

На правах рукописи

МАКАРОВ ЕГОР АЛЕКСЕЕВИЧ

**ВЕНОЗНЫЕ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ
ПРИ АНЦА-АССОЦИИРОВАННЫХ ВАСКУЛИТАХ**

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук

Моисеев Сергей Валентинович

Официальные оппоненты:

Д. м. н., ведущий научный сотрудник
отдела клинической кардиологии
и молекулярной генетики,
ФГБУ «НМИЦ профилактической медицины»

Минздрава России

Явелов Игорь Семенович

Д.м.н., профессор,
профессор кафедры ревматологии ФГБОУ
ДПО РМАНПО Минздрава России

Жиляев Евгений Валерьевич

Ведущая организация:

Институт клинической кардиологии имени А.Л. Мясникова Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «21» декабря 2017 года в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.18 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (117292, г. Москва, ул. Вавилова, д.61; ГБУЗ ГКБ им. В.В. Виноградова ДЗМ).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Российского университета дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6).

Автореферат разослан « » _____ 2017 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Киякбаев Гайрат Калыевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

АНЦА-ассоциированные васкулиты (ААВ) характеризуются некротизирующим гранулематозным воспалением, обычно с поражением верхних и нижних дыхательных путей, и некротизирующим васкулитом с поражением мелких и средних сосудов, часто встречается некротизирующий гломерулонефрит [Семенкова Е.Н., 1988;Новиков П.И., 2013]. В прошлом при отсутствии лечения смертность составляла 82% в течение 1 года после установления диагноза, медиана выживаемости – 5 месяцев [Wolff S.M, 1974].

С начала 1970-х гг. в терапии АНЦА-ассоциированных васкулитов широкое распространение получила комбинированная терапия глюкокортикоидами и цитостатиками, частота развития ремиссии при которой составляет не менее 75%, а в последнее время накоплен значительный опыт успешного применения у этих больных генно-инженерных биологических препаратов, в первую очередь, ритуксимаба [Мухин Н.А., 2012]. Учитывая улучшение выживаемости у таких больных, большое значение приобретают другие аспекты болезни, определяющие краткосрочный и отдаленный прогноз, среди которых все большее внимание привлекают тромбозы и тромбоемболические осложнения.

По данным мировой литературы, частота развития венозных тромбоемболических осложнений (ВТЭО) при АНЦА-ассоциированных васкулитах значительно превышает общепопуляционную и существенно возрастая в периоды активности заболевания [Stassen P.M., 2007]. В целом тромботические осложнения отмечаются у 8-16% больных гранулематозом с полиангиитом, кроме того, в исследовании Merkel et al.(2005) было показано, что на долю тромбоемболии легочной артерии (ТЭЛА) приходится до 37% таких осложнений. В мировой и отечественной литературе не содержится публикаций, в которых были бы определены возможные факторы риска развития ВТЭО у пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами. Также

стоит отметить, что на российской популяции АНЦА-ассоциированные васкулиты в целом изучены мало. Исходя из этого, отсутствуют и ясные клинические рекомендации, как по коррекции терапии при выявленных ВТЭО, так и в отношении профилактики их развития.

Перспективным направлением в ведении пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами является изучение прогностических факторов развития ВТЭО и алгоритмов их раннего выявления, в том числе с использованием методов анализа генетических особенностей системы гемостаза, диагностическая роль которых при АНЦА-ассоциированных васкулитах изучена мало.

Цель исследования

Изучить частоту и провести стратификацию риска венозных тромбозных осложнений у больных АНЦА-ассоциированными васкулитами: (гранулематозом с полиангиитом, микроскопическим полиангиитом, эозинофильным гранулематозом с полиангиитом)

Задачи исследования

1. Изучить общую частоту и факторы риска венозных тромбозных осложнений, в том числе тромбозов глубоких вен и тромбозов легочной артерии у пациентов с различными АНЦА-ассоциированными васкулитами
2. Провести скрининг бессимптомного тромбоза глубоких вен с помощью ультразвуковой доплерографии у пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами
3. Уточнить совместный вклад клинико-демографических и полиморфизма основных генов системы гемостаза в развитие венозных тромбозных осложнений
4. Определить влияние полиморфизма генов свертывающей системы на особенности течения АНЦА-ассоциированных васкулитов

Научная новизна

В большой группе пациентов с различными вариантами АНЦА-ассоциированных васкулитов изучена распространенность ВТЭО, в том числе тромбозов глубоких вен (ТГВ), ТЭЛА, тромбозов поверхностных вен, венозных тромбозов других локализаций, и выделены факторы риска.

Впервые подтверждена высокая частота бессимптомных ТГВ у пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами с помощью ультразвуковой доплерографии сосудов нижних конечностей с последующим сопоставлением с общепопуляционными данными.

У 85 больных ААВ проведен анализ полиморфизма основных генов свертывающей системы крови и впервые охарактеризовано влияние аллельных вариантов генов ITGA2, FGB, PAI-1 и FV на риск развития ВТЭО, а также установлена взаимосвязь генов MTHFR и FXIII с клиническими особенностями заболевания.

Практическая значимость

Частота ВТЭО при различных АНЦА-ассоциированных васкулитах оказалась сопоставимой. Предикторами ВТЭО были мужской пол, наличие признаков поражения легких и короткий срок (до 6 месяцев) после установления диагноза, что позволяет выделить в клинической практике данную группу пациентов с высоким риском ВТЭО.

У больных ААВ установлена высокая частота бессимптомных ТГВ, значимо превышающая общепопуляционную и взаимосвязь бессимптомного ТГВ с показателями активности васкулита и временем наблюдения от установления диагноза, что делает целесообразным выполнение ультразвукового исследования в определенные периоды наблюдения за пациентами.

На основании результатов регрессионного анализа предложена прогностическая модель, включающая клинические показатели (пол пациента и время наблюдения от момента установления диагноза) и количество протромбогенных аллелей генов ITGA2, FGB, PAI-1, FV, и позволяющая улучшить оценку вероятности развития ВТЭО.

