

УДК 617.3:616–005.6/.7-084-06:611.018.74 (045)

Оригинальная статья

ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ПРОГНОЗА РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ОРТОПЕДИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

И. С. Воробьева — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, кафедра клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС, аспирант; **В. В. Никитина** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС, кандидат медицинских наук; **Г. П. Гладиллин** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС, профессор, доктор медицинских наук; **И. Л. Иваненко** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС, кандидат медицинских наук.

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AS A RISK PREDICTOR OF THROMBOEMBOLIC COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH ORTHOPAEDIC PROFILE

I. S. Vorobeva — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Clinical and Laboratory Diagnostics of Raising Skills Faculty, Post-graduate; **V. V. Nikitina** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Clinical and Laboratory Diagnostics of Raising Skills Faculty, Assistant Professor, Candidate of Medical Science; **G. P. Gladilin** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Clinical and Laboratory Diagnostics of Raising Skills Faculty, Professor, Doctor of Medical Science; **I. L. Ivanenko** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Clinical and Laboratory Diagnostics of Raising Skills Faculty, Candidate of Medical Science.

Дата поступления — 14.06.2016 г.

Дата принятия в печать — 07.09.2016 г.

Воробьева И. С., Никитина В. В., Гладиллин Г. П., Иваненко И. Л. Фактор роста эндотелия сосудов как показатель прогноза риска возникновения тромбоземболических осложнений у больных ортопедического профиля. Саратовский научно-медицинский журнал 2016; 12 (3): 354–358.

Цель: определить степень риска тромбоземболических осложнений у больных ортопедического профиля. **Материал и методы.** Проведено обследование 151 пациента СарНИИТО в возрасте 25–68 лет, которым было осуществлено тотальное эндопротезирование крупных суставов нижних конечностей. **Результаты.** Выполненное исследование позволило установить, что при значениях содержания ФРЭС (фактор роста эндотелия сосудов) на уровне значений контрольной группы прогнозируется низкий риск возникновения тромбоземболических осложнений, а при значениях содержания ФРЭС выше значений контрольной группы — высокий. **Заключение.** Доказана высокая эффективность использования взаимосвязи ФРЭС и гена PAI-1 в сыворотке крови, играющего одну из ведущих ролей в развитии предрасположенности к тромбозам.

Ключевые слова: низкомолекулярные гепарины, внутрисосудистое воспаление, ФРЭС, пиросеквенирование.

Vorobeva IS, Nikitina VV, Gladilin GP, Ivanenko IL. Vascular endothelial growth factor as a risk predictor of thromboembolic complications in patients with orthopaedic profile. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2016; 12 (3): 354–358.

Objective: to determine the risk of thromboembolic complications in orthopaedic patients. **Material and methods.** A survey of 151 patients who had undergone total endoprosthesis of large joints of the lower extremities, aged 25–68, under treatment in Saratov Scientific Research Institute of Orthopedics and Traumatology. **Results.** The performed research allowed to establish that at values of VEGF-A to 183,6 PG/ml a low risk of thromboembolic complications was predicted and for values above 183,6 PG/ml high risk was prognosed. **Conclusion.** We have proved high efficiency of using the relationship of VEGF and PAI-1 in serum, which plays a leading role in the development of predisposition to thrombosis.

Key words: low molecular weight heparins, intravascular inflammation, vascular endothelial growth factor, pyrosequencing.

Введение. Венозные тромбоземболические осложнения (ВТЭО) — одни из наиболее частых осложнений, развивающихся при лечении повреждений и заболеваний опорно-двигательного аппарата. Росту

числа ВТЭО способствует увеличение тяжести повреждений, объема и травматичности оперативных вмешательств, а также увеличение доли пациентов пожилого возраста с большим числом сопутствующих заболеваний — факторов риска развития ВТЭО. С помощью современных методов исследования показано, что в отсутствие профилактики тромбоз глубоких вен (ТГВ) нижних конечностей развивается у

Ответственный автор — Воробьева Ирина Сергеевна
Тел.: 89873327011
E-mail: medirish@yandex.ru

Таблица 1

Содержание маркеров эндотелиальной дисфункции в сыворотке крови у больных с тотальным эндопротезированием крупных суставов нижних конечностей на фоне введения НМГ (M±m)

