РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА В ДИАГНОСТИКЕ ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ НЕБАКТЕРИАЛЬНОМ ТРОМБОТИЧЕСКОМ ЭНДОКАРДИТЕ

[Н. Н. Чапаева¹, Ю. С. Бахарева², Ю. В. Серяпина¹, А. Б. Терехова³, А. А. Демин¹](#)

¹ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)

²ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 34» (г. Новосибирск)

³ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН (г. Новосибирск)

Приведены результаты пилотного исследования роли полиморфизмов генов плазменного, тромбоцитарного гемостаза и фолатного цикла на развитие тромбоэмболических осложнений у 25-ти пациентов с неинфекционным и инфекционным эндокардитом. Среди пациентов с вегетациями на клапанах сердца выявлено большое число носителей полиморфных вариантов генов гемостаза. Носительство мутации С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы достоверно ($p = 0,0295$) повышает риск развития небактериального тромботического эндокардита по сравнению с инфекционным эндокардитом.

Ключевые слова: небактериальный тромботический эндокардит, инфекционный эндокардит, гены системы гемостаза.

Чапаева Наталья Николаевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии и клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 355-39-24, e-mail: n.chapaeva@mail.ru

Бахарева Юлия Сергеевна — врач центра ОПН ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 34», рабочий телефон: 8 (383) 355-34-88, e-mail: 3750059@inbox.ru

Серяпина Юлия Валерьевна — студент ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: a_sv@ngs.ru

Терехова Анна Борисовна — клинический ординатор ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН, рабочий телефон: 8 (383) 332-36-56, e-mail: n-sun@mail.ru

Демин Александр Аристархович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии и клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 266-06-08, e-mail: alexdemin2006@yandex.ru

Введение. Врожденная тромбофилия возникает как следствие молекулярных дефектов в системе ингибирования свертывания крови и, реже, в самом процессе коагуляции [6, 7]. Тромботические осложнения у пациентов с вегетациями на клапанном аппарате сердца могут быть связаны с первичными нарушениями в антикоагуляционном звене гемостаза, в частности, с количественной недостаточностью антитромбина или биосинтезом его неактивной формы в результате мутаций, с последующим нарушением продукции протеинов С и S. В свою очередь, гетерозиготная недостаточность протеина С проявляется у взрослых пациентов повышенным риском венозных тромбозов. Резистентность к активированному протеину С достигает 5 % в общей популяции и имеет место приблизительно у 40% пациентов, страдающих тромбозами [3].

Важно отметить, что генетический полиморфизм в системе гемостаза не всегда имеет клинические проявления, в то же время продемонстрирована связь эпизодов венозного тромбоза с носительством врожденных факторов тромбогенного риска [1, 4, 5]. Отмечаемый в последние годы рост числа тромбофилических состояний и открытие новых видов тромбофилий свидетельствуют о высокой значимости комплексного изучения роли гиперкоагуляционных нарушений в системе гемостаза у пациентов с неинфекционным тромботическим эндокардитом [2].

Цель исследования: изучение генетического полиморфизма в системе гемостаза как предиктора формирования вегетаций на клапанах сердца и тромбоэмболических осложнений при неинфекционном эндокардите.

Материалы и методы. Исследовано 25 пациентов (12 мужчин и 13 женщин в возрасте от 18 до 62 лет ($40,3 \pm 22,1$ года) с вегетациями на клапанах сердца, подтвержденными чреспищеводной эхокардиографией (ЧП ЭхоКГ), находившихся на лечении в отделениях кардиологического профиля МБУЗ НСО ГKB № 34 г. Новосибирска. Критерием исключения из исследования была беременность.

Первую группу составили 14 человек с небактериальным тромботическим эндокардитом (НБТЭ), в том числе у 5-ти пациентов диагностирован антифосфолипидный синдром, у 2-х — врожденный порок сердца. Вторая группа — 11 пациентов с инфекционным эндокардитом (ИЭ) (лихорадкой, прогрессирующей недостаточностью кровообращения, выделением гемокультуры в результате бактериологического исследования крови), из них 7 пациентов — с первичным ИЭ и 4 — со вторичным.