Положения, выносимые на защиту

1. Частота ВТЭО при АНЦА-ассоциированных васкулитах существенно превышает общепопуляционную
2. Риск ВТЭО является самым высоким на ранних сроках после установления диагноза и связан с мужским полом и активным поражением легких в рамках васкулита
3. Бессимптомные ТГВ при АНЦА-ассоциированных васкулитах встречаются значительно чаще, чем в общей популяции, а риск их самый высокий в течение 6 месяцев после установления диагноза
4. Сочетанное наличие протромбогенных вариантов генов ITGA2 807 C/T, PAI-1 675 5G4G, FGB 455 G/A и FV 1691 G/A у пациентов с ААВ взаимосвязано с развитием ВТЭО
5. Полиморфизм генов MTHFR 677 C/T и FXIII 103 G/T ассоциирован с особенностями клинических проявлений АНЦА-ассоциированного васкулита

Внедрение в практику

Результаты исследования используются в работе ревматологических отделений клиники нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева УКБ№3 Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, в учебном процессе на кафедре внутренних болезней факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова

Апробация работы

Апробация работы проведена 01 июня 2017 г. на совместном заседании сотрудников кафедры внутренних болезней факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова» и кафедры внутренних, профессиональных болезней и пульмонологии медико-профилактического факультета ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет). Материалы диссертации представлены на конференции “ANCA and Vasculitis Workshop” (Лондон, 2015; Токио, 2017), конгрессе EULAR (Лондон, 2016), конференции «Аутоиммунные и иммунодефицитные заболевания» (Москва, 2016).

Публикации

Основное содержание диссертационного исследования отражено в 5 научных работах соискателя, в том числе в 3 статьях в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 2 публикации в зарубежных изданиях.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно разработан план, определены цель и задачи исследования, а также выполнены основные этапы диссертационной работы (библиографический поиск, сбор, анализ и обобщение клинического материала). Автор принимал непосредственное участие в определении тактики обследования и лечения пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами, госпитализированных в ревматологическое отделение УКБ №3 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Автором лично сделаны выводы и разработаны практические рекомендации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 126 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, их обсуждения, выводов и практических рекомендаций, содержит 20 рисунков и 33 таблицы. Список литературы содержит 191 источник, среди них 20 отечественных.

База проведения

Клиническое исследование проводилось на базе кафедры болезней факультета фундаментальной медицины в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева УКБ №3 (заведующий кафедрой и директор клиники - академик РАН, д.м.н., профессор Н.А. Мухин). Генетическое исследование выполнялось в лаборатории МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова (руководитель – доцент, к.м.н. Самоходская Л.М.).

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материал и методы исследования

В исследование были включены 377 пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами, наблюдавшихся в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева УКБ№3 Первого МГМУ имени И.М. Сеченова с июня 2013 по март 2017 года. Диагнозы устанавливались согласно рекомендациям Американской коллегии ревматологов и номенклатуре Конференции в Чепел-Хилле (2012). Критериями для включения в исследование были установленный диагноз АНЦА-ассоциированного васкулита и подписанное информированное согласие.

Все пациенты (n=377), включенные в исследование, были обследованы по стандартной клинической тактике для АНЦА-ассоциированных васкулитов, включая лабораторные и инструментальные диагностические методы: общий анализ крови с лейкоцитарной формулой, СОЭ, С-реактивный белок, оценка биохимических показателей (АСТ, АЛТ, ГГТ, общий билирубин, креатинин, мочевины, общий белок, альбумин, Na⁺/K⁺/Cl⁻), фибриноген, общий анализ мочи. Уровень АНЦА оценивался с помощью метода ИФА с верхней границей нормы 5 МЕ/мл. Для верификации диагнозов ТГВ и ТЭЛА использовалась УЗДГ и КТ-ангиография, соответственно.

Активность васкулита оценивали с помощью Бирмингемского индекса активности васкулита (BVAS score version 3). Также оценивался индекс необратимых поражений в результате васкулита Vasculitis Damage Index (VDI). Оценивались случаи венозных тромбоэмболических осложнений, тромбозов поверхностных вен, венозные тромбозы других локализаций.

Исследование также включало отдельную проспективную часть, в которую вошли 99 пациентов с ГПА, МПА и ЭГПА, наблюдавшихся в клинике стационарно с июня 2013 года по ноябрь 2015 года, которым с

целью скрининга бессимптомных ТГВ однократно выполняли УЗДГ вен нижних конечностей. Контрольную группу составили 514 пациентов без диагноза васкулита, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой, которым амбулаторно в рамках профилактического осмотра выполнялась УЗДГ вен нижних конечностей. В анализ не включались пациенты с клиническими признаками ВТЭО. Активность васкулита оценивали с помощью индекса BVAS, который рассчитывался на момент выполнения УЗДГ. Для оценки риска ВТЭО использовали шкалу Padua Prediction Score [Barbar S. ,2010]. УЗДГ вен нижних конечностей выполняли с использованием аппарата GE LOGIQ S8 с линейным датчиком 10-14 MHz согласно стандартному протоколу [Bates S.M., 2006].

У 85 пациентов проводилось исследование полиморфизмов генов, ассоциированных с тромбофилией : MTHFR 677 C/T, FV 1691 G/A, FII 20120 G/A, FGB 455 G/A, PAI-1 675 5G/4G, ITGA2 807 C/T, ITGB3 1565 T/C, FVII 10976 G/A, FXIII 103 G/T. Затем выделялись группы пациентов с различными полиморфизмами, и между ними проводилась оценка различий по клинико-лабораторным признакам. Для оценки влияния полиморфизма на частоту ВТЭО, в числе последних учитывались как имевшие клиническую симптоматику, так и выявленные при скрининге.

Выделение геномной ДНК проводили из периферической венозной крови, стабилизированной ЭДТА, с помощью коммерческого набора QIAmp DNA Blood Mini Kit и автоматической станции QIAcube™ (QIAGEN). Определение полиморфизма исследуемых генов проводили методом полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме «реального» времени и анализом кривых плавления с использованием коммерческих наборов реагентов фирмы ДНК-технология на детектирующем амплификаторе DTprime (ООО «ДНК-технология») согласно методике, описанной в инструкции по применению к наборам

С целью статистической обработки полученных данных использовались программы StatSoft Statistica 10.0, IBM SPSS 18, MedCalc

17.2. Проверка нормальности распределений производилась по методам Колмогорова-Смирнова либо Шапиро-Уилка в зависимости от размеров выборок. Для сравнения частот номинальных показателей между двумя группами применялся точный тест Фишера, между тремя группами – хи-квадрат Пирсона. Для сравнения двух групп по количественным признакам применялся U-критерий Манна-Уитни. Показатель отношения шансов (ОШ) расценивался как отношение вероятности наличия события к его отсутствию. Значимость ОШ признавалась в тех случаях, когда 95% доверительный интервал не включал единицу. Был принят уровень значимости для оцениваемых гипотез равный <0.05 . Для определения значимости предикторов ВТЭО применялась логистическая регрессия, диагностическая эффективность полученных интегральных показателей оценивалась с помощью анализа ROC-кривых с применением коэффициента Юдена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частота ВТЭО

ВТЭО были диагностированы у 27 (7,2%) из 377 пациентов, в том числе у 13 (5,5%) – с ГПА, 6 (9,2%) – с МПА и 8 (10,8%) – с ЭГПА (различия между тремя группами были недостоверными; рис. 1).

