

УДК 616.13-089-06-056.7

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ТРОМБОФИЛИЙ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ РАННЕЙ ТРОМБОТИЧЕСКОЙ ОККЛЮЗИИ В ЗОНЕ РЕКОНСТРУКЦИИ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ РЕКОНСТРУКТИВНЫХ ОПЕРАЦИЙ НА БРЮШНОЙ АОРТЕ И АРТЕРИЯХ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

¹Лазаренко В.А., ¹Парфенов Е.И., ²Чурносов М.И., ¹Бобровская Е.А.

¹ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», Курск;

²ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, e-mail: dr.parfy@mail.ru

Изучена связь между генетическими полиморфизмами наследственных тромбофилий (1691G/A FV, 20210G/A FII, 677 C/T MTHFR, 455 G/A FGB) и риском развития тромбоза зоны реконструкции после реваскуляризирующих операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей. В исследование вошли 119 мужчин, разделенные на 3 группы (оперированные с тромбозом зоны реконструкции, без тромбоза зоны реконструкции и контрольная группа). В исследуемые выборки включались индивиды русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющие родства между собой. Установлен факт значимого вклада сочетания генетических вариантов 677 T MTHFR, 455 A FGB в повышение риска развития тромботической окклюзии зоны реконструкции при операциях на брюшной аорте и артериях нижних конечностей в первые 6 месяцев послеоперационного периода (OR = 4.0).

Ключевые слова: гены, наследственные тромбофилии, оперативное лечение, тромбоз

GENETIC POLYMORPHISMS OF INHERITED THROMBOPHILIA ASSOCIATED WITH THE DEVELOPMENT OF EARLY THROMBOTIC OCCLUSION IN THE AREA OF RECONSTRUCTION IN PATIENTS AFTER RECONSTRUCTIVE SURGERY ON THE ABDOMINAL AORTA AND LOWER LIMB ARTERIES

¹Lazarenko V.A., ¹Parfenov E.I., ²Churnosov M.I., ¹Bobrovskaya E.A.

¹Kursk State Medical University, Kursk;

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod State National Research University», Belgorod, e-mail: dr.parfy@mail.ru

The study was aimed at assessing the relationship between genetic polymorphisms of hereditary thrombophilia (1691G / A FV, 20210G / A FII, 677 C / T MTHFR, 455 G / A FGB) and the risk of thrombosis of the reconstructed zone after the revascularization operations in the abdominal aorta and lower limb arteries. The study included 119 males divided into 3 groups (patients after revascularization operations in the abdominal aorta and lower limb arteries complicated by the thrombosis of the reconstruction zone, patients after revascularization operations in the abdominal aorta and lower limb arteries without thrombosis of the reconstruction zone and control group). Only individuals of Russian nationality were included in the study sample, all are the natives of the Central Chernozem Russia and have no relationship with each other. It was determined that there is a fact of the significant contribution of the combination of genetic variants of 677 T MTHFR, 455 A FGB at increased risk of thrombotic occlusion of the reconstructed area after operations on the abdominal aorta and the lower limb arteries in the first 6 months of the postoperative period (OR = 4.0).

Keywords: genes, hereditary thrombophilia, surgery, thrombosis

Количество реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей продолжает находиться на стабильно высоком уровне. Несмотря на достижения современной хирургической техники и фармакотерапии, с каждым годом увеличивается количество повторных реконструктивных оперативных вмешательств. Повторные реконструктивные операции относятся к числу наиболее технически сложных оперативных вмешательств и сопровождаются высокой летальностью и инвалидизацией пациентов [1]. Одной из наиболее частых причин повторных реконструктивных операций являются тромбозы и окклюзии шунтов и зон реконструк-

ций [4]. По данным литературы, частота тромбозов после операций на аорто-бедренном сегменте достигает 9,3%, а бедренно-подколенно-тибиальном до 12% [2]. Среди причин ранних послеоперационных тромбозов, возникших в первые 6 месяцев после операции, выделяют хирургические погрешности, несостоятельность дистального русла [3]. Значительную роль в развитии тромботических окклюзий играют нарушения свертывающей системы крови [7]. Увеличение числа облитерирующих сосудистых заболеваний может быть связано с комбинацией различных факторов генетического риска атеросклероза [6; 8]. Этот вопрос до сих пор остается актуальным, так

как недостаточно изучен патогенез тромбозов сосудистых реконструкций.

