
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2014
УДК: 616.14-007.64, 575.113

**АССОЦИАЦИИ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕМОСТАЗА
ПОСЛЕ ЭНДОВЕНОЗНОЙ ЛАЗЕРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ
С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ПОЛИМОРФИЗМАМИ**

Т.Н. ИСАЕВА¹, К.С. СЕВОСТЬЯНОВА^{1,2}, Ю.В. СЕРЯПИНА²,
А.И. ШЕВЕЛА^{1,2}, В.В. МОРОЗОВ²

Новосибирский национальный исследовательский государственный
университет», г. Новосибирск (1)
Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск (2)

**ASSOCIATIONS OF CHANGES IN HAEMOSTASIS AFTER ENDOVENOUS
LASER TREATMENT WITH GENETIC POLYMORPHISMS**

T.N. ISAEVA, K.S. SEVOSTYANOVA, Y.V. SERYAPINA,
A.I. SHEVELA, V.V. MOROZOV

Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk (1)
Institute of chemical biology and fundamental medicine Siberian branch
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk (2)

Обследовано 50 пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей на предмет наличия маркеров врожденной тромбофилии и по состоянию гемостаза крови в до и послеоперационном периоде после эндовенозной лазерной коагуляции. Была выявлена ассоциация некоторых генетических полиморфизмов с послеоперационными изменениями гемостаза, что может помочь персонализировать тактику антикоагулянтной терапии после эндовенозных вмешательств.

Ключевые слова: варикозная болезнь нижних конечностей, эндовенозная лазерная коагуляция, венозный тромбоз, гемостаз, генетический анализ.

We examined 50 patients with a varicose disease. It was made the analysis of markers of a congenital thrombophilia and haemostasis before and after afterendovenous laser treatment. The association of some genetic polymorphisms with postoperative changes of a haemostasis was revealed. It can help to personalize tactics of anticoagulation therapy after the endovenous interventions

Keywords: varicose disease, endovenous laser treatment, venous thrombosis, haemostasis, genetic analysis.

Введение

Варикозная болезнь нижних конечностей достаточно широко распространена в современном мире и является важной медицинской и социальной проблемой [4, 5, 6]. Среди современных направлений лечения пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей особое место занимают малоинвазивные аппаратные методы, основанные на высокоэнергетических воздействиях на стенку венозного сосуда. Одним из таких методов является эндовенозная лазерная коагуляция (ЭВЛК).

Поскольку вследствие лазерного воздействия на стенку вены формируется протяженный окклюзивный тромб, который в дальнейшем подвергается вместе с веной фиброзной трансформации, то существует риск неконтролируемого распространения процесса тромбообразования [3, 7]. В различных исследованиях об изменениях в системе гемостаза после ЭВЛК есть отдельные

сведения по изменению концентрации в периферической крови Д-димера, С-реактивного белка, антитромбина III, РФМК, фибриногена, фактора фон Виллебранда, плазминогена, Р-селектина в послеоперационном периоде. На данный момент известны основные аллельные полиморфизмы, ответственные за возникновение тромбозов.

Цель исследования

Получение дополнительных данных о распространенности аллельных вариантов генов системы гемостаза и степени риска развития тромбоза в случае их носительства и также о степени увеличения риска в присутствии дополнительных факторов (варикозная болезнь, ЭВЛК) позволит расширить применение методов персонализированной и предиктивной медицины, усовершенствовать лечебно-диагностические алгоритмы, дифференцированно подходить к лечению и профилактике осложнений у подобных пациентов [1, 2].

Материалы и методы

Проведено обследование 50 пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей. В основную группу исследования включены 17 мужчин (34%) и 33 женщины (66%), в возрасте от 21 до 73 лет, средний возраст составил 45 лет. У 41 пациента выявлена варикозная болезнь нижних конечностей клинического класса С2 (СЕАР), у 4 пациентов – С3 (СЕАР) и у 5 пациентов – С4 (СЕАР). Всем пациентам было проведено эндовенозное лазерное вмешательство. В послеоперационном периоде всем пациентам проводилась профилактика ранних тромботических осложнений (клексан 0,2 мл 1 раз в день 5 суток).

