

На правах рукописи

ЛЕМАЕВА ИРИНА ВИКТОРОВНА

**Тромбоэмболия легочной артерии и флеботромбозы
у пациентов с тромбофилическими состояниями.
Факторы риска, диагностика, лечение**

14.01.05 кардиология

14.01.21 гематология и переливание крови

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва

2010

Работа выполнена в ФГУ «Лечебно-реабилитационный Центр Росздрава»

НАУЧНЫЕ РУКОВОДИТЕЛИ:

Доктор медицинских наук, профессор

Ольга Леонидовна Бокерия

Доктор медицинских наук, профессор

Наталья Николаевна Самсонова

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Руководитель отделения кардиологии приобретенных пороков сердца Центра сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН, доктор медицинских наук, профессор

Татьяна Георгиевна Никитина

Заведующий отделением гематологии ФГУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова Росздрава», доктор медицинских наук, профессор

Владимир Ярославович Мельниченко

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ:

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

Защита диссертации состоится «12» марта 2010 года в «14» часов на заседании диссертационного совета Д.001.015.01 при Научном центре сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева (121552, Москва, Рублевское шоссе, д. 135).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН.

Автореферат разослан «12» февраля 2010 года.

Ученый секретарь Диссертационного Совета доктор медицинских наук

Д.Ш. Газизова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы: Понятие «венозные тромбозмболии» (ВТЭ) включает в себя тромбоз глубоких вен (ТГВ), как правило, нижних конечностей и тромбозмболию легочных артерий (ТЭЛА) (Котельников М.В., 2006). ВТЭ могут развиваться спонтанно или как осложнение других заболеваний. Накапливается все больше данных о том, что ТГВ и ТЭЛА являются различными проявлениями одного и того же процесса.

В настоящее время представляет большой интерес изучение тромбофилий, т.е. всех тех нарушений гемостаза, которые характеризуются повышенной склонностью к развитию тромбозов кровеносных сосудов разного калибра и локализации. В результате было выделено большое число первичных (генетически обусловленных) и вторичных (симптоматических) тромбофилий, отличающихся друг от друга по этиологии, патогенезу, клинико-лабораторным проявлениям и прогнозу. Дифференциация этих форм патологии оказалась важной еще и потому, что разные виды тромбофилий, несмотря на подчас сходные клинические проявления, нуждаются в неодинаковых методах профилактики и лечения (Баркаган З.С., 1996).

Пациентов с подозрением на тромбофилическое состояние необходимо обследовать для уточнения вида нарушения гемокоагуляции. Своевременно начатая профилактика и лечение снижают риск рецидивов тромбозов, и, следовательно, ТЭЛА.

Цель исследования: Изучить клинические и генетические факторы риска развития ТЭЛА и ТГВ у пациентов со спонтанными тромбозами, для определения тактики антикоагулянтной терапии в зависимости от выявленных нарушений гемостаза и генных нарушений.

Задачи исследования:

1. Изучить клиническую картину, особенности показателей гемостаза и генетических маркеров тромбофилий у пациентов с тромбоэмболией легочных артерий.
2. Исследовать факторы риска, клиническую картину и особенности показателей гемостаза у пациентов со спонтанными тромбозами.
3. Выявить полиморфизмы кандидатных генов тромбообразования у больных с тромбофилическими состояниями, их значимость в возникновении ВТ.
4. Выбрать тактику антикоагулянтной терапии в зависимости от выявленных нарушений гемостаза и генных изменений.

Научная новизна:

В работе впервые изучены связи генетических маркеров тромбофилий с показателями гемостаза.

В выполненном исследовании установлено, что при снижении уровня гемоглобина возрастало количество тромбоцитов, повышались СОЭ, фибриноген, антитромбин III; фибринолитическая активность крови увеличивалась с возрастом; при повышении активности фибринолиза агрегация тромбоцитов уменьшалась; для минимальных значений фибриногена была характерна повышенная агрегация тромбоцитов, при возрастании уровня фибриногена агрегация тромбоцитов снижалась.

Наибольшее количество гетеро- и гомозиготных мутаций выявлено в генах АРО С III (46,6%), гене PAI-1 (86,6%), гене FGB (48,3%), гене MTHFR (45%). Показано, что выявление гетеро- и гомозиготных мутаций в гене аполипопротеина С III, гене фибриногена, гене ингибитора активатора плазминогена, наличие носительства нормального варианта гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa играет значимую роль в возникновении ВТЭ.

Практическая значимость работы:

Полученные данные по выявлению факторов риска у «тромбоопасных» пациентов, а также определение мутаций кандидатных генов тромбообразования с целью диагностики тромбофилий могут быть использованы для планового и скринингового обследования пациентов, находящихся на лечении в стационаре.

Применяемая схема лечения пациентов с тромбофилическими состояниями оправдана, и в большинстве случаев может предотвратить рецидивы тромбозов, и, следовательно, снизить вероятность развития ТЭЛА.

