УДК 616.155.295

Н.Н.Страмбовская, Ю.А.Витковский

ЧАСТОТА ПЕРВИЧНЫХ ТРОМБОФИЛИЙ В ПОПУЛЯЦИИ г. УЛАН-УДЭ

Читинская государственная медицинская академия (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)
Городская клиническая больница скорой медицинской помощи им. В. В. Ангапова, г. Улан-Удэ (главный врач - В.П. Амагыров)

Резюме. *Среди лиц, проживающие в городе Улан-Удэ и считающие себя условно здоровыми, в возрасте от 17 до 75 лет исследована частота носительства мутации гена фактора V (Лейден) - FVL, определяющего резистентность к активированному протеину С, мутации G20210A, кодирующего аномальную молекулу протромбина, мутацию C677T, обуславливающую развитие гипергомоцистеинемии, в популяции города Улан-Удэ, оценка их пенетрантности, а также определение частоты носительства генетических аномалий в различных этнических субпопуляциях. Установлено, что распространенность аллелей в популяции города Улан-Удэ составляет: для FVL - 4%, протромбина - G20210A - 1%, 5-10-МТГФР (C677T) - 12% без четкого преобладания среди мужчин и женщин. В этнических субпопуляциях частота исследуемых мутаций в этнических субпопуляциях варьирует с относительно высоким носительством аллеля FVL у бурят (5,3%) и аллеля МТГФР (C677T) у русских (12,9%). Высокая экспрессивность исследуемых генных аномалий преимущественно проявляется в виде венозных тромбозов или патологической беременностью у женщин, невынашиванием плода.*

Давно известны наследственные дефекты свертываемости крови, являющиеся причиной длительных, угрожающих жизни кровотечений, однако нарушения тромбообразования, осложняющиеся развитием тромбозов и тромбоэмболий, привлекли внимание исследователей лишь несколько десятилетий назад. За время изучения этой проблемы частота прижизненной обтурации артерий и вен кровяными сгустками, а также их внезапная закупорка катастрофически выросла (1,6,7,9,11,30). Суммарная частота тромбоза вен и его осложнений в течение года составляет 1 на 1000 и в настоящее время является основной причиной смерти и инвалидизации в различных группах человеческой популяции (11,12,13,27,31). Артериальные тромбозы являются причиной 95% крупноочаговых инфарктов миокарда (Q инфаркты), 85% инсультов (ишемические инсульты), гангрен конечностей, а также инфарктов других органов - почек, кишечника (7). По данным ВОЗ (1997), данная патология уносит жизни ежегодно около 14 млн. людей, а от тромбоэмболии легочной артерии ежегодно погибает 1 из 1000 жителей планеты. Тромбоз реже встречается у молодых и становится все более частым в пожилом возрасте, хотя в последнее время отмечается его "омоложение" (9,11).

В настоящее время известно несколько наследственно ассоциированных тромбофилий и приобретенных состояний, которые объясняют развитие тромбоза в большинстве случаев его регистрации. Резистентность FV к активированному протеину С (Лейден), мутация в гене протромбина (G20210A) и 5-10-МТГФР (C677T) одни из самых распространенных групп генетических аномалий, приводящих к дефектам в механизмах образования, регуляции и растворения внутрисосудистых кровяных сгустков, которые сочетаются с повышенным тромбообразованием (2,3,4,8,9). Однако до сих пор не в полной мере изучена эпидемиология, этнические особенности данной патологии (6,20,27,28,32).

ЦЕЛЬЮ работы явилось исследование частоты носительства аллелей FVL, G20210A, 5-10-МТГФР (C677) в популяции города Улан-Удэ, оценка пенетрантности данных аномалий, а также определение частоты носительства мутаций в различных этнических субпопуляциях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В группу обследования методом сплошной выборки были включены лица, проживающие в городе Улан-Удэ и считающие себя условно здоровыми от 17 до 75 лет, средний возраст которых составил 37,5±14,1 год.

