

**ОСОБЕННОСТИ ПРОКОАГУЛЯНТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СИСТЕМЕ
ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ.**

Комиссаров К.А., Папаян Л.П., Бессмельцев С.С., Головина О.Г., Силина Н.Н., Солдатенков В.Е., Капустин С.И., Бураков В.В., Салтыкова Н.Б., Кузакбирдиева О.Х., Солдатенкова О.В.

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и
трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург, Российская Федерация,
191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16, тел./факс (812) 274-56-50,
e-mail: RNIINT@mail.ru, bloodscience@mail.ru*

Резюме. Артериальные тромбозы и их осложнения в настоящее время являются одной из основных причин смертности и инвалидизации населения в цивилизованных странах, актуальным представляются исследования, направленные на улучшение диагностики и лечения тромбоза при хронических облитерирующих заболеваниях периферических артерий (ХОЗАНК).

Цель исследования. Выявить факторы риска развития артериальных тромбозов у пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями периферических артерий.

Материалы и методы. Обследовано 47 пациентов с ХОЗАНК: 29 пациентов без реконструктивного оперативного лечения в анамнезе (группа 1) и 18 пациентов, перенесших тромбоз артерий/шунтов нижних конечностей после реконструктивных оперативных вмешательств (группа 2). Исследовали параметры плазменного гемостаза, уровень гомоцистеина, аллельные варианты генов, ассоциированных с плазменным гемостазом.

Результаты. В обеих группах, независимо от тромботического анамнеза, обнаружены признаки гиперкоагуляции: значимое по сравнению с группой контроля увеличение концентрации фибриногена, активности фактора VIII, активности и содержания фактора Виллебранда. Отличительной особенностью пациентов группы 2 явилась большая степень повышения активности и уровня фактора Виллебранда по сравнению с пациентами группы 1 ($p < 0,05$). Определялось значимое снижение активности антитромбина как по сравнению с контрольной группой, так и больными без тромботических проявлений ($p < 0,05$). Мутация в гене фактора V (G1691A), Лейденская мутация чаще встречалась у пациентов, перенесших оперативное лечение, по сравнению с больными без оперативного лечения (19,3% и 9,3%). Мутация фактора II (G20210A) аналогично встречалась чаще в группе 2, чем в группе без оперативного лечения (6,1 % и 3,6 % соответственно). Повышение уровня гомоцистеина независимо от полиморфизма гена

метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) выявлено у 34,3% пациентов группы 2 и 9,6% пациентов в группе 1.

Заключение. Прокоагулянтную направленность нарушений гемостаза у больных второй группы усиливают эндотелиальная дисфункция, снижение активности антитромбина, а также большая частота встречаемости гипергомоцистеинемии и мутаций в генах фактора V (G1691A) и фактора II (G20210A), ассоциированных со склонностью к тромбозам. Для всех больных с ХОЗАНК характерна прокоагулянтная направленность нарушений плазменного гемостаза, наиболее выраженная у пациентов, перенесших тромбоз артерий нижних конечностей или шунтов после реконструктивных оперативных вмешательств. В связи с вышеизложенными фактами можно сделать вывод о необходимости оценки предрасположенности к развитию тромботических проявлений у больных ХОЗАНК с целью определения рисков оперативного лечения и индивидуализации терапии.

Ключевые слова: облитерирующий атеросклероз, тромбоз, эндотелиальная дисфункция, тромбофилия, гемостаз, ишемия нижних конечностей

IDENTITIES OF PROCOAGULANT CHANGES OF HEMOSTASIS IN PATIENTS WITH CHRONIC PERIPHERAL ARTERIAL OCCLUSIVE DISEASE.

Komissarov K.A., Papayan L.P., Bessmeltsev S.S., Golovina O.G., Silina N.N., Soldatenkov V.E., Kapustin S.I., Burakov V.V., Saltykova N.B., Kuzakbirdieva O.Kh., Soldatenkova O.V.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, Russia

Abstract. Arterial thrombosis as well as its complications is currently one of the main causes of mortality and disability in civilized countries. That's why the studies directed toward the improvement of thrombosis diagnostics and treatment in patients with chronic peripheral arterial occlusive diseases (CPAOD) are of high clinical interest.

The aim. To identify the risk factors of arterial thrombosis in patients with chronic peripheral arterial occlusive diseases.

