

На правах рукописи

Парфенов Евгений Игоревич

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
В РАЗВИТИИ РАННЕЙ ТРОМБОТИЧЕСКОЙ
ОККЛЮЗИИ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ
РЕКОНСТРУКТИВНЫХ ОПЕРАЦИЙ
НА БРЮШНОЙ АОРТЕ И АРТЕРИЯХ
НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

14.01.26-сердечно-сосудистая хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Курск – 2018г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Лазаренко Виктор Анатольевич

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор **Чурносов Михаил Иванович**

Официальные оппоненты:

Казakov Юрий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, кафедра сердечно-сосудистой хирургии, заведующий кафедрой.

Червяков Юрий Валентинович – доктор медицинских наук, доцент, Институт последипломного дополнительного образования ФГБОУ ВО "Ярославский государственной медицинский университет" Министерства здравоохранения РФ, кафедра хирургии, профессор кафедры.

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Рязанская государственная медицинская академия И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ.

Защита диссертации состоится «__» декабря 2018 г. в 12.00 часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.052.02, созданного на базе ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института усовершенствования врачей ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, 65 и на сайте www.pirogov-center.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2018 года

Ученый секретарь объединенного диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор **Матвеев Сергей Анатольевич**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. В современной медицине чрезвычайно актуальной остается проблема лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей в связи неуклонным ростом заболеваемости (Aboyans V. et al., 2018; Покровский А.В. и др., 2016; Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г., 2013), а так же снижением возраста больных (Fava S., Montagnana M., 2018; Бокерия Л.А., 2013), возрастающим уровнем инвалидизации и смертности пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей (Покровский А.В., Ивандаев А.С., 2017; Brogneaux S., 2011). Высокая распространенность хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей среди населения привела к увеличению числа и видов, выполняемых сосудистых реконструктивно-восстановительных операций на артериях нижних конечностей. Хирургические операции прямой реваскуляризации конечностей в настоящее время являются наиболее оптимальным методом лечения пациентов с тяжелыми атеросклеротическими изменениями артериального русла (Швальб П.Г., 2008). Однако, с увеличением количества выполняемых сосудистых реконструкций, возросло и число больных, нуждающихся в повторных операциях в связи с развитием реокклюзий и рестенозов в области восстановленного артериального сегмента (Bradbury A. W. et al., 2010; Белов Ю.В. и др. 2009). Так, необходимость повторного хирургического вмешательства составляет от 8 до 11,5% (Sequier A., Carrascosa C., et al. 2012; Белов Ю.В. и др. 2009). Основными причинами для этого являются рестенозы и тромбозы зоны реконструкции (Кузнецов М.Р., 2010). Среди прочих причин развития тромбоза зоны анастомоза, можно выделить ошибки хирургической техники и несостоятельность дистального русла (Покровский А.В. и др., 2014). Так же значительную роль в развитии тромботических окклюзий после хирургических вмешательств играют нарушения свертывающей системы крови (Genovese A.E. et al., 2015; Норре В. et al., 2006). Увеличение числа артериальных тромбозов может быть связано с комбинацией различных факторов генетического риска тромбоза (Sheweita S.A. et al., 2011). Факторы риска тромбообразования и механизмы формирования тромбофилических состояний, создающие высокий риск развития тромбозов и тромбоземболий, во многом определяют дальнейшее течение и последующий прогноз заболевания, как в раннем послеоперационном периоде, так и в отдаленные сроки (Nauk L., 2012). На сегодняшний день доказана значимая роль генетических

факторов наследственных тромбофилий (1691G/A фактора V, 20210G/A протромбина, -455 G/A фибриногена, 677C/T MTHFR и некоторых других в развитии венозных и артериальных тромбозов любой локализации, как в дооперационном, так в раннем и позднем послеоперационных периодах (Ergul Y. et al., 2015; Martinelli I. et al., 2014; Yilmaz S. et al., 2014). Исследования зарубежных авторов посвящены в основном изучению вклада наследственных тромбофилий в развитие артериальных тромбозов различной локализации (Wiles K.S. et al., 2014; Sayin M.R. et al., 2012; Krause U. et al., 2012). В России работы, посвященные роли врожденных тромбофилий в развитии тромботических окклюзий зоны реконструкции при операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей немногочисленны (Рыбачков В.В. и др. 2015; Четверикова Е.Н., 2015). Поэтому важным и весьма актуальным является изучение влияния роли врожденных тромбофилий в развитии тромботических окклюзий зоны реконструкции после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей и поиска путей профилактики данных осложнений.

Цель исследования: оценка наследственных тромбофилий как предикторов ранней тромботической окклюзии зоны реконструкции у больных, перенесших операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности клинико-лабораторных показателей у пациентов с тромбозом и без тромбоза зоны реконструкции в первые 6 месяцев после оперативных вмешательств на брюшной аорте и артериях нижних конечностей.
2. Провести анализ ассоциаций генетических вариантов наследственных тромбофилий (1691G/A FV, 20210G/A FII, 677 C/T MTHFR, 455 G/A FGB) с лабораторными показателями у больных, перенесших реконструктивные операции на брюшной аорте, артериях нижних конечностей с развитием тромбоза и без тромбоза зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций.
3. Выявить влияние генетических полиморфизмов генов наследственных тромбофилий на развитие тромбоза зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей.
4. Разработать математическую модель прогноза развития тромбоза зоны реконструкции у больных в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте, артериях нижних конечностей и оценить ее эффек-

ТИВНОСТЬ.