При распределении по возрастным группам максимальное количество людей приходилось на возраст от 20 до 29 лет, как среди бурят, так и русских, равнозначное распределение прослеживалось и по другим возрастным интервалам (табл. 1).

Для выявления признаков тромбофилии, а также приводящих к ним факторов было проведено анкетирование (тест Manuchi P. M., 1997 в модификации).

Экстракцию ДНК из лимфоцитов для определения точечных мутаций в генах протромбина (G20210A), V фактора свертывания крови (FVL) и 5-10-метилентетрагидрофолат редуктазы (C677T) проводили методом фенольной экстракции с использованием наборов реактивов "ВектоДНК-экстракция" (ЗАО "Вектор-Бест"). Для проведения ПЦР нами использовались методические рекомендации, разработанные Российским научно-исследовательским институтом гематологии и трансфузиологии г. Санкт-Петербурга с помощью растворов и реактивов "Сибэнзим" (Новосибирск), "Силекс" (Москва).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ. В результате молекулярно-генетического исследования

Таблица 1

Распределение группы контроля по возрасту и национальности n=100

	буряты n= 38		русские n= 62		всего n=100	
	абс	%	абс	%	абс	%
менее 20 лет	0	0	5	8,1	4	4
20 - 29	13	34,2	18	29,1	32	32
30 - 39	10	26,4	17	27,4	27	27
40 - 49	6	15,8	9	14,5	15	15
50 -59	7	18,4	8	12,9	15	15
60 - 69	1	2,6	3	4,8	4	4
70 и более	1	2,6	2	3,2	3	3

обнаружены все искомые мутации (FVL, G20210A, 5-10-МТГФР (C677T) у 17 (17%) лиц. Возраст носителей аномальных аллелей колебался от 20 до 58 лет и в среднем составил 36,17±12,3 лет. Для удобства их обозначим как группа А. Возраст в группе людей, не имеющей исследуемых мутаций, (группа В) колебался от 17 до 75 лет и в среднем составил 37,71±14,5 лет. Среди группы А наблюдалось 12 женщин (21,1% от исследуемых лиц женского пола), и 5 мужчин (11,6%), 6 бурят и 11 русских с распространенностью в этнических субпопуляциях 15,8% и 17,7% соответственно.

На основании анамнеза установлено, что в группе А варикозная болезнь вен нижних конечностей встречалась в 2 раза чаще, чем в группе В, тромбофлебит в 6 раз чаще не только у обследованных, но и у членов их семей, а женщины чаще имели выкидыши, либо осложненную гестозом беременность (таблица 2 и 3).

Эпизоды инфаркта миокарда и ишемического инсульта проявлялись с одинаковой частотой у обследуемых и их родственников в обеих группах. Такие сопутствующие заболевания или синдромы, как сахарный диабет, атеросклероз, ожирение, артериальная гипертензия в обеих группах наблюдались в одинаковой мере, но заболеваемость аутоиммунной патологией и выявляемость объемных образований (в том числе и злокачественных) в первой группе была заметно выше (табл. 4).

Аномалия Лейден выявлялась в 4 (4%) случаях

Таблица 3

Частота беременностей и их осложнений у исследуемых женщин в популяции (n=57)

	Группа В, n=83		Группа А, n=17	
	абс	%	абс	%
Количество женщин, имеющих беременности	26	57	9	75
Из них абортов	13	28,9	2	16,7
Из них выкидышей	4	8,9	3	25
Гестоз	8	17,8	4	33,3

Таблица 2

Случаи варикозного расширения вен, тромбозов и тромбоэмболии в популяции, n=100.