Materials and methods. 47 patients with CPAOD were studied. They were distributed into 2 clinical groups: group 1 consisted of 29 patients without any history of reconstructive surgical treatment and group 2 - 18 patients with the thrombosis of arteries / bypass grafts of the lower extremities after reconstructive surgery. The parameters of coagulation, homocysteine level, allelic variants of genes associated with plasma hemostasis were studied.

Results. Important markers of hypercoagulation such as significant increase of fibrinogen concentration, factor VIII activity, activity and level of von Willebrand factor were found in both groups, regardless of thrombotic history. The distinctive feature of patients of group 2 was more prominent increase of activity and level of von Willebrand factor in comparison with patients of group 1 ($p < 0.05$). Also, in group 2 a significant decrease of antithrombin activity was determined in comparison with control group and patients without thrombotic manifestations ($p < 0.05$). Mutation in the factor V gene (G1691A, Leiden mutation) was more common in patients who underwent surgical treatment (19.3% vs. 9.3% in patients without surgical treatment). The factor II mutation (G20210A) was likewise more common in group 2 than in the group 1 (6.1% and 3.6%, respectively). An increase of homocysteine level, regardless of the allele of methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR), was diagnosed in 34.3% of patients in group 2 and 9.6% in group 1.

Conclusion. The risk factors determining procoagulant changes of hemostasis in patients with CPAOD were revealed. The main factors increasing the procoagulant directivity of hemostasis disorders in patients of the second group were the following: endothelial dysfunction, a decrease of antithrombin activity, as well as a high incidence of hyperhomocysteinemia and mutations in the factor V (G1691A) and factor II (G20210A) genes associated with a predisposition to thrombosis. All patients with CPAOD were characterized by the procoagulant tendency of plasma

hemostasis, mostly pronounced in patients with the thrombosis of arteries / bypass grafts of the lower extremities after reconstructive surgery. Based on above mentioned factors we state the necessity of clinical and laboratory assessment of the predisposition to thrombosis in patients with CPAOD in order to determine the risks of surgical treatment and individualize the therapy.

Keywords: atherosclerosis obliterans, thrombosis, endothelial dysfunction, thrombophilia, hemostasis, lower limb ischemia

Введение.

Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей (ХОЗАНК) диагностируют у 14% населения, причем с возрастом частота их встречаемости увеличивается [1,2]. Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей составляет 82,3% от всех ХОЗАНК [3,4]. Одной из основных причин острой манифестации атеросклероза (острый коронарный синдром, ишемический инсульт, критическая ишемия нижних конечностей) является атеротромбоз [3,5,6]. Полагают, что в основе патогенеза атеротромбоза лежат два процесса: поражение стенки артерии атеросклеротической бляшкой и дальнейшее образование тромба [5,6]. Атеросклеротические изменения сосудов более характерны для лиц пожилого возраста, тогда как у молодых пациентов больший вклад в формирование патологии вносят прокоагулянтные нарушения в системе гемостаза [7]. Характеристики последних, как факторов риска развития артериальных тромбозов у больных с проявлениями периферического атеросклероза недостаточно изучены.

Поскольку артериальные тромбозы и их осложнения в настоящее время являются одной из основных причин смертности и инвалидизации населения в цивилизованных странах, актуальным представляются исследования, направленные на улучшение диагностики и лечения тромботических заболеваний у пациентов с ХОЗАНК [7,8,9].

Цель работы.

Выявить факторы риска развития артериальных тромбозов у пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями периферических артерий.

Материалы и методы.

Обследовано 47 пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей, которые наблюдались в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России в период 2018-2020 гг. Диагноз устанавливался в соответствии с критериями национальных рекомендаций по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей от 2019 г [1]. Всем пациентам выполнена комплексная клиничко-инструментальная диагностика с использованием ультразвукового дуплексного сканирования артерий нижних конечностей, определением уровня и степени стеноза периферических артерий, измерением лодыжечно-плечевого индекса. Тяжесть хронической артериальной недостаточности (ХАН) варьировала в пределах от IIa до III стадии по Покровскому - Фонтейну. Пациенты на момент исследования лабораторных показателей гемостаза не получали антикоагулянтной терапии.