Научная новизна работы. Впервые установлено диагностическое значение генетических полиморфизмов 1691G/A FV, 20210G/A FII, 677 C/T MTHFR, 455 G/A FGB в развитии тромботической окклюзии зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей у мужчин русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья РФ.

Выявлены молекулярно-генетические маркеры тромбоза зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей (сочетание генетических вариантов 677 T MTHFR и 455 A FGB). Показаны ассоциации генетических вариантов 20210 GA FII с повышенным уровнем гомоцистеина и D-димера в крови, 677 CT и 677 TT MTHFR с повышенным уровнем триглицеридов в крови и укорочением тромбинового времени, 677 TT MTHFR со сниженным уровнем липопротеидов высокой плотности в крови. Установлено, что генотипы 455 GA FGB и 455 AA FGB маркируют повышенный уровень D-димера в крови.

Разработана математическая модель прогноза развития тромботической окклюзии зоны реконструкции у больных после оперативных вмешательств на брюшной аорте, артериях нижних конечностей и оценена ее эффективность (Патент на изобретение №2617418 от 25.04.2017).

Научно-практическая значимость работы. Результаты проведенных исследований расширяют представления о молекулярно-генетических детерминантах тромбоза зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей.

Генетические варианты - аллели 677 T MTHFR и 455 A FGB могут быть рекомендованы в качестве маркеров для выделения группы риска по формированию тромбоза зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей. Генетические варианты 455 G/A FGB и 677 C/T MTHFR и лабораторные показатели (количество тромбоцитов в крови, уровень D-димера, гомоцистеина, фибриногена, антитромбина III, ЛПНП и ЛПВП в крови) следует использовать в качестве предикторов развития тромбоза зоны реконструкции.

Математическую модель, разработанную на основе выявленных предикторов тромбоза зоны реконструкции после операций на брюшной аорте, артериях нижних конечностей, целесообразно применять у мужчин русской национальности, являющихся уроженцами Централь-

ного Черноземья РФ для прогнозирования развития этого осложнения в первые 6 месяцев послеоперационного периода.

У пациентов с сочетанием генетических вариантов 677 Т МТНFR и 455 А FGB необходимо проводить индивидуальную профилактику тромбоза с применением препаратов фолиевой кислоты и назначением пероральной антикоагулянтной терапии.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. У пациентов с тромбозом зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей статистически значимым является повышение уровня антитромбина III, гомоцистеина, Д-димера, количества тромбоцитов, фибриногена, триглицеридов, ЛПОНП и снижение уровня ЛПВП в крови по сравнению с группой контроля. У пациентов без тромбоза зоны реконструкции установлено увеличение гомоцистеина, фибриногена, триглицеридов в крови и замедление тромбинового времени.
2. Выявлены значимые ассоциации молекулярно-генетических факторов тромбофилий с лабораторными показателями: генетических вариантов 20210 GA FII с повышенным уровнем гомоцистеина и Д-димера, 455 GA FGB и 455 AA FGB с повышенным уровнем Д-димера, 677 СТ и 677 ТТ МТНFR с повышенным уровнем триглицеридов и укорочением тромбинового времени, 677 ТТ МТНFR со сниженным уровнем липопротеидов высокой плотности в крови.
3. Генетические факторы 20210 GA FII, 455 GA FGB, - 455 AA FGB, 677 СТ и 677 ТТ МТНFR ассоциированы с развитием тромботической окклюзии зоны реконструкции у больных после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей.
4. Модель прогнозирования риска развития раннего тромбоза зоны реконструкции с учетом влияния генетических вариантов (аллели 677 Т МТНFR и 455 А FGB) показывает более высокий средний процент правильных дискриминаций в группы исследования для установления лиц с повышенным риском развития раннего тромбоза зоны реконструкции (97,47%) по сравнению с моделью, рассматривавшую только лабораторные показатели (93,67%) (патент № 2617418 от 25.04.17).
5. Диагностическая эффективность модели прогнозирования риска тромботической окклюзии зоны реконструкции после операций на брюшной аорте, артериях нижних конечностей в практической работе подтверждена с помощью группы оценки эффективности разработанной модели прогнозирования (56 пациентов) и составила 82% для модели с учетом влияния генетических вариантов генов наследственных

тромбофилий и 78% для модели, основанной только на лабораторных показателях.

Внедрение результатов исследования в практику и учебный процесс. Результаты исследования внедрены в образовательный процесс в ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», НИУ «БелГУ», в практическую работу ОГБУЗ «Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа» и БМУ «Курская областная клиническая больница».

Апробация работы. Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на: X юбилейной международной научно-практической конференции молодых ученых – медиков (г. Курск, 2016), III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии» (г. Курск, 2016); Научно-практической конференции, посвященной 81-летию Курского государственного медицинского университета и 50-летию фармацевтического факультета, (г. Курск, 2016 г.); Первом съезде хирургов Приволжского федерального округа с международным участием (г. Нижний Новгород, 2016); Национальном хирургическом конгрессе, совместно с XX юбилейным съездом РОЭХ. Институт хирургии им. А.В. Вишневского (г. Москва, 2017); Первом съезде хирургов центрального федерального округа Российской Федерации (г. Рязань, 2017 г.); XXXIV Международной конференции «Перспективы развития сосудистой хирургии в стране и ее регионах» (г. Ярославль, 2018 г.).