Всем пациентам перед оперативным вмешательством был произведен забор периферической венозной крови для оценки параметров периферического гемостаза (АПТВ, ТВ, фибриноген, РФМК, д-димер) и для диагностики полиморфизмов генов системы гемостаза (FV, ProthFII, FVII, FXII, FGB, PAI-1, PLAT). Для оценки изменений параметров периферического гемостаза в 1, 3 и 7 сутки после операции производились повторные заборы крови.

Контроль возникновения тромботических осложнений на 2 сутки после операции осуществлялся методом ультразвукового дуплексного ангиосканирования с цветным доплеровским картированием. Во время исследования оценивались следующие

показатели: проходимость глубоких и подкожных вен, наличие/отсутствие тромбомасс в просвете сосудов, диаметр сосудов, состояние клапанного аппарата, наличие/отсутствие патологического рефлюкса в области клапанов магистральных и перфорантных вен, а также состояние участка вены в зоне лазерного воздействия, протяженность образовавшегося тромба, характеристика стенки вены, окклюзии, наличие или отсутствие кровотока, состояние паравазальных тканей.

Статистическая значимость отличий оценивалась по критерию Манна-Уитни методом χ^2 для несвязанных выборок с двусторонней вероятностью различия показателей. Частоты встречаемости аллелей и генотипов определяли прямым подсчетом. Расчет показателя отношения шансов (OR – oddsratio) с 95% доверительным интервалом (CI – confidenceinterval) и р-значения проводилась с помощью онлайн-калькулятора: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

Результаты и их обсуждение

При оценке параметров гемостаза в дооперационном и ближайшем послеоперационном периоде после ЭВЛК у пациентов с варикозной болезнью были получены следующие результаты. Наблюдается повышение содержания РФМК на 30% ($p < 0,05$) в 1-е сутки по сравнению с дооперационным периодом с тенденцией к дальнейшей нормализации показателей к 7-м суткам (рис. 1). Изна-

начально у всех пациентов завышены значения этого показателя относительно референсных.

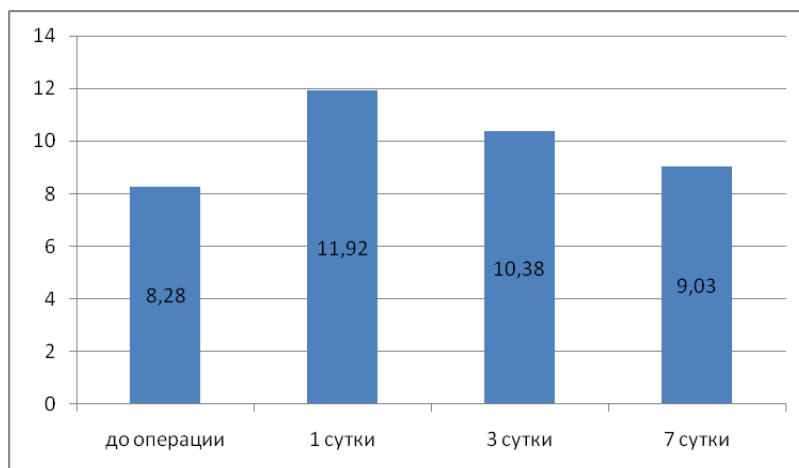


Рис. 1. Динамика изменения концентрации РФМК в плазме периферической крови в послеоперационном периоде у пациентов с ВБ. (Норма 3,38-4,5 мг)

Различия концентрации фибриногена до оперативного вмешательства и на 1-е сутки после ЭВЛК не выявлены. Достоверно увеличение содержания фибриногена в плазме крови на 16% ($p < 0,01$) на 3 сутки после ЭВЛК по

сравнению с 1-ми сутками и на 18% ($p < 0,01$) на 7-е сутки (рис. 2). Стоит отметить, что все отклонения находятся в пределах нормы, что может быть объяснено фактом проведения антикоагулянтной терапии.