Обследованные пациенты были разделены на 2 группы. В первую вошли 29 пациентов (8 женщин и 21 мужчин) с гемодинамически значимыми стенозами периферических артерий, без оперативного лечения в анамнезе, медиана возраста – 68 лет (95% ДИ – 52,4-

84 лет). Во вторую группу были включены 18 пациентов (4 женщины и 14 мужчин) после реваскуляризирующих оперативных вмешательств, с тромбозом зон реконструкций в сроки наблюдения от 3 месяцев до 10 лет. Медиана возраста 64,5 лет (95% ДИ – 45,0-78,6 лет). Оценку показателей системы гемостаза больных проводили в сравнении с группой контроля (группа 3), которая включала 43 практически здоровых донора крови.

Для характеристики состояния гемостаза использовали: индекс активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), показатель протромбинового теста по Квику (ПТ), концентрацию фибриногена, активность фактора VIII (ф.VIII), ристоцетин-кофакторную активность и уровень фактора Виллебранда (фВ и AgфВ соответственно), а также активность антитромбина (АТ), протеина С (РС), уровень свободного протеина S (PS) и уровень плазменного гомоцистеина. Молекулярно-генетическое исследование включало определение мутации в генах факторов V и II, а также полиморфизм генов PAI-1 (ингибитор активатора плазминогена) и MTHFR (метилентетрагидрофолатредуктаза). Генотипирование проводили с помощью метода ПЦР-ПДРФ, основанного на анализе полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Статистическую обработку данных проводили при помощи программ Microsoft Office Excel и STATISTICA 10.0. Для представления результатов использовали медиану (Me) и 95% доверительный интервал (ДИ). Для определения достоверности различий между группами применяли критерий Манна-Уитни, различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

В ходе исследования получены параметры гемостаза пациентов с ХОЗАНК, представленные в таблице 1. Как следует из данных таблицы 1, в обеих группах, независимо от тромботического анамнеза, отмечалось значимое увеличение по сравнению с группой контроля концентрации фибриногена, активности фактора VIII, активности и содержания фактора Виллебранда, что можно оценить как признаки гиперкоагуляции. Степень выраженности изменений фактора Виллебранда была значимо выше у больных группы 2 ($p < 0,05$), по сравнению с пациентами без оперативного лечения в анамнезе (группа 1). Отмеченное различие возможно рассматривать не только как признак усиления гемостатического потенциала крови, но и эндотелиальной дисфункции в ответ на присутствие сосудистого трансплантата или стента.

Параметры плазменного гемостаза у пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей

Показатели	Группа 1 (n=29)	Группа 2 (n=18)	Группа сравнения (n=43)
Индекс АПТВ	0,96 0,78-1,54	0,97 0,89-2,72	1,02 0,98-1,07
ПТ, %	98,5* 62,3-127,3	84,5 39,98-121,56	93,4 91,23-105,4
Фибриноген, г/л	4,28* 2,46-5,93	3,51* 2,45-5,0	2,73 2,54-2,93
ф. VIII, %	137* 76-220	172,5* 62,87-253,7	104,0 85,0-130,0
фВ, %	185* 105,75-292,5	210*, ** 146,0-534,0	97,0 84,00-110,00
AgфВ, %	160* 116,43-229,91	212,3*, ** 161,7-225,63	107,0 89,25-134,75

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** – $p < 0,05$ при сравнении показателей группы 1 и группы 2 между собой

Учитывая значимую роль естественных антикоагулянтов в поддержании гемостатического баланса крови, у всех наблюдаемых пациентов исследовали активность антитромбина, протеина С и уровень свободного протеина S (таблица 2). По данным таблицы 2 отмечено, что только у пациентов группы 2 имелось значимое снижение активности антитромбина, как по сравнению с контрольной группой, так и с группой 1. Возможно предположить как первичное исходное снижение антитромбина, так и продолжающееся потребление антикоагулянта на фоне репаративных и пролиферативных процессов в зоне сосудистой реконструкции. Данный феномен интересен тем, что может приводить к большей опасности развития тромботических осложнений.

По данным таблицы 2 выявлено, что активность естественных антикоагулянтов у пациентов группы 1 не снижалась. Наоборот, имелось значимое по сравнению с контрольной группой увеличение активности протеина С, возможно, компенсаторного характера в ответ на гиперкоагуляционный сдвиг в системе гемостаза.

