

© Д. Р. Гамыркина, Н. А. Воробьева, 2016 г.
УДК 615.765:616.153.962.4

Д. Р. Гамыркина, Н. А. Воробьева

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ НА УРОВЕНЬ ФИБРИНОГЕНА ПРИ ПРИЕМЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ОРАЛЬНЫХ КОНТРАЦЕПТИВОВ

Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск

В настоящее время уровень фибриногена в крови представляет особый интерес в клинических и фундаментальных исследованиях, так как установлено, что фибриноген является одним из основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний и его роль не менее, а возможно, даже более значительна, чем другие известные факторы риска, в том числе и уровень холестерина. Даже незначительное увеличение уровня фибриногена в крови резко увеличивает ее вязкость [10]. Это обусловлено тем, что фибриноген занимает исключительное положение в механизме свертывания крови, так как представляет собой единственный субстрат, из которого под действием тромбина возникает волокнистая сеть фибрина — материальная основа сгустка, предупреждающего потерю крови [5]. На уровень фибриногена может оказывать влияние целый ряд факторов, таких как наследственность, пол, возраст, курение, прием препаратов, содержащих эстрогены [13].

Комбинированные оральные контрацептивы (КОК) — один из наиболее эффективных и часто используемых методов предохранения от нежелательной беременности. Так, по данным ВОЗ, в настоящее время оральная контрацепция — наиболее популярный метод планирования семьи во всем мире [15]. Данные препараты используют более 100 млн женщин во всем мире ежегодно [15, 22]. В России, как и в большинстве развитых и развивающихся стран, наибольшее распространение благодаря высокой контрацептивной эффективности, обратимости и доступности получили низкодозированные эстроген-гестагенные КОК [9].

К настоящему времени достаточно подробно изучены КОК-зависимые изменения различных параметров коагуляции крови. Современные низкодозированные препараты вызывают незначительное (на 10–20 %) увеличение концентрации фибриногена, факторов VII, VIII и X, в то же время на 10–20 % снижается содержание активного протеина S [11, 12].

Известными факторами риска развития сердечно-сосудистых осложнений на фоне приема КОК являются курение, ожирение, возраст старше 37 лет и высокие дозы эстрогена в КОК [19, 20]. Сочетание нескольких факторов риска у женщин на фоне приема КОК, таких как ожирение, сахарный диабет, гипертония, увеличивает вероятность развития тромбоэмболии в 5–10 раз [11]. Также в последнее время отдельные исследователи уделяют большое внимание наследственным факторам, предрасполагающим к возникновению нарушений в системе гемостаза и тромботическим осложнениям на фоне приема стероидных гормонов [5, 17, 18]. На сегодняшний день изучено несколько десятков генетических полиморфизмов, наличие которых ассоциировано с развитием протромботических сдвигов в системе гемостаза и/или риском развития тромбоза [6].

Целью исследования явилось изучение влияния генетических полиморфизмов системы гемостаза и возраста на уровень фибриногена в крови на фоне приема КОК.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведено поперечное клинико-лабораторное исследование, в котором приняли участие 100 женщин. Средний возраст женщин составил 29,0 (23,3–35,0) года. В зависимости от приема КОК женщины были разделены на две группы.

Критерии включения в группу 1 — основную (n = 50): использование КОК; отсутствие приема лекарственных препаратов, влияющих на систему гемостаза; возраст от 16 до 43 лет включительно; наличие информированного согласия женщин на участие в исследовании.

Критерии включения в группу 2 — контрольную (n = 50): отсутствие приема КОК; отсутствие приема лекарственных препаратов, влияющих на систему гемостаза; возраст от 16 до 43 лет включительно; наличие информированного согласия женщин на участие в исследовании.

В обеих исследуемых группах использован метод анкетирования для анализа наследственной предрасположенности к состоянию тромбофилии (семейный анамнез), а также факторов риска развития приобретенной тромбофилии (курение, избыточный вес, использование КОК).

Всем участницам исследования была выполнена комплексная оценка системы гомеостаза: клинический анализ крови — общий анализ крови с тромбоцитами, липидограмма (холестерин, липопротеины высокой плотности (ЛПВП), триглицериды, липопротеины низкой плотности (ЛПНП)).

В ходе исследования был определен уровень фибриногена хронометрическим методом по Клаусу в цитратной бедной тромбоцитами плазме, референсный показатель — 2–4 г/л.

Были проанализированы данные молекулярно-генетического исследования шести полиморфизмов, обуславливающих склонность к состоянию гиперкоагуляции: гены, кодирующие компоненты плазменного звена гемостаза: фактор I — 455 G/A, фактор II 20210 G/A, фактор V 1691 G/A, а также PAI-1 — 675 4G/5G; гены, кодирующие компоненты тромбоцитарных рецепторов, участвующих в процессах адгезии и агрегации тромбоцитов, — GpIIb/IIIa 1565 T/C; гены метилентетрагидрофолат-редуктазы — MTHFR 677 C/T.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета статистических программ «SPSS 19.0 for Windows».

