. Chen [et al.]. – Text : visual // *Molecular Medicine*. – 2004. – Vol. 10. – P.19–27.

128. Gwozdziński, L. Factors Influencing Venous Remodeling in the Development of Varicose Veins of the Lower Limbs / L. Gwozdziński, A. Pieniżek, K. Gwozdziński. – Text : visual // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25, № 3. – P. 1560.

129. Hershey, G.K. IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web / G.K. Hershey. – Text : visual // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2003. – Vol.111. – P. 677–690.

130. High-sensitivity C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol association with incident of cardiovascular events: Isfahan cohort study / A. Nafari, N. Mohammadifard, F. Haghghatdoost [et al.]. – Text : visual // *BMC Cardiovascular Disorders*. – 2022. – Vol. 22. – P. 241.

131. Identification of serum interleukin-13 and interleukin-13 receptor subunit expressions: Rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease / M.S. Hussein,

A.M. El-Barbary, D.W. Nada [et al.]. – Text : visual // International Journal of Rheumatic Diseases. – 2021. – Vol. 24,№ 4. – P. 591–598.

132. IL-13 and idiopathic pulmonary fibrosis: Possible links and new therapeutic strategies / G. Passalacqua, M. Mincarini, D. Colombo [et al.]. – Text : visual // Pulmonary Pharmacol Therapeutics. – 2017. – Vol. 45. – P. 95–100.

133. IL-13 augments histone demethylase JMJD2B/KDM4B expression levels, activity, and nuclear translocation in airway fibroblasts in asthma / K. Bajbouj, M.Y. Hachim, R.K. Ramakrishnan [et al.]. – Text : visual // Journal of Immunology Research. – 2021. – Vol. 2021. – P.6629844.

134. IL-13 promotes *in vivo* neonatal cardiomyocyte cell cycle activity and heart regeneration / D.J. Wodsedalek, S.J. Paddock, T.C. Wan [et al.]. – Text : visual // American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology. – 2019. – Vol. 316,№ 1. – P. H24-H34.

135. IL-13 signaling through the IL-13alpha2 receptor is involved in induction of TGF-beta1 production and fibrosis / S Fichtner-Feigl., W. Strober, K. Kawakami [et al.]. – Text : visual // Natural Medicines. – 2006. – Vol. 12,№ 1. – P. 99-106.

136. IL-13RA2 downregulation in fibroblasts promotes keloid fibrosis via JAK/STAT6 activation / H. Chao, L. Zheng, P. Hsu [et al.]. – Text : visual // JCI Insight. – 2023. – Vol. 8,№ 6. – P. e157091.

137. IL-4 and IL-13 employ discrete signaling pathways for target gene expression in alternatively activated monocytes/macrophages / A. Bhattacharjee, M. Shukla, V.P. Yakubenko [et al.]. – Text : visual // Free Radical Biology and Medicine. – 2013. – Vol. 54. – P. 1–16.

138. IL-4 and IL-13 induce equivalent expression of traditional M2 markers and modulation of reactive oxygen species in human macrophages / T.E. Scott, C.V. Lewis, M. Zhu [et al.]. – Text : visual // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13,№ 1. – P. 19589.

139. IL-4 and IL-13 receptors: Roles in immunity and powerful vaccine adjuvants / C. Ranasinghe, S. Trivedi, D.K. Wijesundara, R.J. Jackson. – Text : visual // Cytokine and Growth Factor Reviews. – 2014. – Vol. 25,№ 4. – P. 437–442.

140. Increased levels of lysosomal cysteinyl cathepsins in human varicose veins: A histology study / N. Xu, Y.Y. Zhang, Y. Lin [et al.]. – Text : visual // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2014. – Vol. 111, № 2. – P. 333–44.

141. Influence of thrombophlebitis on TGF- β 1 and it's signaling pathway in the vein wall / R. Kowalewski, A. Malkowski, M. Gacko, K. Sobolewski. – Text : visual // *Folia Histochemica et Cytobiologica*. – 2010. – Vol. 48, № 4. – P. 542-8.