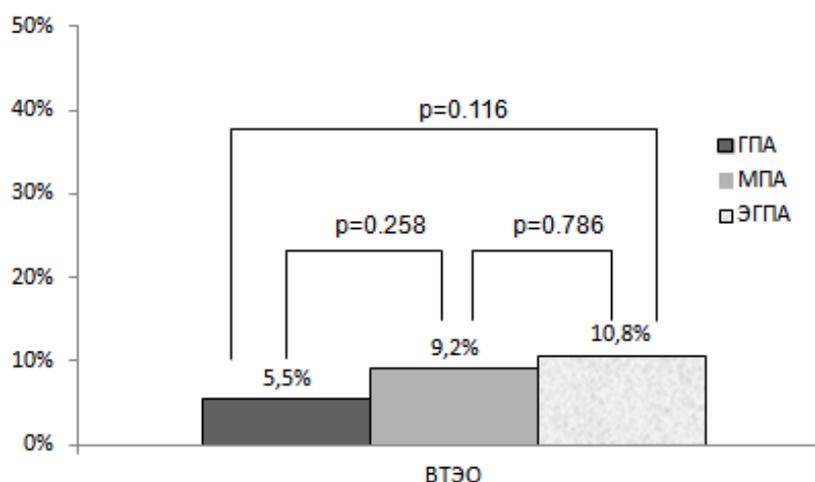


Рис. 1. Частота (%) ВТЭО у пациентов с ГПА, МПА и ЭГПА

ТГВ развился у 26 (6,9%) пациентов, в том числе у 12 (5,0%) – с ГПА, 6 (9,2%) – с МПА и 8 (10,8%) – с ЭГПА. Распределение частоты ТГВ между группами пациентов с разными вариантами АНЦА-ассоциированных

васкулитов было сходным с таковым ВТЭО. Частота ТГВ достоверно не отличалась, за исключением тенденции к статистической значимости разницы частоты между группами пациентов с ГПА и ЭГПА ($p=0,100$, ОШ 2,283, 95% ДИ 0,896-5,819) (рис. 2).

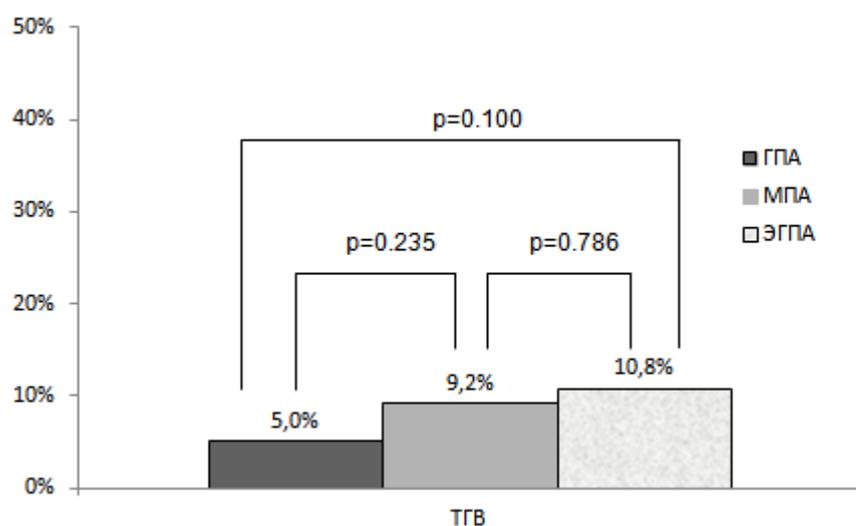


Рис. 2. Частота (%) ТГВ у пациентов с ГПА, МПА и ЭГПА

Отдельно анализировали случаи проксимального ТГВ, который ассоциируется с более высоким риском распространения и развития ТЭЛА. Развитие проксимального ТГВ наблюдали у 10 (2,7%) пациентов, в том числе 6 (2,5%) – с ГПА, 3 (4,6%) – с МПА и 1 (1,4%) – с ЭГПА (различия между группами недостоверные) (рисунок 3).

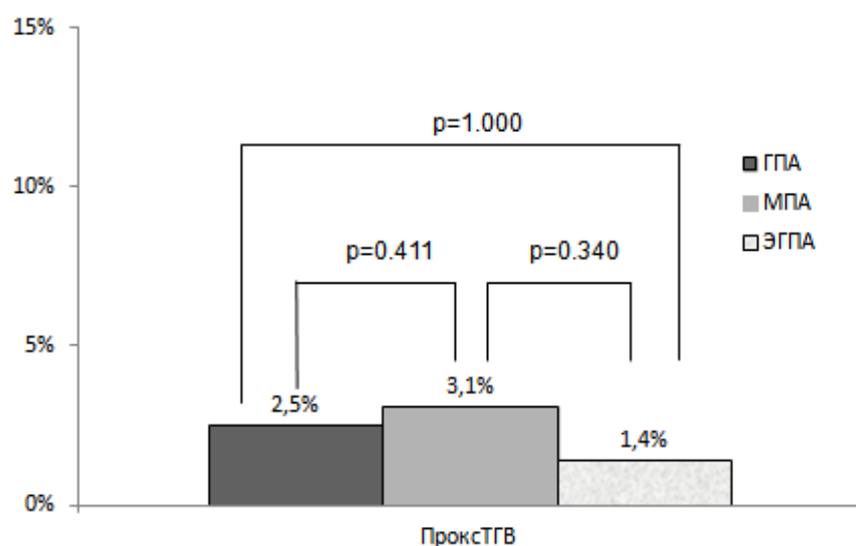


Рис. 3. Частота (%) проксимальных ТГВ у пациентов с ГПА, МПА и ЭГПА

ТЭЛА диагностировали у 6 (1,6%) из 377 больных, в том числе у 3 (1,3%) – с ГПА, 2 (3,1%) – с МПА и 1 (1,4%) – с ЭГПА. Частота ее также была сопоставимой в трех группах (рисунок 12). У всех пациентов с ТЭЛА, за исключением одного больного ГПА. Одновременно диагностировали ТГВ.

