

Наследственные формы тромбофилии у больных с венозным тромбоэмболизмом

Медицинский факультет Санкт-Петербургского государственного университета
e-mail: muraya@mail.ru

Реферат

Изучение частоты выявления основных протромботических генотипов у больных с венозным тромбоэмболизмом (ВТЭ) в Северо-Западном регионе и оценка влияния отдельных форм генетической предрасположенности к тромбообразованию на характер течения тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА).

Обследованы 165 больных с ТЭЛА (16 — с хронической тромбоэмболической легочной гипертензией, 149 — с острой ТЭЛА: 15 — с массивной, 134 — с немассивной). Путем анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ПЦР-продукта определяли мутации 1691 G→A в гене фактора V (FV Leiden), 20210 G→A в гене протромбина, полиморфизм 677 C→T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR, -455 G→A в гене фактора I, PIA1/A2 в гене GP IIIa рецепторов тромбоцитов, -675 4G/5G в гене ингибитора активатора плазминогена PAI-1. Установлено, что 96,0 % больных с острой ТЭЛА являются носителями генетически опосредованных форм тромбофилии. Лидирующим по частоте выявления оказался полиморфизм 4G/5G в гене ингибитора активатора плазминогена 1 типа PAI-1 (зарегистрирован у 79,2 % больных). Склонность к повышенному тромбообразованию лишь у 17,4 % пациентов сопряжена с носительством отдельной мутации, в остальных случаях имеет место сочетание двух и более генетических факторов риска. При обследовании больных с массивной ТЭЛА в 26,7 % протромботический генотип не был обнаружен. При сравнении групп больных с острой ТЭЛА и хронической тромбоэмболической легочной гипертензией (ХТЭЛГ) различия были зафиксированы в частоте выявления полиморфизма -455 G→A в гене фактора I (45,0 и 12,5 % соответственно) и фактора V Лейден (12,1 % в первой группе и отсутствие во второй).

Высокая частота выявления протромботических генотипов у больных с ТЭЛА подтверждает значимость наследственных форм тромбофилии в генезе ВТЭ. Больные с разными клиническими вариантами ТЭЛА имеют отличия в структуре генетических факторов риска тромбообразования.

Ключевые слова: венозный тромбоэмболизм, тромбоэмболия легочной артерии, наследственная тромбофилия, факторы риска.

Myalenska E. V., Yablonskii P. K., Veselkin N. P., Fedorova T. A.

Inherited forms of thrombophilia in patients with venous thromboembolism

Saint-Petersburg State University, Medical faculty
e-mail: muraya@mail.ru

Abstract

To study periodicity detection of main prothrombotic genotypes in patients with venous thromboembolism (VTE) in the North-West region and impact assessment of special forms of thrombogenesis genetic disposition at the course of the pulmonary embolism (PE).

There examined 165 patients suffered from PE (16 — with chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH), 149 — with acute PE: 15 — massive, 134 — nonmassive). Mutations 1691 G→A in the gene of coagulation factor V (FV Leiden), 20210 G→A in the gene of coagulation factor II and polymorphisms 677 C→T in the gene of methylentetrahydrofolate reductase MTHFR, -455 G→A in the gene of coagulation factor I, PIA1/A2 in the GP IIIa platelet receptors gene, -675 4G/5G in the gene of plasminogen activator inhibitor PAI-1 were studied with polymerase chain reaction and restriction analysis of DNA amplified sites.

There established that 96,0 % patients with acute PE have genetic-determined forms of thrombophilia. Polymorphism 4G/5G in the gene of PAI-1 is ahead of periodicity detection (79,2%). Only 17,4 % of patients have tendency to higher thrombogenesis associated with carriage of several mutations otherwise there is the combination of more than one genetic risk factors. In 26,7 % patients suffered from massive PE prothrombotic state were not detected. By comparison groups of patients with acute PE and CTEPH there noted differences in periodicity detection of polymorphism -455 G→A in the gene of coagulation factor I (45,0 and 12,5 %) and FV Leiden (12,1 % in the first group vs nothing in the second).

High periodicity detection of prothrombotic genotypes in patients with PE confirms inherited forms of thrombophilia importance in the VTE genesis. Patients with different variants of PE have disparity in the structure of VTE genetic risk factors.

