УДК 616.01 : 612.115

Доржеев В.В., Витковский Ю.А.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФАКТОРА V ЛЕЙДЕН (G1691A), РОТРОМБИНА (G20210A) И МЕТИЛЕНТЕТРАГИДРОФОЛАТРЕДУКТАЗЫ (C677T) У БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ПРИ ПОЛИТРАВМЕ В ЗАБАЙКАЛЬСКОМ КРАЕ

Читинская государственная медицинская академия, г. Чита

Резюме. *Представлены результаты влияния протромботических мутаций: FV Leiden(G1691A), мутация в гене протромбина (G20210A), в гене МТГФР (C677T) на развитие гемокоагуляционных осложнений у больных с политравмой. У 102 индивидов гетерозиготная мутация фактора V Leiden выявлена в 5%, а гомозиготная мутация в 1% наблюдений. Гетерозиготная мутация протромбина G20210A -4%. Гетерозиготная форма полиморфизма МТГФР C677T – 40%, гомозиготная мутация – 10%. Наиболее высокий риск развития тромботических осложнений при политравме обусловлен мутацией в гене протромбина G20210A и FV Leiden G1691A.*

Ключевые слова: *тромбофилия, тромбоз, политравма, полиморфизм генов.*

Dorzheev V.V., Vitkovsky Yu.A.

POLYMORPHISM OF GENE F V LEIDEN (G1691A), PROTHROMBIN (G20210A) AND METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (C677T) IN CASES WITH VENOUS THROMBOEMBOLISM OF PATIENTS WITH A POLYTRAUMA IN TRANSBAIKALIAN REGION

Summary. *The results of prothrombotic mutations influence are presented: FV Leiden (G1691A), a mutation in prothrombine gene (G20210A), MTGFR (C677T) gene on development of coagulation complications in cases of patients with a polytrauma. In 102 individual cases the heterozygotic mutation of the factor V Leiden is revealed in 5%, and a homozygous mutation - in 1 % of supervised patients. A heterozygotic mutation of prothrombine (G20210A) - 4 %. The heterozygotic form of polymorphism MTGFR (C677T) - 40 %, a homozygous mutation - 10 %. The highest risk of thrombotic complications development in case of a polytrauma is caused by a mutation in prothrombine gene (G20210A) and FV Leiden (G1691A).*

Keywords: *thrombophylia, thrombosis, polytrauma, gene polymorphism.*

В последние годы отмечается рост травматизма. Среди причин смертности политравма занимает третье место, а в группе лиц моложе 40 лет – первое. В группе мужчин 20-24 лет несчастные случаи являются причиной смерти в более чем 80%. Политравма отличается особой тяжестью клинических проявлений, сопровождается значительным нарушением жизненно важных функций организма, трудностью диагностики и лечения, частым развитием осложнений, длительным периодом пребывания в стационаре, высокой инвалидизацией [1, 6, 7].

В настоящее время общепризнанна роль тромбофилий в возникновении осложнений и отягощении течения различных заболеваний. Установлено, что большая часть хирургической патологии протекает на фоне нарушений в системах гемостаза и иммунитета. Состояние последних оказывает значительное влияние на течение заболеваний, эффективность лечения и исход. В свою очередь травма, связанная с ней длительная иммобилизация больного, могут быть причиной вторичных тромбофилий [5, 6]. К сожалению, Забайкальская популяция людей в этом отношении является малоизученой. Под руководством Ю.А. Витковского выполнены популяционные исследования частоты протромботических мутаций FV (Лейден), мутация в гене протромбина (G20210A), в гене МТГФР (C677T) среди здоровых и больных сосудистыми заболеваниями головного мозга, инфекционными заболеваниями у детей, опухолях легких в этническом и возрастном аспектах. Однако эти исследования не коснулись больных с травмой.

Течение травмы у больных с тромбофилиями зачастую сопровождается возникновением таких осложнений как венозный тромбоз различной локализации, тромбэмболия легочной артерии, синдром диссеминированного внутрисосудистого

свертывания крови, кровотечения. Травма является пусковым моментом для развития ферментного каскада системы гемостаза, и при этом у пациентов, страдающих тромбофилией, происходит срыв резервных возможностей организма, что неизбежно приводит к грубым патофизиологическим сдвигам [7].

Цель работы: изучить распределение протромботических мутаций в генах фактора V Лейден (G1691A), протромбина (G20210A) и метилентетрагид-рофолатредуктазы (C677T) у больных с тромбоэмболическими осложнениями при политравме.