Личное участие автора. Автором лично определены цель и задачи исследования, разработаны методические подходы для их решения, сформированы группы исследования, проведен сбор данных анамнеза, проведено клиническое обследование исследуемых групп. Автор входил в состав оперирующих бригад, лично принимал участие в выполнении молекулярно-генетических исследований, проводил обработку и обобщение полученных результатов, подготовку основных публикаций по выполненной работе, написание и оформление рукописи, апробацию результатов исследования. Патент на изобретение №2617418 «Способ прогнозирования развития раннего тромбоза зоны реконструкции после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей в зависимости от генетических вариантов

наследственных тромбофилий и клиничко-лабораторных показателей» от 25.04.2017.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 4 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для публикации научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Результаты исследования обобщены в 19 таблицах, представлены на 27 рисунках. Список литературы содержит 208 источника, из них 109 отечественных и 99 зарубежных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оперативные вмешательства, клиническое и лабораторное исследование проводилось на базе ОГБУЗ БОКБ Святителя Иоасафа г. Белгорода, генетическое исследование выполнялось в лаборатории «Молекулярной генетики человека» медицинского института Белгородского государственного национального исследовательского университета (руководитель – профессор, д.м.н. М.И. Чурносков). На каждого больного была разработана и заполнена анкета-опросник, включающая возраст, место рождения и жительства, историю заболевания, лечения (вид и сроки оперативного вмешательства, срок развития тромбоза зоны реконструкции, вид повторной операции, его результат) и обследования.

В исследование включены 175 пациентов мужского пола, разделенных на четыре группы: 3 группы исследования (119 человек) и четвертая группа оценки эффективности разработанной модели прогнозирования (56 человек). Первую (I) группу исследования составили 44 пациента, у которых выявлен тромбоз зоны реконструкции после реконструктивной операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей по поводу облитерирующего атеросклероза в первые 6 месяцев после оперативного вмешательства. Вторую (II) группу исследования составили 40 мужчин после аналогичных операций, не имеющих осложнений тромбоза зоны реконструкции. Третью (III) группу исследования (группу контроля) составили 35 мужчин, которые не имели клинических и инструментальных признаков облитерирующего атеросклероза брюшной аорты и артерий нижних конечностей. Группу оценки эффективности математической модели прогнозирования рис-

ка развития тромбоза в зоне реконструкции (IV группа) составили 56 пациентов (не из числа групп исследования) после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей. В исследование включались мужчины русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющие родства между собой. Наблюдение за больными проводили с дооперационного этапа и в течение 6 месяцев после реконструкции. В послеоперационном периоде все пациенты получали дезагрегантную терапию в стандартной дозе (препараты ацетилсалициловой кислоты 125 мг или клопидогрел 75 мг) ежедневно.

Из 1212 выполненных реконструктивных операций на брюшной аорте и магистральных артериях нижних конечностей по поводу облитерирующего атеросклероза (с 2010 по 2014 гг), в 6,4% случаев отмечался тромбоз зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операции, при анализе которых не удалось выявить видимую причину тромбоза (признаков гиперплазии интимы в зоне анастомозов, прогрессирования атеросклеротического поражения проксимального или дистального артериального русла).

При формировании выборки были определены критерии исключения: женский пол, наличие сопутствующих инфекционных или воспалительных заболеваний (в том числе брюшной аорты и магистральных артерий), сахарного диабета, наличие онкологических заболеваний на момент исследования или в анамнезе, наличие признаков тромбофилии в анамнезе.

Лабораторное исследование включало в себя клинический анализ крови с определением количества тромбоцитов в крови; липидный профиль крови (общий холестерин, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, триглицериды); коагулограмму (протромбиновый индекс, АЧТВ, ТВ, фибриноген, МНО) и расширенное исследование системы гемостаза (антиромбин-III, гомоцистеин, Д-димер). Всего выполнено 1939 лабораторных исследований.

Ультразвуковая диагностика брюшной аорты и артерий нижних конечностей выполнялась пациентам всех исследуемых групп. Всего было выполнено 483 ультразвуковых исследования брюшной аорты и артерий нижних конечностей. Пациентам проводилось измерение лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) - в I и II группах исследования в до и послеоперационном периоде, в III группе – однократно (всего 371 измерений). Для определения уровня окклюзии и подтверждения тромбоза зоны реконструкции больным I, II и IV групп выполнялась

ангиография брюшной аорты, артерий таза и нижних конечностей (192 исследования). Для оценки состояния русла «оттока» использовали балльную шкалу оценки периферического сопротивления русла «оттока» R.B. Rutherford (Society of Vascular Surgery runoff score) у 84 пациентов.