Положения, выносимые на защиту:

У молодых пациентов со спонтанными тромбозами вен нижних конечностей вероятность ТЭЛА возрастает при наличии семейного тромбофического анамнеза, исходно повышенном количестве тромбоцитов и их избыточной агрегации, при наличии гиперкоагуляционного синдрома, при носительстве гетеро- или гомозиготной мутации гена протромбина. В остром периоде тромбоза имеется дисбаланс показателей гемостаза. Дефицит физиологических антикоагулянтов (антитромбина III, протеина C), наличие первичного антифосфолипидного синдрома, гипергомоцистеинемия играют важную роль в процессе тромбообразования у молодых пациентов со спонтанными тромбозами. Наибольшим значением в развитии венозных тромбозов обладает выявление гетеро- и гомозиготных мутаций в гене аполипопротеина C III, гене фибриногена, гене ингибитора активатора плазминогена, наличие носительства нормального варианта гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa. Тактика антикоагулянтной терапии определяется выявленными у пациента нарушениями гемостаза и генными изменениями.

Реализация результатов работы:

Результаты проведенного исследования внедрены в практическую работу отделений кардиологии, хирургии, флебологического центра ФГУ «Лечебно-реабилитационный Центр Росздрава», а также могут быть рекомендованы к использованию в многопрофильных стационарах.

Апробация работы:

Материалы диссертации доложены на V Конференции Ассоциации флебологов России (Москва, 2004), XII съезде Всероссийской ассоциации по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов им. А.А.Шмидта - Б.А.Кудряшова (г. Ярославль 2005), XIII Конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2006), XI ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых (Москва, 2007), XII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых (Москва, 2008).

Публикации: По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ.

Объем и структура диссертации:

Диссертационная работа изложена на 128 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, а также заключения, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 129 работ отечественных и 69 – иностранных авторов. Содержание работы иллюстрировано 30 диаграммами, 6 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования: Работа основана на материале изучения историй болезни 60 пациентов, находившихся на стационарном или амбулаторном лечении в ФГУ «Лечебно-реабилитационный Центр

Росздрава» с января 2001 по октябрь 2007 года с диагнозом: «Тромбоэмболия ветвей легочной артерии» (10 человек) и «Тромбоз глубоких вен нижних конечностей» (50 человек).

Учитывался пол, возраст, тромбозы в анамнезе, наличие тромбозов у близких родственников пациента, наличие сопутствующих заболеваний, локализация ТЭЛА и флеботромбоза, виды проведенного оперативного вмешательства. Критерий отбора – возраст менее 50 лет, отсутствие факторов риска развития тромбозов (злокачественных новообразований, варикозной болезни нижних конечностей, длительной иммобилизации, органических поражений сердечно-сосудистой системы).

В группе исследования проводилось анкетирование, направленное на выявление первичных и вторичных факторов риска возникновения флеботромбоза, проанализированы результаты лабораторных, инструментальных исследований, проведено дуплексное ангиосканирование нижних конечностей, были изучены кандидатные гены процесса тромбообразования.

Лабораторные методы включали в себя: 1. исследование клинического анализа крови с определением уровня тромбоцитов; 2. гемостазиограмма: определение АЧТВ, протромбинового времени, тромбинового времени, уровня фибриногена (фотометрический метод); определение протеина С (коагулометрический метод); фактора V, антитромбина III (хромогенное определение), содержание антикоагулянтов «волчаночного типа» (скрининговый и подтверждающий фосфолипидзависимый метод) с использованием реактивов Dade Behring, Германия; исследование фибринолитической активности крови (XIIa-зависимый фибринолиз, реактивы фирмы НПО «Ренам», Россия); определение растворимых комплексов фибрин-мономеров (фотометрический метод, реактивы фирмы «Технология стандарт»,

Россия) (все вышеуказанные исследования проводились на аппарате «ВСТ» (Швейцария)); проведение теста индуцированной агрегации тромбоцитов (на агрегометре «Solar AP2110», Россия, количественный метод, реактивы фирмы НПО «Ренам», Россия); 3. исследование гомоцистеина крови производилось на аппарате «Униплан» (Россия) иммуноферментным методом (реактивы Axis Homocysteine EIA, Англия); 4. определение полиморфизмов кандидатных генов тромбообразования: ген аполипопротеина С III (APO C III), ген протромбина (F II), ген фактора V Лейден (F V), ген ингибитора активатора плазминогена (PAI-I), ген фибриногена (FGB), ген рецепторов тромбоцитов IIb\IIIa (GPIIb\IIIa), ген метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), ген проконвертина (F VII). Выделение ДНК производилось путем реакции мини-секвенирования с анализом продуктов реакции на MALDI-TOF масс-спектрометре Reflexs – IV (Bruker Dalfonics, Германия) на базе лаборатории молекулярной генетики человека НИИ Физико-химической медицины (г. Москва).

У всех больных проведено дуплексное ангиосканирование сосудов нижних конечностей ультразвуковым аппаратом ACUSON «Aspen» (США).

Группу контроля составили 25 человек сопоставимого возраста, 15 мужчин и 10 женщин без наличия тромботических эпизодов в анамнезе.