Keywords: venous thromboembolism, pulmonary embolism, inherited thrombophilia, risk factors.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Введение

Под термином «венозный тромбоз/эмболизм» (ВТЭ) в настоящее время понимают полиэтиологическое заболевание, характеризующееся высоким уровнем летальности, в основе которого лежит образование тромбов в венозной системе и риск последующего отрыва части тромба и эмболизации сосудов малого круга кровообращения. В клинической практике ВТЭ проявляется тромбозами глубоких вен (ТГВ) и/или тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА). Заболеваемость ВТЭ в мире составляет 1–2 % [12]. В России ежегодно регистрируется более полумиллиона случаев ТЭЛА [10].

Такие состояния, как гипертоническая болезнь, диабет, ожирение, некоторые аутоиммунные и гематологические болезни, хирургическое вмешательство, травма, беременность и роды и т. д., принято относить к приобретенным факторам риска. Но с их помощью могут быть объяснены менее чем 50 % всех случаев ВТЭ [5]. Среди факторов риска ВТЭ особое значение придается тромбофилии, т. е. состоянию повышенной склонности к тромбообразованию, связанному с нарушением баланса между свертывающей и противосвертывающей системами крови. К числу врожденных факторов риска (генетически детерминированных форм тромбофилии) относятся следующие варианты: мутация фактора V Лейден, полиморфизм гена протромбина G20210A, дефицит антитромбина III, дефицит протеина C, дефицит протеина S, полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы C677T, полиморфизм –675 4G/5G гена ингибитора активатора плазминогена PAI-I, дисфибриногенемия, ассоциированная с полиморфизмом гена фибриногена –455 G/A и некоторые другие. Несмотря на то, что изучению генетических основ тромбофилии посвящены многочисленные отечественные и зарубежные исследования, на сегодня нет единого мнения в определении значимости отдельных видов полиморфизмов в развитии ВТЭ. По данным современной литературы, частота генетических форм склонности к тромбообразованию у больных ВТЭ варьирует от 8 до 96,3 % [3, 7, 8, 11].

Цель исследования

Изучить частоту выявления основных протромботических генотипов у больных с ВТЭ в Северо-Западном регионе и оценить влияние отдельных форм генетической предрасположенности к тромбообразованию на характер течения тромбоэмболии легочной артерии.

Материал и методы исследования

Произведено обследование 165 больных (81 мужчины и 84 женщин) с тромбоэмболией легочной артерии, наблюдавшихся в период с 2004 по 2011 гг. Диагноз подтверждался по данным одного или нескольких следующих методов исследования: перфузионная сцинтиграфия легких, СКТ-ангиография органов грудной клетки, ангиопульмонографии, ЭХО-кардиография. Хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия (ХТЭЛГ) выявлялась у 16 человек (7 мужчин и 9 женщин), острая тромбоэмболия легочной артерии — у 149 человек (74 мужчины и 75 женщин) в возрасте от 24 до 77 лет (средний возраст — 51 год). Массивная ТЭЛА диагностировалась у 15 человек (7 мужчин и 8 женщин), немассивная — у 134 человек (67 мужчин и 67 женщин).

Всем больным производилось молекулярно-генетическое исследование для выявления мутации 1691 G→A в гене фактора V (FV Leiden), 20210 G→A в гене протромбина, полиморфизма 677 C→T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR, –455 G→A в гене фактора I, PIA1/A2 в гене GP IIIa рецепторов тромбоцитов, –675 4G/5G в гене ингибитора активатора плазминогена PAI-1. Поскольку указанные аллельные варианты обусловлены точечными нуклеотидными заменами, их идентификацию осуществляли путем анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ПЦР-продукта (ПЦР-ПДРФ). Материалом для исследования служили образцы геномной ДНК, полученной из периферической крови больных.

Статистическая обработка данных производилась с использованием программы R-2.13.1. Достоверность полученных результатов подтверждалась при использовании точного метода Фишера.

Частота выявления генетически обусловленной тромбофилии у больных с острой массивной и немассивной ТЭЛА

Таблица 1

Полиморфизм	Больные с массивной ТЭЛА (%)	Больные с немассивной ТЭЛА (%)	Уровень статистической значимости различий, p
PAI-I -675 4G/5G	60,0	81,3	0,086
MTHFR 77C→T	40,0	56,7	0,277
Фактор I -455 G→A	26,7	47,0	0,174
Gr IIIa PIA1/A2	20,0	29,1	0,558
Фактор V 1691 G→A	6,7	12,7	0,696
Фактор II 20210 G→A	6,7	3,7	0,477
Всего	73,3	98,5	0,001