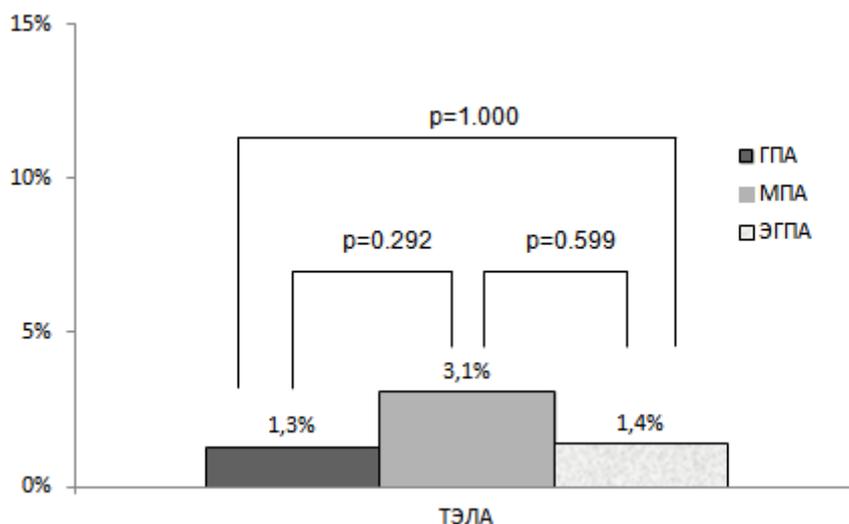


Рисунок 4. Частота (%) ТЭЛА у пациентов с ГПА, МПА и ЭГПА

Факторы риска ВТЭО

Доля мужчин среди пациентов с ВТЭО (n=27) достоверно превышала таковую среди больных без ВТЭО (n=350): 55,6% и 33,1%, соответственно (p=0,022) (табл. 1). Кроме того, у пациентов, перенесших ВТЭО, достоверно чаще встречалось поражение легких в рамках АНЦА-васкулита (88,0% и 66,2%, соответственно, p=0,053). Частота поражения почек была выше у пациентов с ВТЭО (53,8% и 48,6% соответственно), однако данное различие не достигало статистической значимости. Другие показатели, такие как медиана возраста на момент окончания наблюдения, наличие АНЦА, в том числе к протеиназе-3 и миелопероксидазе, BVAS в дебюте, VDI на момент окончания наблюдения, возраст дебюта, также достоверно не отличались между двумя группами.

**Клинико-демографические характеристики групп пациентов с
ВТЭО и без ВТЭО**

	ВТЭО (n=27)	Без ВТЭО (n=351)	p	ОШ (95% ДИ)
Мужчины, n (%)	15 (55,7%)	116 (33,1%)	0,022*	2,522 (1,143-5,562)
Возраст, лет**	54,0 (38,0;59,5)	53,0 (39,0;62,0)	0,960**	-
АНЦА +, n (%)	19 (70,4%)	261 (74,6%)	0,650*	0,810 (0,343-1,915)
ПРЗ-АНЦА, n (%)	11 (40,7%)	149 (45,2%)	0,693*	0,835 (0,376-1,854)
МПО-АНЦА, n (%)	7 (25,9%)	81 (24,5%)	0,820*	1,080 (0,441-2,648)
Поражение почек, n(%)	14 (53,8%)	170 (48,6%)	0,686*	1,140 (0,521-2,496)
Поражение легких, n (%)	23 (85,2%)	206 (66,2%)	0,053*	2,931 (0,988-8,695)
BVAS в дебюте**	17,0 (12,0;27,0)	16,0 (9,0;23,0)	0,277**	-
VDI**	6,0 (4,0;7,0)	5,0 (3,0;7,0)	0,330**	-
Возраст дебюта, лет**	49,0 (33,0;55,0)	47,0 (31,0;56,0)	0,611**	-

Примечание: значения p определены для : * - двустороннего теста Фишера , ** - U-критерия Манна-Уитни (приведенные значения показателей – медиана (нижняя квартиль, верхняя квартиль)

Учитывая разницу частоты поражения легких у пациентов, перенесших и не перенесших ВТЭО, был проанализирован показатель легочного BVAS, который расценивался как сумма баллов из раздела “Chest” шкалы BVAS 3.0: хрипы при аускультации (2 балла), полости распада или очаговые изменения в легких (3), плеврит (4), инфильтративные изменения (4), эндобронхиальное поражение (4), кровохарканье/геморрагический альвеолит (6), тяжелая дыхательная недостаточность (6). В группе пациентов с ВТЭО медиана легочного BVAS достоверно превышала таковую у пациентов без ВТЭО: 4,0 (3,0;6,0) и 3,0 (0,0;6,0) соответственно (p=0,017), ОШ для BVAS 3-6 составило 4,156 (95% ДИ 1,638-10,548, p=0,002).

В 16 (59,3%) случаев из 27 ВТЭО были зарегистрированы в течение первого года после установления диагноза, в том числе 11 (40,8%) – в течение первых 6 месяцев (рис. 5). Частота ВТЭО в первые 6 месяцев составила 6,9 на 100 пациенто-лет, общая за все время наблюдения – 1,31 на 100 пациенто-лет, а на сроках длительности болезни более 1 года после

установления диагноза – 0,48 на 100 пациенто-лет. У 25 (90,8%) пациентов на момент развития ВТЭО наблюдались признаки активности ААВ при медиане индекса BVAS 10,0 (4,0; 14,0).

