

Riska alēļu analīze pacientiem ar vēnu trombozi un hronisku venozu mazspēju Latvijā

*Irina Kajuna, Valda Staņēviča¹,
Helēna Mikažāne¹, Vita Rovīte², Liene Ņikitina-Zaķe²,
Jānis Kloviņš², Edvīns Miklaševičs³*

*Rīgas Stradiņa universitāte, Baltijas vēnu klīnika, Latvija
irina.kajuna@gmail.com*

¹ *Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija*

² *Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs*

³ *Rīgas Stradiņa universitāte, Onkoloģijas institūts, Latvija*

Kopsavilkums

Vairāki viena nukleotīda polimorfismi (SNP) ir saistīti ar paaugstinātu vēnu trombozes (VT) risku [9]. Labi zināmā ģenētiskā riska faktora *F5* rs6025 mutācija pacientiem ar VT sastopama aptuveni 30% gadījumos [27]. Vairākos pētījumos atklāts, ka pacientiem ar venozu čūlu ir palielināts trombofilijas biežums (44–75%) [4]. Latvijā līdz šim nav veikti pētījumi par riska alēlēm pacientiem ar vēnu slimībām.

Darba mērķis. Izpētīt riska alēles Latvijā pacientiem ar VT un hronisku venozu mazspēju (HVM) *F5* (rs6025), *F2* (rs1799963), *SELE* (rs5361), *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865), *CYP4V2* (rs13146272), *F11* (rs2289252) un *GP6* (rs1613662) gēnā.

Materiāls un metodes. Pētāmajā grupā – 141 pacients (52 ar VT un 89 ar HVM C3–C6 stadijā), kontroles grupā – 235 indivīdi, no kuriem 110 vīrieši un 125 sievietes, vidējais vecums – 53,1 ± 14,1 gads, KMI 28,12 ± 4,96. Genotipēšana veikta, izmantojot *TaqMan SNP* genotipēšanas komplektus (*Biosystems TaqMan SNP Genotyping Assay*) atbilstoši ražotāja protokolam *ViiA™ 7* reāllaika PCR sistēmā. Diagnostika notika, balstoties uz klīniskajiem un duplekssonogrāfijas datiem (*Philips Sparq*, 2012). Statistiskā analīze tika veikta, izmantojot programmatūru *Plink 1.06*. Loģistiskās regresijas analīzē lietots aditīvais pārmantojamības modelis, kas koriģēts pēc dzimuma, vecuma un ķermeņa masas indeksa (KMI).

Rezultāti. No 52 VT slimniekiem 32 bija sievietes (62%), 20 – vīrieši (38%), vidējais vecums 59,9 ± 15,2 gadi, KMI 32,4 ± 26,2. No 89 HVM slimniekiem 17 (19%) bija vīrieši un 72 (91%) sievietes, vidējais vecums 51,1 ± 17,5 gadi, KMI 26,9 ± 5,74. *F5* (rs6025) gēna alēle bija būtiski saistīta ar paaugstinātu VT risku ($p = 0,017$, $\text{OR} = 4,37$). Alēle *F11* (rs2289252) gēnā uzrādīja būtisku saistību ar HVM C6 stadijā ($p = 0,028$, $\text{OR} = 1,65$). Riska alēle *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865) un *F11* (rs2289252) gēnā parādīja saistību ar VT, kā arī ar VT un HVM kombinētu grupu.

Secinājumi. Alēle *F11* (rs2289252) gēnā pacientiem ar HVM C6 stadijā uzskatāma par riska alēli.

Atslēgvārdi: riska alēles, viena nukleotīda polimorfismi, vēnu trombozes, dziļo vēnu tromboze, trofiskas čūlas, SNP, trombofilija.

Ievads

Pateicoties neinvazīvo izmeklēšanas metožu attīstībai un īpaši dupleksultraskaņas izmeklējumu pieejamībai, Latvijā pēdējos gados ir uzlabojusies kāju vēnu slimību diagnostika. Kāju vēnu sistēmā izšķir dziļās jeb zem fascijas lokalizētās vēnas, virspusējās jeb zemādas vēnas un transfasciālās jeb perforantās vēnas, kas savieno dziļās un virspusējās vēnas [12, 22]. Veicot duplekssonogrāfiju, ir iespējams diagnosticēt dziļo un virspusējo vēnu trombozi (VT). Tā ļauj precīzi un ātri izvērtēt atvilni dziļajās un virspusējās vēnās – venozo vārstuļu mazspēju jeb hronisku venozu mazspēju (HVM) un tās pakāpi, kā arī noteikt perforanto vēnu mazspēju.

HVM anatomiskā klasifikācija ir: As – virspusējo vēnu sistēma, Ap – perforantās vēnas, Ad – dziļo vēnu sistēma, An – vēnu lokalizācija nav noteikta [6, 20, 25]. HVM attīstās, ja kāda no kāju vēnu sistēmas sastāvdaļām ir bojāta [21]. HVM mūsdienās ir plaši pētīta, un no tās cieš aptuveni 25% pieaugušo populācijas [14, 26]. Bonnas vēnu pētījumā vēnu varikozi konstatēja 23% iedzīvotāju – 26% sieviešu un 20% vīriešu [14, 22, 24, 26].