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе результатов генетического обследования больных с острой ТЭЛА установлено, что носителями нормального генотипа являлись лишь 4,0 % пациентов. У 96,0 % обследованных выявлены генетически опосредованные формы тромбофилии. При этом мутантный аллель 20210А гена протромбина был выявлен у 4,0 % обследованных и только в гетерозиготном варианте генотипа — 20210 (G/A). Мутация в гене фактора V обнаружена у 12,1 % больных (10,7 % — гетерозиготные носители, 1,4 % — гомозиготные). Чуть меньше трети пациентов с острой ТЭЛА (28,2 %) были носителями полиморфизма PAI1/A2 в гене GP IIIa рецепторов тромбоцитов. У 24,2 % больных указанный полиморфизм обнаружен в гетерозиготном варианте, у 4,0 % — в гомозиготном. Протромботический полиморфизм — 455 G→A в гене фактора I выявлен у 34,9 % больных в гетерозиготном, а у 10,1 % — в гомозиготном состоянии (всего носителями оказались 45,0 %). Полиморфизм в гене метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677→T выявлен у 55,0 % обследованных пациентов с острой ТЭЛА, при этом гомозиготами 677 (T/T) оказались 12,7 %, а носителями гетерозиготного генотипа 677 (T/C) — 42,3 %. Лидирующим по частоте выявления оказался полиморфизм 4G/5G в гене ингибитора активатора плазминогена 1 типа PAI-1. Ассоциированный с ним вариант тромбофилии диагностирован у 79,2 % больных: у 46,3 % в гетерозиготном, у 32,9 % в гомозиготном состоянии.

Среди пациентов, перенесших острую ТЭЛА, носителями протромботического генотипа по одному из исследуемых факторов были 17,4 %. Сочетание двух факторов выявлялось у 40,3 %. Склонность к тромбообразованию, обусловленная присутствием трех и более генетических дефектов, зарегистрирована у 38,3 %.

Больные с острой ТЭЛА были разделены на две группы: с массивной (15 человек) и немассивной (134 человека) ТЭЛА (табл. 1). Статистически достоверным различием в них оказалась частота выявления генетически обусловленной тромбофилии. В первой группе носителями протромботических генотипов оказались 73,3 % больных, во второй — 98,5 % ($p < 0,01$). При определении частот выявления отдельных мутаций и полиморфизмов достоверных различий выявлено не было. Отмечено, что несколько чаще во второй группе регистрировались полиморфизмы 4G/5G в гене PAI-I (81,3 % при немассивной ТЭЛА против 60,0 % при массивной), -455 G→A в

гене фибриногена (47,0 и 26,7 % соответственно), Лейденская мутация фактора V (12,7 и 6,7 % соответственно). Мутация 20210 G→A гена протромбина у больных с немассивной ТЭЛА регистрировалась реже, чем у больных с массивной ТЭЛА (3,7 и 6,7 % соответственно). Указанные различия не являются статистически достоверными и выявляются лишь на уровне статистической тенденции ($p > 0,05$).

При анализе количества мутаций/полиморфизмов, являющихся фактором риска тромбообразования, в обеих группах отмечена тенденция к более частому их сочетанию. Изолированное носительство одного из генетических факторов риска тромбообразования обнаружено лишь у 17,2 % больных с немассивным вариантом острой ТЭЛА и у 20,0 % больных с клинической картиной массивной ТЭЛА (табл. 2).

Больные с хронической тромбоэмболической легочной гипертензией имели сходное с больными с острой ТЭЛА распределение частот выявления тромбофилии. Значимое отличие зарегистрировано в частоте определения полиморфизма -455 G→A в гене фактора I. При ХТЭЛГ этот показатель составил 12,5 %, в то время как при острой ТЭЛА — 45,0 % ($p = 0,01$). Обращает на себя внимание факт отсутствия больных с нормальным генотипом при ХТЭЛГ.

Полученные в результате предпринятого нами исследования данные свидетельствуют, что тромбофилические состояния, имеющие в своей основе генетические причины, выявляются у больных с тромбоэмболией легочной артерии чаще, чем в исследованиях других авторов: в 96,0 % случаев острой ТЭЛА и в 100 % случаев хронической тромбоэмболической легочной гипертензии. При этом вклад генетических форм тромбофилии в развитие ВТЭ, вероятно, в большей степени значим при немассивной ТЭЛА, так как при варианте массивной ТЭЛА в 26,7 % случаев генетические предикторы не выявляются. Различия затрагивают частоты выявления полиморфизмов 4G/5G в гене PAI-1, -455 G→A в гене фибриногена и мутации 1691 G→A фактора V.