142. Interleukin Profiling in Atopic Dermatitis and Chronic Nodular Prurigo / H. Wiegmann, L. Renkhold, C. Zeidler [et al.]. – Text : visual // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. – Vol. 25, № 15. – P. 8445.

143. Interleukin-13 as an important cytokine: A review on its roles in some human diseases / N. Seyfizadeh, N. Seyfizadeh, T. Gharibi, Z. Babaloo. – Text : visual // *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. – 2015. – Vol. 62, № 4. – P. 341–378.

144. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses / A. Minty, P. Chalon, J.M. Derocq [et al.]. – Text : visual // *Nature*. – 1993. – Vol. 362(6417). – P. 248-50.

145. Interleukin-13: A promising therapeutic target for autoimmune disease / Y.M. Mao, C.N. Zhao, J. Leng [et al.]. – Text : visual // *Cytokine and Growth Factor Reviews*. – 2019. – Vol. 45. – P. 9–23.

146. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : Receptors, functions, and roles in diseases / M. Akdis, S. Burgler, R. Cramer [et al.]. – Text : visual // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2011. – Vol. 127, № 3. – P. 701–721.

147. Iwazsko, M. Significance of interleukin (IL)-4 and IL-13 in inflammatory arthritis / M. Iwazsko, S. Biały, K. Bogunia-Kubik. – Text : visual // *Cells*. – 2021. – Vol.10, № 11. – P. 3000.

148. Junttila, I.S. Tuning the cytokine responses: An update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes / I.S. Junttila. – Text : visual // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 888.

149. Key Regulators of Angiogenesis and Inflammation Are Dysregulated in Patients with Varicose Veins / D. Zalewski, P. Chmiel, P. Kołodziej [et al.]. – Text :

visual // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, № 12. – P. 6785.

150. Kolosova, I. Role of Smad2/3 and p38 MAP kinase in TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition of pulmonary epithelial cells / I. Kolosova, D. Nethery, J.A. Kern. – Text : visual // Journal of Cellular Physiology. – 2011. – Vol. 226, № 5. – P.1248-54.

151. Korenč, M. Human cathepsin L, a papain-like collagenase without proline specificity / M. Korenč, B. Lenarčič, M. Novinec. – Text : visual // Journals - FEBS. – 2015. – Vol. 282, № 22. – P. 4328–4340.

152. Labropoulos, N. How does chronic venous disease progress from the first symptoms to the advanced stages? A review / N. Labropoulos. – Text : visual // Advances in therapy. – 2019. – Vol. 36, № 1. – P. 13–19.

153. Lan, T.H. Vascular fibrosis in atherosclerosis / T.H. Lan, X.Q. Huang, H.M. Tan. – Text : visual // Cardiovascular Pathology. – 2013. – Vol. 22, № 5. – P. 401-7.

154. Li, Z.Y. Contribution of tissue transglutaminase to the severity of hepatic fibrosis resulting from Schistosoma japonicum infection through the regulation of IL-33/ST2 expression / Z.Y. Li, L. Xiao, G. Lin. – Text : visual // Parasites Vectors. – 2019. – Vol.12. – P. 302.

155. Libby, P. Inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis / P. Libby. – Text : visual // Vascular Pharmacology. – 2024. – Vol. 154. – P. 107255.

156. Lim, C.S. Pathogenesis of primary varicose veins / C.S. Lim, A.H. Davies. – Text : visual // British Journal of Surgery. – 2009. – Vol. 96, № 11. – P. 1231-42.

157. Low IL-13R α 1 expression on mast cells tunes them unresponsive to IL-13 / T. Salomaa, L. Kummola, M.I. González-Rodríguez [et al.]. – Text : visual // Journal of Leukocyte Biology. – 2023. – Vol.114, № 2. – P. 187-194.

158. Malavia, N.K. IL-13 induces a bronchial epithelial phenotype that is profibrotic / N.K. Malavia, J.D. Mih, C.B. Raub. – Text : visual // Respiratory Research. – 2008. – Vol. 27. – P. 18348727.