Цель и задачи: изучить влияние генетических полиморфизмов наследственных тромбофилий на риск развития раннего тромбоза у больных после реконструктивных операций на брюшной аорте и артериях нижних конечностей.

Материалы и методы исследования

Исследовано 119 пациентов. Все пациенты мужчины, этнически коренные жители центрального черноземного района РФ. Исследуемая выборка была разделена на 3 группы. В первую группу включены больные, у которых в первые 6 месяцев после реконструктивной операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей развилась тромботическая окклюзия зоны реконструкции. Во вторую группу вошли больные, перенесшие реконструктивную операцию на брюшной аорте и артериях нижних конечностей, без признаков тромбоза в зоне реконструкции по истечении 6 мес. Третью (контрольную) группу, составили мужчины без признаков хронических облитерирующих заболеваний аорты и артерий нижних конечностей. Все больные из первой и второй групп в послеоперационном периоде получали двойную дезагрегантную терапию (ацетилсалициловая кислота + клопидогрель), в послеоперационном периоде не было ни геморрагических, ни инфекционных осложнений. Выполнялась инструментальная (ультразвуковое дуплексное сканирование артерий, ангиография) и лабораторная диагностика (клинический анализ крови, биохимический анализ крови с липидным профилем, коагулограмма, исследование крови на маркеры тромбофилии: Д-димер, гомоцистеин, анти-тромбин III, тест на агрегацию тромбоцитов). Исследование полиморфизма проводили с помощью методов полимеразной цепной реакции с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров с последующим анализом полиморфизма генов по локусам 1691G/A *FV*, 20210G/A *FII*, 677 C/T *MTHFR*, 455 G/A *FGB* методом TaqMan зондов с помощью real-time ПЦР. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6,0.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты генотипирования данных индивидов по локусам 1691G/A *FV*, 20210G/A *FII*, 677 C/T *MTHFR*, 455 G/A *FGB* представлены в таблице.

Исследование распределения генотипов изучаемых полиморфных маркеров наследственных тромбофилий показало, что для всех рассмотренных генетических полиморфизмов эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Уровень аллельного разнообразия по изученным локусам варьировался от $H_0 = 0,02$ (для локуса 1691G/A *FV*) до $H_0 = 0,46$ (для локуса 20210G/A *FII*) среди больных с ранней тромботической окклю-

зией зоны реконструкции после реконструктивной операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей. Среди больных, перенесших реконструктивную операцию, без развития ранней тромботической окклюзии в зоне реконструкции, этот показатель составил $H_0 = 0,48$ (для локусов 677 C/T *MTHFR* и 455 G/A *FGB*), а в контрольной группе он был равен $H_0 = 0,34$ (для локусов 677 C/T *MTHFR* и 455 G/A *FGB*).

При сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов наследственных тромбофилий 1691G/A *FV*, 20210G/A *FII*, 677 C/T *MTHFR*, 455 G/A *FGB* в группе больных с ранней тромботической окклюзией зоны реконструкции после реконструктивной операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей, в группе больных без тромботической окклюзии зоны реконструкции после реконструктивной операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей и в контрольной группе статистически достоверных различий среди вышеперечисленных групп выявлено не было.

Далее мы проанализировали роль комбинаций генетических вариантов исследуемых локусов наследственных тромбофилий в формировании ранней тромботической окклюзии зоны реконструкции после реконструктивной операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей. Исследование проведено с помощью программного обеспечения APSampler [<http://sources.redhat.com/cygwin/>], использующего метод Монте-Карло марковскими цепями и байесовскую непараметрическую статистику [5].