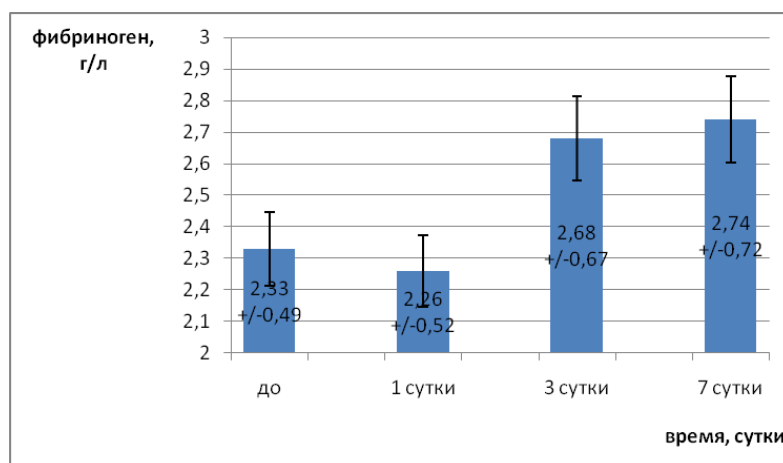


Рис. 2. Динамика изменения концентрации фибриногена в крови у пациентов с ВБ в послеоперационном периоде ЭВЛК. (Референс-значения 1,8-3,5 г/л.)

В послеоперационном периоде, начиная с первых суток, наблюдается постепенное снижение показателей тромбинового времени с возвращением значения к первоначальному уровню на 7-е сутки. ТВ на 3 сутки на 7%

($p < 0,05$) меньше, чем в дооперационном периоде и на 7 сутки после операции ЭВЛК (рис. 3). Однако средние значения показателя как до проведения оперативного вмешательства, так и после выше лабораторной нормы.

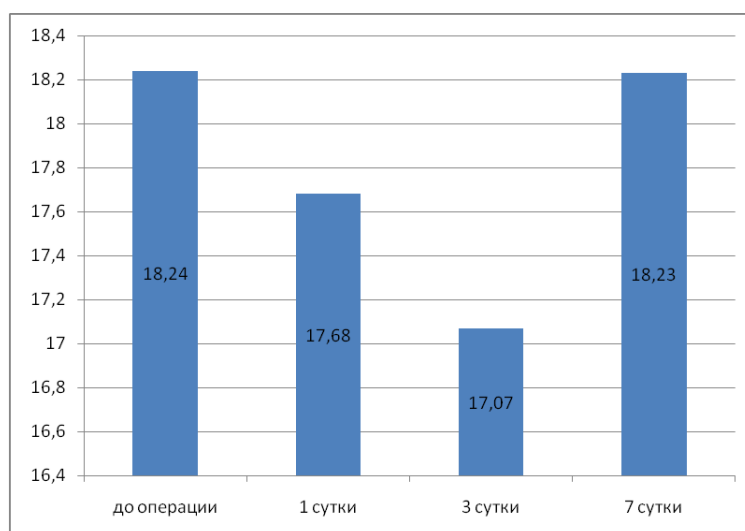


Рис. 3. Динамика изменения ТВ (тромбинового времени) у пациентов с варикозной болезнью в послеоперационном периоде. (Референс-значения 8-13 сек.)

Не было выявлено различий показателя АЧТВ в сроки до оперативного вмешательства и на первые сутки после. Далее наблюдается тенденция к постепенному удлинению активированного частичного тромбопластинового времени. И к 7-м суткам АЧТВ достоверно удлиняется на 9% ($p < 0,01$) по сравнению с дооперационным периодом и 1 сутками после операции (рис. 4). Изменение данного параметра превышает норму на 3-и и 7-е сутки после-

операционного периода, тогда как до вмешательства и в 1-е сутки находится в пределах референс-значений.

У части пациентов определено незначительное повышение показателей Д-димера еще до операции. В 1-е сутки у большинства происходит скачек данного показателя. Далее происходит постепенное снижение концентрации Д-димера в плазме крови у части пациентов (рис. 5). Однако этот маркер может быть повышен еще длительное время

после вмешательства, что связано с механизмом ЭВЛК, который предполагает устранение патологического рефлюкса

путем тромбирования и дальнейшей фиброзной окклюзии вены.