Материалы и методы. В исследование включены 102 пациента с политравмой, проходивших лечение в ГУЗ «Городская клиническая больница №1». В исследование не включали пациентов, умерших в стационаре. Мужчины в исследуемой группе составили 69,5% (73 человека), а женщины – 30,5% (29 человек). Возраст пациентов колебался от 16 до 85 лет. Средний возраст составил 36±16 лет. Лица трудоспособного возраста составили 82,4%. Этническое распределение пациентов было следующим: русские – 86 пострадавших (61 мужчина, 27 женщин), буряты – 16 (14 мужчин, 2 женщины).

Все включенные в исследование пациенты в зависимости от развития тромботических осложнений были разделены на две группы: неосложненная (n=82) и осложненная (n=20) травма. Статистически значимых различий по степени тяжести между исследуемыми группами не выявлено. В группу осложнений вошли пациенты с тромбоэмболией легочной артерии, флеботромбозом и тромбофлебитом. Оценка тяжести повреждений осуществлялась по шкале Abbreviated Injury Scale (AIS) и Injury Severity Score (ISS). AIS является наиболее распространенной в мире системой балльной оценки тяжести повреждений. Все повреждения в зависимости от тяжести ранжированы на 5 уровней от легкой до критической. Но простое суммирование повреждений не в полной мере отражает тяжесть. Поэтому для прогнозирования исходов и выбора тактики лечения была предложена шкала ISS, это сумма квадратов 3 наиболее тяжелых повреждений.

Исследования проводились в НИИ молекулярной медицины Читинской государственной медицинской академии, клинико-диагностической лаборатории ГУЗ «Городская клиническая больница №1» в период с 2007 по 2011 гг.

В качестве материала исследования использована периферическая кровь больных. Образцы геномной ДНК выделяли из лейкоцитарной фракции. Определение частоты мутаций выполнено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием наборов реагентов фирмы ООО НПФ «ЛИТЕХ», Москва. Фрагменты ДНК визуализировали проходящем в ультрафиолетовом свете после окрашивания 2% агарозного геля бромистым этидием в концентрации 1 мкг/мл.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакетов программ Microsoft Office 2007, с определением статистической значимости различий при достигнутом уровне $p<0,05$. Для сравнения групп по качественному бинарному признаку применялся критерий $\chi 2$ (Пирсона). Для измерения силы и направленности связи применялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение. У пациентов с политравмой обнаружено 5 носителей (4,9%) гетерозиготной формы и 1 (0,9%) аномальной гомозиготы мутации V фактора Leiden, 4 носителей гетерозиготной мутации протромбина (G20210A) (3,9%), а также 41 человек с гетерозиготной формой полиморфизма МТГФР (C677T) (40,2%) и 10 человек с гомозиготной формой T/T гена МТГФР (C677T) (9,8%).

Таблица 1

Частота встречаемости протромботических мутаций у больных с политравмой

Полиморфизм	Генотип	Буряты (n=16)	Русские (n=86)	Исследуемая группа (n=102)
Фактор V Leiden	1691 (G/G)	15 (0,94)	81 (0,94)	96 (0,94)
	1691 (G/A)	1 (0,06)	4 (0,05)	5 (0,05)
	1691 (A/A)	0	1 (0,01)	1 (0,01)

Фактор II 20210 G/A	20210 (G/G) 20210 (G/A) 20210 (A/A)	15 (0,94) 1 (0,06) 0	83 (0,97) 3 (0,03) 0	98 (0,96) 4 (0,04) 0
MTHFR 677 C/T	677 (C/C) 677 (C/T) 677 (T/T)	9 (0,56) 5 (0,31) 2 (0,13)	42 (0,49) 36 (0,42) 8 (0,09)	51 (0,5) 41 (0,40) 10 (0,1)

В бурятской этнической группе частота полиморфизмов оказалась следующей: гетерозиготная форма мутации II и V факторов встретилась в одном случае (6,25%). Гетерозиготная форма полиморфизма МТГФР С677Т в 5 случаях (31,25%), а гомозиготная дважды (12,5%).

Мы проследили взаимосвязь тромботических осложнений при различных вариантах генотипа. Установлено, что у пациентов с осложнениями политравмы патологическая аллель А фактора V (Leiden) встречалась в 10% случаев, тогда как в неосложненной группе – только в 2% ($\chi2$ =6,48, p=0,0109). Среди них гетерозиготные носители GA выявлялись с частотой 0,1, а гомозиготные – 0,05.

Распределение генотипов F II было следующим: нормальная гомозигота в неосложненной группе – 81 (0,99), в группе с осложнениями – 17 (0,85); гетерозигота G/A выявлена у одного пациента (0,01) без осложнений и в 3 случаях (0,15) с тромботическими осложнениями, $\chi2$ = 4,937, p=0,026. Аллель А чаще выявлена во второй группе, $\chi2$ =7,94, p=0,0048.