Всем исследуемым пациентам I, II и III групп проводилось типирование четырех молекулярно-генетических маркеров: фактора коагуляции V (мутация Leiden 1691G/A FV), протромбина (20210G/A FII), метилентетрагидрофалатредуктазы (677 C/T MTHFR), фибриногена (455 G/A FGB). Пациентам IV группы исследовали молекулярно-генетические маркеры двух видов тромбофилий (677 C/T MTHFR, 455 G/A FGB). Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 6 мл, взятая из локтевой вены с консервантом, содержащим 0,5М раствор ЭДТА (рН=8.0). Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществлялось методом фенольно-хлороформной экстракции ПЦР в режиме real time с использованием готовых наборов реагентов производства ООО «Синтол». Всего 588 генотипирований. Расчет фенотипических и генных частот проводили стандартными методами (с целью оценки соответствия наблюдаемого распределения ожидаемому, исходя из равновесия Харди-Вайнберга, использовали критерий χ^2 , отношение между наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностью определяли по величине индекса фиксации Райта). Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность. Вычисления производили в таблицах сопряженности 2x2. Об ассоциации аллелей и генотипов с качественными признаками судили по величине отношения шансов (OR). При изучении связей молекулярно – генетических маркеров с количественными признаками, характеризующими клинические, лабораторные показатели исследуемых сначала с использованием критерия Шапиро-Уилка оценивали характер распределения данных признаков. При нормальном распределении признака для его описания использовали среднее арифметическое значение и его ошибку, а для сравнительного анализа – критерий Стьюдента. При несоответствии закону нормального распределения для описания изучаемых признаков применяли медиану (Me) и интерквартильный размах (Q25 - Q75), а для сравнительного анализа – критерии Манна-Уитни, Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова. Анализ комбинаций генетических вариантов исследуемых локусов наследственных тромбофилий в формировании ранней тромботической окклюзии зоны ре-

конструкции проведен с помощью программного обеспечения APSampler (<http://sources.redhat.com/cygwin/>), использующего метод Монте-Карло мартовскими цепями и байесовскую непараметрическую статистику. С целью минимизации ошибок 1-го рода, связанных с получением ложноположительных результатов при проведении множественных сравнений, вводили поправку Бонферрони. За статистически значимый уровень принимали $p_{\text{кор}} \leq 0,05$. В работе использованы методы математического моделирования (дискриминантный анализ и метод множественной регрессии) с целью прогнозирования риска развития тромботической окклюзии зоны реконструкции. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2003 и «Statistica for Windows 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Больные I и II групп исследования достоверно не отличались друг от друга по возрасту (таблица 1), видам оперативного вмешательства (таблица 2), степени ишемии нижних конечностей в дооперационном периоде (таблица 3), состоянию периферического русла по оценке R. Rutherford ($p > 0,05$) (таблица 4).

Таблица 1

Распределение пациентов по возрасту, n (%)

Возраст	I группа n=44	II группа n=40	III группа n=35	IV группа n=56
до 60 лет	25 (56,80%)	23 (57,50%)	24 (68,57%)	27 (48,21%)
61-75 лет	19 (43,20%)	17(42,50%)	11 (31,43%)	29 (51,79%)

Таблица 2

Оперативные вмешательства, выполненные пациентам I, II и IV групп исследования

Вид оперативного вмешательства	I группа n (%)	II группа n (%)	IV группа n (%)
АББШ	18 (40,9)	24 (60)	18 (32,1)
АБШ	-	-	7 (12,5)
БПШ	23 (52,3)	11 (27,5)	27 (48,2)
Профундопластика	3 (6,8)	1 (2,5)	
АББШ+БПШ	-	3 (7,5)	4 (7,1)
Профундопластика + БПШ	-	1 (2,5)	

Всего	44 (100)	40 (100)	56 (100)
-------	----------	----------	----------

Таблица 3

Распределение пациентов I, II и IV групп по степени хронической артериальной недостаточности в дооперационном периоде (классификация R. Fontaine – А.В. Покровского)

Степень хронической артериальной недостаточности	I группа n=44	II группа n=40	IV группа n=56
II Б, n (%)	36 (81,8%)	34 (85%)	48 (85,7%)
III, n (%)	8 (18,2%)	6 (15%)	8 (14,3%)

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении между группами.

Таблица 4

Оценка состояния русла «оттока» по R.B. Rutherford, $M \pm m$

Исследуемая группа	I группа n=44	II группа n=40
Средний балл по R.B. Rutherford	3,8±0,42	3,55±0,37

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении между группами.

У пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в I и II группах исследования исходно до операции отмечалось снижение ЛПИ по сравнению с контрольной III группой исследования в среднем на 54,6% ($p=0,048$) и 56,5% соответственно ($p=0,041$) (таблица 5).

Таблица 5.

Среднее значение ЛПИ у пациентов в группах исследования, $M \pm m$

Среднее значение ЛПИ	I группа n=44	II группа n=40	III группа (контрольная) n=35
до операции	0,49±0,08#	0,47±0,12#	1,08±0,06
после операции (7 сутки)	0,75±0,13* #	0,80±0,11* #	
через 2 месяца после операции	0,74±0,09* #	0,79±0,17* #	
через 6 месяцев после операции	-	0,78±0,09#	

на момент тромбоза	0,25±0,13#	-	-
--------------------	------------	---	---

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к значениям до операции; ** $p < 0,05$ при сравнении между I и II группами; # $p < 0,05$ по отношению к группе контроля.