Исследование гемостазиограммы и генотипирование больных с использованием венозной крови проведено в следующих лабораториях: в Центре профилактики тромбозов, ООО Медицинском центре «Лаборатория ДНК-Диагностики», «ИНВИТРО» (Новосибирск) и лаборатории генной диагностики Центра новых медицинских технологий ИХБФМ СО РАМН. Изучены 13 полиморфизмов генов системы гемостаза: фибриногена (FGB 455 G/A), протромбина (FII 20210 G/A), фактора FV Лейден (1691 G/A), ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-I 675 4G/5G), метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR 677 C/T), метионинсинтазы (MTR 2756 A/G), метионинсинтаза-редуктазы (MTRR 66 A/G), гликопротеина IIb/IIIa (ITGB3 1565 T/C); гликопротеина Ia (интегрин $\alpha 2$)

(GPIa C807T), метилентетрагидрофолатдегидрогеназы (MTHFD G195A), коагуляционного фактора F7 (10976 G/A), цистатион-β-синтазы (CBS 844 D/I) и фактора FXII (163 G/T).

Частоту встречаемости аллелей и генотипов определяли прямым подсчетом. Оценку отклонения распределений генотипов изученных полиморфизмов ДНК от канонического распределения Харди-Вайнберга и анализ ассоциативных связей внутри генотипических сочетаний, а также оценку степени различий в частоте встречаемости аллелей, генотипов и межгенных комбинаций между группами проводили с помощью точного критерия Фишера. Расчет показателя отношения шансов (OR) с 95 % доверительным интервалом (CI) и *p*-значения проводили с помощью онлайн-калькулятора, доступного по ссылке <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

Исследование выполнено в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека».

Результаты исследования. Мутации в генах системы гемостаза были выявлены у 16-ти из 25-ти пациентов (64 %), из них у 8-ми человек — одиночные мутации: у 3-х пациентов — в гене ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 5G/4G), в 2-х случаях — в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR 677 C/T) и по одному случаю — в генах метионинсинтаза-редуктазы (MTRR 66A/G), гликопротеина Ia (интегрин α2) (GPIa C807T) и тромбоцитарного рецептора фибриногена (GPIIb/IIIa 1a/1b).

Сочетанные мутации в генах системы гемостаза выявлены у остальных 8 пациентов. Из них в 2-х случаях установлено сочетание мутаций в генах метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR (677 C/T), ингибитора активатора плазминогена PAI-1 5G/4G и тромбоцитарного рецептора фибриногена (GPIIb/IIIa 1a/1b); еще в 2-х случаях — в генах метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR (677 C/T) и ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 5G/4G).

У 4-х пациентов выявлены следующие комбинации полиморфных вариантов:

- ген F1 фибриногена (FGB 455 G/A) + ген ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 5G/4G) + F VII (10976 G/A);
- ген ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 4G/5G) + цистатион-β-синтазы (CBS 844 D/I) + ген метионинсинтаза-редуктазы (MTRR 66 A/G);
- ген F1 фибриногена (FGB 455 G/A) + ген метионинсинтаза-редуктазы (MTRR 66 A/G) + ген гликопротеина Ia (интегрин α2) (ITGA 2 (807 C/T) + ген FXII (163 G/T);
- ген F7 (10976 G/A) + ген FXII (163 G/T) + ген гликопротеина Ia (ITGA2 C807T) + ген гликопротеина IIb/IIIa (ITGB3 1565 T/C) + ген ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 5G/4G) + ген метилентетрагидрофолатдегидрогеназы (MTHFD G195A).

В результате статистической обработки данных генетического исследования, распределение частот встречаемости мутантных аллелей исследуемых генов соответствует равновесию Харди-Вайнберга.

В обеих группах — при неинфекционном тромботическом эндокардите и бактериальном эндокардите — не найдено ни одного случая носительства мутаций в генах FII (G20210A) и FV Лейден в гомозиготном или гетерозиготном варианте. В группе с НБТЭ выявлено несколько большее число носителей мутантного аллеля гена тканевого активатора

плазминогена (PAI-I-675 5G/4G) в гетерозиготном варианте — 42,8 %, тогда как в группе с ИЭ носительство мутации обнаружено у 18,2 % пациентов, однако данные статистически не значимы. В группе пациентов с инфекционным эндокардитом выявлен один случай носительства мутантного аллеля гена фибриногена FGB (G455A) в гетерозиготном варианте ($p > 0,05$).