	Группа В, n=83		Группа А, n=17	
	абс	%	абс	%
Варикозная болезнь	12	14,5	6	35,3
ТЭЛА или ее ветвей	-	-	1	5,9
Тромбофлебит в анамнезе	3	3,6	4	23,5
Случаи инфаркта миокарда в семье	10	12	1	5,9
Случаи ишемического инсульта в семье	12	14,5	4	23,5
Венозные тромбозы, варикозная болезнь, в том числе и в молодом возрасте в семье	8	9,6	4	23,5
Частые повторные случаи тромбоза в семье	-	-	2	11,8

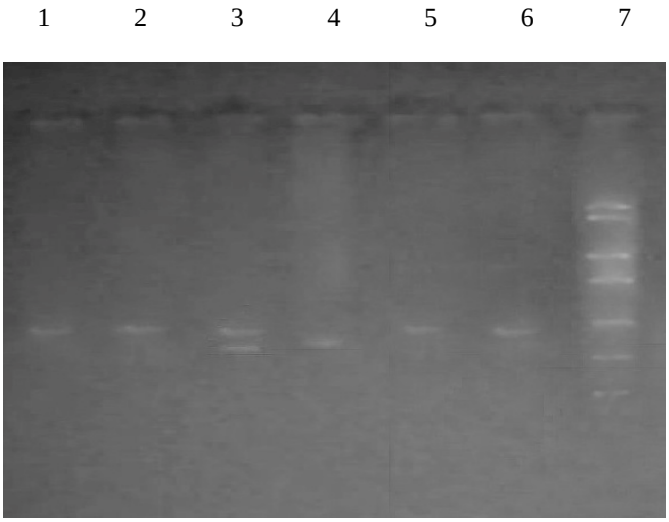
в гетерозиготном состоянии у двух мужчин и двух женщин, средний возраст которых составил 36,5±9,3 лет (рис 1). В этнических группах у европейцев эта мутация обнаружена у 2 лиц (3,2%), у бурят - 2 (5,3%). Трое из четверых обследованных (75%) наблюдались по поводу варикозной болезни вен нижних конечностей и отмечали в анамнезе перенесенный тромбофлебит, а один (мужчина-бурят) был оперирован по этому поводу. Одна из женщин перенесла множественные венозные тромбозы (глубоких вен нижних конечностей, подключичной вены, тромбоэмболию ветвей легочной артерии) на фоне приема преднизолона по поводу миастении. У второй женщины-бурятки в анамнезе из 3 беременностей 2 закончились самопроизвольным абортом. У обоих во время беременности развился гестоз.

Мутация в гене протромбина (G20210A) обнаружена в одном случае (1%) у русской женщины 21 года, которая не имела в анамнезе артериальных или венозных тромбозов, но отмечала их наличие у ближайших родственников (ОНМК, варикозную болезнь) (рис. 2). Примечательно, что единственная ее беременность закончилась выкидышем на раннем сроке (8 нед.).

Таблица 4

Частота сопутствующих заболеваний и синдромов в популяции (n=100)

	Группа В, n=83		Группа А, n=17	
	абс	%	абс	%
Атеросклероз	10	12,1	2	11,8
Сахарный диабет	3	3,6	0	0
Ожирение	12	14,5	3	17,6
Артериальная гипертензия	17	19,5	5	29,4
Нефротический синдром	2	2,4	2	11,8
Аутоиммунные заболевания	1	1,2	3	17,6
Объемные новообразования	2	2,4	2	11,8