Лабораторный показатель	Возраст, лет	Контрольная группа (n=20)	При поступлении (n=151)	2–3-й день после введения НМГ (n=151)	При выписке (n=151)
Оксистат (мкмоль/л)	25–40	269,6±51,0	486,3±68,4	460,7±40,9	732,5 ±92,7
	41–60	271,1±74,0	460,4*±59,4	221,8±64,6	433,9*±106,5
	↑ 60	352,6±97,9	575,7*±89,6	308,6±82,8	566,8*±110,5
Эндотелин-1 (фмоль/мл)	25–40	0,8±0,2	1,03*±0,04	0,76±0,01	0,72±0,2
	41–60	0,8±0,1	1,9** ±0,4	1,36±0,4	1,83**±0,3
	↑ 60	1,1±0,3	1,08±0,2	0,95±0,2	1,3±0,2
ФРЭС (пг/мл)	25–40	151,1±42,8	202,5±56,7	224,9±58,2	228,0±58,1
	41–60	197,8±58,4	217,6±59,4	239,2±54,6	234,1±59,0
	↑60	207,8±54,1	228,0±52,8	234,1±58,1	242,2±55,4

Примечание: ± — стандартная ошибка; * — статистически значимое отличие ($p < 0,05$) по сравнению со значениями контрольной группы; ** — статистически значимое отличие ($p < 0,01$) по сравнению со значениями контрольной группы; *** — статистически значимое отличие ($p < 0,001$) по сравнению со значениями контрольной группы.

большинства больных с переломами голени, бедра, таза, позвоночника, сопровождающихся ограничением подвижности, а также при эндопротезировании крупных суставов нижних конечностей [1].

Учитывая, что тромбоз является одной из ведущих причин в патогенезе острой сосудистой патологии при тотальном эндопротезировании крупных суставов, для лечения этих состояний в комплексной терапии широко применяют антикоагулянты. Наиболее часто используются низкомолекулярные гепарины (НМГ).

Компании-производители НМГ считают, что можно не проводить лабораторный контроль показателей системы свертывания крови. Но для пациентов в госпитальных условиях, имеющих большое количество факторов риска развития ВТЭО, подобный подход не является правильным [2].

Цель: определить степень риска тромбозомболических осложнений у больных ортопедического профиля.

Материал и методы. В исследуемую группу вошли 151 пациент в возрасте от 25 до 68 лет (50 мужчин и 101 женщина). В контрольную группу вошли 20 практически здоровых человек: 11 женщин и 9 мужчин, сопоставимые по полу и возрасту с обследуемыми лицами. Были выделены возрастные группы: 25–40, 41–60 и >60 лет. Критерии включения: отсутствие каких-либо жалоб на состояние здоровья; информированное согласие, подписанное пациентом. Критерии исключения: сахарный диабет и физикальный статус пациентов, позволяющий отнести их к I или II классу по классификации ASA (Американская ассоциация анестезиологов).

Всем пациентам назначали низкомолекулярный гепарин (НМГ) эноксапарин (Клексан) в дозе 40 мг один раз в день подкожно на 2–3-й день после операции и до момента выписки больного из стационара (на 7–10-й день после операции).

Определение уровня эндотелина-1, оксистата и ФРЭС (фактор роста эндотелия сосудов) проводили трижды: 1) при поступлении пациента в стационар, до получения НМГ; 2) на фоне приема НМГ — после операции на 2–3-й день; 3) при выписке больного из стационара на 7–10-й день после оперативного вмешательства. Исследование концентраций данных показателей в плазме крови проводилось на авто-

матическом коагулометре Ceveron alpha, Technoclon (Австрия).

Обработка данных осуществлялась при помощи пакетов компьютерных программ Statistica 6.0 (Stat-Soft Inc.), SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc.), которые использовались для математического и статистического анализа полученных результатов. С целью определения распределения данных в выборках применялись критерии Колмогорова — Смирнова, Манна — Уитни и Шапиро — Уилка. Распределение соответствовало нормальному. Группы распределения формировались с использованием стратифицированной рандомизации. Значимость различия между группами устанавливалась по количественному признаку, с учетом медианы и доверительного интервала для каждой группы, точного значения p и статистического критерия.