Pēc CEAP (*clinical, etiologic, anatomical, pathophysiological*) jeb klīniskajām klasifikācijas smaguma pakāpēm HVM iedala septiņās stadijās no C0 līdz C6: C0 – nav redzamu vai palpējamu varikozu vēnu; C1 – teleangioektāzijas vai retikulāras vēnas; C2 – varikozas vēnas; C3 – tūska; C4 – trofisks ādas bojājums (pigmentācija, stāzes dermatīts, venozā ekzēma); C4a – pigmentācija un / vai venozā ekzēma; C4b – lipodermatoskleroze un / vai bālā atrofija; C5 – trofisks bojājums un sadzijušas čūlas rēta; C6 – trofisks bojājums ar čūlu [6, 20, 25].

HVM var būt asimptomātiska (A) un simptomātiska (S), kam raksturīgas sāpes, diskomforts, smaguma un dedzināšanas sajūta kājās, ādas iekaisums [6, 20, 25]. Latvijas pētījumā *DE FACTO* tika atrasts, ka 25,23% pacientu ir ievērojama varikoze un HVM izraisīta kāju tūska jeb HVM C3 stadijā, 18,71% pacientu bija HVM C4, 4,4% pacientu bija sadzijuši čūla jeb HVM C5 un 1,72% pacientu tika konstatēta vaļēja venozā čūla jeb HVM C6 stadijā [14]. HVM galvenais iemesls ir venozā hipertensija, kuru veicina venozo vārstuļu bojājums un / vai VT. HVM attīstībā liela nozīme ir arī iedzimtībai, grūtniecībai, mazkustīgam dzīvesveidam, kontracepcijas līdzekļiem, liekajam svaram, sieviešu dzimumam, vecumam, HVM ģimenes anamnēzei [12, 20].

HVM klasifikācija pēc etioloģijas: iedzimta – primāra; sekundāra – pēctrombotiska un nepēctrombotiska [6, 20, 25]. Visbiežāk venozas hipertensijas cēlonis ir virspusējo vēnu vārstuļu mazspēja, vēnu obstrukcija trombozes vai nepilnas rekanalizācijas gadījumā, vai ja ir vēnu kompresija no ārpuses [4].

HVM patofizioloģiskā klasifikācija: Pr – atvilnis, Po – obstrukcija, Pr,o – atvilnis un obstrukcija, Pn – venozā patoloģija nav identificēta [6]. HVM parasti novēro pusmūža un gados vecākiem cilvēkiem. HVM pasliktina pacienta dzīves kvalitāti [16]. Vairākos pētījumos [4] atklāts, ka pacientiem ar venozu čūlu jeb HVM C6 stadijā ir palielināts trombofilijas biežums (44–75%). Nosakot pacienta HVM pakāpi, iegūtie rezultāti ir nozīmīgi, lai izstrādātu ārstēšanas un profilakses taktiku.

Venozā patoloģija bieži sākas ar VT, kas ir nozīmīga veselības problēma, jo izraisa nopietnas sekas. VT var būt vairāku iedzimtu vai iegūtu patoloģiju komplikācija, un tā var būt arī idiopātiska [15]. VT var attīstīties dziļajās un virspusējās vēnās. Virspusēju flebotrombozi (VF) var viegli pazīt, tā izpaužas kā apsārtuši, sāpīgi mezgli pa virspusējo vēnu gaitu [5].

Vairākos pētījumos pierādīts, ka pastāv saistība starp VF un vienlaikus norisošu dziļo vēnu trombozi (DVT) [5]. DVT var radīt sāpes ikru muskuļos, augšstilbā, cirkšņa apvidū vai difūzi visā ekstremitātē, zemādas vēnu paplašināšanos, ādas cianozi (ko rada pārpildītās zemādas vēnas). Bieži DVT pavada ekstremitāšu tūska, kas var būt vienīgais simptoms. DVT ir akūtas (plaušu embolija (PE)) un hroniskas (HVM) komplikācijas [15, 21]. DVT un PE saistība ir tik cieša, ka parasti runā par vēnu trombemboliju (VTE), kas apvieno DVT un PE. Epidemioloģiskie dati liecina, ka Eiropā ik gadu ar DVT slimo 160 cilvēki no 100 000 iedzīvotāju, bet no PE mirst 60 slimnieki no 100 000 iedzīvotāju. Apvienotajā Karalistē VTE izraisa 60 000 nāves gadījumu gadā; 25 000 no tiem būtu varēts novērst, ja būtu veikta DVT profilakse. Ir pierādīts, ka DVT sastopamība ir 0,5–1,0 gadījums uz 1000 iedzīvotāju [15, 16, 21].

VT attīstībā galvenā nozīme ir Virhova triādei – endotēlija bojājumam, stāzei un hiperkoagulācijai. Venozā stāze rodas mazkustīguma un vēnu obstrukcijas dēļ. Vēnu sienīņu endotēlija bojājumu rada traucēta koagulācijas inhibēšana un lokālā fibrinolīze, ko veicina intravenozas injekcijas, intravenozie katetri, trauma, HVM, pēctrombotiskais sindroms. Hiperkoagulācijai un trombofilijai ir raksturīgas iedzimtas vai iegūtas izmaiņas homeostāzes sistēmā ar predispozīciju veidot trombus. Trombozes veidojas, jo zūd homeostāzes līdzsvars starp prokoagulantu un antikoagulantu sistēmām jeb profibrinolītisko un antifibrinolītisko sistēmu.