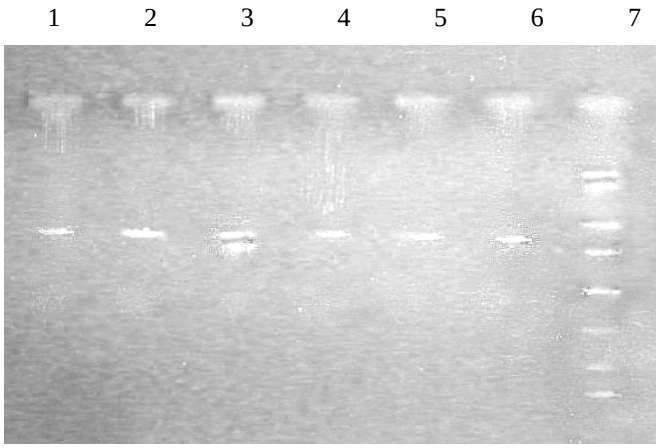
1 – норма

3 – гетерозигота по мутации FV Лейден

4 – гомозигота по мутации FV Лейден

7 – макер (ДНК pUC19, рестрицированная рестриктазой Msp1)

Рис. 1. Электрофореграмма продуктов реакции амплификации для определения аномалии FV Лейден в 6% полиакриламидном геле, маркер длин волн ДНК плазмиды pUC19.



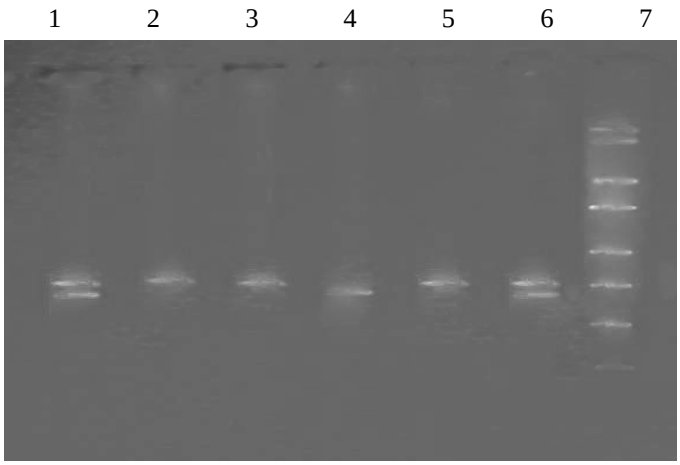
1 – норма

3 – гетерозигота по мутации G20210→A

Гомозигота по мутации G20210→A не обнаружена

7 – макер (ДНК pUC19, рестрицированная рестриктазой Msp1)

Рис. 2. Электрофореграмма продуктов реакции амплификации для определения мутации G20210>A в 2% агарозном геле, маркер длин волн ДНК плазмиды pUC19.



2 – норма

6 – гетерозигота по мутации C677→T

4 - гомозигота по мутации C677→T

7 – макер (ДНК pUC19, рестрицированная рестриктазой Msp1)

Рис. 3. Электрофореграмма продуктов реакции амплификации для определения мутации C677>T в 2% агарозном геле, маркер длин волн ДНК плазмиды pUC19.

Рис. 4. Частота исследуемых аномалий в субпопуляциях n=100 (%)

Мутация гена МТГФР (С677Т) выявлена у 12 человек (12%): 10 имели гетерозиготную форму, у 2 отмечалась гомозиготное состояние (рис. 3). Средний возраст в этой группе составил 37,3±13,1 года. Девять (75%) из 12 обследованных - женщины, 3 мужчины. Распределение в субпопуляциях: у бурят 4 (10,5%) человека (2 женщины и 2 мужчин), у европейцев 8 (12,9%) - 1 мужчина и 7 женщин (рис. 4). Частота варикозной болезни вен нижних конечностей отмечалась несколько ниже, чем в группе носителей FVL - 25% (3 человека), и лишь у одного заболевание осложнилось тромбофлебитом. Ишемический инсульт в семье наблюдался у 3 (25%) обследуемых, у одного (8,3%) - инфаркт миокарда. Из сопутствующих заболеваний довольно часто выявлялись артериальная гипертензия (25%), нефротический синдром (16,7%), объемные новообразования (16,7%) и, в отличие от предыдущих мутаций, увеличения количества осложненной беременности у женщин (выкидыши, гестоз) в сравнении с группой В не отмечалось.

