

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ОБЛИТЕРИРУЮЩЕГО АТЕРОСКЛЕРОЗА АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА

Рыбачков В.В., Четверикова Е.Н.

ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России, Ярославль, e-mail: rector@yma.ac.ru

Проанализированы результаты лечения 223 пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей на основе генетического полиморфизма. Цель исследования: оценить влияние генотипа на эффективность лечения облитерирующего атеросклероза. Состояние периферического кровообращения оценивали по клиническим данным и ультразвуковой доплерографии. Методом полимеразной цепной реакции определены 9 генов: гемостаза, эндотелиальной NO синтазы, рецептора к ангиотензину II. Проведен анализ частоты мутаций исследуемых генов в зависимости от характера проводимого лечения: консервативная терапия и реконструктивные операции. Степень эффективности лечения оценивалась по частоте выполнения ампутаций. Степень генетического полиморфизма, ассоциированная с неэффективностью консервативного и хирургического лечения окклюзионных заболеваний артерий нижних конечностей, может быть использована в качестве прогнозирующих процедур и адекватной коррекции.

Ключевые слова: атеросклероз, генетический полиморфизм, гетерозигота, гомозигота, мутация.

EVALUATION OF TREATMENT EFFECTIVENESS ATHEROSCLEROSIS OBLITERANS OF LOWER LIMB ARTERIES BASED ON GENETIC POLIMORPHISM

Rybachkov V.V., Chetverikova E.N.

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, e-mail: rector@yma.ac.ru

Results of treatment of 223 patients with atherosclerosis obliterans of lower limb arteries based on genetic polymorphism. Objective: To evaluate the effect of genotype on the efficacy of the treatment of atherosclerosis obliterans. The state of the peripheral circulation was evaluated by clinical data and Doppler ultrasound. Polymerase chain reaction defined nine genes hemostasis endothelial NO synthase, angiotensin II. The analysis of the frequency of mutations in the genes studied depending on the nature of the treatment: conservative therapy and reconstructive surgery. The effectiveness of treatment was assessed by the frequency of performing amputations. The degree of genetic polymorphism associated with the ineffectiveness of conservative and surgical treatment of occlusive arterial disease of the lower extremities can be used as predictors of procedures and adequate correction.

Keywords: atherosclerosis, genetic polymorphism, heterozygote, homozygote mutation.

Широкая распространенность и тяжесть хронических окклюзионных заболеваний артерий конечности ставит указанную патологию в ряд особо важных медицинских и социальных проблем. Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей является одним из частых проявлений генерализованного атеросклероза, встречается у 2–3 % населения и составляет 20 % от всех больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями [3, 5, 6]. Развитие атеросклероза характеризуется непрерывным течением и во многих случаях приводит к инвалидизации или летальному исходу вследствие осложнений [4, 5]. Успехи в лечении облитерирующих заболеваний, достигнутые в последние годы, связаны в основном с совершенствованием хирургических методов лечения [1, 2]. Однако восстановление регионарного кровотока – задача весьма трудная и не всегда выполнимая, а применение

медикаментозной терапии не всегда дает желаемый эффект, что, вероятно, связано с состоянием генотипа, однако, исследования по данной проблеме практически отсутствуют.

Цель исследования

Оценить влияние клинико-генетических ассоциаций на эффективность лечения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.