Trombofilijas riska faktori: onkoloģiskas slimības, ķirurģiskas operācijas, diabēts, adipozitāte, imobilizācija, medikamenti (orāla kontracepcija), varikozas vēnas, vaskulīti, sintētiskie materiāli (intravenozie katetri u. c.), stāze, mieloproliferatīvās slimības, antifosfolipīdu antivielu sindroms, grūtniecība u. c. Iedzimtās trombofilijas galvenie varianti ir aktivētā proteīna C rezistence (V Leidena faktors), antitrombīna deficīts, olbaltuma C, S un Z deficīts, paaugstināts plazmas protrombīna līmenis, ko izraisa 20210A mutācija *F2* gēnā, hiperhomocisteinēmija, disfibrinogēnēmija, augsts faktora VIII, IX, X, XI un II līmenis. Vairāki viena nukleotīda polimorfismi (SNP) *GP6* (rs161662), *SERPINC1* (rs2227589), *F11* (rs2036914 un rs2289252), *FGG* (rs2066865) un *F12* (rs1801020) gēnā ir saistīti ar paaugstinātu VT risku [8].

Koagulācijas inhibitoru nepietiekamība, kuru izraisa R506Q (rs6025) mutācija *F5* gēnā (V Leidena faktors), sastopama aptuveni 20–30% gadījumu pacientiem ar VT, bet heterozigotu biežums populācijā ir tikai 2,5–5% un homozigotu biežums – 1%. Piektais koagulācijas faktors ļauj Xa aktivēt trombīnu, kas savukārt sekmē fibrinogēna pāreju fibrīnā (veidojas receklis). Aktivētais proteīns C (APC) ierobežo šo koagulāciju, degradē *F5* un neļauj fibrīnam veidoties par daudz. V Leidena faktors (FV) ir normāla V faktora izmainīts variants, un tas nozīmē, ka APC nespēj uz to iedarboties, respektīvi, ir rezistence pret APC.

Antitrombīna deficīts (AT III) inaktivē trombīnu. *F2* gēna, kas kodē koagulācijas faktoru II (protrombīnu), alēliskais variants 20210A 3' netranslējamā reģionā korelē ar paaugstinātu cirkulējoša protrombīna līmeni; jo vairāk protrombīna, jo vairāk veidojas trombīns un paaugstinās trombozes risks. *F2* gēna mutācija ir 6–7% pacientu ar VT [9, 17, 18, 27]. Ja pacientam ir akūta tromboze vai pacients lieto antitrombotisku terapiju, tad testi, kas nosaka konkrētu antikoagulantu vai vielu – antitrombīna III, proteīna C, brīvā proteīna S antigēna, kopējā proteīna S, protrombīna, homocisteīna, FVIII, FIX – aktivitāti un rezistenci pret aktivēto proteīnu C, ir izmainīti un tos nevar interpretēt.

Ģenētisko diagnostiku pacientam ir iespējams veikt neatkarīgi no laika un saņemamiem medikamentiem [15, 16, 18, 21, 23]. Nozīmīgi tas būtu pacientiem gan ar HVM, gan VT, jo, agrīni izvērtējot riska alēļu klātbūtni, rastos iespēja būtiski uzlabot agrīnu VT profilaksi un plānot terapiju.

Līdz šim Latvijā nav veikti pētījumi par riska alēlēm pacientiem ar vēnu slimībām.

Darba mērķis

Izpētīt riska alēles *F5* (rs6025), *F2* (rs1799963), *SELE* (rs5361), *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865), *CYP4V2* (rs13146272), *F11* (rs2289252) un *GP6* (rs1613662) gēnā pacientiem ar VT un hronisku venozu mazspēju (HVM) Latvijā.

Materiāls un metodes

Pētījumā tika iesaistīts 141 pacients, t. sk. 52 pacienti bija ar pierādītu VT un 89 pacienti – ar HVM C3–C6 stadijā (tostarp 14 pacienti ar venozu čūlu jeb HVM C6 stadijā). Iekļaušanas kritēriji pētījuma grupā: pacientam ir pilni 18 gadi vai vairāk, viņš nav mentāli retardēts, viņam ir diagnosticēta kāda no slimībām – DVT, posttrombotiskas izmaiņas dziļajās vēnās (PTS), pirmreizēja VT, VT ar recidīvu, VT ģimenes anamnēzē, īpaši smaga VT, neraksturīgas lokalizācijas VT, VT bez iemesla, VT ar iemeslu (operācija, trauma, onkoloģiska slimība), HVM, trofiskā čūla, fakultatīvs papildu kritērijs – ģimenes anamnēzē ir VT. Diagnostika notika, pamatojoties uz klīniskiem datiem un duplekssonogrāfijas datiem (*Philips Sparq*, 2012).