Учитывая вышеизложенное, в настоящей популяции, выявленные генные мутации имеют достаточно высокую экспрессивность, а также вариабельность в субпопуляциях с относительно высоким носительством аллеля FVL среди бурят и аллеля МТГФР (С677Т) среди русских.

ВЫВОДЫ: 1. Распространенность аллелей в популяции города Улан-Удэ составляет: для FVL - 4%, протромбина - G20210A - 1%, 5-10-МТГФР (С677Т) - 12% без четкого преобладания среди мужчин и женщин.

2. В этнических субпопуляциях частота исследуемых мутаций в этнических субпопуляциях варьирует с относительно высоким носительством аллеля FVL у бурят (5,3%) и аллеля МТГФР (С677Т) у русских (12,9%).

3. Высокая экспрессивность исследуемых генных аномалий преимущественно проявляется в виде венозных тромбозов или патологической беременностью у женщин, невынашиванием плода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенас С. Свертывание крови. Обзор / С. Бутенас, К.Т. Манн // Биохимия. - 2002. - Т. 67, №1. - С. 5-15.
2. Баркаган З.С. Гипергомоцистеинемия как самостоятельный фактор риска поражения и тромбирования кровеносных сосудов / З. С. Баркаган, Т. И. Костюченко // Патол. кровообращ. и кардиохирургия. - 2002. - №1. - С. 65-71.
3. Сидоренко Т. И. Роль гомоцистеина в тромбо- и атерогенезе. Возможности и перспективы витаминной коррекции / Т.И. Сидоренко, С.Ф. Золотухина // Кардиология. - 2001. - №1. - С. 65-71.
4. Ефимов Е. С. Гомоцистеинемия в патогенезе тромбоваскулярной болезни и атеросклероза / Е.С. Ефимов, А.К. Цакалов // Лаб. Медицина. - 1999. - №2. - С. 44 - 48.
5. Тимербаев В. Н. Биохимические механизмы инициирования свертывания крови и развития тромбофилии / В.Н. Тинербаев - Казань: 2000. - С. 98 - 107.
6. Козловская Н. Л. Тромбофилические состояния / Н. Л. Козловская // Клинич. фармакология и терапия. - 2003. - №12(1). - С. 74 - 79.
7. Бокарев И. Н. Тромбофилии, венозные тромбозы и их лечение / И.Н. Бокарев, М.И. Бокарев // Клиническая медицина. - 2002. - №5. - С. 4 - 8.
8. Макацария А. Д. Тромбофилии и синдром потери плода / А.Д. Макацария, М. Д. Гениевская // 2001. - С. 35 - 39.
9. Баркаган З.С. Тромбофилия, характеризующаяся резистентностью к антикоагулянтам непрямогодей-