В раннем послеоперационном периоде у больных I и II групп исследования наблюдался прирост показателя ЛПИ на 65,3% ($p=0,047$) и 58,8% ($p=0,034$) соответственно по сравнению с исходными значениями, составляя в среднем $0,75 \pm 0,08$ и $0,80 \pm 0,11$. Через 2 месяца после операции у больных I и II групп исследования значения ЛПИ значительно не отличались от послеоперационных показателей ($p=0,31$ и $p=0,29$ соответственно) и сохранялись достаточно высокими по сравнению с исходным дооперационным уровнем (на 66,2% ($p=0,039$) в I группе и 59,5% ($p=0,027$) во II группе), составляя в среднем $0,74 \pm 0,09$ и $0,79 \pm 0,17$ соответственно. Вместе с тем, между I и II группой исследования по уровню ЛПИ не выявлено значимых различий в дооперационном периоде ($p=0,21$), на 7 сутки послеоперационного периода ($p=0,14$) и через 2 месяца после реконструктивного вмешательства ($p=0,17$). Уровень ЛПИ во II группе исследования через 6 месяцев после оперативного лечения значительно не изменился относительно послеоперационного уровня при выписке из стационара ($p=0,16$) и через 2 месяца после операции ($p=0,18$), составляя в среднем $0,78 \pm 0,09$. У пациентов I группы на сроке от 2 до 6 месяцев произошел тромбоз зоны реконструкции, со снижением ЛПИ на 33,3% ($p=0,045$) относительно раннего послеоперационного периода и на 33,8% относительно ЛПИ через 2 месяца после операции ($p=0,043$), составляя в среднем $0,25 \pm 0,13$.

Локализация тромботических осложнений зоны реконструкции в I группе исследования в зависимости от вида оперативного вмешательства: тромбоз БПШ – 52,3%, тромбоз 1-й ветви АББШ – 31,8%, тромбоз 2-х ветвей АББШ – 9,1%, тромбоз зоны профундопластики – 6,8%. Частота ранних тромботических окклюзий у больных, перенесших реконструктивную операцию по поводу облитерирующего поражения аорто-подвздошного сегмента достоверно ниже (40,9%), чем у больных, перенесших реконструктивную операцию на бедренно-подколенном сегменте (52,3%) ($p=0,03$).

В I группе исследования клинически тромбоз зоны реконструкции проявлялся развитием клиники острой ишемии нижних конечностей.

Из 44 пациентов II Б степень острой ишемии по классификации В.С. Савельева - И.И. Затевахина (2002) наблюдалась у 29 больных, II В степень - у 14 пациентов, а III Б степень возникла у 1 больного.

При ультразвуковом исследовании у пациентов I группы отмечался тромбоз зоны реконструкции, признаков стеноза в зоне анастомозов, гиперплазии интимы и прогрессирования атеросклеротического процесса не наблюдалось.

В I группе исследования при развитии тромбоза зоны реконструкции в 95,45% случаев (42 пациента) потребовалось выполнение повторных оперативных вмешательств. Характер повторных реваскуляризирующих операций: тромбэктомия из одной бранши АББШ – 9 (21,4%), тромбэктомия из одной бранши АББШ + фасциотомия – 5 (11,9%), тромбэктомия из двух бранш АББШ – 4 (9,5%), тромбэктомия из БПШ – 14 (33,3%); тромбэктомия из БПШ + фасциотомия – 9 (20,9%), тромбэктомия из зоны пластики ГАБ – 2 (4,8%).

Одному пациенту после профундопластики с диагностированным тромбозом зоны пластики выполнена ампутация нижней конечности по жизненным показаниям в связи с развившимися явлениями некроза мышц голени. В течении 1 года после первичной реконструктивной операции у 1 больного I группы развился повторный тромбоз бранши АББШ, что потребовало выполнение операции тромбэктомии из бранши с реконструкцией дистального анастомоза АББШ. Сохранность конечностей у больных I группы в течении 1 года составила 97,7%, у больных II группы 100%.

Установлена ассоциация сочетания генетических вариантов – аллеля 677 Т МТНFR и аллеля 455 А FGB с формированием ранней тромботической окклюзии в зоне реконструкции. В I группе исследования выявлено данное сочетание генетических вариантов у 27,27% больных, тогда как в III контрольной группе исследования оно отмечалось у 8,57%, а среди больных II группы исследования данное сочетание генетических вариантов выявлено у 12,50%. Данная комбинация полиморфных вариантов генов наследственных тромбофилий является фактором риска развития ранней тромботической окклюзии у больных, перенесших реконструктивную операцию на брюшной аорте и артериях нижних конечностей (OR=4,0; 95% CI 1,03-15,53).

В исследовании выявлена ассоциация молекулярно-генетического маркера 20210 G/A FII у индивидов с генотипом 20210 GA FII с уровнем гомоцистеина и Д-димера по сравнению с генотипом 20210 GG FII

($p=0,05$). У пациентов с генотипами 455 GA FGB и 455 AA FGB выявлено повышение уровня Д-димера по сравнению с пациентами, имеющими генотип 455 GG FGB ($p=0,03$).

Выявлена ассоциация генетического полиморфизма 677 C/T MTHFR с лабораторными показателями. У пациентов с генотипом 677 TT MTHFR уровень ЛПВП крови статистически значимо ниже, чем у пациентов с генотипами 677 CC MTHFR и 677 CT MTHFR ($p=0,05$), а пациенты с генотипами 677 TT и CT MTHFR имели статистически значимое снижение ТВ по сравнению с исследуемыми пациентами с генотипом 677 CC MTHFR ($p=0,005$).