Kontroles grupā tika izvēlēti 235 indivīdi no Latvijas Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes (LVIGDB). Kontroles grupā netika iekļauti cilvēki ar diagnozēm no I11 līdz I99 (atbilstoši ICD-10). Genotipēšana tika veikta, izmantojot *TaqMan SNP* genotipēšanas komplektus (*Biosystems TaqMan SNP Genotyping Assay*)

atbilstoši ražotāja protokolam *ViiA™ 7* reāllaika PCR sistēmā. Statistiskā analīze tika veikta, izmantojot programmatūru *Plink 1.06*. Logistiskās regresijas analīzē tika lietots aditīvais pārmantojamības modelis, kas koriģēts pēc dzimuma, vecuma un ķermeņa masas indeksa (ĶMI).

Rezultāti

Pētījumā tika izmantoti tādu pacientu dati, kuriem bija diagnosticēta VT un / vai HVM un to saistība ar astoņu gēnu riska alēlēm. HVM paraugkopa būtiski atšķiras no kontroles grupas pēc dzimuma, vidējā ĶMI, hipertensijas biežuma, smēķēšanas un fiziskās aktivitātes paradumiem. VT slimnieku grupa atšķiras no kontroles grupas pēc vidējā vecuma un ĶMI, kā arī pēc hipertensijas biežuma un smēķēšanas paradumiem (1. tab.). Visi genotipētie polimorfismi atbilda Hārdija-Veinberga vienādojumam, un pirmreizējās SNP genotipēšanas efektivitāte bija vairāk nekā 98,8%. Pētāmās grupas pacienti biežāk bija pusmūža vecuma sievietes ar paaugstinātu ĶMI (1. tab.). Statistiski būtiska saistība tika konstatēta starp *F5* gēna (rs6025) riska alēli un VT (VT riska $p = 0,017$, OR = 4,37) (2. tab.), taču nelielās grupas dēļ šī saistība neizturēja permutācijas testu un Bonferoni korekciju. Riska alēle *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865) un *F11* (rs2289252) gēnā parādīja būtisku saistību ar VT (2. tab.). Apvienojot VT un HVM pacientu grupas, statistiski būtisku atšķirību neuzrādīja *F5* (rs6025) riska alēle (3. tab.). Riska alēles *F2* (rs1799963), *SELE* (rs5361), *CYP4V2* (rs13146272) un *GP6* (rs1613662) gēnā neuzrādīja būtisku saistību ar VT (2. tab.). Riska alēles *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865) un *F11* (rs2289252) gēnā uzrādīja būtisku saistību kombinētas grupas pacientiem ar VT un HVM (3. tab.), taču nelielās grupas dēļ šī saistība neizturēja permutācijas testu un Bonferoni korekciju.

Salīdzinot reto alēļu frekvences pacientu grupās un kontroles grupā, bija vērojama tendence, ka biežāk analizētās *F2*, *FGG*, *F11* un *GP6* gēna retās alēles sastopamas VT slimniekiem (2. tab.), savukārt HVM slimniekiem, salīdzinot ar kontroles grupu, biežāk bija sastopamas *F5*, *CYP4V2*, *F11* un *GP6* gēna retās alēles (4. tab.), tomēr šīs tendences nebija statistiski būtiskas. Analizējot pacientus ar venozajām čūlām (HVM C6 stadijā), statistiski būtisku saistību ar šo patoloģiju uzrādīja *F11* (rs2289252) gēns ($p = 0,028$, OR = 1,65). Šis būtiskums saglabājās arī pēc permutācijas testiem un Bonferoni korekcijas testiem (5. tab.). Neviena riska alēle neuzrādīja statistiski būtisku saistību ar HVM C3 stadijā (4. tab.).

1. tabula. Pētāmās grupas fenotipiskais raksturojums

Phenotypic characteristics of study group

Raksturojums	VT (n = 52)	HVM (n = 89)	Kontrole (n = 235)	p vērtība	
				VT / Kontrole	HVM / Kontrole
Vīrieši, n (%)	20 (38%)	17 (19%)	110 (47%)	0,3050	< 0,0001
Sievietes, n (%)	32 (62%)	72 (91%)	125 (53%)	0,3050	< 0,0001
Vidējais vecums ± SD, gadi	59,9 ± 15,2	51,1 ± 17,5	53,1 ± 14,1	0,0021	0,2882
Vidējais ĶMI ± SD, kg/m ²	32,4 ± 26,2	26,9 ± 5,74	28,12 ± 4,96	0,0202	0,0596
Hipertonija, n (%)	6 (12%)	12 (13%)	69 (29%)	0,0184	0,0045
Angina Pectoris, n (%)	0	1 (1%)	2 (0,9%)	0,8342	0,5718
Miokarda infarkts, n (%)	4 (8%)	2 (2%)	4 (2%)	0,0687	0,6567
Cukura diabēts II, n (%)	5 (10%)	2 (2%)	5 (2%)	0,0147	0,6567
Cukura diabēts I, n (%)	0	1 (1%)	2 (0,9%)	0,8342	0,5718
Smēķēšana, n (%)	20 (38%)	29 (33%)	105 (45%)	0,4435	0,0674
Fiziski aktīvi, n (%)	23 (44%)	11 (12%)	93 (40%)	0,7075	< 0,0001
Alkohola patēriņš, n (%)	5 (10%)	1 (1%)	16 (10%)	0,7984	0,0123
Hiperlipidēmija, n (%)	0	0	11 (5%)	0,2077	0,0694
Leidena V faktors (rs6025) TT/TC/CC	1/4/47	0/3/86	0/6/228	0,01743	0,7371
Protrombīna <i>G20210A</i> (rs1799963) mutācija AA/AG/GG	0/2/50	0/0/89	0/7/228	0,625	0,9982

VT – pacientu grupa ar vēnu trombozi; HVM – pacientu grupa ar hronisku vēnu mazspēju; Kontrole – kontroles grupas pacienti.