Материалы и методы

Основу работы составили клинические наблюдения у 223 пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей, находившихся на лечении в хирургических клиниках города Ярославля в период с 2012 по 2014 г. Среди обследованных мужчин было 156 (70 %), женщин – 67 (30 %). Возраст пациентов варьировал от 40 до 89 лет и в среднем составил 66,5 лет. Состояние периферического кровообращения оценивалось по клиническим данным и ультразвуковой доплерографии. По классификации Фонтейна – Покровского I стадия заболевания была выявлена у 42 (19 %) пациентов, ПА стадия – у 31 (14 %), ПБ стадия – у 86 (38 %), III стадия – у 35 (16 %), IV стадия – у 29 (13 %). Аорто-подвздошный уровень окклюзионно-стенотического процесса встречался у 30 (13 %) пациентов, бедренно-подколенный у 107 (48 %), подколенно-берцовый у 86 (39 %). В соответствии с поставленными задачами все больные были разделены на 2 группы. Первая группа – 184 пациента, которым проводилась стандартная консервативная терапия. Вторая группа – 39 пациента, у которых в анамнезе выполнена реконструктивная операция. Варианты реконструктивных операций: аутовенозное шунтирование и аллопрофундопластика выполнены у 2 (5,1 %) пациентов, эндартерэктомия и подвздошно-подколенное шунтирование у 6 (15,4 %) больных, тромбэктомия – у 4 (10,3 %), бедренно-подколенное шунтирование – у 9 (23 %), аортобифemorальное шунтирование – у 15 (38,5 %), сочетание нескольких видов операций перенесли 3 (7,7 %) пациента. Консервативная терапия включала в себя внутривенное введение периферических вазодилататоров (пентоксифиллин), антигипоксантов (актовегин) и других препаратов, а также физиотерапию. Определение полиморфизмов генов производилось с помощью полимеразной цепной реакции на аппарате ПЦР-РВ, оснащенный программой «АНК-32». Выделение ДНК производилось из замороженной цельной венозной крови методом магнитного мостика. В результате в сыворотке крови были определены 9 генов: ген рецептора к ангиотензину II; ген, определяющий структуру эндотелиальной NOсинтазы (eNOS); гены гемостаза (F5 фактор Лейдена, протромбин F2, ингибитор активатора плазминогена PAI-1, тромбоцитарный рецептор фибриногена GPIIb/IIIa, фибриногена FGB); гены цитохрома P-450 CYP2D6, CYP2C9. Статистическую обработку материала производили с помощью программы StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. Качественные данные

описывались через абсолютные и относительные частоты с последующим их сравнением с помощью критериев χ^2 , χ^2 с поправкой Йетса, либо точного двустороннего критерия Фишера.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования были направлены, прежде всего, на выявление клинической значимости генов, которые причастны к эффективности консервативной терапии и хирургическому вмешательству. Степень эффективности оценивалась по частоте выполненных ампутаций. При консервативной терапии частота ампутаций составила 18 % (33 человека). Во второй группе 18 % (7 человек). С учетом изложенного в каждой группе проведена оценка генетического тестирования в зависимости от степени эффективности проводимого лечения. В результате полученных данных оказалось, что в первой группе больных, где проводилась консервативная терапия, выполненные ампутации были связаны со следующими генами (табл. 1).

Таблица 1

Оценка эффективности консервативного лечения пациентов с ОААНК

Гены		Степень эффективности консервативного лечения	
		Эффективно (n=151)	Не эффективно (n=33)
AGTR 2	всего	121(80,1%)	26(78,8%)
	гомозигота	16(13,2%)	23(88,5%)
	гетерозигота	105(86,8%)	3(11,5%)
NOS3:894	всего	110(72,8%)	3(9,1%)
	гомозигота	7(6,4%)	1(33,3%)
	гетерозигота	103(93,6%)	2(66,7%)
CYP2C9	всего	5(3,3%)	24(72,7%)
	гомозигота	1(20%)	-
	гетерозигота	4(80%)	24(100%)
CYP2D6	всего	8(5,3%)	26(78,8%)
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	8(100%)	26(100%)
F5	всего	-	32(97%)
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	-	32(100%)
F2	всего	-	-
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	-	-
PAI - 1	всего	151(100%)	32(97%)
	гомозигота	-	32(100%)
	гетерозигота	151(100%)	-
GPIIIA	всего	-	32(97%)
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	-	32(100%)
FGB	всего	150(99,3%)	-
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	150(100%)	-

Данные группы пациентов достоверно отличались друг от друга. Уровень значимости различий $p < 0,05$.

Как показали исследования, среди генов, которые ассоциированы с неэффективностью консервативной терапии, наибольшую клиническую значимость имеет гетерозиготная мутация генов цитохрома P-450 CYP2D6 (100%) и CYP2C9 (100 %), а также генов F5 (100 %) и тромбоцитарного рецептора фибриногена GPIIb/IIIa (100 %). Высокая частота мутации гена ингибитора активатора плазминогена PAI – 1 выявлена в обеих группах пациентов, однако гомозиготная мутация определена у пациентов, которым была выполнена ампутация. Данные исследования в этом направлении с использованием многомерного анализа показали высокую степень доказательности частоты данных генов и их полиморфизма в прогнозировании степени эффективности консервативной терапии у больных с нарушением дистального кровотока. В частности чувствительность метода превышает 80 %. На основании полученных данных можно считать, что при наличии полиморфизма данных генов у данного контингента больных следует проводить коррекцию консервативной терапии, направленную на улучшение функционального состояния коллатерального кровообращения. Исследования в этом направлении продолжаются.