159. Matrix metalloproteinase-10 deficiency delays atherosclerosis progression and plaque calcification / A. Purroy, C. Roncal, J. Orbe [et al.]. – Text : visual // *Atherosclerosis*. – 2018. – Vol. 278. – P. 124-134.

160. Mechanisms of sterile inflammation / A. Rubartelli, M.T. Lotze, E. Latz, A. Manfredi. – Text : visual // *Frontiers in Immunology*. – 2013. – Vol. 4. – P. 398.

161. Meng, X.M. TGF- β : the master regulator of fibrosis / X.M. Meng, D.J. Nikolic-Paterson, H.Y. Lan. – Text : visual // *Nature Reviews Nephrology*. – 2016. – Vol. 12, № 6. – P. 325-38.

162. Michel, J.B. Anoikis in the cardiovascular system: known and unknown extracellular mediators / J.B. Michel. – Text : visual // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biolog.* – 2003. – Vol. 23, № 12. – P. 2146–2154.

163. Mori, S. Neuroimmunology of the Interleukins 13 and 4 / S. Mori, P. Maher, B. Conti. – Text : visual // *Brain Sciences*. – 2016. – Vol. 6, № 2. – P. 18.

164. NADPH oxidase-dependent free radical generation and protein adduct formation in neutrophils / R.R. Manoharan, K. Zachová, M. Buzáš [et al.]. – Text : visual // *RSC Advances*. – 2024. – Vol. 14, № 34. – P. 24765-24780.

165. Naoum, J.J. Pathogenesis of varicose veins and implications for clinical management / J.J. Naoum, G.C. Hunter. – Text : visual // *Vascular*. – 2007. – Vol. 15, № 5. – P. 242–249.

166. New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis / H.H. Hu, D.Q. Chen, Y.N. Wang [et al.]. – Text : visual // *Chemico-Biological Interactions*. – 2018. – Vol. 292. – P. 76-83.

167. New role for interleukin-13 receptor α 1 in myocardial homeostasis and heart failure / U. Amit, D. Kain, A. Wagner [et al.]. – Text : visual // *Journal of the American Heart Association*. – 2017. – Vol. 6, № 5. – P. 005108.

168. O'Reilly, S. Role of interleukin-13 in fibrosis, particularly systemic sclerosis / S. O'Reilly. – Text : visual // *Biofactors*. – 2013. – Vol. 39, № 6. – P. 593–596.

169. Overview of multifunctional cysteinyl cathepsins in atherosclerosis-based cardiovascular disease: from insights into molecular functions to clinical implications /

X.W. Cheng, M. Narisawa, H. Wang, L. Piao. – Text : visual // Cell Biology. – 2023. – Vol. 13, № 1. – P. 91.

170. p38 MAPK activity is associated with the histological degree of interstitial fibrosis in IgA nephropathy patients / J. Lee, J.N. An, J.H. Hwang [et al.]. – Text : visual // PLoS One. – 2019. – Vol.14, № 3. – P. e0213981.

171. Pathogenesis of varicose veins — lessons from biomechanics / L. Pfisterer, G. König, M. Hecker, T. Korff. – Text : visual // Vasa. – 2014. – Vol. 43, № 2. – P. 88–99.

172. Pathophysiology of varicose veins / B.N. Jacobs, E.A. Andraska, A.T. Obi, T.W. Wakefield. – Text : visual // Journal of Vascular Surgery Venous and Lymphatic Disorders. – 2017. – Vol. 5, № 3. – P. 460–467.

173. pH Dependence of inhibitors targeting the occluding loop of cathepsin B / B.E. Cathers, C. Barrett, J.T. Palmer, R.M. Rydzewski. – Text : visual // Bioorganic Chemistry. – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 264-75.

174. Porphyromonasgingivalis Gingipains Induce Cyclooxygenase-2 Expression and Prostaglandin E Production via ERK1/2-Activated AP-1 (c-Jun/c-Fos) and IKK/NF- κ B p65 Cascades / M. Nakayama, M. Naito, K. Omori [et al.]. – Text : visual // Journal of Immunology. – 2022. – Vol. 208, № 5. – P. 1146-1154.