2. tabula. Riska alēļu asociācijas analīze pacientu grupā ar vēnu trombozi (VT grupā)
Characteristics of the genotyped risk allele in VT sample group

SNP (gēns)	Genotips	Genotipa sadalījums		OR (95% TI)*	p vērtība
		Gadījumi	Kontrole		
rs6025 (F5)	TT/TC/CC	1/4/47	0/6/228	4,37 (1,296–14,74)	0,01743**
rs1799963 (F2)	AA/AG/GG	0/2/50	0/7/228	1,514 (0,287–7,988)	0,625
rs5361 (SELE)	GG/GT/TT	0/9/43	1/45/189	0,8557 (0,3769–1,943)	0,7094
rs2227589 (SERPINC1)	TT/TC/CC	0/6/46	3/53/179	0,4132 (0,1696–1,007)	0,05172***
rs2066865 (FGG)	AA/AG/GG	7/23/22	11/90/134	1,79 (1,105–2,898)	0,0179****
rs13146272 (CYP4V2)	CC/CA/AA	7/18/27	23/100/112	0,9424 (0,5877–1,511)	0,8055
rs2289252 (F11)	TT/TC/CC	10/33/9	37/106/92	1,648 (1,055–2,576)	0,02823*****
rs1613662 (GP6)	GG/GA/AA	0/10/42	0/40/195	1,097 (0,4998–2,406)	0,8181

* OR un p vērtība tika aprēķināti, izmantojot loģistiskās regresijas analīzi; koriģēts pēc dzimuma, vecuma, ķermeņa masas indeksa.

** $p_{perm} = 0,1051$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,1394$.

*** $p_{perm} = 0,1076$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,1432$.

**** $p_{perm} = 0,3064$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,4138$.

***** $p_{perm} = 0,1725$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,2259$.

3. tabula. Riska alēļu asociācijas analīze pacientu ar vēnu trombozi un hronisku venozu mazspēju (VT un HVM) kombinētā grupā

Association of analysed risk allele in VT and venous insufficiency (VI) combined sample group

SNP (gēns)	Genotips	Genotipa sadalījums		OR (95% TI)*	p vērtība
		Gadījumi	Kontrole		
rs6025 (F5)	TT/TC/CC	1/7/133	0/6/228	2,502 (0,8979–6,973)	0,07945
rs1799963 (F2)	AA/AG/GG	0/2/139	0/7/228	0,5958 (0,1168–3,038)	0,5332
rs5361 (SELE)	GG/GT/TT	0/22/119	1/45/189	0,7686 (0,4377–1,35)	0,3595
rs2227589 (SERPINC1)	TT/TC/CC	1/17/123	3/53/179	0,5224 (0,2995–0,9111)	0,02214**
rs2066865 (FGG)	AA/AG/GG	15/55/71	11/90/134	1,497 (1,058–2,118)	0,02282***
rs13146272 (CYP4V2)	CC/CA/AA	19/55/67	23/100/112	1,113 (0,808–1,533)	0,5122
rs2289252 (F11)	TT/TC/CC	29/76/36	37/106/92	1,473 (1,08–2,007)	0,01438****
rs1613662 (GP6)	GG/GA/AA	0/32/109	0/40/195	1,397 (0,8177–2,386)	0,2212

* OR un p vērtība tika aprēķināti, izmantojot loģistiskās regresijas analīzi; koriģēts pēc dzimuma, vecuma, ĶMI.

** $p_{perm} = 0,1359$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,1771$.

*** $p_{perm} = 0,1398$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,1826$.

**** $p_{perm} = 0,08879$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,115$.

4. tabula. Riska alēļu asociācijas analīze pacientu grupā ar hronisku venozu mazspēju (HVM grupā)
Characteristics of the genotyped risk alleles in venous insufficiency sample group

SNP (gēns)	Genotips	Genotipa sadalījums		OR (95% TI)*	p vērtība
		Gadījumi	Kontrole		
rs6025 (F5)	TT/TC/CC	0/3/86	0/6/228	1,288 (0,2943–5,634)	0,7371
rs1799963 (F2)	AA/AG/GG	0/0/89	0/7/228	2,501 (0 – ∞)**	0,9982
rs5361 (SELE)	GG/GT/TT	0/13/76	1/45/189	0,6851 (0,3454–1,359)	0,2792
rs2227589 (SERPINC1)	TT/TC/CC	1/11/77	3/53/179	0,5796 (0,3035–1,107)	0,09841
rs2066865 (FGG)	AA/AG/GG	8/32/49	11/90/134	1,329 (0,8659–2,041)	0,193
rs13146272 (CYP4V2)	CC/CA/AA	12/37/40	23/100/112	1,292 (0,8763–1,906)	0,1957
rs2289252 (F11)	TT/TC/CC	19/43/27	37/106/92	1,349 (0,9417–1,933)	0,1026
rs1613662 (GP6)	GG/GA/AA	0/22/67	0/40/195	1,687 (0,9074–3,137)	0,09835

* OR un p vērtība tika aprēķināti, izmantojot loģistiskās regresijas analīzi; koriģēts pēc dzimuma, vecuma, ĶMI.