Статистический анализ: Статистическая обработка материала произведена на персональном компьютере, на базе процессора Intel Pentium IV с применением программы Statistica for Windows версии 5,0.

Для поиска корреляций между количественными величинами применялся метод корреляции рангов Спирмена. Для анализа влияния аномалий кандидатных генов тромбообразования и факторов риска на параметры анализа крови использовался U-тест Манна-Уитни.

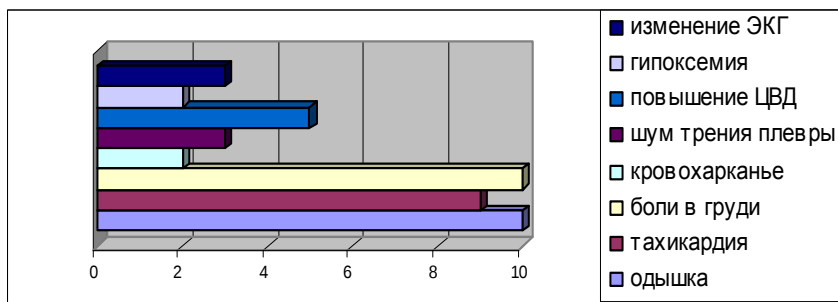
При анализе различий между больными с осложнениями (ТЭЛА и повторные тромбозы) и больными без осложнений применялись тесты различий между группами. Для этого использовались два метода: тест χ^2 и точный метод Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Диагноз: «Тромбоэмболия легочных артерий» установлен у 10 пациентов из 60 человек группы исследования: 4 женщин и 6 мужчин в возрасте от 28 до 49 лет. Средний возраст составил 39 лет (36 лет у женщин и 41 год у мужчин).

Наиболее характерными признаками ТЭЛА были: одышка - у 10 человек, тахикардия - у 9 больных, артериальная гипотензия у 5 пациентов, цианоза лица и шеи отмечено не было. (рис.1)

Рис. 1. Проявления ТЭЛА



Тахикардия с частотой сердечных сокращений до 120 в минуту была зафиксирована у 2-х пациентов, при этом возникали нарушения ритма сердца (экстрасистолия). У остальных пациентов тахикардия не превышала 100 в минуту, нарушений ритма сердца выявлено не было.

Артериальная гипотензия носила в большинстве случаев транзиторный характер и сопровождала развитие эмболии сегментарных ветвей легочной артерии (ЛА). ЦВД было повышенным (более 130 мм вод. ст.) у больных с эмболией сегментарных ветвей – у 2-х человек и мелких ветвей ЛА – у 3-х пациентов. Болевой синдром встречался в нескольких вариантах, загрудинные боли возникали преимущественно при эмболии сегментарных ветвей, при этом на ЭКГ регистрировались признаки перегрузки правого желудочка. При аускультации легких выслушивался шум трения плевры у 3-х человек (за счет развития плеврита). Кровохарканье наблюдалось у больных с эмболией сегментарных и мелких ветвей ЛА (2 человека). При эмболии сегментарных и мелких ветвей отмечалась умеренная гипоксемия (PO_2 составляло в среднем 75 ± 18 мм рт.ст.).

Из методов обследования использовались: ЭКГ, ЭХО-КГ, рентгенография легких, дуплексное ангиосканирование нижних конечностей – у всех больных, у 4 человек проведена ангиопульмонография.

В 30% случаев были признаки перегрузки правого предсердия и желудочка на ЭКГ. По данным ЭХО-КГ отмечалась легочная гипертензия от незначительной до умеренной. Ангиографическое исследование во всех случаях подтвердило диагноз тромбоэмболии. Тромбоэмболии ствола и главных ветвей диагностировано не было. У 2-х человек выявлена ТЭЛА сегментарных и у 8 пациентов - мелких ветвей легочной артерии.

По данным ангиосканирования нижних конечностей источником тромбоэмболии во всех случаях явились восходящие тромбозы вен нижних конечностей: у 3-х пациентов флотирующий тромбоз общей бедренной вены, у 4-х - поверхностных вен бедра, у 3-х больных - восходящий тромбоз глубоких вен без признаков флотации. Оперированы

(перевязка поверхностных вен) 4 человека. Кава-фильтр установлен у 3-х пациентов с флотирующим тромбозом глубоких вен бедра. В остальных случаях проводилась консервативная терапия.

Проведен анализ показателей гемостаза у пациентов с ТЭЛА и без ТЭЛА. На рисунке 2 представлены наиболее значимые результаты, по остальным параметрам явных различий отмечено не было.