175. Propper, D.J. Harnessing cytokines and chemokines for cancer therapy / D.J. Propper, F.R. Balkwill. – Text : visual // Nature Reviews Clinical Oncology. – 2022. – Vol. 19, № 4. – P. 237-253.

176. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress / I. Dalle-Donnea, R. Rossi, D. Giustarini [et al.]. – Text: visual // Clinica Chimica Acta. – 2003. – Vol.329. – P. 23-38.

177. Proteomic identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part I: creatine kinase BB, glutamine synthase, and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L-1 / A. Castegna, M. Aksenov, M. Aksenova [et al.]. – Text : visual // Free Radical Biology and Medicine. – 2002. – Vol. 33. – P. 562-571.

178. Qin, Y. Cysteinyl cathepsins and mast cell proteases in the pathogenesis and therapeutics of cardiovascular diseases / Y. Qin, G.P. Shi. – Text : visual // Pharmacology and Therapeutics. – 2011. – Vol. 131, № 3. – P. 338–350.

179. Quantitative proteomics analysis of varicose veins: Identification of a set of differentially expressed proteins related to ATP generation and utilization / C.J. Kuo, S.S. Liang, E. Hsi [et al.]. – Text : visual // The Kaohsiung Journal of Medical Sciences. – 2013. – Vol. 29, № 11. – P. 594–605.

180. Raetz, J. Varicose veins: Diagnosis and treatment / J. Raetz, M. Wilson, K. Collins. – Text : visual // American Family Physician. – 2019. – Vol. 99, № 11. – P. 682–688.

181. Raffetto, J.D. Mechanisms of lower extremity vein dysfunction in chronic venous disease and implications in management of varicose veins / J.D. Raffetto, R.A. Khalil. – Text : visual // Vessel Plus. – 2021. – Vol. 5. – P. 36.

182. Raffetto, J.D. Pathophysiology of chronic venous disease and venous ulcers / J.D. Raffetto. – Text : visual // Surgical Clinics of North America. – 2018. – Vol. 98, № 2. – P. 337–347.

183. Reduced Cathepsin L expression and secretion into the extracellular milieu contribute to lung fibrosis in systemic sclerosis / J.E. Mouawad, S. Sharma, L. Renaud [et al.]. – Text : visual // Rheumatology (Oxford). – 2023. – Vol. 62, № 3. – P. 1306–1316.

184. Regulation and function of the interleukin 13 receptor alpha 2 during a T helper cell type 2-dominant immune response / M.G. Chiaramonte, M. Mentink-Kane, B.A. Jacobson [et al.]. – Text : visual // Journal of Experimental Medicine. – 2003. – Vol. 197, № 6. – P. 687–701.

185. Relationship between cathepsins and cardiovascular diseases: a Mendelian randomized study / Q. Li, Z. Zhou, T. Xu [et al.]. – Text : visual // Frontiers in Pharmacology. – 2024. – Vol. 15. – P. 1370350.

186. RNY3 modulates cell proliferation and IL13 mRNA levels in a T lymphocyte model: a possible new epigenetic mechanism of IL-13 regulation / M.

Estravís, A. García-Sánchez, M.J. Martín [et al.]. – Text : visual // Journal of Physiology and Biochemistry. – 2023. – Vol. 79, № 1. – P. 59-69.

187. Role of lysosomes in physiological activities, diseases, and therapy / Z. Zhang, P. Yue, T. Lu [et al.]. – Text : visual // Journal of Hematology & Oncology. – 2021. – Vol. 14. – P. 79.

188. ROS signaling in innate immunity via oxidative protein modifications / R.R. Manoharan, A. Prasad, P. Pospíšil, J. Kzhyshkowska. – Text : visual // Frontiers in immunology. – 2024. – Vol.15. – P.1359600.

189. Shi, X. A humanized antibody inhibitor for cathepsin L / X. Shi, Y. Zhang. – Text : visual // Protein Science. – 2020. – Vol. 29, № 9. – P. 1924–1930.