** (0 – ∞) – nav ticamības.

5. tabula. Riska alēļu asociācijas analīze pacientiem ar venozu čūlu jeb hronisku venozu mazspēju C6 stadijā
(HVM C6)

Association of analysed risk alleles in venous ulcer sample group, VI C6

SNP (gēns)	Genotips	Genotipa sadalījums		OR (95% TI)*	p vērtība
		Gadījumi	Kontrole		
rs6025 (F5)	TT/TC/CC	0/1/13	0/6/228	2,949 (0,3202–27,15)	0,3398
rs1799963 (F2)	AA/AG/GG	0/0/14	0/7/228	1,209 (0 – ∞)**	0,9984
rs5361 (SELE)	GG/GT/TT	0/0/14	1/45/189	9,247 (0 – ∞)**	0,9958
rs2227589 (SERPINC1)	TT/TC/CC	0/2/12	3/53/179	0,541 (0,122–2,4)	0,4189
rs2066865 (FGG)	AA/AG/GG	0/7/7	11/90/134	1,169 (0,4528–3,02)	0,7465
rs13146272 (CYP4V2)	CC/CA/AA	1/5/8	23/100/112	0,7177 (0,2913–1,768)	0,4708
rs2289252 (F11)	TT/TC/CC	6/6/2	37/106/92	2,797 (1,268–6,171)***	0,01082
rs1613662 (GP6)	GG/GA/AA	0/3/11	0/40/195	1,415 (0,3737–5,356)	0,6094

* OR un p vērtība tika aprēķināti, izmantojot loģistiskās regresijas analīzi; koriģēts pēc dzimuma, vecuma, ĶMI.

** (0 – ∞) – nav ticamības.

*** $p_{perm} = 0,08112$, pēc Bonferoni korekcijas $p = 0,0503$.

Diskusija

Latvijā veiktā pētījuma rezultāti ir līdzīgi Dānijas, Leidenes trombofilijas pētījuma (*Leiden Thrombophilia Study, LETS*), *MEGA-1* un *MEGA-2* pētījumu datiem (*Genetic Assessment of Risk Factors for Venous Thrombosis*), kas arī parāda V Leidena faktora (*F5*, rs6025) būtisku saistību ar VT risku (2. tab.). Biežākā starptautiskajos pētījumos pierādītā V Leidena faktora (*F5*, rs6025) prevalence [2, 9, 19] atšķiras no mūsu pētījuma rezultātiem, iespējams, nelielās mūsu pētītās grupas dēļ. Riska alēles *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865) un *F11* (rs2289252) gēnā mūsu pētījumā parādīja saistību ar VT (2. tab.), kas ir līdzīgi *LETS*, *MEGA-1* un *MEGA-2* pētījumu rezultātiem [9, 10, 19]. Mūsu veiktajā pētījumā nelielās grupas dēļ šī saistība neizturēja permutācijas testu un Bonferoni korekciju. Mūsu pētījumā RA *F11* (rs2289252) gēnā parādīja būtisku saistību ar HVM C6 stadijā (5. tab.), kas atbilst pieejamiem literatūras datiem, kur pierādīts, ka pacientiem ar venozu čūlu jeb HVM C6 stadijā ir palielināts trombofilijas biežums (44–75%) [4, 28]. Mūsu pētījuma rezultāti parādīja, ka riska alēles *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865) un *F11* (rs2289252) gēnā pacientiem ar VT un HVM nav būtiski statistiski bieži, kas atšķiras no starptautisko pētījumu rezultātiem (3. tab.) [4, 28].

Mūsu pētījumā riska alēles *F2* (rs1799963), *SELE* (rs5361), *CYP4V2* (rs13146272) un *GP6* (rs1613662) gēnā nav saistītas ar paaugstinātu VT risku (2. tab.), kas atšķiras no *LETS*, *MEGA-1* un *MEGA-2* pētījumu rezultātiem [9, 10, 19], kuros iepriekšminētajos gēnos ir pierādīta šo *SNP* saistība ar paaugstinātu VT risku [9, 10, 19]. Latvijā veiktā pētījuma rezultāti, iespējams, atšķiras no starptautisko pētījumu datiem salīdzinoši nelielās pētītās grupas dēļ. Turklāt pētījumā riska alēles *F5* (rs6025), *SERPINC1* (rs2227589), *F2* (rs1799963), *SELE* (rs5361), *CYP4V2* (rs13146272), *GP6* (rs1613662), *FGG* (rs20066865) un *F11* (rs2289252) gēnā neuzrādīja būtisku saistību ar HVM slimniekiem bez VT un HVM bez čūlas jeb HVM C3 stadijā (4. tab.). Paraugkopās izmantotais pacientu skaits ir neliels, tādēļ, iespējams, noteiktas ģenētiskās saistības, kuras varētu eksistēt starp pētīto ģenētisko variantu un vēnu slimības attīstību, nenasniedz statistiski būtiskus rādītājus. Nākotnē būtu jāpalielina analizēto pacientu paraugkopa.