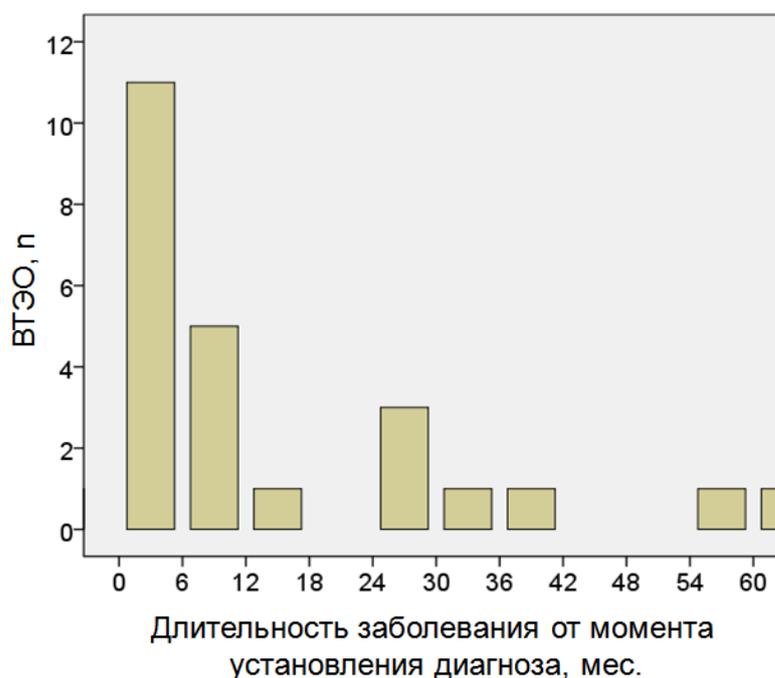


Рис. 5. Количество случаев ВТЭО в зависимости от длительности заболевания от момента установления диагноза

Бессимптомные ТГВ в группе пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами и в контрольной группе

С целью скрининга бессимптомных ТГВ в случайной выборке из 514 обследованных без системной патологии, и у 99 из 377 всех больных АНЦА-ассоциированными васкулитами проводилась УЗДГ вен нижних конечностей. Бессимптомные дистальные ТГВ были обнаружены у 8/99 пациентов (8,1%) с АНЦА-ассоциированными васкулитами, в том числе у 3/76 (4,1%) – с ГПА, 3/13 (23,1%) – с МПА и 2/14 (14,3%) – с ЭГПА. Частота бессимптомных ТГВ была выше у пациентов с признаками активности васкулита и составила 12,5% (8/64). Увеличение частоты ТГВ при активности васкулита было сходным у пациентов с ГПА (3/45 , 6,7%), МПА (3/9 33,3%), и ЭГПА (2/10 , 20,0%).

У 6 из 8 пациентов бессимптомный дистальный ТГВ был выявлен в течение 6 месяцев после установления диагноза васкулита, тогда как у 2

других пациентов – через 14 и 92 месяцев после установления диагноза, однако в период активности васкулита. Все пациенты с бессимптомными дистальными ТГВ соответствовали низкому риску ТГВ по шкале Padua (1-2 балла). В контрольной группе наблюдали 2 (0,4%) случая бессимптомного дистального ТГВ у 514 пациентов (ОШ, стандартизованное по полу и возрасту, – 22,5; 95% ДИ 4,7-107,7). Количество пациентов с МПА и ЭГПА было небольшим, поэтому доверительные интервалы ОШ были широкими. Тем не менее, увеличение частоты ТГВ по сравнению с контролем было статистически значимым у больных со всеми АНЦА-ассоциированными васкулитами, так как ДИ не включал 1,0. (рис. 6).

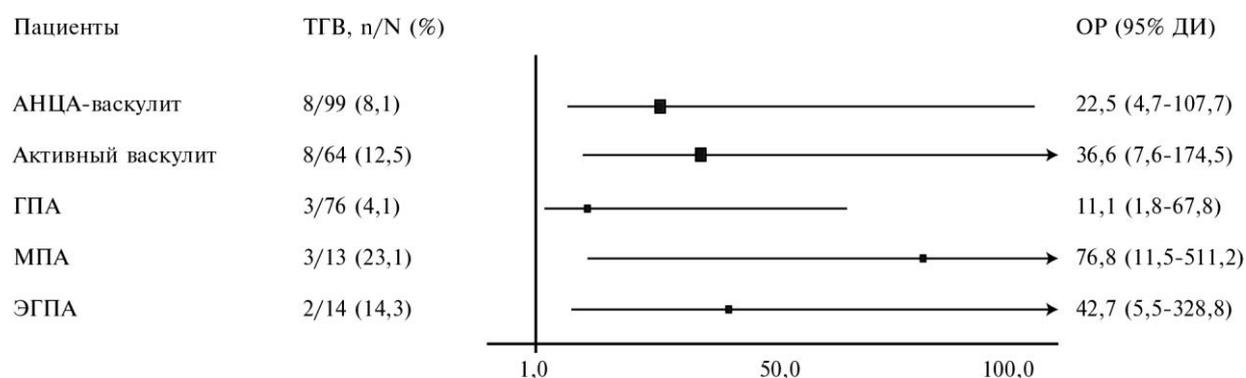


Рис. 6. Отношения шансов (ОШ) для ТГВ у пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами при сравнении с контрольной группой

Внутри когорты больных ААВ группы пациентов с ТГВ (n=8) и без ТГВ (n=91) был сопоставимы по среднему возрасту и индексу массы тела. Доля мужчин была выше среди пациентов с ТГВ, однако разница не достигла статистической значимости. Период времени, прошедшего от момента установления диагноза до выполнения УЗДГ, был статистически значимо более коротким у пациентов с ТГВ (4,0 (2,5;18,8) против 63,5 (32,0;120,5) месяцев, $p < 0,001$). Кроме этого, в этой же группе была значимо меньшей кумулятивная доза циклофосфида. Активность васкулита статистически значимо чаще отмечалась в группе пациентов с ТГВ (100% против 61,5%, $p=0,029$), тогда как частота традиционных факторов риска (например, ожирение, пожилой возраст, сахарный диабет, ТГВ в анамнезе) достоверно не отличалась между группами. Следует отметить, что ВТЭО в анамнезе

отсутствовали у всех пациентов с бессимптомным ТГВ и имелись у 8,8% больных без ТГВ. Отмечалась тенденция к статистической значимости в различиях по медиане уровне АНЦА: 20,4 МЕ/мл в группе с бессимптомными ТГВ против 2,2 МЕ/мл в группе без ТГВ (табл. 2).