Характер распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро — Уилка. Количественные данные представлены с помощью медианы (Md), показывая первый и третий квантили (Q1 — Q3). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для выявления влияния независимых факторов на показатели системы гемостаза был использован метод линейной регрессии (однофакторный и многофакторный анализ).

Протокол исследования (№ 08/06 от 24 июня 2010 г.) был одобрен этическим комитетом СГМУ. У участников исследования было получено информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка влияния ряда независимых факторов с помощью линейного регрессионного анализа на

уровень фибриногена выявила следующие закономерности (таблица). Так, при многофакторном анализе обнаружено статистически значимое влияние возраста женщин на уровень фибриногена ($p = 0,019$) — с возрастом уровень фибриногена постепенно повышается. Это находит подтверждение в литературе, к тому же есть данные, что, в отличие от мужчин, у женщин более выражено увеличение концентрации фибриногена с возрастом [7, 13]. В однофакторном анализе, однако, $p = 0,057$, что несколько выше уровня статистической значимости. Скорее всего, только возраст в нашей работе действительно может не оказывать значимого влияния, так как средний возраст участниц исследования — 29 лет (максимальный возраст — 43 года). Совместное же влияние нескольких факторов, таких как прием КОК, гомозиготные формы генов фибриногена, GpIIIa/IIb и MTHFR, в совокупности с более старшим возрастом уже могут оказывать значимое влияние на систему гемостаза. К примеру, в одном из исследований показано, что сочетание А-аллеля G-455A полиморфизма гена фибриногена, а также возраста и курения оказывает взаимодополняющее влияние на уровень фибриногена. У лиц с гомо- или гетерозиготным носительством аллеля -455A уровень фибриногена находится в прямой корреляционной связи с возрастом [13].

Также, на наш взгляд, необходимо отметить следующие тенденции. Так, наличие определенных генетических полиморфизмов обуславливает тенденцию к повышению уровня фибриногена и, как следствие, склонность к состоянию гиперкоагуляции.

Как однофакторный, так и многофакторный анализы показали тенденцию к увеличению уровня фибриногена у носителей гомозиготного полиморфизма в гене фибриногена-455 A/A (уровни значимости близки к статистически значимым — $p = 0,065$ и $0,058$ в однофакторном и многофакторном анализе соответственно), что вполне логично, так как наличие аллеля -455A сопровождается повышенной экспрессией гена, и как следствие, увеличением концентрации фибриногена [12, 13]. Так, по результатам исследования установлено, что лица с А-аллелем имеют уровень фибриногена на 0,25 г/л выше, чем обладатели G-аллеля [21].

Достаточно высокие значения регрессионных коэффициентов, а также уровни, близкие к статистически значимым, в однофакторном

Влияние генетических полиморфизмов системы гемостаза и возраста на уровень фибриногена в крови на фоне приема КОК

Тестируемый показатель		Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
		регрессионный коэффициент	p	регрессионный коэффициент	p
Прием КОК	Да	0,11	0,303	0,09	0,444
	Нет*				
Возраст		0,016	0,057	0,02	0,019
Тромбофилический анамнез и наследственность	Отягощенные	-0,14	0,083	-0,13	0,103
	Умеренно отягощенные				
Полиморфизмы фибриногена	Не отягощенные*				
	-455 A/A	0,37	0,065	0,40	0,058
	-455 G/A	-0,11	0,316	-0,06	0,636
Полиморфизмы протромбина	-455 G/G*				
	20210 G/A	-0,08	0,718	-0,07	0,777
Полиморфизмы фактора V	20210 G/G*				
	1691 G/A	-0,17	0,519	-0,24	0,388
Полиморфизмы MTHFR	1691 G/G*				
	677 T/T	0,46	0,061	0,28	0,275
	677 C/T	-0,10	0,374	-0,07	0,552
Полиморфизмы PAI-1	677 C/C*				
	-675 4G/4G	0,15	0,358	0,02	0,915
	-675 4G/5G	0,13	0,338	0,04	0,777
Полиморфизмы GpIIIa/IIb	-675 5G/5G*				
	1565 C/C	0,50	0,067	0,39	0,158
	1565 T/C	0,09	0,489	-0,04	0,756
	1565 T/T*				

* — референс-категория.