Важно отметить, что в группе с НБТЭ выявлена достоверно большая частота встречаемости мутантного аллеля гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR C677T), $OR=10,00$, $p=0,0295$, что свидетельствует о статистически значимой ассоциации мутации в гене (MTHFR C677T) с возникновением небактериального тромботического эндокардита.

По данным клинического исследования, у всех 8-ми пациентов с сочетанными мутациями в системе гемостаза наблюдались тромбоэмболические осложнения: острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) — у 6-ти из 8-ми пациентов (75 %), тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) — у 2-х (25 %), острый инфаркт миокарда — у 5-ти (62,5 %) и тромбоз слухового нерва — у одной пациентки.

Обсуждение. Несмотря на небольшое количество пациентов, полученные результаты изучения ДНК-полиморфизмов генов системы гемостаза (плазменного, тромбоцитарного гемостаза и фолатного цикла) свидетельствуют о наличии тромбогенного риска с высокой вероятностью тромбоэмболических осложнений. Нами показано достоверное увеличение риска небактериального тромботического эндокардита для носителей мутантного аллеля гена метилентетрагидрофолатредуктазы, согласующееся с данными о том, что мутации в генах системы фолатного цикла приводят к гипергомоцистеинемии — значимому фактору риска тромбозов, в том числе, артериальных [6]. Кроме того, в группе с НБТЭ выявлено 3-кратное по сравнению с группой ИЭ преобладание носителей полиморфизма гена тканевого активатора плазминогена, что позволяет рассматривать данный полиморфизм как потенциальный фактор тромбогенного риска с необходимостью продолжения исследования.

Отмечено отсутствие носителей мутантных аллелей генов протромбина и FV Лейден в обеих группах, что является предварительным заключением об отсутствии влияния этих полиморфизмов на риск тромбообразования при эндокардите различного генеза. Учитывая значительную частоту тромботических осложнений, приводящих к высокой летальности пациентов, изучение генетических полиморфизмов системы гемостаза является перспективным направлением. Внедрение в практику генетического тестирования позволяет сформировать группы риска среди пациентов, разрабатывать и внедрять индивидуальные схемы профилактики и лечения.

Заключение. Наличие мутаций в системе гемостаза обуславливает развитие синдрома гиперкоагуляции, формирование вегетаций на клапанном аппарате сердца и развитие тромбоэмболических осложнений. Носительство мутации C677T в гене метилентетрагидрофолатредуктазы достоверно ($p = 0,0295$) повышает риск развития небактериального тромботического эндокардита по сравнению с инфекционным. В целом, среди пациентов с эндокардитом различной этиологии выявлено большое число носителей полиморфных вариантов генов гемостаза. Генетические исследования пациентов из групп риска введены в стандарты диагностики и лечения во всем мире, поскольку являются эффективным способом предотвращения осложнений. Для выявления значимых генетических предикторов тромбоэмболических осложнений при эндокардите необходимо продолжение исследования с увеличением объема выборки.

Список литературы

1. Залуцкий И. В. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза венозных тромбозов и тромбоэмболии легочной артерии // И. В. Залуцкий, А. А. Машевский, Р. М. Смолякова // Онкологический журн. — 2007. — № 2 (2). — С. 1–18.
2. Генетическая предрасположенность к венозному тромбозу : роль полиморфизмов компонентов плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза / С. И. Капустин, В. М. Шмелева, А. М. Паншина [и др.] // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. — 2004. — Т. 11, № 3. — С. 10–15.
3. Роль генетических полиморфизмов в возникновении венозных тромбоэмболических осложнений [Электронный ресурс] / А. С. Петриков, Я. Н. Шойхет, В. И. Белых [и др.] // Медицина и образование в Сибири. — 2012. — № 4. — Режим доступа : http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=781
4. Флеботромбоз и врожденная тромбофилия / А. И. Шевела, К. С. Егоров, К. С. Севастьянова, Я. В. Новикова // Ангиология и сосудистая хирургия. — 2011. — № 5. — С. 95–99.
5. Pulmonary embolism and fatal stroke in a patient with severe factor XI deficiency after bariatric surgery / F. Boehlen, A. Casini, F. Pugin, P. de Moerloose // Blood. Coagul. Fibrinolysis. — 2013. — Vol. 24, N 3. — P. 347–350.
6. Fay W. P. Homocysteine and thrombosis : guilt by association? / W. P. Fay // Blood. — 2012. — Vol. 119, N 13. — P. 2977–2978.
7. Genetic risk factors for thrombosis in systemic lupus erythematosus / R. Kaiser, Y. Li, M. Chang [et al.] // J. Rheumatol. — 2012. — Vol. 39, N 8. — P. 1603–1610.