ствия / З.С. Баркаган, Е.И. Буевич, Е.А., Тимошенко // 1995. - С. 50 - 52.
10. Таболин В.А. Современные подходы к лечению тромбофилических состояний в перинаталогии / В.А. Таболин, А.Я. Ильина, Л.А. Анастасевич // Медицинская помощь. 2002. - №1. - с. 16 - 18.
11. Зубаиров Д.М. Тромбофилия / М.Д. Зубаиров // Казанский медицинский журнал. - 1996. - №1. - С. 2 - 5.
12. Баркаган З.С. Распространенность, диагностика и клиническое значение тромбофилии, обусловленной резистентностью фактора V к активированному протеину С / З.С. Баркаган, Л.Н. Цывкина, А.М. Мамаев // 1997. - С. 39 - 41.
13. Баркаган З.С. Основы диагностики нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. - Москва: "Ньюдиамед - АО", 1999. - 224 с.
14. Берковский А.Л. Скрининговый тест на протеин С / А.Л. Берковский, С.А. Васильев, Н.Д. Кочелева // Клиническая лабораторная диагностика. - 2001. - №3. - С. 36 - 37.
15. Милетич Д.П. Патофизиология тромбофилии / П.Д. Милетич // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 9 - 14.
16. Бертина Р.М. Молекулярные основы наследственных тромбофилий / Р.М. Бертина // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 15 - 23.
17. Дальбек Б. Лабораторная диагностика факторов генетического риска развития тромбоза / Б. Дальбек // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 23 - 27.
18. Селигсон У. Контроль за наследственными тромбофилиями путем выявления носительства и пренатальной диагностики /У. Селигсон // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 27 - 29.
19. Бауэр К.А. Лечение и предотвращение тромботических эпизодов у больных с наследственными тромбофилиями / К.А. Бауэр // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 32 - 37.
20. Чанди М. Наследственные тромбофилии в развивающихся странах: частота, профилактика и лечение наследственных тромбофилических синдромов / М. Чанди // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 38 - 42.
21. Гинтер Е.К. Генетика тромбофилии / Е.К. Гинтер // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 42 - 47.
22. Лейн Д.А. Наследственные тромбофилии: перспективы на будущее / Д.А. Лейн // Вестник РАМН. - 1997. - №1. - С. 47 - 50
23. Зыкова Е.С. Новые аллель-специфические праймеры для обнаружения мутаций Leiden в экзоне 10 гена фактора V при тромбофилиях / Е.С Зыкова, Л.И. Патрушев, А.Л. Каюшин // Биоорганическая химия. - 1997. - Т. 23, №3. - С. 205 - 210.
24. Патрушев Л.И. Новая система ДНК-диагностики, позволяющая обнаруживать и идентифицировать гомозиготные и гетерозиготные точковые мутации / Л.И. Патрушев, Е.С. Зыкова // Биоорганическая химия. - 1998. - Т. 24, №3. - С. 194 - 200.
25. Bertina R.M. Faktor V Leiden and other coagulation factor mutations affecting thrombotic risk / R.M. Bertina// Clin. Chem. - 1997. - №9. - P. 1678 - 1683.
26. Legnani C. Hyperhomocysteinemia and a common methylentetragydrofolate reductese mutation (Ola (223) Val MTHFR), in patients with inherited thrombophilic coagulation defects / C. Legnani, G. Palareti, F. Grauso // Arteriosclerosis Thrombosis and Vask. Biol. - 1997. - №11. - P. 2924-2929.
27. Mancini F.P The C677T mutation of the 5, 10 - methylenetetrahydropholate reductase gene (MTHFR) and moderate hyperhomocysteiemia in young thrombophilic patients / F.P. Mancini, R.D. De Franchis, A. D Angelo, G. Sebastio et al. // Fibrinolysis Symp. "Hemostasis, Inflam and Cardiovase Pisease" Ulm, May 3-4, 1996. - P. 33.
28. Janker R., Nowak-Gottl U. The prothrombin G20210A mutation - a common cause of thrombophilia / R. Janker, U. Nowak-Gottl // Laboratoriums medizin. - 1998. - №9. - P. 473-482.
29. Witt I. Diagnosis and clinical significence of resistence to activated protein C (factor V mutation). Most common cause of familial thrombophilia / I. Witt // Clin. Lab. - 1998. - №7-8. - P. 569 - 579.
30. Varnai K. Hemorheological parameters in patients with thrombophilia / K. Varnai, F. Gutler, E. Szekely // Biorheology. - 1999. - №1-2. - P.148.
31. Enhenforth S. APC-Resistenz and venose Thrombophiliei Molekular - genetische Pravalenzstudie in der deutschen Bevolkerung / S. Enhenforth, S. Klinke, M.von Depke Prondzinski // Dtsch. med. Wochenschr. - 1999. - №25-26. - P.783-787
32. Kalafatis M. Mam K.G. Factor V (Leiden) and thrombophilia / M. Kalafatis, K.G. Mam // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vask. Bid. - 1997. - №4. - P. 620-627.