Таблица 2

Частота генотипов в зависимости от тромботических осложнений

Показатель	Неосложненная (n=82)	Осложненная (n=20)	$\chi2$
Фактор V Leiden Генотип			
1691 G/G	79 (0,96)	17(0,85)	G/G к G/A 1,55 (p=0,2137)
1691 G/A	3 (0,04)	2 (0,10)	G/A к A/A 1,20 (p=0,2733)
1691 A/A	0	1 (0,05)	G/G к A/A 4,43 (p=0,0352)
Аллель			
1691 G	161 (0,98)	36 (0,90)	6,48 (p=0,0109)
1691 A	3 (0,02)	4 (0,10)	
Фактор II Генотип			
20210 G/G	81 (0,99)	17(0,85)	4,937 (p=0,026)
20210 G/A,	1 (0,01)	3 (0,15)	
Аллель			
20210 G	163 (0,99)	37 (0,93)	7,94 (p=0,0048)
20210 A	1 (0,01)	3 (0,07)	
MTHFR Генотип			
677 C/C	42 (0,51)	9 (0,45)	C/C к C/T 0,042 (p=0,838)
677 C/T	34 (0,42)	7 (0,35)	C/T к T/T 1,327 (p=0,249)
677 T/T	6 (0,07)	4 (0,20)	C/C к T/T 1,336 (p=0,248)
Аллель			
677 C	118 (0,72)	25 (0,63)	1,37 (p=0,2418)
677 T	46 (0,28)	15 (0,37)	

Не установлено статистически значимых различий в распространенности аллельных вариантов МТГФР среди этнических групп.

Обнаружено, что у больных с политравмой, у которых развивалась гиперкоагуляция, тромбоз глубоких вен конечностей и тромбоэмболия легочной артерии, аномальная аллель А гена фактора V (Лейден) 1691 встречалась чаще. Мы выявили, что риск развития тромбоза повышается у носителей генотипа А/А. Известно, что данная мутация FVL сопровождается снижением чувствительности плазменного фактора в активированному протеину С (APC) и следовательно к гиперкоагуляции [2, 3, 4, 5]. У носителей гетерозиготного и гомозиготного полиморфизма протромбина G20210A повышен биосинтез профермента, что при активации F II вызывает высокую тромбинемию, ведущую к усилению свертывания крови. У наблюдаемых пациентов обеих групп выявлялась одинаково высокая частота носительства аллели Т полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы. Аномальная молекула МТГФР отличается термолабильностью и сказывается на процессах фолатного цикла. При этом повышается уровень гомоцистеина в крови и снижается атромбогенная функция сосудистой стенки. Однако мы не выявили разницы в проявлении осложнений. Это свидетельствует, что аллель Т гена МТГФР не вносит существенного вклада в развитие осложнений при политравме.

Указанные мутации формируют генетическую готовность к гиперкоагуляции – первичную тромбофилию. Травма и длительная иммобилизация является пусковым фактором развития вторичных коагуляционных нарушений и одновременно способствуют развитию тромботических сложнений.

Выводы:

1. Протромботические мутации FVL (G1691A), протромбина (G20210A) являются фактором риска тромботических осложнений у больных политравмой.
2. Наиболее высокий риск развития тромботических осложнений при политравме обусловлен мутацией в гене протромбина (G20210A). Носительство аллели Т гена МТГФР (C677T) не повышает риск развития гемокоагуляционных осложнений.

Литература:

1. Агаджанян В.В. Политравма. Неотложная помощь и транспортировка / В.В.Агаджанян. – Новосибирск: Наука, 2008. – 320 с.
2. Березовский Д.П. Молекулярно-генетические основы тромбофилий. / Д.П. Березовский, В.В. Внуков, И.В. Корниенко // Гематология и трансфузиология – 2008 - Т. 53 № 6. – С. 36-41.
3. Дальбек Б. Лабораторная диагностика факторов генетического риска развития тромбоза // Вестник РАМН. – 1997. – №1. –С.23-27.
4. Полиморфизм генов FII, TF, FV и MTHFR у больных с летальным исходом гриппа A/H1N1 в Забайкальском крае / А.А. Петров, Ю.А. Витковский, Н.Н. Чарторижская, Н.Н. Страмбовская, О.С. Петрова // Молекулярная медицина. – 2012. - № 2. – С. 46–49.
5. Влияние генетического полиморфизма D-1208I на экспрессию тканевого фактора / А.А. Петров, А.В. Сепп, О.С. Петрова, Н.Н. Чарторижская, Н.Н. Страмбовская, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2012. – № 2. – С. 33–36. – Режим доступа: http://medacadem.chita.ru/zmv (2 ноября 2012).
6. Соколов В.А. Множественные и сочетанные травмы. / В.А.Соколов. – М. ГЭОТАР- Медиа, 2006. – 512 с.
7. Терещенко С.Н. Тромбоэмболия легочной артерии: руководство / С.Н. Терещенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 96 с.