Следует отметить, что в формировании значимой комбинации генетических вариантов, отличающих группу больных с ранней тромботической окклюзией зоны реконструкции после реконструктивной операции на брюшной аорте и артериях нижних конечностей от контрольной группы участвуют два рассмотренных генетических полиморфизма: 677 C/T *MTHFR*, 455 G/A *FGB*.

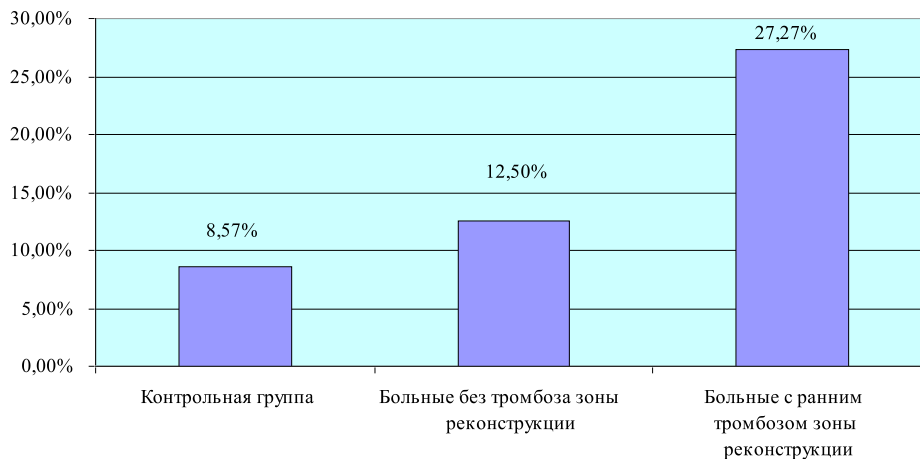
Установлена ассоциация сочетания генетических вариантов аллеля 677 T *MTHFR* и аллеля 455G A *FGB* с формированием ранней тромботической окклюзии в зоне реконструкции. У 27,27% больных с ранней тромботической окклюзией зоны реконструкции имеется данное сочетание генетических вариантов, тогда как в контрольной группе оно выявлено у 8,57% ($p = 0,03$), а среди больных, перенесших реконструктивную операцию на брюшной аорте и артериях нижних конечностей без развития ранней тромботической окклюзии в зоне реконструкции, данное сочетание ге-

нетических вариантов выявлено у 12,50% (рисунок). Данная комбинация полиморфных вариантов генов наследственных тромбофилий является фактором риска развития

ранней тромботической окклюзии у больных, перенесших реконструктивную операцию на брюшной аорте и артериях нижних конечностей (OR = 4,0; 95% CI 1,03–15,53).

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов 1691G/A *FV*, 677 C/T *MTNFR*, 20210 G/A *FII*, 455 G/A *FGB* в исследуемых группах