Результаты. Анализ полученных данных показал, что после введения НМГ исследуемые маркеры эндотелиальной дисфункции отреагировали в двух направлениях: у одной группы больных наблюдалось понижение их концентраций в сыворотке крови, а у другой — повышение по сравнению с дооперационными значениями. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 1.

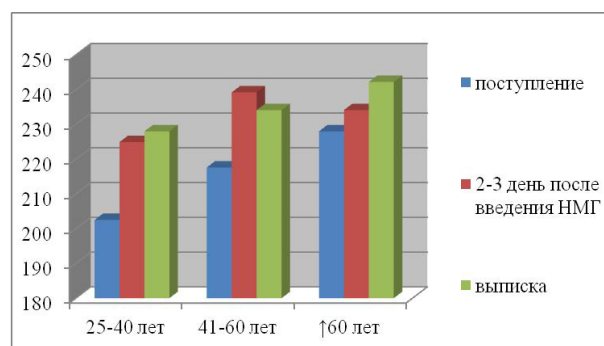


Рис. 1. Концентрации ФРЭС сыворотки крови на фоне введения НМГ у больных с тотальным эндопротезированием крупных суставов нижних конечностей, пг/мл

Установлено, что на 2–3-й день от начала приема НМГ в сыворотке крови больных наблюдается

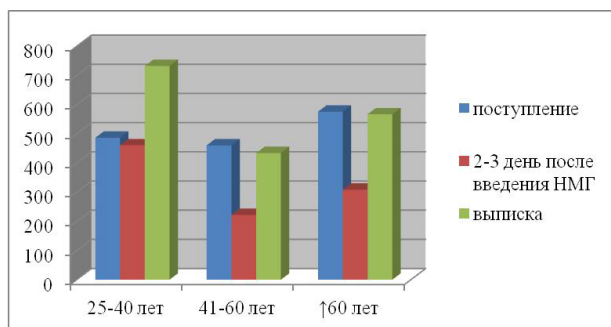


Рис. 2. Концентрации оксигата сыворотки крови на фоне введения НМГ у больных с тотальным эндопротезированием крупных суставов нижних конечностей, ммоль/л

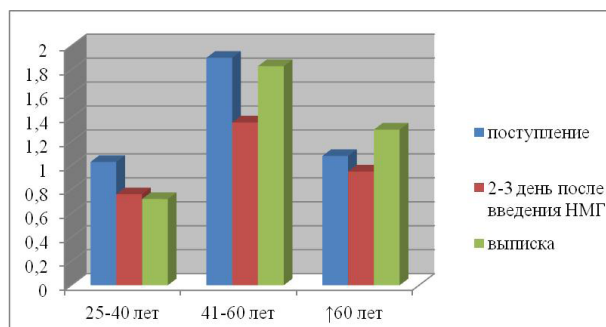


Рис. 3. Концентрации эндотелина-1 сыворотки крови на фоне введения НМГ у больных с тотальным эндопротезированием крупных суставов нижних конечностей, фмоль/мл

увеличение концентрации ФРЭС, в то время как содержание оксигата и эндотелина-1 снижается. Рост концентраций ФРЭС в сыворотке крови продолжается и в последующем, что подтверждается увеличением значений данного показателя при выписке больных по сравнению с их значениями при поступлении (рис. 1).

Несмотря на значительное снижение концентраций оксигата в сыворотке крови на 2–3-й день после введения НМГ, при выписке пациента наблюдается возврат к исходному значению. Исключение составляет возрастная группа 25–40 лет, в которой рост концентраций оксигата при выписке в 1,5 раза выше, чем при поступлении (рис. 2).

Эндотелин-1 реагирует на введение НМГ во всех возрастных группах по-разному: в группе 25–40 лет к выписке наблюдается снижение концентраций; возврат к исходной цифре зарегистрирован в группе 41–60 лет; рост концентраций при выписке наблюдается в группе пациентов старше 60 лет (рис. 3).