Более чем у 80,0 % больных с острой ТЭЛА склонность к повышенному тромбообразованию определяется не наличием отдельной мутации, а одновременным носительством сочетания двух или более генетических факторов риска.

Мутация фактора V Лейден и полиморфизм G20210A в гене протромбина традиционно признаются наиболее значимыми формами ген-ассоциированной тромбофилии. Гетерозиготное носительство мутации фактора V Лейден повышает

Частота выявления изолированных и сочетанных протромботических генотипов у больных с острой ТЭЛА

Таблица 2

Количество генетических дефектов	Больные с массивной ТЭЛА (%)	Больные с немассивной ТЭЛА (%)
1	20,0	17,2
2	26,7	41,8
3 и более	26,7	39,6

Распределение протромботических полиморфизмов
ДНК у больных с острой ТЭЛА и ХТЭЛГ

Таблица 3

Полиморфизм	Острая ТЭЛА			ХТЭЛГ		
	гетерозиготы (%)	гомозиготы (%)	всего (%)	гетерозиготы (%)	гомозиготы (%)	всего (%)
PAI-I -675 4G/5G	46,3	32,9	79,2	56,3	31,2	87,5
MTNFR 677C→T	42,3	12,7	55,0	37,5	12,5	50,0
Фактор I -455 G→A	34,9	10,1	45,0	12,5	0	12,5
Gr IIIa PIA1/A2	24,2	4,0	28,2	25,0	0	25,0
Фактор V 1691 G→A	10,7	1,4	12,1	0	0	0
Фактор II 20210 G→A	4,0	0	4,0	6,3	0	6,3
Всего			96,0			100

вероятность тромбоза в 5–10 раз, а гомозиготное — в 50–80 раз [3]. В исследованиях российских ученых [1, 4] носителями аденина в положении 1691 в популяциях Центрального и Северо-Западного регионов России оказались 3,6 и 3,2 %, а среди больных с ТГВ — 19,6 и 19,1 % соответственно. Полученные нами данные о более редком выявлении указанной мутации у больных с ТЭЛА (12,1 % при острой ТЭЛА и отсутствие носителей данного вида APC-резистентности при ХТЭЛГ) согласуются с данными литературы о том, что носительство мутации фактора V Лейден является фактором риска развития венозных тромбозов и посттромботической болезни, но не ТЭЛА [4].

Носительство аллеля 20210A гена протромбина повышает уровень последнего в крови на 30 %, риск венозных тромбозов — в 3–6 раз [9], а, по данным Алиева М. А., риск развития ВТЭ возрастает при таком состоянии в 10 раз [2]. Изолированное носительство аллеля 20210A фактора II связывают с неблагоприятным течением ТЭЛА: рецидивы ТГВ и ТЭЛА, тромбозы кава-фильтров [8]. Повышение уровня протромбина при G20210A считается доказанным фактором риска ТГВ. Однако остается спорным вопрос о значимости данного дефекта в развитии ТЭЛА. В многоцентровом ретроспективном исследовании, проведенном в Италии на большой выборке больных, указанный полиморфизм выявлялся с сопоставимой частотой при изолированном тромбозе глубоких вен и при тромбозах, осложненных ТЭЛА (14,2 % и 12,6 % соответственно) [13]. В Центральном регионе России были получены сходные результаты [1]. Исследование, проведенное в Северо-Западном регионе России Капустиным С. И. и соавт. [4, 5], позволило авторам признать носительство варианта протромбина с рассматриваемым полиморфизмом существенным фактором риска ТЭЛА у больных с

тромбофлебитом и/или тромбозом поверхностных вен и/или тромбоза глубоких вен (ТГВ) нижних конечностей. Определялся полиморфизм у 10,3 % больных с ТЭЛА, что превышает показатель, зарегистрированный в нашем исследовании (4,0 % при острой ТЭЛА и 6,3 % при ХТЭЛГ).

Не до конца изучен вопрос о значении полиморфизма в гене метилентетрагидрофолатредуктазы MTNFR C677→T в развитии ВТЭ. По сведениям российского эпидемиологического исследования, проведенного в 2006 г. [1], у пациентов с ТГВ носительство аллеля 677T повышает риск развития ТЭЛА в 3,1 раза. В то же время обнаружить связь между этим генетическим дефектом и возникновением самих ТГВ исследователям не удалось. Обнаруженная нами высокая частота выявления носителей указанного полиморфизма среди больных с ТЭЛА (до 55,0 %) может косвенно указывать на значимость данного протромботического состояния в генезе ВТЭ.