Полиморфизм	Аллели, генотипы	Пациенты с тромбозом зоны реконструкции (n = 44)		Пациенты без тромбоза зоны реконструкции (n = 40)		Контрольная группа (n = 35)		OR (95% CI), χ^2 , p	OR (95% CI), χ^2 , p
		n _i	%	n _i	%	n _i	%		
1691G/A <i>FV</i>	1691G	87	98,86	80	100	70	100	0,001 (0,55–21,6) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	1691A	1	1,14	0	0	0	0	Infi (0,053–0,054) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	1691 GG	43	97,73	40	100	35	100	0,01 (0,5–21,89) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	1691 GA	1	2,27	0	0	0	0	Infi (0,046–0,047) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	1691 AA	0	0	0	–	0	0	–	–
677 C/T <i>MTNFR</i>	677 T	27	30,68	25	31,25	14	20,0	1,77(0,79–3,97) $\chi^2 = 1,79$; p = 1,18	1,82 (0,81–4,14) $\chi^2 = 1,91$; p = 0,17
	677 C	61	69,32	55	68,75	56	80,0	0,56(0,25–1,26) $\chi^2 = 1,79$; p = 1,18	0,55 (0,24–1,24) $\chi^2 = 1,91$; p = 0,17
	677 TT	4	9,10	3	7,5	1	2,86	3,40(0,33–82,41) $\chi^2 = 0,44$; p = 0,5	2,76 (0,23–71,22) $\chi^2 = 0,14$; p = 0,71
	677 CT	19	43,18	19	47,5	12	34,28	1,45(0,53–4,05) $\chi^2 = 0,33$; p = 0,52	1,73 (0,62–4,92) $\chi^2 = 0,85$; p = 0,36
	677 CC	21	47,72	18	45,0	22	62,86	0,54 (0,19–1,47) $\chi^2 = 1,24$; p = 0,26	0,48 (1,17–1,35) $\chi^2 = 1,73$; p = 0,19
20210 G/A <i>FII</i>	20210 G	86	97,73	80	100	70	100	0,001 (0,55–21,6) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	20210 A	2	2,27	0	0	0	0	Infi (0,053–0,054) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	20210 GG	42	95,45	40	100	35	100	0,01 (0,55–5,23) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	20210 GA	2	4,55	0	0	0	0	Infi (0,046–0,047) $\chi^2 = 0,31$; p = 0,58	– $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01
	20210 AA	0	–	0	–	0	–	–	–
455 G/A <i>FGB</i>	455 G	66	75,0	23	73,08	56	80,0	0,75 (0,33–1,71) $\chi^2 = 0,31$; p = 0,58	0,62 (0,27–1,41) $\chi^2 = 1,10$; p = 0,29
	455 A	22	25,0	57	26,92	14	20,0	1,33 (0,58–3,03) $\chi^2 = 0,31$; p = 0,58	1,62 (0,71–3,70) $\chi^2 = 1,10$; p = 0,29
	455 GG	24	54,55	19	47,50	22	62,86	1,71 (0,26–1,93) $\chi^2 = 0,27$; p = 0,61	0,54 (0,19–1,49) $\chi^2 = 1,21$; p = 0,27
	455 GA	18	40,90	19	47,50	12	34,28	1,32 (0,48–3,69) $\chi^2 = 0,13$; p = 0,71	1,73 (0,62–4,91) $\chi^2 = 0,85$; p = 0,36
	455 AA	2	4,55	2	5,0	1	2,86	1,61 (0,11–46,69) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01	1,73 (0,12–50,25) $\chi^2 = 0,01$; p = 1,01



Частота сочетания генетических вариантов 677 Т МТНFR и 455 А FGB среди исследуемых групп

Выводы

Выявлен значимый вклад комбинации полиморфных вариантов наследственных тромбофилий (677 С/Т МТНFR, 455 G/A FGB) в формирование ранней тромботической окклюзии зоны реконструкции при операциях на брюшной аорте и артериях нижних конечностей. Сочетание генетических вариантов 677 Т МТНFR, 455 А FGB значительно повышает (OR = 4,0) риск развития ранней тромботической окклюзии зоны реконструкции при операциях на брюшной аорте и артериях нижних конечностей.