Обращают на себя внимание выраженные изменения маркеров эндотелиальной дисфункции у больных

на введение НМГ, в то время как проведенные нами исследование функциональной активности системы гемостаза не обнаружили различий в показателях коагуляционных тестов на введение НМГ (табл. 2).

Обсуждение. Анализ динамики показателей эндотелиальной дисфункции у больных на фоне введения НМГ позволяет сделать предположение о том, что именно ФРЭС может являться лабораторным маркером, с помощью которого требуется проводить индивидуальный подбор дозы и количество введения НМГ. У пожилых лиц показатели системы внутрисосудистого свертывания не меняются.

Молекулы ФРЭС связываются на поверхности эндотелиальных клеток, составляющих внутреннюю оболочку сосудов, со специальными белковыми структурами — рецепторами. На нормальных клетках эндотелия в здоровом организме таких рецепторов относительно мало. Их концентрация возрастает при активации ангиогенеза. Следовательно, увеличение концентрации ФРЭС в крови является лабораторным маркером усиления ангиогенеза [3].

Таблица 2

Активность показателей коагуляционных тестов в плазме крови у больных с тотальным эндопротезированием крупных суставов нижних конечностей на фоне введения низкомолекулярных гепаринов (M±m)

Показатель	Возраст, лет	Контрольная группа (n=20)	При поступлении (n=151)	После введения НМГ (n=151)	При выписке (n=151)
АЧТВ (сек.)	25–40	27,2±4,7	30,36±6,4	28,70±6,3	30,51±6,6
	41–60	27,7±5,6	40,2*±4,9	23,3*±4,4	40,0*±4,5
	↑60	26,4±8,2	47,5*±7,7	43,0*±7,2	48,5*±7,6
ПВ по Квику (%)	25–40	70,4±4,2	87,82*±6,7	85,21*±7,4	85*±7,5
	41–60	75,7±5,3	65,0±5,2	64,95±5,0	65,83±5,4
	↑60	68,8±6,2	57,0±4,1	55,95±4,3	53,5±4,1
Фибриноген (г/л)	25–40	2,48±1,18	3,1±1,18	3,1±1,17	3,2±1,22
	41–60	2,5±1,3	3,5±1,14	3,6±1,15	4,2*±1,19
	↑60	2,63±1,01	6,1**±1,3	5,8*±1,17	5,8*±1,18
ТВ (сек.)	25–40	11,9±2,4	10,79±2,5	10,35±2,38	10,84±3,16
	41–60	12,1±3,7	12,94±1,5	13,06±1,1	14,08*±1,3
	↑60	12,5±2,1	23,6**±6,88	24,25**±6,5	22,83**±6,6
РФМК (сек.)	25–40	3,3±3,2	4,0±1,12	4,2±1,7	4,4±1,11
	41–60	3,5±2,6	7,6±1,85	7,7±1,82	7,8±1,74
	↑60	4,1±0,4	17,9*±4,4	16,6*±4,77	17,9*±4,45

Примечание: ± — стандартная ошибка; * — статистически значимое отличие ($p < 0,05$) по сравнению со значениями контрольной группы; ** — статистически значимое отличие ($p < 0,01$) по сравнению со значениями контрольной группы; *** — статистически значимое отличие ($p < 0,001$) по сравнению со значениями контрольной группы.



Рис. 4. Алгоритм определения риска возникновения тромбозмболических осложнений

Являясь ключевым регулятором ангиогенеза, ФРЭС, вероятно, быстрее реагирует на сосудистую патологию, что положительно влияет на рост его концентрации в сыворотке крови даже на фоне введения НМГ [4].

В настоящее время мы не обладаем достоверной информацией о генетической предрасположенности пациента к тромбозам. В патогенезе внутрисосудистого воспаления принимают участие гены разных метаболических путей. Локальные генные сети включают в себя гены метаболизма, гены эндотелиальной дисфункции, гены сосудистой системы, а также ростовые факторы.

При изучении генетической предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям объектом клинического исследования являются уже известные полиморфные участки в геноме человека (генетические полиморфизмы), вовлеченные в патогенез заболевания, или генетические локусы, по данным популяционных исследований ассоциированные с риском возникновения заболевания [5].