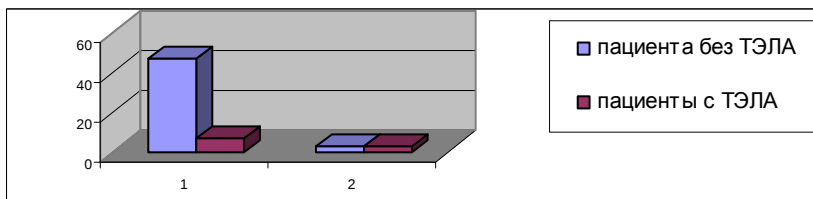
Рис.2. Показатели гемостаза у пациентов с ТЭЛА и без ТЭЛА

Исследуемый параметр	Пациенты с ТЭЛА		Пациенты без ТЭЛА		p
	Диапазон данных	Медиана	Диапазон данных	Медиана	
Тромбоциты	270-370	346	200-276	234	0,002**
Лейкоциты	7,3-10,2	9,4	5,7-8,7	6,9	0,09*
Лимфоциты	20-26	21	22-31	27	0,06*
СОЭ	12-34	28	6-20	16	0,07*
Тромбиновое время	17,3-19,6	18	15-18	17,5	0,07*
Протромбин	80-103	88	88-102	97	0,09*

Отмечено, что наиболее значимым у пациентов с венозным тромбозом и ТЭЛА был повышенный исходный уровень тромбоцитов периферической крови (более 346 тыс., $p < 0,002$).

Статистически значимым из изученных генных аномалий между группами пациентов с ТЭЛА и без ТЭЛА было носительство гетеро- и гомозиготной мутации F II (гена протромбина) ($p < 0,03$). В группе без ТЭЛА мутации выявлены у 3 человек из 50 (6 %), а у перенесших ТЭЛА – у 3-х из 10 (30%) (рис. 3)

Рис.3. Варианты носительства гена F II у пациентов с ТЭЛА и без ТЭЛА



Где 1 - F II = gg (нормальный генотип), 2- F II = ga + aa (гетеро- и гомозиготная мутация).

Таким образом, вероятность возникновения ТЭЛА возрастает у молодых пациентов с восходящими тромбозами вен нижних конечностей, при наличии у них исходно повышенного уровня тромбоцитов (более 346 тыс/мл), а также с носительством гетеро- или гомозиготной мутации гена протромбина.

При анализе факторов риска развития венозных тромбозов у всех пациентов с тромбофилическими состояниями отмечено, что средний возраст в момент возникновения тромбоза составлял 39,5 лет (40,1 лет у мужчин и 38,4 у женщин), причем наибольшее количество пациентов было в возрастной группе старше 40 лет, количественно преобладали мужчины (56,6%, 23 человека).

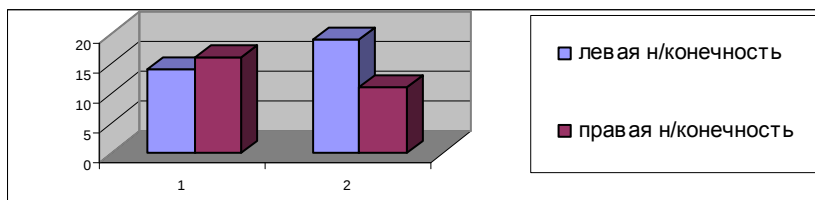
Наиболее значимыми факторами риска явились: наличие тромбозов в анамнезе у близких родственников – у 30 человек (50%), рецидивирующие тромбозы – у 21 пациента (35%), перенесенные значительные физические нагрузки перед возникновением флеботромбоза – у 18 человек (30%); длительное неподвижное положение (длительный перелет или поездка в автомобиле) – у 12 больных (20%); из 21 женщины контрацептивы принимали 8 (35% от всех женщин).

Первые симптомы поражения глубоких вен (отек нижней конечности, боль в икроножных мышцах) присутствовали у всех пациентов за 5-6 дней

до обращения в стационар. По данным жалоб, клинической картины, дуплексного ангиосканирования нижних конечностей, локализация тромбозов распределилась следующим образом: 1. глубокие вены левой голени – у 14 человек (23,3%); 2. глубокие вены левой голени с переходом на бедро – у 6 человек (10%); 3. глубокие вены левой голени с переходом на бедро в сочетании с тромбозом поверхностных вен – у 5 человек (8,3%); 4. глубокие вены левой голени в сочетании с тромбозом поверхностных вен – у 5 человек (8,3%); 5. тромбоз поверхностных вен слева – у 3-х пациентов (5%); 6. глубокие вены правой голени – у 16 человек (26,6%); 7. глубокие вены правой голени с переходом на бедро в сочетании с окклюзивным тромбозом поверхностных вен – у 5-х человек (8,3%); 8. глубокие вены правой голени с переходом на бедро – у 2 человек (3,3%); 9. глубокие вены правой голени в сочетании с тромбозом поверхностных вен – у 2 человек (3,3%); 11. тромбоз поверхностных вен справа – у 2-х пациентов (3,3%).

Отмечено, что тромбозы левой нижней конечности были у 33 пациентов (55% всей группы), причем восходящие тромбозы у 19 человек, тромбозы правой нижней конечности выявлены у 27 больных (45%), восходящие – у 11 пациентов (рис.4).

Рис.4. Локализация флеботромбозов



Где 1 - тромбозы глубоких вен голени, 2 - восходящие тромбозы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что на момент обращения пациентов за медицинской помощью половина из них (50%)

имеют потенциально эмболоопасный восходящий венозный тромбоз, являющийся реальной угрозой жизни.