Таким образом, установлена вовлеченность изученных генетических полиморфизмов наследственных тромбофилий (20210G/A FII, 677 C/T MTHFR, 455 G/A FGB) в изменение лабораторных показателей в исследуемых группах.

Установлено, что I группа исследования значимо отличалась от II группы исследования увеличенным уровнем гомоцистеина, фибриногена, триглицеридов в крови и замедлением тромбинового времени. Во II группе исследования определялись значимые отличия от III контрольной группы исследования, характеризующиеся увеличенным уровнем антитромбина III, гомоцистеина, Д-димера, тромбоцитов в крови и удлинением АЧТВ ($p<0,05$).

В проведенном исследовании разработана математическая модель прогнозирования риска развития ранней тромботической окклюзии зоны реконструкции с использованием дискриминантного анализа (патент №2617418 от 25.04.17). Для решения этой задачи проведено разделение больных на две группы: пациенты с развитием ранней тромботической окклюзии после операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей и пациенты контрольной группы. Анализировались результаты лабораторных показателей, позволяющие дискриминировать индивидов на две группы, для которых были получены две дискриминантные функции, включающие следующие показатели: уровень Д-димера, уровень гомоцистеина и количество тромбоцитов в крови.

Составлено уравнение линейной дискриминантной функции (ЛДФ):

1) для отнесения в группу больных с ранним тромбозом зоны реконструкции после операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей:

$$y = -38,2884 + 1,6983x_1 + 2,9453x_2 + 0,1411x_3,$$

2) для отнесения в контрольную группу (индивиды без признаков облитерирующих заболеваний аорты и артерий нижних конечностей):

$$y = -19,9638 + 1,1212x_1 + 0,394x_2 + 0,1115x_3,$$

где x_1 – уровень гомоцистеина в крови (мкмоль/л), x_2 – уровень Д-димера в крови (мкг/мл), x_3 – количество тромбоцитов в крови ($\times 10^9$ /л).

Для увеличения процента правильных дискриминаций в группу больных с ранним тромбозом зоны реконструкции после операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей дополнительно использовали данные генетического тестирования этих индивидов по локусам 455 G/A FGB, 677 C/T MTHFR. Было установлено, что комбинация генетических вариантов 455 A FGB и 677 T MTHFR является фактором риска развития раннего тромбоза зоны реконструкции после операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей. Для исследуемых групп пациентов получены две дискриминантные функции, включающие следующие генетические и лабораторные показатели: генетические варианты по локусам 455 G/A FGB и 677 C/T MTHFR, уровень Д-димера, гомоцистеина, количество тромбоцитов, уровень фибриногена, антитромбина III, ЛПНП и ЛПВП в крови. В среднем процент правильных дискриминаций в I группу исследования и в III контрольную группу на основе данных о генетических вариантах по локусам 455 G/A FGB, 677 C/T MTHFR и лабораторных показателей (уровня Д-димера, гомоцистеина, фибриногена, антитромбина III, ЛПНП и ЛПВП и количества тромбоцитов в крови) составляет 97,47% по сравнению с 93,67% в ЛДФ без учета генетических вариантов.

В данном случае мы имеем следующие уравнения ЛДФ:

1) для отнесения в группу больных с ранним тромбозом зоны реконструкции после операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей:

$$y = -101,554 + 8,549x_1 + 5,193x_2 + 1,733x_3 + 0,154x_4 + 3,796x_5 + 0,735x_6 + 1,255x_7 + 8,135x_8,$$

2) для отнесения в контрольную группу (индивиды без признаков облитерирующих заболеваний аорты и артерий нижних конечностей):

$$y = -71,4118 + 6,1074x_1 + 1,6767x_2 + 1,0168x_3 + 0,1197x_4 + 2,8396x_5 + 0,6612x_6 + 2,4880x_7 + 6,1074x_8,$$

где x_1 – генетический полиморфизм 455 G/A FGB, 677 C/T MTHFR (1- комбинация аллелей 455 A FGB и 677 T MTHFR, 2- другие комбинации генетических вариантов по локусам 455 G/A FG и 677 C/T MTHFR), x_2 – уровень Д-димера в крови (мкг/мл), x_3 – уровень гомоци-

стеина в крови (мкмоль/л), x_4 – количество тромбоцитов в крови ($\times 10^9$ /л), x_5 - уровень фибриногена в крови (г/л), x_6 - уровень анти-тромбина III в крови (%), x_7 - уровень ЛПНП в крови (ммоль/л), x_8 - уровень ЛПВП в крови (ммоль/л). Подставляя значения соответствующих показателей конкретного пациента в вышеуказанные уравнения ЛДФ, рассчитываем значение y . Для какой группы (больные с ранним тромбозом зоны реконструкции или контрольной группы) значение y является максимальным, в ту группу следует отнести пациента.