Показатели естественных антикоагулянтов у пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей

Показатели	Группа 1 (n=29)	Группа 2 (n=18)	Группа сравнения (n=43)
АТ, %	93,6 69,3-116,8	86*, ** 65,4-126,2	94,00 81,50-105,5
РС, %	110* 81,6-135	99 77,6-154,6	100,60 92,00-114,0
PS, %	98 53,3-130,55	93 81,3-131,4	100,00 89,50-107,0

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой;

** – $p < 0,05$ при сравнении показателей группы 1 и группы 2 между собой

Выявлено, что гетерозиготная мутация в гене фактора V (G1691A, Лейденская мутация) определялась чаще в группе 2, чем в группе 1 (19,3% и 9,3% соответственно). Гетерозиготная мутация фактора II (G20210A) аналогично определялась с большей частотой в группе 2, чем в группе без оперативных вмешательств (6,1 % и 3,6 % соответственно). Полиморфизм PAI-1 4G/5G в гетерозиготном состоянии встречался практически с одинаковой частотой в группе больных без тромботического анамнеза и среди пациентов, перенесших тромбоз дистальных артерий или шунтов.

Наличие полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) C677T в гетерозиготном состоянии не влияло на частоту тромбоэмболических осложнений и уровень плазменного гомоцистеина. В то же время умеренная гипергомоцистеинемия (ГГЦ) до 50 мкмоль/л была обнаружена у 3 больных с полиморфизмом гена MTHFR C677T в гомозиготном состоянии T/T. Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) независимо от полиморфизма гена MTHFR диагностирована у 34,3% пациентов группы 2 и 9,6% в группе 1. Как известно, наличие ГГЦ является независимым фактором риска развития как венозных тромбоэмболических осложнений [10], так и ХОЗАНК, что еще раз свидетельствует о патогенетической значимости ГГЦ.

Заключение.

Проведенное нами исследование позволило установить, что прокоагулянтную направленность нарушений гемостаза у пациентов, перенесших тромбоз артерий нижних

конечностей или зон реконструкции после оперативных вмешательств, усиливают эндотелиальная дисфункция, снижение активности антитромбина, а также большая частота встречаемости гипергомоцистеинемии и гетерозиготных мутаций в генах фактора V (G1691A) и фактора II (G20210A), ассоциированных со склонностью к тромбозам. Для всех больных с ХОЗАНК характерна прокоагулянтная направленность нарушений плазменного гемостаза, наиболее выраженная у пациентов, перенесших тромбоз артерий нижних конечностей или зон реконструкции после оперативных вмешательств.

Роль снижения активности естественных антикоагулянтов в послеоперационном периоде реваскулязирующих оперативных вмешательств требует дальнейшего изучения. Поэтому у пациентов с ХОЗАНК необходимо оценивать предрасположенность к развитию тромбозов с целью индивидуализации терапии и снижения риска тромботических осложнений в послеоперационном периоде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Национальные рекомендации по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей. – М., – 2019. – С. 9-17.
2. Бабичев А.В. Роль эндотелия в механизмах гемостаза. Педиатр. – 2013. – Т.4, №1. – С. 122-128.
3. Домбровский А.Л., Сергиенко И.В., Рвачева А.В., et al. Влияние терапии аторвастатином в различных дозах на эндотелиальные прогениторные клетки и факторы ангиогенеза у больных ишемической болезнью сердца. Атеросклероз и дислипидемии. 2015. – Т.2. – С.56-68.
4. Olinic DM, Spinu M, Olinic M, Homorodean C, Tataru DA, Liew A, et al. Epidemiology of peripheral artery disease in Europe: VAS Educational Paper. Int Angiol. – 2018. – Vol. 37. – P. 327-334.
5. 2018 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS). Eur J Vasc Endovasc Surg. – 2018. – P. 1-64.
6. Lusis A.J., Mar R., Pajukanta P. Genetics of atherosclerosis. Annu Rev Genomics Hum Genet. – 2004. – №5. – P. 189-218.
7. Ross R., Glomset J.A. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). N Engl J Med 1976. – Vol.295. – P. 420-425.
8. Norgren L. et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II) // J. Vasc. Surg. Elsevier BV. – 2007. – Vol.45, №1. – P. 5–67.
9. Howard DP, Banerjee A, Fairhead JF, Hands L, Silver LE, Rothwell PM. Population-based study of incidence, risk factors, outcome, and prognosis of ischemic peripheral arterial events: implications for prevention. Circulation. – 2015. – Vol. 132. – P. 5-15.
10. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО). Флебология. – Т.9, №4. – 2015. – С. 5-7.