При попарном сравнении результатов анализа крови, гемостазиограммы, были выявлены следующие закономерности: 1. при снижении уровня гемоглобина возрастало количество тромбоцитов, повышались СОЭ, фибриноген, антитромбин III; 2. фибринолитическая активность крови увеличивалась с возрастом; 3. при повышении активности фибринолиза агрегация тромбоцитов уменьшалась; 4. для минимальных значений фибриногена была характерна повышенная агрегация тромбоцитов, при возрастании уровня фибриногена агрегация тромбоцитов снижалась.

Значение антитромбина III определено у 55 пациентов, колебалось от 51% до 174,4%. Средний уровень составил $99,85 \pm 17\%$. Дефицит антитромбина III (менее 80%) был у 5 человек (9% группы исследования) и в среднем составил 69,8%.

Уровень протеина С исследован у 53 человек. Величина протеина С варьировала от 46% до 141,8%, и в среднем составила $96,9 \pm 20,54\%$. Дефицит протеина С (значения менее 70%) был у 5 пациентов (9,4 % больных с венозными тромбозами) и равнялся в среднем 58,8%.

Присутствие волчаночного антикоагулянта выявлено (с двукратным подтверждением с интервалом в 6 недель) у 17 человек (28,3%) группы исследования.

Гомоцистеин (ГЦ) крови был исследован у 32 пациентов. Нормальный уровень ГЦ был у 10 пациентов, и в среднем оставил 8,17 мкмоль/л. Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) легкой степени выявлена у 15 больных с венозными тромбозами, ГЦ в среднем был 12,5 мкмоль/л. ГГЦ средней степени отмечена у 1 человека (ГЦ 15,8 мкмоль/л), тяжелая ГГЦ была у 5

пациентов, максимальное значение ГЦ составило 47,8 мкмоль/л, в среднем – 25,88 мкмоль/л (рис. 5).

Рис.5. Результаты исследования физиологических антикоагулянтов, «волчаночного антикоагулянта», гомоцистеина крови

Показатель	Нормальные величины	Количество пациентов	Среднее значение	Дефицит/избыток		
				Количество больных	Среднее значение	Min/max значение
ВА	Отсутствие	60		17 (28,3%)	1,4	1,8
Протеин С	70-130 (%)	53	96,9%	5 (9,4%)	58,8%	54%
АТ III	80-125 (%)	55	99,85%	5 (9%)	69,8%	54%
ГЦ	До 11 мкмоль/л	32	13,1 мкмоль/л	22 (36,6%)	25,88 мкмоль/л	47,8 мкмоль/л

Дефицит физиологических антикоагулянтов, присутствие волчаночного антикоагулянта, гипергомоцистеинемия выявлены у 24 пациентов (40%) исследуемой группы. Необходимо отметить, что и ГЦ, и наличие ВА, и дефицит АТ III отмечены у 9 человек. Полученные данные свидетельствуют о том, что выявленные изменения могут являться причиной спонтанных венозных тромбозов у молодых пациентов без отягощенного соматического анамнеза.

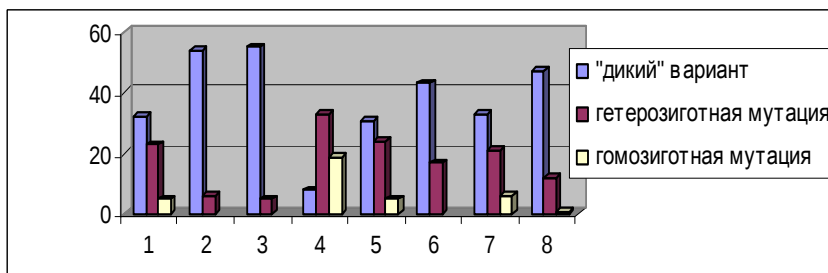
Анализ генетических факторов риска тромбофилических состояний

Проведено исследование полиморфизмов кандидатных генов тромбообразования, свидетельствующих о повышении риска развития венозных тромбозов, и, следовательно, увеличивающих риск развития ТЭЛА. Проанализированы 3 возможных варианта – нормальный («дикий») вариант (отсутствие мутации), гетерозиготная мутация, гомозиготная мутация. Полученные результаты распределения аллелей исследуемых генов у пациентов с венозными тромбозами представлены на рис.6, рис. 7.

Рис. 6. Распределение аллелей кандидатных генов тромбообразования у пациентов со спонтанными венозными тромбозами

Исследуемые мутации и аллельные варианты.		Частоты распределений исследуемых аллелей, %	
		Пациенты с флеботромбозами (N=60)	Здоровые (N=25)
F V G1691A	G аллель	95,8	98
	A аллель	4,2	2
F II G20210A	G аллель	95	92
	A аллель	5	8
-455G/A FGB	G аллель	71,6	88
	A аллель	28,3	12
PIA1/A2 GP IIIa	A1 аллель	85,8	64
	A2 аллель	14,2	36
C677T MTHFR	C аллель	72,5	84
	T аллель	27,5	16
4G/5G PAI-1	4G аллель	59,2	76
	5G аллель	40,8	24
A1/A2 5'F7	A1 аллель	88,3	86
	A2 аллель	11,7	14
APO CIII	C аллель	72,5	98
	T аллель	27,5	2