Лидирующим по частоте выявления полиморфизмом, повышающим риск тромбообразования при ТЭЛА, по нашим данным, является 4G/5G в гене ингибитора активатора плазминогена 1 типа (79,2 % при острой ТЭЛА и 87,5 % при ХТЭЛГ) (табл. 3). Данный вид тромбофилии сопряжен с повышением активности PAI-1 и повышением его уровня в плазме крови (при варианте генотипа –675 4G/4G) на 25 % [6]. Следствием этого является чрезмерное подавление активаторного действия урокиназного и тканевого активаторов плазминогена, что приводит к снижению фибринолиза как в просвете кровеносных сосудов, так и на поверхности клеток. В пользу высокой значимости данного полиморфизма в развитии ТЭЛА свидетельствует тот факт, что обнаружение генотипа 4G/4G у лиц с тромбозами глубоких вен нижних конечностей и/или тромбофлебитом повышает риск развития ТЭЛА в 2,6 раза [8].

Литература

1. Авдонин, П. В. Корреляция наличия мутации C677T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы у больных из Центрального региона России с венозными тромбозами и повышенный риск тромбоэмболии легочных артерий / П. В. Авдонин [и др.] // *Терапевт. арх.* — 2006. — № 6. — С. 70–76.
2. Алиев, М. А. Венозные тромбоэмболические осложнения в хирургии: роль генетических нарушений / М. А. Алиев [и др.] // *Анестезиол. и реаниматол.* — 2008. — № 1. — С. 71–73.
3. Бокарев, И. Н. Венозный тромбоэмболизм и тромбоэмболия легочной артерии / И. Н. Бокарев, Л. В. Попова. — М.: Мед. информ. аг-во, 2005. — 208 с.
4. Капустин, С. И. Генетические детерминанты наследственной тромбофилии в патогенезе венозного тромбоза / С. И. Капустин [и др.] // *Терапевт. арх.* — 2003. — № 10. — С. 78–80.
5. Капустин, С. И. Наследственная тромбофилия — актуальная проблема современной медицины / С. И. Капустин [и др.] // *Мед. академ. журн.* — 2006. — Т. 6. — № 1. — С. 83–191.
6. Макацария, А. Д. Патогенез и профилактика тромбоэмболических осложнений в акушерской практике / А. Д. Макацария [и др.] // *Вестник РАМН.* — 2008. — № 11. — С. 11–18.
7. Мяленка, Е. В. Исследование генетически детерминированных вариантов тромбофилии у больных с острой тромбоэмболией легочной артерии / Е. В. Мяленка [и др.] // *Вестник гематол.* — 2011. — Т. VII. — № 2. — С. 59.
8. Никитин, А. В. Тромбоэмболия легочной артерии и тромбофилии: оптимизация диагностики и лечения / А. В. Никитин [и др.] // *Клин. мед.* — 2006. — № 6. — С. 21–24.
9. Прядко, С. И. Генетический полиморфизм факторов свертывания крови у пациентов с венозным тромбозом и варикозной болезнью / С. И. Прядко [и др.] // *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия.* — 2010. — № 1. — С. 49–53.
10. Ханевич, М. Д. Тромбоэмболия малого круга кровообращения: Диагностика, лечение, эндоваскулярная хирургия, профилактика / М. Д. Ханевич [и др.]. — М.: МедЭкспертПресс, 2003. — 232 с.
11. Яковлев, В. Б. Тромбоэмболия легочной артерии: патофизиология, диагностика, лечебная тактика / В. Б. Яковлев, М. В. Яковлева // *Флебология.* — 2005. — Т. 7. — № 6.
12. Goodnight, S. H. Disorders of hemostasis and thrombosis: a clinical guide / S. H. Goodnight, W. E. Hathaway. — 2nd ed. — N.-Y.: McGraw-Hill Professional, 2001. — 622 p.
13. Margaglione, M. Inherited Thrombophilic Risk Factors and Venous Thromboembolism. Distinct Role in Peripheral Deep Venous Thrombosis and Pulmonary Embolism / M. Margaglione [et al] // *CHEST.* — 2000. — Vol. 118. — № 5. — P. 1405–1411.