190. Singh, S. A simple purification procedure of buffalo lung cathepsin H, its properties and influence of buffer constituents on the enzyme activity / S. Singh, S. Sharma, S.K. Agarwal. – Text : visual // Biochemistry and Biophysics Reports. – 2020. – Vol. 22. – P. 100739.

191. Spatial localization of cathepsins: Implications in immune activation and resolution during infections / E. Anes, D. Pires, M. Mandal, J.M. Azevedo-Pereira. – Text : visual // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 13. – P. 955407.

192. Structure-based discovery and redesign of TGF- β 1 Elbow epitope recognition by its type-II receptor in hypertrophic scarring biotherapy / X. Chen, H. Wang, S. Yang [et al.]. – Text : visual // Journal of Molecular Recognition. – 2021. – Vol. 34, № 4. – P. e2881.

193. Study of association of varicose veins and inflammation by inflammatory markers / S.K. Tiwary, A. Kumar, S.P. Mishra [et al.]. – Text : visual // Phlebology. – 2020. – Vol. 35, № 9. – P. 679–685.

194. Suppressed networks of inflammatory mediators characterize chronic venous insufficiency / U. Sachdev, L. Vodovotz, J. Bitner [et al.]. – Text : visual // Journal of Vascular Surgery Venous and Lymphatic Disorders. – 2018. – Vol. 6, № 3. – P. 358–366.

195. Terabe, M. Role of IL-13 in regulation of anti-tumor immunity and tumor growth / M. Terabe, J.M. Park, J.A. Berzofsky. – Text : visual // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. – 2004. – Vol. 53, № 2. – P. 79-85.

196. TGF- β /SMAD Pathway and Its Regulation in Hepatic Fibrosis / F. Xu, C. Liu, D. Zhou, L. Zhang. – Text : visual // *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. – 2016. – Vol. 64, № 3. – P. 157-67.

197. TGF- β 1 in Vascular Wall Pathology: Unraveling Chronic Venous Insufficiency Pathophysiology / P. Serralheiro, A. Soares, C.M. Costa Almeida, I. Verde. – Text : visual // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017. – Vol. 18, № 12. – P. 2534.

198. The impact of cathepsins on liver hepatocellular carcinoma: Insights from genetic and functional analyses / Q. Liu, J. Chen, Y. Liu [et al.]. – Text : visual // *Gene*. – 2025. – Vol. 935. – P. 149064.

199. The ins and outs of cathepsins: Physiological function and role in disease management / T. Yadati, T. Houben, A. Bitorina, R. Shiri-Sverdlov. – Text : visual // *Cells*. – 2020. – Vol. 9, № 7. – P. 1679.

200. The Intriguing Role of Interleukin 13 in the Pathophysiology of Asthma / G. Marone, F. Granata, V. Pucino [et al.]. – Text : visual // *Frontiers in Pharmacology*. – 2019. – Vol.10. – P. 1387.

201. The key role of lysosomal protease cathepsins in viral infections / M. Scarcella, D. d'Angelo, M. Ciampa [et al.]. – Text : visual // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 16. – P. 9089.

202. The refined 2.15 Å X-ray crystal structure of human liver cathepsin B: The structural basis for its specificity / D. Musil, D. Zucic, D. Turk [et al.]. – Text : visual // *EMBO Journal*. – 1991. – Vol.10. – P. 2321–2330.

203. The related cytokines interleukin-13 and interleukin-4 are distinguished by differential production and differential effects on T lymphocytes / A. Minty, S. Asselin, A. Bensussan [et al.]. – Text : visual // *European Cytokine Network*. – 1997. – Vol. 8, № 2. – P. 203-13.

204. The Role of Cysteine Protease Cathepsins B, H, C, and X/Z in Neurodegenerative Diseases and Cancer / V. Stoka, O. Vasiljeva, H. Nakanishi, V. Turk. – Text : visual // International Journal Of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 21. – P. 15613.