Рис.7. Распределение полиморфизмов генов тромбообразования у пациентов с венозными тромбозами

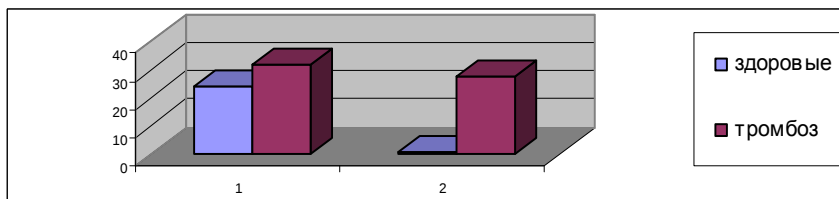


Где 1- APO CIII, 2 - F II, 3 - F V, 4 – PAI-1, 5- FGB, 6- GP IIb/IIIa, 7- MTHFR, 8 - F VII.

Наибольшее количество гетеро- и гомозиготных мутаций отмечено в генах АРО С III (46,6%), гене PAI-1 (86,6%), гене FGB (48,3%), гене MTHFR (45%). Несмотря на полученные данные, при сопоставлении результатов полиморфизмов у пациентов с ВТ с группой контроля, не было выявлено существенных различий между носительством полиморфизмов гена фактора VII, гена MTHFR, гена фактора V, гена протромбина.

При анализе гена аполипопротеина С III выявлена сильная связь с носительством гетеро- и гомозиготной мутации этого гена ($p < 0,0001$), то есть у больных, перенесших венозный тромбоз, частота выявления гомо- и гетерозиготных мутаций была значительной выше, чем в группе контроля (рис.8).

Рис. 8. Сравнение полиморфизмов гена аполипопротеина С III у пациентов с венозным тромбозом с группой без тромботического анамнеза

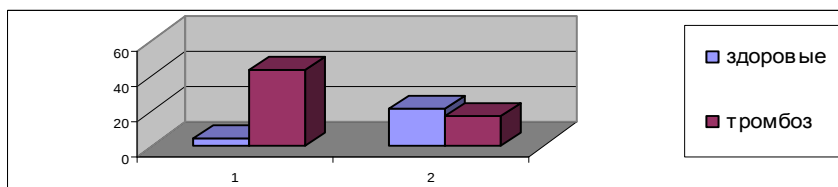


Где 1 - АРО С III = cc (нормальный вариант), 2 - АРО С III = ct + tt (гетеро-и гомозиготная мутация)

У 28 пациентов из 60 (46,6%) с ВТ были выявлены мутированные гены, в группе контроля при этом подобная мутация обнаружена у 1 человека (4%).

При сравнении гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa выявлена сильная связь с носительством нормального варианта гена и развитием венозных тромбозов ($p < 0,00001$) (рис. 9).

Рис.9. Сравнение полиморфизмов гена GP IIb/IIIa у пациентов с венозным тромбозом с группой без тромботического анамнеза

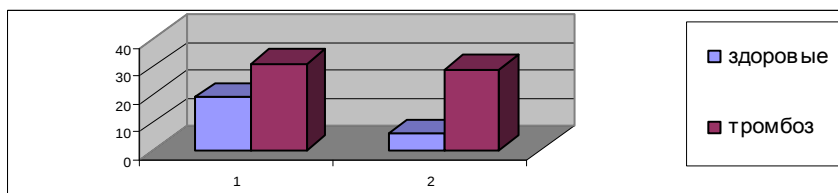


Где 1 - GP IIb/IIIa = A1A1 (нормальный вариант), 2 - GP IIb/IIIa = A1A2 + A2A2 (гетеро- и гомозиготная мутация)

При оценке влияния данного гена возникает противоположная ситуация, т.е. есть большинство пациентов с ВТ - 43 человека (71,6%) имели нормальный генотип, в то время как у здоровых в 84% случаев выявлена мутация данного гена. Наши данные схожи результатам исследования Ridker P.M., в котором также носительство аллели A2 не ассоциировалось с ВТ.

Анализ полиморфизмов гена фибриногена у здоровых и пациентов с тромбозом показал, что имеется значимая связь между носительством гомо- и гетерозиготной мутации ($p < 0,05$) данного гена (рис. 10).

Рис. 10. Сравнение полиморфизмов гена фибриногена у пациентов с венозным тромбозом с группой без тромботического анамнеза

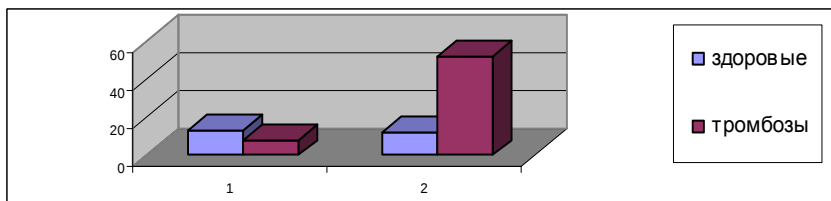


Где 1 - FGB = gg (нормальный вариант), 2- FGB = ga + aa (гетеро- и гомозиготная мутация)

Мутация гена фибриногена выявлена у 29 пациентов с тромбозами (48,3%) и у 6 (24%) здоровых лиц. Соответственно, вероятность развития ВТ может повышаться при наличии мутации данного гена. В данном случае необходимо отметить, что и наличие нормального генотипа не исключает развитие ВТ. Так, нормальный генотип выявлен у 31 пациента с тромбозами (51,7%).