Список литературы

1. Белов Ю.В., Степаненко А.Б. Повторные реконструктивные операции на аорте и магистральных артериях. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство». – 2009. – 176 с.
2. Полянцев А.А. Прогнозирование ранних тромбогеморрагических осложнений после реконструктивных операций на магистральных артериях нижних конечностей / Полянцев А.А., Мозговой П.В., Фролов Д.В., Мунасар А.Д., Щербачев М.В. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2004. – № 11. – С. 68–72.
3. Михайлов И.П. Хирургическое лечение больных с аррозийными кровотечениями после реконструктивных операций на аорте и артериях нижних конечностей / Михайлов И.П., Лемнев В.Л. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2004. – № 9. – С. 10–13.
4. Султанян Т.Л. Осложнения после реконструктивных операций на магистральных артериях нижних конечностей и методы их коррекции / Султанян Т.Л., Саркисян А.С., Хачатрян А.М. // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19, № 1. – С. 124–128.
5. Favorov A.V. A Gibbs sampler for identification of symmetrically structured, spaced DNA motifs with improved estimation of the signal length / Favorov A.V., Gelfand M.S., Gerasimova A.V., Ravcheev D.A., Mironov A.A., Makeev V.J. // Bioinformatics. – 2005. – Vol. 21. – P. 2240–2245.
6. Finsterer J. Risk-factor profile in severe, generalized, obliterating vascular disease / Finsterer J., Dossenbach-Glaninger A., Krugluger W., Stöllberger C., Hopmeier P. // South. Med. J., 2004. – Vol. 97(1). – P. 87–92.
7. Hoppe B. Gene polymorphisms implicated in influencing susceptibility to venous and arterial thromboembolism: frequency distribution in a healthy German population / Hoppe B., Tolou F., Dörner T., Kiesewetter H., Salama A. // Thromb. Haemost., 2006. – Vol. 96(4). – P. 465–470.
8. Sheweita S.A. Role of genetic changes in the progression of cardiovascular diseases / Sheweita S.A., Baghdadi H., Allam A.R. // Int. J. Biomed. Sci., 2011. – Vol. 7(4). – P. 238–248.

References

1. Belov Ju.V., Stepanenko A.B. Povtornye rekonstruktivnye operacii na aorte i magistral'nyh arterijah. M.: OOO «Medicinskoe informacionnoe agentstvo». 2009. 176 p.
2. Poljancev A.A. Prognozirovaniye rannih trombogemoragicheskikh oslozhnenij posle rekonstruktivnyh operacij na magistral'nyh arterijah nizhnih konechnostej / Poljancev A.A., Mozgovej P.V., Frolov D.V., Munasar A.D., Shherbakov M.V. // Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2004. no. 11. pp. 68–72.
3. Mihajlov I.P. Hirurgicheskoe lechenie bol'nyh s arrozionnymi krvotochenijami posle rekonstruktivnyh operacij na aorte i arterijah nizhnih konechnostej / Mihajlov I.P., Leme-nev V.L. // Hirurgija. Zhurnal im. N.I. Pirogova. 2004. no. 9. pp. 10–13.
4. Sultanjan T.L. Oslozhnenija posle rekonstruktivnyh operacij na magistral'nyh arterijah nizhnih konechnostej i metody ih korrekcii / Sultanjan T.L., Sarkisjan A.S., Hachatryan A.M. // Angiologija i sosudistaja hirurgija. 2013. T. 19, no. 1. pp. 124–128.
5. Favorov A.V. A Gibbs sampler for identification of symmetrically structured, spaced DNA motifs with improved estimation of the signal length / Favorov A.V., Gelfand M.S., Gerasimova A.V., Ravcheev D.A., Mironov A.A., Makeev V.J. // Bioinformatics. 2005. Vol. 21. pp. 2240–2245.
6. Finsterer J. Risk-factor profile in severe, generalized, obliterating vascular disease / Finsterer J., Dossenbach-Glaninger A., Krugluger W., Stöllberger C., Hopmeier P. // South. Med. J., 2004. Vol. 97(1). pp. 87–92.
7. Hoppe B. Gene polymorphisms implicated in influencing susceptibility to venous and arterial thromboembolism: frequency distribution in a healthy German population / Hoppe B., Tolou F., Dörner T., Kiesewetter H., Salama A. // Thromb. Haemost., 2006. Vol. 96(4). pp. 465–470.
8. Sheweita S.A. Role of genetic changes in the progression of cardiovascular diseases / Sheweita S.A., Baghdadi H., Allam A.R. // Int. J. Biomed. Sci., 2011. Vol. 7(4). pp. 238–248.

Рецензены:

Сорокина И.Н., д.б.н., доцент, доцент кафедры медико-биологических дисциплин, ФGAOY ВПО «Белгородский национальный исследовательский университет», медицинский институт, факультет лечебного дела и педиатрии, г. Белгород;

Полоников А.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Курск.