Было проведено определение генетических полиморфизмов в генах, кодирующих плазменные факторы системы свертывания крови, таких как А2-тромбин (фактор II свертывания крови), который кодирует предшественник тромбина, стимулирующего образование тромба; F7 (фактор VII свертывания крови), кодирующий белок, участвующий в образовании тканевой протром-

бокиназы, отвечающий за превращение протромбина в тромбин; FGB — фибриноген (фактор I свертывания крови), кодирует предшественник тромбина, образующий основу фибринового тромба, а также Серпин 1 (PAI-1), являющийся антагонистом тканевого активатора плазминогена, кодирующий витамин К-зависимый протеолитический фермент, который активируется под действием тромбина. Данное исследование предназначено для выявления генетической предрасположенности к тромбозам и тромбозмболиям [6].

Алгоритм определения риска возникновения тромбозмболических осложнений представлен на рис. 4.

Из исследуемой группы лиц отобраны 40 пациентов с повышенным содержанием ФРЭС в сыворотке крови, которые были дообследованы методом пиро-секвенирования по профилю «Плазмо-скрин. Плазменные факторы системы свертывания крови», при этом был выявлен ген Серпин-1 (PAI-1), который кодирует витамин К-зависимый протеолитический фермент, активизирующийся под действием тромбина.

Пример нуклеотидной последовательности пиро-секвенирующего синтеза (профиль «Плазмо-скрин») (рис. 5).

Полученные данные позволили нам сделать заключение о том, что в большинстве случаев был обнаружен полиморфизм гена PAI-1 в неблагоприятном варианте, который приводит к снижению фибринолитической активности крови и повышает риск

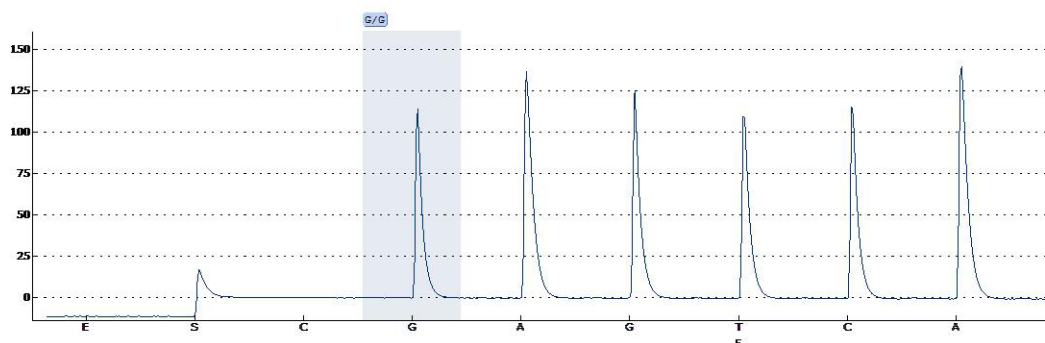


Рис. 5. Пример нуклеотидной последовательности пиро-секвенирующего синтеза

коронарных нарушений, что особенно актуально для пациентов в госпитальных условиях, имеющих большое количество факторов риска развития венозных осложнений в связи с длительной иммобилизацией конечности.

Комплексное изучение генетических маркеров, так или иначе связанных с развитием эндотелиальной дисфункции, в перспективе позволит проводить досимптоматическую диагностику, что будет способствовать расширению спектра профилактических, терапевтических и диагностических мер по лечению и предупреждению тромбозов на фоне введения НМГ у больных травматолого-ортопедического профиля.

Заключение. У больных травматолого-ортопедического профиля на фоне введения НМГ наблюдается рост концентрации ФРЭС в сыворотке крови, что дает основание считать его лабораторным тест-критерием активности ангиогенеза у данных больных.

Концентрации оксидата, эндотелина-1 и ФРЭС сыворотки крови дают дополнительную информацию о состоянии внутрисосудистого воспаления на фоне введения НМГ больным травматолого-ортопедического профиля.

Необходимо дальнейшее изучение влияний введения НМГ на сосудистую стенку, с включением результатов генетического полиморфизма и изменений концентраций ФРЭС в сыворотке крови.