205. The role of endothelial dysfunction and inflammation in chronic venous disease / R. Castro-Ferreira, R. Cardoso, A. Leite-Moreira, A. Mansilha. – Text : visual // Annals of Vascular Surgery. – 2018. – Vol. 46. – P. 380–393.

206. The Role of Interleukin-13 in Patients with Rheumatic Valvular Fibrosis: A Clinical and Histological Study / Q. Liu, W.H. Qiao, F.F. Li [et al.]. – Text : visual // Journal of heart valve disease. – 2015. – Vol. 24, № 4. – P. 496-501.

207. Transforming growth factor- β increases interleukin-13 synthesis via GATA-3 transcription factor in T-lymphocytes from patients with systemic sclerosis / J. Baraut, D. Farge, F. Jean-Louis [et al.]. – Text : visual // Arthritis Research and Therapy. – 2015. – Vol. 17, № 1. – P.196.

208. Transgenic modeling of interleukin-13 in the lung / J.A. Elias, T. Zheng, C.G. Lee [et al.]. – Text : visual // Chest. – 2003. – Vol. 123, №3 (Suppl). – P. 339S-45S.

209. Understanding Chronic Venous Disease: A Critical Overview of Its Pathophysiology and Medical Management / M.A. Ortega, O. Fraile-Martínez, C. García-Montero [et al.]. – Text : visual // Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10, № 15. – P. 3239.

210. Van Niel G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles / G. Van Niel, G. D'Angelo, G. Raposo. – Text : visual // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2018. – Vol.19. – P. 213–28.

211. Varicose veins show enhanced chemokine expression / R. SoláLdel, M. Aceves, A.I. Dueñas [et al.]. – Text : visual // European Journal of Vascular and Endovascular Surgery. – 2009. – Vol. 38, № 5. – P. 635–641.

212. Vascular-Parenchymal Cross-Talk Promotes Lung Fibrosis through BMP2 Signaling / T. Yanagihara, K. Tsubouchi, Q. Zhou [et al.]. – Text : visual // American

Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2023. – Vol. 207, № 11. – P. 1498-1514.

213. Vizovišek, M. Cysteine cathepsins in extracellular matrix remodeling: Extracellular matrix degradation and beyond / M. Vizovišek, M. Fonović, B. Turk. – Text : visual // Matrix Biology. – 2019. – Vol. 75-76. – P. 141-159.

214. Wang, L. Interleukin-13 contributes to the occurrence of oral submucosal fibrosis / L. Wang, Z. Tang, J. Huang. – Text : visual // Journal of Cellular and Molecular Medicine. – 2023. – Vol. 27, № 13. – P. 1797–1805.

215. Weiskirchen, R. Organ and tissue fibrosis: Molecular signals, cellular mechanisms and translational implications / R. Weiskirchen, S. Weiskirchen, F. Tacke. – Text : visual // Molecular Aspects of Medicine. – 2019. – Vol. 65. – P. 2-15.

216. What is the relationship of varicose vein pathogenesis with collagen fibers? / S. Kocarslan, A. Kocarslan, A. Doganer, A. Yasim. – Text : visual // Nigerian Journal of Clinical Practice. – 2022. – Vol. 25, № 3. – P. 304–309.

217. Wilson, M.S. Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation / M.S. Wilson, T.A. Wynn. – Text : visual // Mucosal Immunology. – 2009. – Vol. 2, № 2. – P. 103-21.

218. Wolters, P.J. Importance of lysosomal cysteine proteases in lung disease / P.J. Wolters, H.A. Chapman. – Text : visual // Respiratory Research. – 2000. – Vol. 1. – P. 9.

219. Xiang, P. Smooth Muscle Cell—Macrophage Interactions Leading to Foam Cell Formation in Atherosclerosis: Location, Location, Location / P. Xiang, V. Blanchard, G.A. Francis. – Text : visual // Frontiers in Physiology. – 2022. – Vol.13. – P. 921597.

220. Zhao C.F. The function of cathepsins B, D, and X in atherosclerosis / C.F. Zhao, D.M. Herrington. – Text : visual // American Journal of Cardiovascular Disease. – 2016. – Vol. 6, № 4. – P.163-170.