Таблица 2

Характеристика пациентов с бессимптомными ТГВ и без ТГВ на момент выполнения УЗДГ

	Бессимптомные ТГВ (n=8)	Без бессимптомных ТГВ (n=91)	p
Мужчины, n (%)	4 (50,0%)	28 (28,3%)	0,265*
Возраст, лет**	53,5 (49,8;63,8)	54,5 (47,5;64,0)	0,760**
ИМТ, кг/м ²	26,2 (22,9;29,3)	26,7 (24,0;30,8)	0,650*
Активный васкулит, n(%)	8 (100,0%)	56 (61,5%)	0,029*
Время от диагноза до УЗДГ			
Медиана, мес,	4,0 (2,5;18,8)	63,5 (32,0;120,5)	<0,001**
≤6 мес,	5 (62,5%)	4 (4,4%)	<0,001*
Уровень АНЦА, МЕ/мл	20,4 (2,3;123,7)	2,2 (0,8;4,8)	0,089**
Доза ЦФА, г**	3,8 (2,2;29,1)	33,6 (7,8;78,0)	0,062**
Доза ГКС, мг**	40,0 (23,8;48,8)	6,25 (55,0;11,3)	0,611**

Примечание: значения p определены для : * - двустороннего теста Фишера , ** - U-критерия Манна-Уитни (приведенные значения показателей – медиана (нижняя квартиль, верхняя квартиль)

Оценка частоты полиморфизма у больных с ВТЭО и без ВТЭО

С целью изучения влияния полиморфизма генов системы гемостаза в группах пациентов с ВТЭО и без них оценивалась суммарная частота гетерозиготных и гомозиготных генотипов с присутствием мутантной аллели. Среди пациентов с ВТЭО с тенденцией к статистической значимости чаще встречались носители протромбогенной аллели А гена FV (p=0,094), по другим полиморфизмам достоверных различий получено не было, однако стоит отметить, что частоты мутаций в генах ITGA2, FGB у пациентов с ВТЭО несущественно выше, и все 12 больных являлись носителями протромбогенной аллели 4G гена PAI-1 (рис. 7).

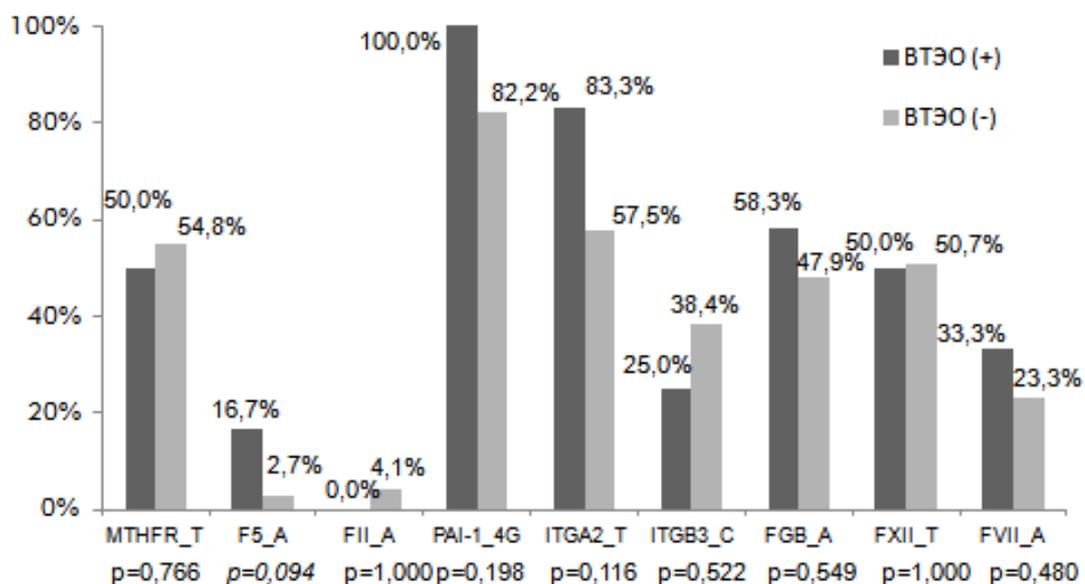


Рис. 7. Частота полиморфизма генов системы гемостаза в группах пациентов с ВТЭО (n=12) и без ВТЭО (n=73).

Анализ совместного влияния полиморфизма разных генов на развитие ВТЭО

Вводилась система кодирования, при которой наличие у пациента мутантной протромботической аллели генов ITGA2 807 C/T, PAI-1 1 675 5G/4G, F5 1691 G/A, FGB 455 G/A оценивалось в 1 балл. Таким образом, суммарный балл составлял:

- 0 – нет гетеро- или гомозиготных протромбогенных генотипов,
- 1 - 1 гетеро- или гомозиготный генотип,
- 2 - 2 гетеро- или гомозиготных генотипа,
- 3 - 3 гетеро- или гомозиготных генотипа,
- 4 – 4 гетеро- или гомозиготных генотипа,

Обращал на себя внимание факт большей частоты высокого суммарного балла у пациентов с ВТЭО, и, в то же время, при сравнении медиан суммарного балла группа с ВТЭО характеризовалась статистически значимо большим значением показателя (3,0 (2,0;3,0) против 2,0 (1,0;2,5), p=0,007).

В регрессионный анализ с целью построения интегральной прогностической модели развития ВТЭО включались такие факторы, как

мужской пол, «легочный» BVAS, показатели длительности заболевания от момента установления диагноза и суммарный балл мутаций. Полученное уравнение имеет вид : $z = -3,44 + (-0,01) * \text{Пол} + 1,15 * \text{Сумма баллов мутаций} + (-0,03) * \text{Длительность болезни от момента диагноза} + 0,19 * \text{легочный BVAS}$,

Для оценки эффективности полученной прогностической модели использовался анализ ROC-кривой. Показатель площади под кривой (AUC) составил 0.901, чувствительность приближалась к 100%, а специфичность – к 75%. (рис. 8, табл. 3).

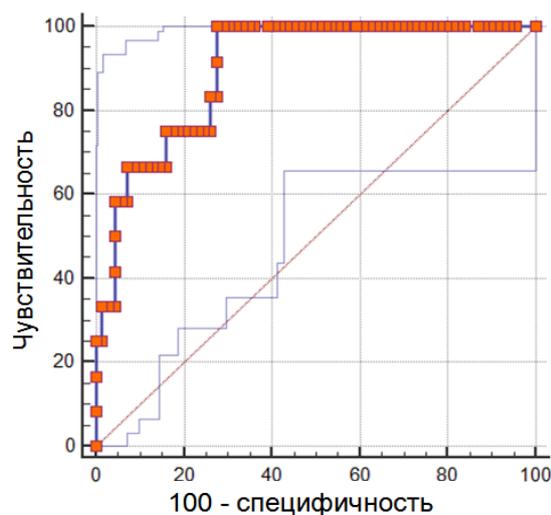


Рис. 8 . ROC-кривая для интегрального предиктора развития VTЭО.