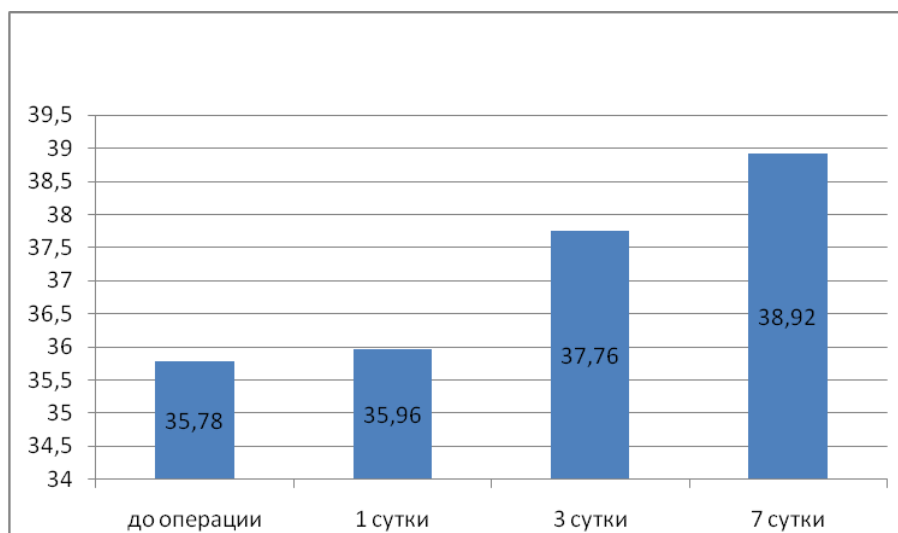


Рис. 4. Динамика изменения АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время) у пациентов после проведения ЭВЛК. (Референс-значения 26-36 сек.)

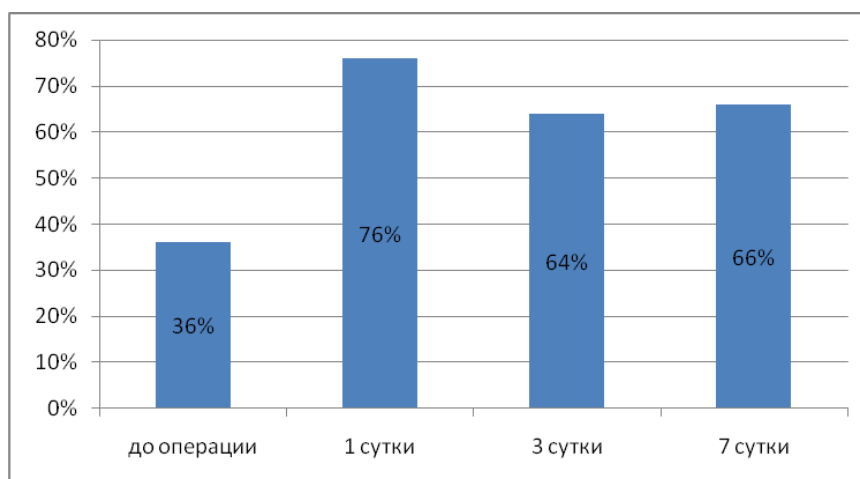


Рис. 5. Количественная оценка числа пациентов с завышенными значениями концентрации Д-димера в плазме крови в послеоперационном периоде ЭВЛК. (Норма <0,5 мкг/мл.)

В обследованной группе пациентов с варикозной болезнью не было выявлено ни одного пациента с полиморфизмом 20210А гена II фактора свертывания, все исследованные образцы имели «дикий» генотип G/G. Мутация Лейден (1691 А), V фактора свертывания) в гетерозиготном состоянии была выявлена у 1 па-

циента, остальные имели «дикий» генотип 1691 G/G. Соответственно, статистический анализ ассоциации данных генотипов с изменениями в параметрах гемостаза крови выполнено не было. Распределение других исследованных генотипов в группе пациентов представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение встречаемости полиморфных вариантов генов FVI, FXII, FGB, PAI-1, PLAT в группе пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей

Ген	Генотип	Количество пациентов
FVII (10976 G->A) коагуляционный фактор	G/G	22
	G/A	15
	A/A	1
FXII (46 C->T) коагуляционный фактор	C/C	22
	C/T	23
	T/T	5
FGB (455 G->A) Фибриноген-β-пептид	G/G	37
	G/A	11
	A/A	1
PAI-1 (675 5G/4G) Ингибитор активатора плазминогена	5G/5G	7
	5G/4G	16
	4G/4G	14
PLAT (7351 C->T) тканевой активатор плазминогена	C/C	26
	C/T	16
	T/T	6

Увеличенное содержания фибриногена в плазме крови на 13% ($p < 0,05$) в дооперационном периоде у пациентов с мутантным полиморфизмом 455 G->A гена фибриногена отно-

сительно пациентов с нормальным генотипом G/G. Различия в показателях этого параметра для остальных генов не достоверны, прослеживается тенденция к большему содержанию

фибриногена у пациентов с наличием полиморфного аллеля С(46 С->Т) FXIIкоагуляционного фактора до оперативного вмешательства и в 1-е сутки после ЭВЛК.