Разработанные модели прогнозирования риска развития раннего тромбоза зоны реконструкции по таким операционным характеристикам диагностического теста как диагностическая чувствительность (по 67%) и прогностическая ценность отрицательного результата модели с использованием и без использования генетических факторов (0,94 и 0,93 соответственно) показали сопоставимые результаты. У модели с использованием генетических факторов диагностическая специфичность на 7% выше (96% против 89%), что близко к математически рассчитанным процентам правильных дискриминаций в группах (97,47% и 93,67% соответственно), диагностическая эффективность выше на 5% (82% против 78%), прогностическая ценность положительного результата выше на 0,22 (0,76 против 0,54).

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с тромбозом зоны реконструкции в первые 6 месяцев после операций на брюшной аорте, артериях нижних конечностей выявлено статистически значимое повышение уровней анти-тромбина III, гомоцистеина, Д-димера, количества тромбоцитов, фибриногена, триглицеридов, ЛПОНП и снижение уровня ЛПВП в крови по сравнению с группой контроля и увеличение уровней гомоцистеина, фибриногена, триглицеридов в крови и замедление тромбинового времени в группе больных без тромбоза зоны реконструкции ($p < 0,05$).
2. Генетический вариант 20210 GA FII ассоциирован с повышенным уровнем гомоцистеина и Д-димера в крови. Генотипы 455 GA FGB и 455 AA FGB маркируют повышенный уровень Д-димера в крови.
3. Генетические варианты 677 CT и 677 TT MTHFR связаны с повышенным уровнем триглицеридов в крови и укорочением тромбинового времени, а генотип 677 TT MTHFR ассоциирован со сниженным уровнем липопротеидов высокой плотности в крови.
4. Сочетание генетических вариантов 677 T MTHFR и 455 A FGB встречается среди больных с тромбозом зоны реконструкции в первые

6 месяцев после операций на брюшной аорте, артериях нижних конечностей чаще (27,27%), чем в контрольной группе (8,57%) и является фактором риска развития ранней тромботической окклюзии зоны реконструкции при операциях на брюшной аорте и артериях нижних конечностей (OR=4,0).

5. Разработана модель прогнозирования риска развития раннего тромбоза зоны реконструкции, включающая генетические варианты по локусам 455 G/A FGB и 677 C/T MTHFR, количество тромбоцитов в крови, уровень Д-димера, гомоцистеина, фибриногена, антитромбина III, ЛПНП и ЛПВП в крови.

6. Математическая модель прогнозирования риска развития раннего тромбоза зоны реконструкции с учетом влияния генетических вариантов показывает более высокий процент точных прогнозов развития тромботических осложнений по сравнению с моделью, в основе которой используются только клинико-лабораторные показатели - диагностическая специфичность (96% против 89%) и диагностическая эффективность (82% против 78%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Перед реконструктивной операцией на брюшной аорте и артериях нижних конечностей по поводу облитерирующего атеросклероза у мужчин русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья РФ, необходимо проводить молекулярно-генетическое тестирование факторов коагуляции 20210G/A FII, 677 C/T MTHFR, 455 G/A FGB для прогнозирования возможного развития тромботической окклюзии зоны реконструкции.

2. У больных перед реконструктивной операцией на брюшной аорте и артериях нижних конечностей в качестве маркеров повышенного риска развития тромбоза зоны реконструкции целесообразно использовать сочетание генетических вариантов 677 T MTHFR и 455 A FGB.

3. Для оценки риска развития ранней тромботической окклюзии зоны реконструкции у пациентов после оперативных вмешательств на брюшной аорте и артериях нижних конечностей рекомендуем использовать разработанную математическую модель, включающую в себя следующие предикторы развития тромбоза: генетические варианты по локусам 455 G/A FGB и 677 C/T MTHFR в сочетании с лабораторными показателями - количество тромбоцитов в крови, уровень Д-димера, гомоцистеина, фибриногена, антитромбина III, ЛПНП и ЛПВП в крови.

4. У пациентов с сочетанием генетических вариантов 677 T MTHFR и 455 A FGB необходимо проводить индивидуальную профилактику тромбоза с применением препаратов фолиевой кислоты и назначением пероральной антикоагулянтной терапии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

А. В рецензируемых научных журналах:

1. Парфенов, Е.И. Генетические полиморфизмы наследственных тромбофилий, ассоциированные с развитием ранней тромботической окклюзии в зоне реконструкции у больных после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфенов, М.И. Чурносков // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 1. – С. 1178-1181.
2. Парфенов, Е.И. Особенности клинико-лабораторных показателей у пациентов после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфенов, Е.А. Бобровская // *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. – 2015. – Вып. 4 (56). – С. 73-75.
3. Парфенов, Е.И. Исследование ассоциаций генетических полиморфизмов генов наследственных тромбофилий с клинико-лабораторными показателями у больных после реконструктивных операций по поводу облитерирующих заболеваний брюшной аорты и артерий нижних конечностей / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфёнов, М.И. Чурносков // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. – 2015. – № 4. – С. 51-56.
4. Парфенов, Е.И. Сравнение математических моделей прогнозирования развития тромбоза зоны реконструкции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей на основе клинико-лабораторных показателей и генетических вариантов тромбофилий по локусам 455 G/A FGB, 677 C/T MTHFR / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфенов, М.И. Чурносков // *Современные проблемы науки и образования*. – 2017. – № 5. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26740>.

Б. в других научных изданиях:

5. Парфенов, Е.И. Особенности системы гемостаза у больных после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / Е.И. Парфенов, Е.А. Бобровская, А.А. Шалимов // *Актуальные вопросы современной клинической и экспериментальной медицины*. – Белгород, 2013. – С. 52-53.