Таблица 3

Диагностическая ценность интегрального предиктора VTЭО при выбранном пороговом значении >0,0661

Показатель	Величина
Пороговое значение (коэффициент Юдена)	>0,0661 (0,725)
Чувствительность (95% ДИ)	100% (73,5 – 100)
Специфичность (95% ДИ)	72,5% (60,4 – 82,5)
Положительная прогностическая значимость (95% ДИ)	38,7% (21,8 – 57,8)
Отрицательная прогностическая значимость (95% ДИ)	100% (92,9 – 100)
Отношение правдоподобия положительного результата (95% ДИ)	3,63 (2,5 – 5,3)
Отношение правдоподобия отрицательного результата (95% ДИ)	0,00

Клинические характеристики пациентов при различных полиморфизмах MTHFR 677 C/T

Выявлено преобладание протромбогенных генотипов СТ и ТТ среди пациентов с ПР3-АНЦА ($p=0,053$), а также обращала на себя внимание более высокая медиана возраста пациентов с данными генотипами ($p=0,074$) – все различия имели тенденцию к статистической значимости. С высокой достоверностью ($p=0,007$, ОШ 4,305 (95% ДИ 1,547 – 11,983) частота поражений легких и медиана легочного BVAS ($p=0,018$) оказались большими у пациентов с генотипами СТ+ТТ и также в данной группе значимо более высоким был балл VDI ($p=0,035$) (табл.4).

Таблица 4

Клинико-демографические характеристики групп пациентов с полиморфизмом гена MTHFR 677 C/T

Генотип	СТ+ТТ (n=46)	СС (n=39)	p	ОШ (95% ДИ)
Мужчины, n (%)	19 (41,3%)	15 (38,5%)	0,827*	1,126 (0,471-2,693)
Возраст, лет**	57,0 (50,3;64,8)	53,0 (37,0;59,0)	0,074**	-
АНЦА +, n (%)	42 (91,3%)	33 (84,6%)	0,502*	1,909 (0,497-7,326)
ПР3-АНЦА, n (%)	37 (80,4%)	24 (61,5%)	0,089*	2,569 (0,971-6,799)
МРО-АНЦА, n (%)	5 (10,9%)	11 (28,2%)	0,053*	0,310 (0,097-0,991)
Поражение почек, n (%)	27 (58,7%)	21 (53,8%)	0,668*	1,218 (0,515-2,880)
Поражение легких, n (%)	39 (84,6%)	22 (56,4%)	0,007*	4,305 (1,547-11,983)
легочный BVAS	4,0 (2,5;6,0)	0,0 (0;6,0)	0,017	-
BVAS в дебюте**	17,0 (8,3;23,0)	18,0 (7,5;23,3)	0,707*	-
VDI**	6,0 (4,0;8,0)	4,5 (2,8;6,3)	0,035**	-
Возраст дебюта, лет**	50,0 (36,5;57,0)	49,0 (31,0;56,0)	0,503**	-

Примечание: значения p определены для : * - двустороннего теста Фишера , ** - U-критерия Манна-Уитни (приведенные значения показателей – медиана (нижняя квартиль, верхняя квартиль)

FXIII 103 G/T

В группе больных с наличием генотипов GT и TT, ассоциированных со снижением активности коагуляции медианы возраста на момент окончания наблюдения и возраста дебюта васкулита были статистически значимо более низкими в сравнении с пациентами с диким генотипом GG (53 против 58,5 (p=0.018) и 47 против 50 (p=0.049), соответственно). Также тенденцией к статистической значимости характеризовались различия в медиане балла VDI, и в случае носителей T-аллели она составила 6,0 с межквартильным размахом от 4,0 до 8,0, тогда как для гомозиготного GG варианта – 5,0 (3,0;6,0)(p=0,098) (табл. 5).

Таблица 5

Клинико-демографические характеристики групп пациентов с полиморфизмом гена FXIII 103 G/T

Генотип	GT+TT (n=43)	GG (n=42)	p	ОШ (95% ДИ)
Мужчины, n (%)	20 (46,5%)	14 (13,3%)	0,270*	1,739 (0,723-4,184)
Возраст, лет*	53,0 (36,0;58,5)	58,5 (51,8;66,0)	0,018**	-
АНЦА +, n (%)	40 (93,0%)	35 (83,3%)	0,195*	2,667 (0,640-11,105)
PR3-АНЦА, n (%)	34 (79,1%)	27 (64,3%)	0,471*	2,099 (0,797-5,529)
МРО-АНЦА, n (%)	9 (20,9%)	7 (16,7%)	0,153*	1,324 (0,443-3,955)
Поражение почек, n (%)	27 (62,8%)	21 (50,0%)	0,278*	1,688 (0,711-4,008)
Поражение легких, n (%)	32 (74,4%)	29 (69,0%)	0,635*	1,304 (0,506-3,363)
BVAS в дебюте*	17,5 (9,8;25,0)	17,5 (7,8;22,3)	0,480**	-
VDI*	6,0 (4,0;8,0)	5,0 (3,0;6,0)	0,098**	-
Возраст дебюта, лет*	47,0 (27,0;52,5)	50,0 (42,5;57,3)	0,049**	-

Примечание: Значения p определены для : * - двустороннего теста Фишера , ** - U-критерия Манна-Уитни (приведенные значения показателей – медиана (нижняя квартиль, верхняя квартиль)

При анализе полиморфизма других генов существенных различий в клинико-лабораторных характеристиках выявлено не было.