Таблица 2

Оценка эффективности реконструктивных операций у больных с ОААНК

Гены		Степень эффективности реконструктивных операций	
		Эффективны (n=32)	Не эффективны (n=7)
AGTR 2	всего	8(25%)	7(100%)
	гомозигота	4(50%)	6(86,7%)
	гетерозигота	4(50%)	1(14,3%)
NOS3:894	всего	16(50%)	1(14,3%)
	гомозигота	14(87,5%)	-
	гетерозигота	2(12,5%)	1(100%)
CYP2C9	всего	20(62,5%)	5(71,4%)
	гомозигота	13(65%)	-
	гетерозигота	7(35%)	5(100%)
CYP2D6	всего	21(65,6%)	5(71,4%)
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	21(100%)	5(100%)
F5	всего	-	7(100%)
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	-	7(100%)
F2	всего	29(90,6%)	-
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	29(100%)	-
PAI - 1	всего	-	7(100%)
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	-	7(100%)
GPIIb/IIIa	всего	29(90,6%)	7(100%)

	гомозигота	-	-
	гетерозигота	29(100%)	7(100%)
FGB	всего	29(90,6%)	-
	гомозигота	-	-
	гетерозигота	29(100%)	-

Уровень значимости различий $p < 0,05$.

Во второй группе больных, как уже было сказано, выполнена ампутация у 7 пациентов, в основном после эндартерэктомии, тромбэктомии, подвздошно-бедренного и бедренно-подколенного шунтирования при III стадии ишемии. Согласно углубленным исследованиям в этой группе больных наиболее значимыми генами, ассоциированными с неэффективностью хирургического пособия, являются: мутации по гомозиготе гена рецептора к ангиотензину II AGTR 2, гетерозиготная мутация гена эндотелиальной NOсинтазы NOS3:894, генов цитохрома P-450, а также мутации по гетерозиготе в 100 % наблюдений генов фактора Лейдена F5, ингибитора активатора плазминогена PAI-1, тромбоцитарного рецептора фибриногена GPIIb/IIIa (табл. 2). Проведенные углубленные исследования с использованием методов многомерного анализа также подтверждают их высокую степень доказательности и чувствительность. Полученные данные дают основание считать, что при III стадии ишемии вариант данных оперативных вмешательств неадекватен. В этих случаях, по-видимому, коррекция кровотока должна осуществляться другими методами хирургического пособия, возможно с применением малоинвазивных технологий.

Вывод

Степень генетического полиморфизма, ассоциированная с неэффективностью консервативного и хирургического лечения окклюзионных заболеваний артерий нижних конечностей, можно использовать в качестве прогнозирования проводимых лечебных мероприятий и их адекватной коррекции.

Список литературы

1. Абалмасов К.Г. Качество жизни больных с хронической ишемией нижних конечностей / К.Г. Абалмасов, Ю.И. Бузиаохвили, К.Г. Морозов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2004. – Т.10, № 2. – С.8-13.
2. Гавриленко А.В. Прогнозирование результатов реконструктивных операций на сосудах нижних конечностей /А.В. Гавриленко, Д.А. Лисицкий. – М.: МНПИ, 2001. – 80с.
3. Затевахин И.И. Облитерирующие заболевания аорты и артерий нижних конечностей / И.И. Затевахин, М.Ш. Цициашвили, Н.В. Степанов // Русский медицинский журнал. – 2001. – № 3-4. – С. 12-18.

4. Кириенко А.И. Амбулаторная ангиология /А.И. Кириенко, В.М. Кошкин, В.Ю. Богачев. – М.: Литерра, 2009. – 328 с.
5. Покровский А.В. Клиническая ангиология: руководство для врачей /А.В. Покровский. – М.: Медицина, 2004. – 888 с.
6. Barani J. Inflammatory mediators are associated with 1-year mortality in critical limb ischemia / J/ Barani, J.F. Nilsson, L. Matliasson // J. Vasc/ Surg. – 2005. – № 45. – P.75-80.

Рецензенты:

Хорев А.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России, г. Ярославль;

Червяков Ю.В., д.м.н., профессор кафедры хирургии ИПДО ГБОУ ВПО ЯГМУ Минздрава России, г. Ярославль.