анализе были получены при наличии гомозиготного носительства в гене *GpIIIa/IIb* (1565 C/C) ($B=0,50$; $p=0,067$) и в гене *MTNFR* (677 T/T) ($B=0,46$; $p=0,061$). Как известно, комплекс рецепторов *GPIIb/IIIa* является основным среди всех рецепторов тромбоцитов и обеспечивает взаимодействие, в первую очередь, с рецепторами фибриногена. Это взаимодействие определяет основной путь агрегации тромбоцитов друг с другом через «фибриновые мостики» [1, 3, 12, 16]. Замена *Leu33Pro* приводит к усилению сигнальных и адгезивных функций рецептора *GP IIb/IIIa*. Возможно, именно данные эффекты являются причиной повышенной спонтанной агрегации тромбоцитов у лиц с аллелем *Pro33* в гене *GpIIIa/IIb* [14, 24]. Из литературных данных известно, что высокий уровень фибриногена сочетается с повышенной функциональной активностью тромбоцитов [13]. Гомозиготный вариант полиморфизма *MTNFR* (677 T/T) вызывает состояние гипергомоцистеинемии. У лиц, гомозиготных по данной мутации, отмечено снижение активности фермента примерно до 35–50 % от среднего значения [4, 16, 18]. При этом следует учитывать, что гипергомоцистеинемия является значительным и независимым фактором риска тромбоза. Так, при гипергомоцистеинемии обнаружено неблагоприятное влияние на коагуляционный каскад, сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза, а также нарушение нормального баланса окислительно-восстановительных реакций и повреждение сосудистой стенки [4]. Также важно отметить, что все три полиморфизма являются гомозиготными, влияние которых на склонность к состоянию тромбофилии по результатам исследований зачастую на порядок выше по сравнению с гетерозиготным носительством [1, 13, 14].

Статистически значимого влияния КОК на уровень фибриногена нами не обнаружено, и полученные результаты находятся в пределах референсных значений, что согласуется с данными последних исследований. По нашему мнению, это связано с тем, что все участницы исследования использовали препараты с максимальной дозой ЭЭ 30 мкг, что не только не превышает, а даже меньше дозы ЭЭ, рекомендуемой ВОЗ (35 мкг). Также важно отметить, что практически всем женщинам, участвующим в исследовании, КОК были назначены врачом-гинекологом, что имеет очень большое значение, так как от 3 до 10 % женщин, желающих использовать гормональные контрацептивы, имеют гемостазиологические относительные или абсолютные к ним противопоказания [17].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонгарь Т. П., Муратова А. Ю. Влияние полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов *GpIIIa/IIb* на изменение показателей тромбоцитарного гемостаза в аку-

шерской практике // Клин. лаборат. диагностика. — 2012. — № 2. — С. 46–79.

2. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В. С. Баранова. — СПб., 2009. — 528 с.

3. Долгов В. В., Свиринов П. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. Лаборатор. диагностика нарушений гемостаза. — М.; Тверь, 2005. — 227 с.

4. Зайнулина М. С., Корнюшина Е. А., Глотов А. С. и др. Тромбофилия в акушерской практике: метод. реком. / под ред. Э. К. Айламазяна, В. С. Баранова. — СПб., 2009. — 56 с.

5. Зубаиров Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. — Казань, 2000. — 367 с.

6. Капустин С. И. Молекулярно-генетические аспекты патогенеза венозного тромбоэмболизма: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — СПб., 2007. — 45 с.

7. Кишкун А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики. — М., 2013. — 760 с.

8. Макацария А. Д., Саидова Р. А., Бицадзе В. О. и др. Гормональная контрацепция и тромбофилические состояния / под ред. А. Д. Макацария, Р. А. Саидова, В. О. Бицадзе. — М., 2004. — 240 с.

9. Межевитинова Е. А., Сасунова Р. А., Иванова Е. А. Дроспиренон в эволюции гормональной контрацепции // Гинекология. — 2011. — Т. 13. — № 2. URL: <http://www.love4life.ru/upload/iblock/8d0/8d0db159e069840befdc4ad1025f3550.pdf> (дата обращения 15.01.2015).

10. Полотнянко Л. И. Клиническая химия. — М., 2008. — 343 с.

11. Руководство по контрацепции / под ред. В. Н. Прилепской. — М., 2006. — 400 с.

12. Самохин А. Г., Пустоветова М. Г., Васькина Е. А. и др. Изменение показателей тромбоцитарно-сосудистого звена системы гемостаза у женщин страдающих артериальной гипертензией в период менопаузы на фоне применения клопидогреля // Биомед. журн. Medline.ru. — 2006. — Т. 7. URL: http://www.medline.ru/public/pdf/7_052.pdf.

13. Сердюк И. Е. Полиморфизм генов фибриногена у больных с ишемическим инсультом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2008. — 22 с.

14. Сироткина О. В. Молекулярно-генетические механизмы активации тромбоцитов и чувствительности к антиагрегантным препаратам: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — СПб., 2011. — 48 с.