ROLE OF GENIC POLYMORPHISM OF HEMOSTASIS SYSTEM IN DIAGNOSTICS OF TROMBOEMBOLIC EPISODES AT ABACTERIAL THROMBOTIC ENDOCARDITIS

N. N. Chapayeva¹, Y. S. Bakhareva³, Y. V. Seryapina¹, A. B. Terekhova², A. A. Demin¹

¹*SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk c.)*

²*FSBE «Scientific Research Institute of therapy of the RAMS» (Novosibirsk c.)*

³*SBHE NR «City Clinical Hospital № 34» (Novosibirsk c.)*

Results of pilot research of role genic polymorphisms of plasma, platelet hemostasis and folate cycle on development of tromboembolic episodes at 25 patients with noninfectious and infectious endocarditis are presented. The large number of carriers of genic polymorphic options of hemostasis is revealed among patients with vegetations on valves of heart. The carriage of C677T mutation in methylenetetrahydrofolatereductase gene authentically ($p = 0,0295$) increases risk of development of abacterial thrombotic endocarditis in comparison with infectious endocarditis.

Keywords: abacterial thrombotic endocarditis, infectious endocarditis, genes of hemostasis system.

About authors:

Chapayeva Natalia Nikolaevna — doctor of medical sciences, professor of hospital therapy and clinical pharmacology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 355-39-24, e-mail: n.chapaeva@mail.ru

Bakhareva Yulia Sergeevna — doctor of NPU center at SBHE NR «City Clinical Hospital № 34», office phone: 8 (383) 355-34-88, e-mail: 3750059@inbox.ru

Seryapina Yulia Valeryevna — student at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: a_sv@ngs.ru

Terekhova Anna Borisovna — clinical intern at FSBE «Scientific Research Institute of therapy of the RAMS», office phone: 8 (383) 332-36-56, e-mail: n-sun@mail.ru

Demin Alexander Aristarkhovich — doctor of medical sciences, professor, head of hospital therapy and clinical pharmacology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 266-06-08, e-mail: alexdemin2006@yandex.ru

List of the Literature:

1. Zalutsky A. V. Molecular and genetic aspects in pathogenesis of venous clottages and thromboembolism of pulmonary Artery (arteries). A. V. Zalutsky, A. A. Mashevsky, R. M. Smolyakova // *Oncologic journ.* — 2007. — № 2 (2). — P. 1-18.
2. Genetic predisposition to venous clottage: role of polymorphisms of plasma components and platelet links of hemostasis / S. I. Kapustin, V. M. Shmeleva, A. M. Panshina [etc.] // *Scientific notes of SPbSMU n. a. acad. I. P. Pavlov.* — 2004 . — V. 11, № 3. — P. 10-15.
3. Role of genetic polymorphisms in emergence of venous thromboembolic episodes [electron resource] / A. S. Petrikov, Y. N. Shoykhet, V. I. Belykh [etc.] // *Medicine and education in Siberia.* — 2012. — № 4. — Access mode: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=781
4. Phlebothrombosis and congenital thrombophilia / A. I. Shevela, K. S. Egorov, K. S. Sevastyanova, Y. V. Novikova // *Angiology and vascular surgery.* — 2011. — № 5. — P. 95-99.
5. Pulmonary embolism and fatal stroke in a patient with severe factor XI deficiency after bariatric surgery / F. Boehlen, A. Casini, F. Pugin, P. de Moerloose // *Blood. Coagul. Fibrinolysis.* — 2013. — Vol. 24, N 3. — P. 347–350.
6. Fay W. P. Homocysteine and thrombosis : guilt by association? / W. P. Fay // *Blood.* — 2012. — Vol. 119, N 13. — P. 2977–2978.
7. Genetic risk factors for thrombosis in systemic lupus erythematosus / R. Kaiser, Y. Li, M. Chang [et al.] // *J. Rheumatol.* — 2012. — Vol. 39, N 8. — P. 1603–1610.