При исследовании полиморфизма гена PAI-1 у пациентов с ВТ имеется статистически значимая связь между наличием мутации и возникновением венозного тромбоза ($p < 0,0004$) (рис. 11).

Рис. 11. Сравнение полиморфизмов гена PAI-1 у пациентов с венозным тромбозом с группой без тромботического анамнеза



Где 1- PAI-1 = 5g/5g (нормальный вариант), 2 - PAI-1 = 4g/5g + 4g/4g (гетеро- и гомозиготная мутация)

В данном случае мутация гена активатора плазминогена является очень значимым фактором риска развития тромбоза. У 52 пациентов с ВТ (86,6%) выявлена мутация данного гена. В группе контроля эта цифра составляет 48%.

В группе пациентов с ВТ не было отмечено значимости мутаций фактора V (2 человека из 60 имели гетерозиготную мутацию) и гена протромбина (но выявлена сильная связь между носительством мутации гена протромбина с развитием ТЭЛА и рецидивами тромбозов). Отмечена зависимость между носительством нормального варианта гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa с развитием флеботромбозов.

Тактика терапии в зависимости от выявленных нарушений гемостаза и генных изменений

В острый период тромбоза проводилось лечение по стандартной схеме (НМГ в лечебных дозах с последующим переводом на варфарин с контролем уровня МНО).

Учитывая полученные данные обследования, все пациенты с ВТ были разделены на группы в зависимости от выявленных нарушений.

В I группу были включены больные с повышенным уровнем гомоцистеина крови ($N = 22$), во II группу - женщины, принимающие оральные контрацептивы ($N = 8$), в III группу - пациенты с нарушением функции печени ($N = 2$), IV группу составили остальные больные ($N = 28$).

Пациентов I группы (уровень гомоцистеина крови более 11 мкмоль/л) было 22, средний уровень гомоцистеина - 25,88 мкмоль/л, максимальный - 47,8 мкмоль/л.

Проводилось лечение по следующей схеме: витамин B6 1,0 в/м № 10, витамин B12 1,0 в/м № 10, фолиевая кислота 1 мг по 2 таб x 2 раза в день. При исследовании через 2 недели практически у всех больных уровень ГЦ был менее 10 мкмоль/л, одному пациенту с исходно высоким уровнем ГЦ (47,8 мкмоль/л) проведено 2 десятидневных курса терапии до нормализации показателей.

Далее назначались комбинированные витаминные препараты по 1 месяцу 3 раза в год. В динамике (контроль 2-3 раза год) уровень ГЦ был не более 11 мкмоль/л.

Варфарин на длительный период времени назначался тем пациентам, у которых имелись рецидивы тромбозов в анамнезе, и/или гетерогомозиготные мутации генов F V, F II, при выявлении мутации гена FGB пациент принимал варфарин не менее полугода. Данная группа наблюдалась более 6 месяцев, рецидивов тромбозов отмечено не было.

II группу составили женщины, принимающие оральные контрацептивы (N= 8). Необходимо отметить, что у 6 пациенток был выявлен первичный антифосфолипидный синдром (АФС), в связи с чем им назначен варфарин для длительного приема.

Решающими факторами в выборе терапии были рецидивирующие тромбозы и мутации значимых генов. Длительность назначения варфарина определялась по вышеприведенной схеме. При последующем наблюдении в течение от 6 месяцев и более рецидивов тромбозов у пациенток данной группы не отмечено.

III группу составили пациенты с нарушением функции печени, то есть больные, которым был противопоказан варфарин (N=2). У обоих пациентов был выявлен высокий уровень трансаминаз и повышенная агрегация тромбоцитов. Применялась следующая схема лечения: сулодексид (по 1 капс. x 2 раза в день по 3 месяца с перерывом в 3 месяца) в сочетании с плавиксом, гепатопротекторы, герудотерапия. За период наблюдения – более 2-х лет – рецидивов тромбоза отмечено не было.

В IV группу были включены оставшиеся 28 пациентов. 11 из них с подтвержденным АФС был назначен варфарин, 10-ти пациентам варфарин был назначен для долговременного приема (больные с рецидивирующими тромбозами и мутациями значимых генов, дефицитом протеина C и антитромбина III). Прием варфарина на 6 месяцев был рекомендован 2 пациентам. Отказались принимать препарат 5 человек. У одного пациента, не принимавшего варфарин, зафиксирован рецидив флелотромбоза. В 2-х случаях был летальный исход, причиной которого явилась массивная ТЭЛА.