Конфликт интересов отсутствует.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — И.С. Воробьева, В.В. Никитина, И.Л. Ива-

ненко, Г.П. Гладилин; получение и обработка данных — И.С. Воробьева; анализ и интерпретация результатов, написание статьи — И.С. Воробьева, В.В. Никитина; утверждение рукописи для публикации — Г.П. Гладилин.

References (Литература)

1. Guide prevention of complications in traumatology and orthopedics: application 1/632012. URL: CyberLeninka.ru... profilaktiki-venoznyh... Russian (Руководство профилактики осложнений в травматологии и ортопедии: приложение 1/632012. URL: CyberLeninka.ru... profilaktiki-venoznyh...).
2. Kremleva YM, Garganchuk EN, Vorob'eva NA. Spatial trombotdinamika as a method of optimization of anticoagulation therapy in carotid endoarterektomii. *Laboratory* 2014; (2): 32. Russian (Кремлева Ю.М., Гарганчук Е.Н., Воробьева Н.А. Пространственная тромбодинамика как метод оптимизации антикоагулянтной терапии при операции каротидной эндоартерэктомии. *Лаборатория* 2014; (2): 32).
3. Jain RK, Duda DG, Clark JW, Loeffler JS. Lessons from phase III clinical trials on anti-VEGF therapy for cancer. *Natl Clin Pract Oncol* 2006; 3 (1): 24–40.
4. Ryden L, Stendahl M, Jonsson H, et al. Tumor-specific VEGF-A and VEGFR2 in postmenopausal breast cancer patients with long-term follow-up: Implication of a link between VEGF pathway and tamoxifen response. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 89 (2): 135–43.
5. Baranov VS, ed. The genetic passport is the basis of individual and predictive medicine. St. Petersburg: Publisher H-L, 2009; 528 p. Russian (Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. В.С. Баранова. СПб.: Изд-во H-L, 2009; 528 с.).
6. Tsatis AC, Norris-Kirby A, Rich RG, et al. Comparison of Sanger Sequencing, Pyrosequencing, and Melting Curve Analysis for the Detection of KRAS Mutations. *J Mol Diagn* 2010 July; 12 (4): 425–432.

УДК 616–01/09:616–006:611.7

Оригинальная статья

СОДЕРЖАНИЕ БИОМАРКЕРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ

Г.В. Коршунов — ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России, главный научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, доктор медицинских наук, профессор; **Н.Н. Павленко** — ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России, ведущий научный сотрудник отдела инновационных проектов в травматологии и ортопедии, доктор медицинских наук; **Д.М. Пучиньян** — ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России, главный научный сотрудник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, доктор медицинских наук, профессор; **С.Г. Шахмартова** — врач отделения клинической лабораторной диагностики, кандидат медицинских наук.

BIOMARKERS CONTENT IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH OSSEOUS NEOFORMATIONS

G. V. Korshunov — Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Fundamental, Clinical and Experimental Studies, Senior Research Assistant, Professor, Doctor of Medical Science; **N. N. Pavlenko** — Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Innovative Projects in Traumatology and Orthopedics, Chief Research Assistant, Doctor of Medical Science; **D. M. Puchinyan** — Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Fundamental, Clinical and Experimental Studies, Chief Research Assistant, Professor, Doctor of Medical Science; **S. G. Shakhmartova** — Saratov Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Candidate of Medical Science.

Дата поступления — 29.08.2016 г.

Дата принятия в печать — 07.09.2016 г.

Коршунов Г.В., Павленко Н.Н., Пучиньян Д.М., Шахмартова С.Г. Содержание биомаркеров в сыворотке крови больных с новообразованиями костей. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2016; 12 (3): 358–361.

Цель: оценить роль отдельных биомаркеров в дифференциальной диагностике опухолевых заболеваниях костной системы. **Материал и методы.** Обследовано 160 пациентов с доброкачественными (115) и злокачественными (45) новообразованиями костной ткани. Определяли уровни неоптерина, фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-6, фактора роста сосудистого эндотелия, молекул адгезии сосудистого эндотелия методом иммуноферментного твердофазного анализа и сравнивали с их содержанием у 20 практически здоровых лиц. Верификацию опухоли проводили с помощью рентгенографии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии, гистоморфологического исследования опухоли. **Результаты.** У пациентов с добро-