Достоверные различия концентрации РФМК в крови у пациентов с различными генотипами не выявлены. У всей группы есть повышение данного параметра на 1-е сутки после операции разной степени выраженности. Исключение составляют пациенты с нормальным генотипом 5G/5G(675 5G/4G) гена PAI-1, у них прослеживается постепенное снижение концентрации РФМК в послеоперационном периоде по сравнению со значением до ЭВЛК.

Длительность тромбинового времени у пациентов с различными генотипами снижена на 3 сутки после операции и возвращается к первоначальному значению на 7 сутки. У пациентов с генотипом 5G/5G гена PAI-1(675 5G/4G) значение ТВ до операции ниже, чем у всех остальных. А затем постепенно повышается и приближается к среднему для всей группы к 7 суткам после ЭВЛК.

Достоверно удлинение АЧТВ на 19% ($p < 0,05$) у пациентов с мутацией Лейден гена FV (G1691A) или мутантным полиморфизмом FXII (C46T). Также достоверно увеличение АЧТВ на 12% ($p < 0,05$) у пациентов с гомозиготным генотипом А/А по гену FVII (G10976A). Остальные значения данного показателя достаточно однородны.

Шансы повышения Д-димера в 1 сутки после операции в $4,5 \pm 2,1$ ($p < 0,05$) раза выше у пациентов с мутантным полиморфизмом 455 G->A гена фибриногена. Также чаще происходит скачек этого показателя в 1 сутки после операции у пациентов с мутантным полиморфизмом в гетерозиготном состоянии 5G/4G гена PAI-1(675 5G/4G), однако величина выборки не позволяет считать эти данные достоверными. У всех остальных пациентов равновероятно происходит увеличение концентрации Д-димера в плазме периферической крови сразу после ЭВЛК с тенденцией к сохранению его уровня в течение всего срока наблюдения.

Таким образом, в ходе исследования было выявлено, что у пациентов с варикозной болезнью после проведения эндовенозной лазерной коагуляции наблюдаются определенные изменения в системе гемостаза крови, и в некоторых ситуациях они коррелируют с генетическими особенностями пациентов.

Увеличение содержания РФМК в 1-е сутки после операции по сравнению с дооперационным периодом с тенденцией к дальнейшей нормализации показателей к 7 суткам можно расценить как явления о тромбинемии и склонности к внутрисосудистому свертыванию крови сразу после проведения процедуры ЭВЛК. Проводимая антикоагулянтная терапия не влияет на данный тест, что дает возмож-

ность считать данные результаты значимыми в предиктивной диагностике возможных ранних тромботических осложнений.

Изменения концентрации фибриногена в плазме крови на 3-и и 7-е сутки после ЭВЛК по сравнению с 1-ми говорит не только о нарушениях в системе гемостаза, но и о возможной воспалительной или острофазовой реакции на оперативное вмешательство. Стоит отметить, что все значения фибриногена находятся в пределах нормы, что объясняется проводимой профилактической антикоагулянтной терапией. Однако уже в дооперационном периоде пациенты с мутантным полиморфизмом А гена FGB (455 G/A), имеют повышенный уровень фибриногена в плазме крови, что позволяет отнести их к группе повышенного риска послеоперационных тромботических.

Тромбиновое время уменьшается на 1-е и 3-и сутки после процедуры ЭВЛК, не смотря на проводимую антикоагулянтную терапию низкомолекулярными гепаринами. Такая реакция может быть обусловлена гиперфибриногемией. Увеличение данного показателя до первоначального значения на 7-е сутки после операции связано с повышенным содержанием в плазме продуктов деградации фибриногена. И свидетельствует об активации фибринолитической системы в ответ на образование тромба в месте лазерного воздействия.