6. Парфенов, Е.И. Открытые и эндоваскулярные операции у больных с поражением аорто-подвздошного сегмента с позиции эндотелиальной дисфункции / В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская, Е.И. Парфенов // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2015. – Т. 21, № 2, прил. – С. 358-359.
7. Парфенов, Е.И. Анализ особенностей клинико-лабораторных показателей у пациентов после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / А.В. Лазаренко, Е.И. Парфенов, М.И. Чурносков // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2015. – Т. 21, № 4, прил. – С. 78-79.
8. Парфенов, Е.И. Ассоциация генетических полиморфизмов наследственных тромбофилий с развитием ранней тромботической окклюзии в зоне реконструкции у больных после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / А.В. Лазаренко, Е.И. Парфенов, М.И. Чурносков // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2015. – Т. 21, № 4, прил. – С. 79-80.
9. Парфенов, Е.И. Изучение влияния генетических полиморфизмов генов наследственных тромбофилий на клинико-лабораторные показатели у больных после реконструктивных операций по поводу облитерирующих заболеваний брюшной аорты и артерий нижних конечностей / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфенов, М.И. Чурносков // *Современные тенденции развития науки и технологий*. – Белгород. 2015. – № 7, Ч. 1. – С. 99-101.
10. Парфенов, Е.И. Модель прогнозирования развития тромбоза зоны реконструкции после операций на аорте и артериях нижних конечностей с учетом генетических вариантов наследственных тромбофилий / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфенов, Е.А. Бобровская // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2016. – Т. 22, № 2, прил. – С. 208-210.
11. Парфенов, Е.И. Частота тромбозов зоны реконструкции после оперативного вмешательства на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская, Е.И. Парфенов // *Университетская наука: взгляд в будущее*. – Курск, 2016. – Т. 1. – С. 299-301.
12. Парфенов, Е.И. Модель прогнозирования развития тромбоза зоны реконструкции после операций на аорте и артериях нижних конечностей в первые 6 месяцев послеоперационного периода в зависимости от генетических вариантов наследственных тромбофилий и клинико-лабораторных показателей / Е.И. Парфенов // *Материалы X юбилей-*

ной международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков. – Курск, 2016. – Т. 2. – С. 133-138.

13. Парфенов, Е.И. Ассоциация генетических полиморфизмов генов наследственных тромбофилий с клинико-лабораторными показателями у больных после реконструктивных операций по поводу облитерирующих заболеваний брюшной аорты и артерий нижних конечностей / Е.И. Парфенов, В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская // Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии. – Курск, 2016. – С. 77-78.

14. Парфенов, Е.И. Связь генетических полиморфизмов генов наследственных тромбофилий с клинико-лабораторными показателями у больных после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / Е.И. Парфенов, В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская // Первый съезд хирургов Приволжского федерального округа. – Нижний Новгород, 2016. – С. 12-13.

15. Парфенов, Е.И. Особенности клинико-лабораторных показателей у пациентов мужского пола старше 50 лет, перенесших реконструктивные операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей / Е.И. Парфенов, В.А. Лазаренко, Е.А. Бобровская // Возраст-ассоциированные и гендерные особенности здоровья и болезни. – Курск, 2016. – С. 253-260.

16. Парфенов, Е.И. Пример математической модели прогнозирования развития тромбоза зоны реконструкции в хирургии брюшной аорты и артерий нижних конечностей / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфенов, Е.А. Бобровская // Альманах Института хирургии им. А.В. Вишневского. – 2017. – № 1. – С. 729-730.

17. Парфенов, Е.И. Пример математической модели прогнозирования развития тромбоза зоны реконструкции на брюшной аорте и артерий нижних конечностей / В.А. Лазаренко, Е.И. Парфенов, Е.А. Бобровская // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2017. – Т. 23, № 2, прил. – С. 247-249.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АББШ – аорто-бедренное бифуркационное шунтирование
 АБШ – аорто-бедренное шунтирование
 АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время
 БПШ – бедренно-подколенное шунтирование
 ГАБ – глубокая артерия бедра
 ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
 ЛПВП - липопротеиды высокой плотности
 ЛДФ – линейная дискриминантная функция
 ЛПНП - липопротеиды низкой плотности
 ЛПОНП - липопротеиды очень низкой плотности
 ЛПИ - лодыжечно-плечевой индекс
 МНО - международное нормализованное отношение
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 F II – ген протромбина
 F V – ген фактора Лейдена
 FGB - ген фибриногена β
 MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза

Научное издание

Парфенов Евгений Игоревич

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ РАННЕЙ ТРОМБОТИЧЕСКОЙ ОККЛЮЗИИ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ РЕКОНСТРУКТИВНЫХ ОПЕРАЦИЙ НА БРЮШНОЙ АОРТЕ И АРТЕРИЯХ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
 кандидата медицинских наук

Подписано в печать 2018. Формат 60x84/16.

Бумага писчая. Гарнитура Times. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ №

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3

Отпечатано в Издательский дом «Белгород» НИУ «БелГУ» Минобрнауки РФ,
 308015, ул. Победы, 85, корп.15, к.1-1. (4722)30-14-45