Secinājumi

Alēle *F11* (rs2289252) gēnā uzskatāma par riska alēli pacientiem ar hronisku venozu mazspēju (HVM) C6 stadijā.

Pateicība

Pateicamies Baltijas Vēnu klīnikai par iespēju izmantot pētījumā nepieciešamo aparātūru.



Risk Alleles Analysis in Patients with Vein Thrombosis and Chronic Venous Insufficiency in Latvia

Abstract

A number of single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been linked to higher risk of venous thrombosis (VT) [9]. Well-known genetic risk factors *F5* rs6025 mutation is present in about 30% of VT cases [27]. Several studies found that patients with chronic venous ulcers have an increased prevalence of thrombophilia (44–75%) [4]. Risk alleles have not been investigated in patients with vein disease in Latvia.

The aim of the study was to investigate VT and chronic vein insufficiency (CVI) risk alleles (RA) in *F5* (rs6025), *F2* (rs1799963), *SELE* (rs5361), *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865), *CYP4V2* (rs13146272), *F11* (rs2289252), *GP6* (rs1613662) genes in Latvia.

The data were collected from 141 patients (52 with VT and 89 with CVI C3–C6 stage). Control group – 235 persons. Control group – 110 men and 125 women, mean age 53.1 ± 14.1, BMI – 28.12 ± 4.96. Genotyping was performed using an Applied Biosystems TaqMan SNP Genotyping Assay after

manufacturer's protocol on ViiA™ 7 Real-Time PCR System (*Biosystems TaqMan SNP Genotyping Assay*). Diagnostics was based on the clinic and duplex ultrasound date (*Philips Sparq, 2012*). Statistical analysis was carried out in Plink 1.06 software. The additive model of inheritance was used in logistic regression for each SNP adjusting for sex, age, body mass index (BMI).

From 52 VT patients, 32 were women (62%) and 20 men (38%), mean age 59.9 ± 15.2 , BMI 32.4 ± 26.2 . From 89 CVI patients, 17 (19%) men and 72 (91%) women, mean age 51.1 ± 17.5 , BMI 26.9 ± 5.74 . The *F5* (rs6025) gene allele was associated with higher VT risk ($p = 0.017$, OR = 4.37). Allele in gene *F11* (rs2289252) was significantly associated with HVI C6 stage ($p = 0.028$, OR = 1.65). Allele in genes *SERPINC1* (rs2227589), *FGG* (rs20066865), *F11* (rs2289252) showed association with VT, and in combination of VT with CVI.

Allele in gene *F11* (rs2289252) is considered as risk allele in patients with of HVM C6 stage.

Keywords: risk allele, single nucleotide polymorphisms, vein thrombosis, deep vein thrombosis, trophic leg ulcer, SNP, thrombophilia.

Literatūra

- Alquire P. C., Mathes B. M. Chronic Venous Insufficiency and Venous Ulceration. *J Gen Intern Med*, 1997 Jun; 12 (6): 374–383.
- Arellano A. R., Bezemer I. D., Tong C. H., Catanese J. J., et al. Gene variants associated with venous thrombosis: confirmation in MEGA study. *J Thromb Haemost*, 2010; 8: 1132–1134.
- Bezemer I. D., Lance A. B., Carine J. M., Abdre R. A., et al. Gene variants associated with deep vein thrombosis. *Jama*, 2008; 299 (11): 1306–1314. <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=181638> (sk. 24.05.2015.).
- Calistru A. M., Baudrier T., Goncalves L., Azevedo F. Thrombophilia in venous leg ulcers: a comparative study in early and later onset. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 2012 May–Jun; 78 (3): 406. Doi: 10.4103/0378-6323.95477 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22565455> (sk. 24.05.2015.).
- Clement D. L. Superficial vein thrombosis: more dangerous than anticipated. *Phlebology*, 2013; 40 (4): 188. <http://www.phlebology.org/wpcontent/uploads/2014/09/Phlebology80.pdf> (sk. 24.05.2015.).
- Comprehensive Classification System for Chronic Venous Disorders (CEAP). <http://www.sigvaris.com/global/en/ceap-classification> (sk. 24.05.2015.).
- Davies A., Azzam M., Bradbury A., Brookes J., et al. NICE guideline “Varicose vein in the leg”, 2013. <http://www.nice.org.uk/guidance/cg168/evidence/cg168-varicose-veins-in-the-legs-full-guideline3> (sk. 24.05.2015.).
- Edwin J. R., Buller H. R., Oudrek M. *Deep vein thrombosis and pulmonary embolisms*. John Wiley & Sons, 2009. Pp. 13–16. <https://books.google.lv/books?id=daX4GmMEWIOC&pg=PA15&lpg=PA15&dq=positive+findings+for+rs13146272+in+the+CYP4V2+gene&source=bl&ots=wnUX6gL8Kv&sig=FIQF4siyXIRZVxq-wkdcajvJmL4&hl=en&sa=X&ei=kqFXVYKsLaKuygPt1IGwBw&ved=0CDIQ6AEwAw#v=onepage&q&f=false> (sk. 24.05.2015.).
- El-Galaly T. E., Severinsen M. T., Overvad K., Steffensen R., et al. Single nucleotide polymorphisms and the risk of venous thrombosis: results from a Danish case-cohort study. *British Journal of Haematology*, 2013; 160: 838–841.
- Felix J. M., Koster T., Vandenbroucke J. P., Briet E., et al. The Leiden Thrombophilia study (LETS). *Thrombosis and Haemostasis*, 1997; 78 (1): 631–635. https://openaccess.leidenuniv.nl/bitstream/handle/1887/1730/303_238.pdf?sequence=1 (sk. 24.05.2015.).
- Geisler T., Schaeffeler E., Gawaz M., Schwab M. Genetic variation of platelet function and pharmacology: An update of current knowledge. *Thrombosis and Haemostasis*, 2013; 110: 876–887.
- Chronic Venous Insufficiency, Diagnosis and Treatment*. Ed. by J. L. Ballard and J. J. Bergan. London, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. ISBN 1-85233-172-0 2012.
- Julma B., Kovar F. M., Hron G., Endler G., et al. Homozygosity in the single nucleotide polymorphism Ser128Arg in the E-selectin gene associated with recurrent venous thromboembolism. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16908800> (sk. 24.05.2015.).
- Krieviņš D., Rīts J., Ķīsis K. Hroniskas venozas mazspējas izplatība Latvijā. DE FACTO. *Doctus*, 2008. oktobris. <http://www.doctus.lv/2008/10/hroniskas-venozas-mazspejas-izplatiba-latvija-de-facto> (sk. 24.05.2015.).
- Krieviņš D., Kalvelis A., Latkovskis G., Lejniece S. u. c. *Dziļo vēnu tromboze, diagnostika, profilakse un ārstēšana, vadlīnijas*, 2012.