ВЫВОДЫ

1. Частота венозных тромбозмболических осложнений при АНЦА-ассоциированных васкулитах составляет 7,2% (27/377) или 1,31 на 100 пациенто-лет, существенно превышает их частоту в общей популяции и не зависит от нозологической формы васкулита.
2. Вероятность венозных тромбозмболических осложнений при АНЦА-васкулитах отмечается наибольшей в течение первых 6 месяцев после установления диагноза ($p=0,0001$), а факторами риска являются мужской пол ($p=0,022$) и активное поражение легких ($p=0,017$).
3. Риск развития бессимптомного тромбоза глубоких вен при АНЦА-ассоциированных васкулитах значительно выше, чем в контрольной группе пациентов без АНЦА-ассоциированных васкулитов (ОШ 22.5 95% ДИ 4,7 – 107,7), особенно в первые 6 месяцев после установления диагноза.
4. По результатам регрессионного анализа, включавшем все изученные факторы, среди независимых предикторов развития венозных тромбозмболических осложнений при АНЦА-ассоциированных васкулитах, наибольшее значение, наряду с ранним сроком от момента установления диагноза ($p=0,005$), имеет сочетание протромбогенных вариантов генов ITGA2 807 С/Т, PAI-1 675 5G4G, FGB 455 G/A и FV 1691 G/A ($p=0,05$).
5. Существует связь между полиморфизмами некоторых генов системы гемостаза и клиническими проявлениями АНЦА-ассоциированного васкулита - полиморфизм MTHFR 677 С/Т ассоциируется с частотой ($p=0,007$) и тяжестью поражения легких ($p=0,018$), более высоким индексом VDI ($p=0,035$); полиморфизм FXIII 103 G/Т выявляется у больных с высоким значением индекса VDI ($p=0,098$) и дебютом в более молодом возрасте ($p=0,049$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Тактика ведения пациентов с диагнозом ААВ должна подразумевать настороженность с точки зрения высокого риска ВТЭО вне зависимости от нозологической формы васкулита.

2. Риск ВТЭО является наиболее высоким в первые 6 месяцев после установления диагноза ААВ, что обуславливает целесообразность проведения в этот период УЗДГ вен нижних конечностей, в том числе и с целью скрининга бессимптомных ТГВ.

3. Разработана интегральная прогностическая модель, включающая сочетанное влияние мутаций в генах системы гемостаза и клинические факторы, которая позволяет прогнозировать вероятность развития ВТЭО и может быть использована в клинической практике.

4. Особое внимание необходимо уделять пациентам с выявленными полиморфизмами генов MTHFR 677 C/T и FXIII 103 G/T, поскольку они ассоциированы с более тяжелым течением ААВ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Макаров Е.А. Венозные тромбозы и тромбоэмболические осложнения при ANCA-ассоциированных васкулитах. / Макаров Е.А., Моисеев С.В., Стрижаков Л.А., Новиков П.И. // Клиническая фармакология и терапия. - 2015.- №1. - С.48-54. (обзор литературы).

2. Макаров Е.А. Бессимптомный тромбоз глубоких вен у пациентов с ANCA-ассоциированными васкулитами. / Макаров Е.А., Моисеев С.В., Новиков П.И., Буланов Н.М., Шеримова А.Е., Колонина У.А., Минакова Е.Г. // Клиническая фармакология и терапия. - 2016. - Т. 25 (4). - С. 47-51.

3. Макаров Е.А. Венозные тромбозы и тромбоэмболические осложнения при ANCA-ассоциированных васкулитах. / Макаров Е.А., Новиков П.И., Буланов Н.М., Шевцова Т.П., Стрижаков Л.А., Моисеев С.В. // Клиническая фармакология и терапия. - 2017. - Т.26 (3). - С. 37-42.

4. Novikov P. Venous thromboembolic events in systemic vasculitis. / Novikov P, Makarov E, Moiseev S, Meshkov A, Strizhakov L. // Ann Rheum Dis. - 2015 . - 74(3):e27. <http://ard.bmj.com/content/74/3/e27.long>

5. Makarov E. Venous thrombotic events in patients with ANCA-Positive vasculitides. / Makarov E., Moiseev S., Novikov P., Bulanov N., Shchegoleva E., Zyкова A. Venous thrombotic events in patients with ANCA-Positive vasculitides. // Rheumatology. - 2017. - Vol. 56 (Suppl. 3). - P. 35-36.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AUC	площадь под кривой
BVAS	Бирмингемский индекс активности васкулита
VDI	Индекс повреждения при васкулите
ААВ	АНЦА-ассоциированный васкулит
АНЦА	антитела к цитоплазме нейтрофилов
ВТЭО	венозные тромбозно-эмболические осложнения
ГКС	глюкокортикостероиды
ГПА	гранулематоз с полиангиитом
ДИ	доверительный интервал
МПА	микроскопический полиангиит
МПО-АНЦА	АНЦА к миелопероксидазе
ОШ	отношение шансов
ПРЗ-АНЦА	АНЦА к протеиназе-3
ТГВ	тромбоз глубоких вен
ТЭЛА	тромбоз легочной артерии
УЗДГ	ультразвуковая доплерография
ЭГПА	эозинофильный гранулематоз с полиангиитом

Макаров Егор Алексеевич (Российская Федерация)
«Венозные тромбоэмболические осложнения при АНЦА-ассоциированных васкулитах»

В исследование были включены 377 пациентов с АНЦА-ассоциированными васкулитами (ААВ). У 99 больных ААВ и 514 амбулаторных пациентов без диагноза васкулита, сопоставимых по полу и возрасту и без признаков венозных тромбоэмболических осложнений, проводили ультразвуковое исследование вен нижних конечностей. Частота (ВТЭО) при ААВ составила 7,2% и не зависела от нозологической формы васкулита. Вероятность ВТЭО при ААВ была наибольшей в течение первых 6 месяцев после установления диагноза, а факторами риска являлись мужской пол и активное поражение легких. Риск развития бессимптомного тромбоза глубоких вен при ААВ значительно выше, чем в контрольной группе пациентов ААВ. По результатам регрессионного анализа большое значение в качестве предиктора ВТЭО также имеет сочетание протромбогенных вариантов генов ITGA2 807 C/T, PAI-1 675 5G4G, FGB 455 G/A и FV 1691 G/A.

Makarov Egor Alekseevich (Russian Federation)

Venous thromboembolic events in ANCA-associated vasculitides

377 patients with ANCA-associated vasculitides (AAV) were included in the study. In 99 AAV patients and 514 control patients without AAV, comparable by age and gender and without signs of venous thromboembolic event (VTE), we performed ultrasound examination of lower limb veins. The rate of VTE was 7.2%, there were no significant differences between groups with different AAV. The risk of VTE was highest within the first 6 months after diagnosis, male sex and active lung involvement were risk factors. Asymptomatic VTE in AAV patients was found significantly often, than in control patients. Regression analysis showed, that combination of prothrombotic genotypes of ITGA2 807 C/T, PAI-1 675 5G4G, FGB 455 G/A и FV 1691 G/A was significant predictor of VTE.