В заключение можно отметить, что все пациенты, выполнявшие рекомендации, рецидивов тромбоза не имели. Дифференцированный подход к терапии тромбофилических состояний оправдан, и в

большинстве случаев может предотвратить рецидивы тромбозов, и, следовательно, снизить вероятность развития ТЭЛА.

ВЫВОДЫ

1. У молодых пациентов со спонтанными тромбозами вен нижних конечностей вероятность ТЭЛА возрастает при наличии семейного тромботического анамнеза, исходно повышенном количестве тромбоцитов и их избыточной агрегации, при наличии гиперкоагуляционного синдрома, при носительстве гетеро- или гомозиготной мутации гена протромбина.
2. В остром периоде тромбоза имеется дисбаланс показателей гемостаза. Дефицит физиологических антикоагулянтов (антитромбина III, протеина C), наличие первичного антифосфолипидного синдрома, гипергомоцистеинемия играют важную роль в процессе тромбообразования у молодых пациентов со спонтанными тромбозами.
3. Наибольшим значением в развитии венозных тромбозов обладает выявление гетеро- и гомозиготных мутаций в гене аполипопротеина C III, гене фибриногена, гене ингибитора активатора плазминогена, при носительстве нормального варианта гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa.
4. Тактика антикоагулянтной терапии определяется выявленными у пациента нарушениями гемостаза и генными изменениями. Использование дифференцированного подхода к лечению предотвращает рецидивы венозных тромбозов и, следовательно, ТЭЛА.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании пациента со спонтанным венозным тромбозом рекомендуется проводить тщательный сбор анамнеза, в том числе семейного; исследование общего анализа крови, уровня тромбоцитов и теста их агрегации, коагулограммы, фибринолитической активности

крови, уровней физиологических антикоагулянтов (антитромбина III, протеинов С и S), проведение теста на присутствие волчаночного антикоагулянта и определение антител к фосфолипидам, а также исследование гомоцистеина крови, кандидатных генов тромбообразования.

2. Назначение варфарина на длительное время требуется всем пациентам с рецидивирующими тромбозами и перенесенной ТЭЛА, с дефицитом антитромбина III, протеина С, первичным антифосфолипидным синдромом, наличием гетеро- или гомозиготных мутаций гена протромбина, гена F V (Лейден), гена фибриногена, мультигенными формами тромбофилий, включающими мутации гена аполипопротеина С III и гена ингибитора активатора плазминогена.

3. Пациентам с гипергомоцистеинемией рекомендовано лечение по следующей схеме: витамин B6 1,0 в/м № 10, витамин B12 1,0 в/м № 10, фолиевая кислота 1 мг по 2 таб. х 2 раза в день с контролем ГЦ крови через 2 недели. Необходимо достижение целевого уровня менее 10 мкмоль/л. Далее назначаются витаминные препараты по 1 месяцу 2 - 3 раза в год с обязательным исследованием ГЦ 3 - 4 раза в год для выбора оптимального режима назначения.

4. При спонтанных тромбозах, развившихся у женщин на фоне приема оральных контрацептивов, отменяются гормональные препараты, варфарин назначается на 6 месяцев, при наличии значимых мутаций - длительно.

5. Пациентам, имеющим противопоказания к применению варфарина рекомендован прием антиагрегантов («Тромбо АСС» 100 мг/сут или «Плавикс» 75 мг/сут) и сулодексида («Весел Дуэ Ф») капс. 250 мг 2 раза в день по 2-3 месяца 2 раза в год.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бокерия Л.А. Генетические факторы риска тромбофилических состояний / Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Самсонова Н.Н., Лядов К.В., Лемаева И.В. // Клиническая физиология кровообращения. -2008. -№ 2. - С.69-72.
2. Бокерия Л.А. Анализ факторов риска, клинической картины крови, показателей гемостаза у пациентов с венозными тромбозами / Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Самсонова Н.Н., Лядов К.В., Лемаева И.В. // Бюл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН (приложение). -2008. - Том 9; №3. –С. 142.
3. Лемаева И.В. Генетические факторы риска тромбофилических состояний // Бюл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН (приложение). -2008. -Том 9; №3. -С. 220.
4. Лядов К.В. Генетические факторы риска возникновения венозных тромбозов / Лядов К.В., Лемаева И.В. // Бюл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН (приложение). -2007. -№8. -С. 236.
5. Лядов К.В. Причины возникновения и опыт лечения венозных тромбозов у больных с тромбофилиями / Лядов К.В., Лемаева И.В. // Бюл. НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН (приложение). -2007. №8. -С. 154.
6. Лядов К.В. Эффективность профилактических мероприятий у пациентов с высоким риском развития послеоперационных тромбоэмболических осложнений / Лядов К.В., Стойко Ю.М., Лемаева И.В. и др. // Труды V конференции Ассоциации флебологов России. -2004. -С. 76.
7. Лядов К.В. Генетические аспекты предрасположенности тромбофических состояний / Лядов К.В., Стойко Ю.М., Лемаева И.В. и др. // Труды V конференции Ассоциации флебологов России. 2004. –С.75.