16. Krieviņš D. Pieci gadi ar flebologa sertifikātu. Kā nonācām pie Vadlīnijām dziļo vēnu trombozes diagnostikā, profilaksē un ārstēšanā? *Doctus*, maijs 2009. <http://www.doctus.lv/2009/5/pieci-gadi-ar-flebologa-sertifikatu-kanonacam-pie-vadlinijam-dzilo-venu-trombozes-diagnostika-profilakse-un-arstesana> (sk. 24.05.2015.).
17. Kvasnicka T., Hajkova J., Bobčikova P., Cverhova V., et al. The Frequencies of Six Important Thrombophilic Mutations in a Population of the Czech Republic. *Physiol.*, 2014; 63: 245–253.
18. Lejniece S. *Iedzimta trombofilija*. http://www.ginasoc.lv/uploads/content/Lekcijas%20kopsav_trombofilija.pdf (sk. 24.05.2015.).
19. Li Y., Bezmer I. D., Rowland C. M., Tong C. H., et al. Genetic variants associated with deep vein thrombosis: the F11 locus. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2009; 7: 1802–1808. <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1538-7836.2009.03544.x/asset/j.1538-7836.2009.03544.x.pdf?v=1&t=ia2wiu5d&s=3f10565401152243504442-e16cadfad6ebc03bc1> (sk. 24.05.2015.).
20. Meissner M. H., Glovicki P., Bergan J., Kristner R. L., et al. Primary chronic venous disorders. *J Vasc Surg*, 2007; 46: 54S–67S.
21. Nicolaides A. N., Fareed J., Kakkar A. K., Breddin H. K., et al. Prevention and treatment of venous thromboembolism, International Consensus Statement, 2013. <http://venousdisease.com/site/wp-content/uploads/2013/08/venous-thromboembolism-international-consensus-guidelines.pdf> (sk. 24.05.2015.).
22. Nicolaides A. N. Investigation of Chronic Venous Insufficiency, 2002. <http://circ.ahajournals.org/content/102/20/e126.full> (sk. 24.05.2015.).
23. Novakovic I., Cvetkovic D., Maksimovic N. Inherited Thrombophilia and the Risk of Vascular Events, 2011. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/23216.pdf> (sk. 24.05.2015.).
24. Pannier-Fischer F., Rabe E. Epidemiologie der chronischen Venenerkrankungen. *Hautarzt*, 2003; 54: 1037–1044. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00105-003-0616-0#page-1> (sk. 24.05.2015.).
25. Porter J. M., Moneta G. L. Reporting standards in venous disease: an update. International Consensus Committee on Chronic Venous Disease. *J Vasc Surg*, 1995; 21: 635–645.
26. Rabe E., Pannier-Fischer F., Broman K., Schuldt K., et al. Bonner Venenstudie der Deutschen Gesellschaft für Phlebologie. *Phlebol*, 2003; 32: 1–14. <http://www.artemedmuenchen.de/media/dateien/download/Bonner-Venenstudie.pdf> (sk. 24.05.2015.).
27. Rosendaal F. R. Venous thrombosis: a multicausal disease. *The Lancet*, 1999; 353 (9159): 1167–1173.
28. Zutt M., Kruger U., Rosenberger A., Schon M. P., et al. Thrombophilia in patients with chronic venous leg ulcers – a study on patients with or without post-thrombotic syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2011; 25 (12): 1432–1439. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21392126?dopt=Abstract> (sk. 24.05.2015.).