Удлинение АЧТВ на 7-е сутки по сравнению с дооперационным периодом говорит о расходе факторов свертывания XII, XI, IX и VIII. Это логично в связи с разворачивающимся процессом тромбообразования после ЭВЛК.

Наблюдается повышение уровня Д-димера в 1-е сутки после операции, что характерно для любого оперативного вмешательства. Шансы повышения Д-димера в 1-е сутки после ЭВЛК в $4,5 \pm 2,1$ ($p < 0,05$) раза выше у пациентов с мутантным полиморфизмом А гена FGB (455 G/A). У этих же пациентов уровень самого фибриногена в дооперационном периоде выше, чем у прочих. Следовательно, процесс тромбообразования и разрушения фибрина у них более выраженный, что и подтверждают полученные результаты. Эти значения позволяют судить о процессе организации тромба в вене, на которой была проведена ЭВЛК, по изменениям значений параметров периферической крови.

Таким образом, нами выявлена связь между генетическими маркерами системы гемостаза и отклонениями значений фибриногена, РФМК, ТВ, АЧТВ, Д-димера в послеоперационном периоде ЭВЛК. Что может быть использовано для разработки индивидуальных подходов к антикоагулянтной терапии после эндовенозных лазерных вмешательств для пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей, имеющих мутации генов гемостаза.

Выводы

1. У пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей после проведения эндовенозной лазерной коагуляции было выявлено увеличение концентрации показателей тромбинеми: РФМК и Д-димера в 1-е сутки, фибриногена на 3-и и 7-е сутки, удлинение ТВ и АЧТВ на 7-е сутки.

2. В исследуемой группе пациентов найден один мутантный полиморфный вариант гена FV(1691 A) в гетерозиготном состоянии G/A, ни одного мутантного аллеля 20210A гена II фактора свертывания, однако часто встречается мутантные полиморфизмы генов FGB(455 G->A), PAI-1(675 5G/4G) и PLAT(7351 C->T).

3. Была выявлена взаимосвязь полиморфных вариантов генов FGB(455), FV(1691 G->A), FVII(10976 G->A), FXII(46 C->T) с изменениями показателей системы гемостаза в сторону склонности к гиперкоагуляции у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей в ближайшем послеоперационном периоде после ЭВЛК.

Литература

1. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган. – 3-е изд. – М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.

2. Новикова Я.В. Методика персонифицированной диагностики, профилактики и лечения тромбоэмболических осложнений у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, нуждающихся в проведении антикоагулянтной терапии: метод. рекомендации / Я.В. Новикова. – Новосибирск: Академ. изд-во «ГЕО», 2012. – 42 с.

3. Соколов А.Л. Лазерная облитерация вен для практических врачей / А.Л. Соколов, К.В. Лядов, М.М. Луценко. – М.: ИД «Медпрактика-М», 2011. – 136 с.

4. Fowkes F.G.R. Epidemiology of venous disorders. Venous and lymphatic diseases. Edited by Venous ulcers / J.J. Bergan [et al.] // Elsevier. – 2007. – P. 15-25.

5. Рефлюкс крови в венах нижних конечностей / N. Labropoulos [et al.] // Флебология. Международный дайджест. – 2004. – Вып. VII. – С. 36.

6. Endovenous ablation of incompetent saphenous vein / R. Riva [et al.] // J. Endovasc Ther. – 2006. – №13. – P. 244-248.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Исаева Татьяна Николаевна – студентка 6 курса медицинского факультета, Новосибирского национального исследовательского государственного университета, г. Новосибирск.

Севостьянова Ксения Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник лаборатории инвазивных медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук; ассистент факультета усовершенствования врачей Новосибирского национального исследовательского государственного университета, г. Новосибирск.

Тел.: 8-960-794-64-65.

E-mail: ksuss-vot@ngs.ru.

Серяпина Юлия Валерьевна – ст. лаборант лаборатории инвазивных медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

Шевела Андрей Иванович – д-р мед. наук, проф., зам. директора по научной работе Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук; проф. кафедры хирургии медицинского факультета Новосибирского национального исследовательского государственного университета, г. Новосибирск.

Морозов Виталий Валерьевич – д-р мед. наук, проф., зав. лаборатории инвазивных медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.