15. Твердихова М. А., Гависова А. А. Риск или польза посткоитальной контрацепции // Русс. мед. журн. — 2012. — № 12. URL: http://www.rmj.ru/articles/ginekologiya/Sovremennye_principy_kontracepcii_Risk_ili_polyza_postkoitalnoy_kontracepcii/ (дата обращения 24.12.2015).

16. Тромботические состояния в акушерской практике: пособие / под ред. Ю. Э. Доброхотовой, А. А. Щеголева. — М., 2010. — 128 с.

17. Шишкова В. Н. Современная оральная контрацепция и риск тромбозов // Журн. междунаро. мед. — 2013. — № 1 (2). — С. 56–61.

18. Dawood F. Pregnancy and Thrombophilia // Journal of Blood Disorders & Transfusion. — 2013. URL: <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9864.1000164>.

19. Comp P. C. Thromboembolic mechanisms of OCs // Benefits and risks of Ocs: A Current Perspective // Symposium Monograph. — N.-Jersey, 1997. — P. 5–9.

20. Hugon-Rodin J. Epidemiology of hormonal contraceptives-related venous thromboembolism // Eur. J. Endocrinol. — 2014. — Vol. 171. — № 6. — P. 221–230.

21. *Humphries S.* Epidemiology of Arterial Thrombotic Disease // XVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. — Washington, 1999.

22. *Petitti D. B.* Combination estrogen-progestin oral contraceptives // NEJM. — 2003. — Vol. 349. — P. 1443–1450.

23. *Veljkovic M., Popovic J.* Venous thromboembolism and oral contraception // Med. Pregl. — 2010. — Vol. 63(5–6). — P. 376–379.

24. *Vijayan K. V, Liu Y., Sun W. et al.* The Pro33 isoform of integrin beta3 enhances outside-in signaling in human platelets by regulating the activation of serine/threonine phosphatases // J. Biol. Chem. — 2005. — Vol. 280(23). — P. 21756–21762.

РЕЗЮМЕ

Д. Р. Гамыркина, Н. А. Воробьева

Влияние генетических полиморфизмов на уровень фибриногена при приеме комбинированных оральных контрацептивов

Цель исследования — изучить влияние генетических полиморфизмов системы гемостаза и возраста на уровень фибриногена на фоне приема комбинированных оральных контрацептивов (КОК). По результатам исследования, прием КОК не оказывает значимого влияния на уровень

фибриногена. Другие факторы, несколько повышающие уровень фибриногена, в пределах референсных значений: возраст и гомозиготное состояние полиморфизмов в генах фибриногена (-455 A/A), тромбоцитарных рецепторов GP IIb/IIIa (1565 C/C) и метилентетрагидрофолатредуктазы (677 T/T).

Ключевые слова: уровень фибриногена, комбинированные оральные контрацептивы.

SUMMARY

D. R. Gamyrkina, N. A. Vorobyova

Influence of genetic polymorphisms on fibrinogen level at taking of combined oral contraceptives

The purpose of this study is to examine the influence of genetic polymorphisms of hemostasis system and age on the level of fibrinogen in patients against taking of combined oral contraceptives (COCs). As the results of our study, taking COCs has no significant effect on the level of fibrinogen. Other factors that increase the level of fibrinogen within the reference values: age and homozygous state of polymorphisms in fibrinogen genes (-455 A/A), platelet receptors GP IIb/IIIa (1565 C/C) and methylenetetrahydrofolate reductase (677 T/T).

Keywords: level of fibrinogen, combined oral contraceptives.

© Н. И. Белова, Н. А. Воробьева, 2016 г.
УДК 611.018.74-002:575.17(471.111)

Н. И. Белова, Н. А. Воробьева

МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ В ПОПУЛЯЦИИ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ НЕНЕЦКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА

Северный государственный медицинский университет, г. Архангельск; Северный филиал Гематологического научного центра МЗ РФ, г. Архангельск

ВВЕДЕНИЕ

Ненцы — коренной этнос с эволюционно выработанными механизмами, высокоустойчивый к экстремальным факторам среды. С другой стороны, коренные народы Севера — одна из групп народов России, у которой отсутствовали эволюционно выработанные механизмы биосоциальной адаптации к факторам современной цивилизации, что стало причиной резкого ухудшения их физического и психического здоровья за последние десятилетия [5, 7].

На сегодняшний день важнейшая роль в развитии атеротромбоза отводится процессам субклинического воспаления сосудистой стенки. Особую ценность для своевременной профилактики

и лечения имеют маркеры (предикторы) риска атеротромбоза в общей популяции, в особенности у исходно здоровых лиц и у лиц с хроническими формами атеросклероза. В настоящее время активно изучается прогностическая значимость ряда маркеров эндovasкулярного воспаления, таких как Р-селектин, растворимый лиганд sCD40L, тканевой активатор плазминогена t-РА, моноцитарный хемотаксический фактор MCP-1, нейтрофил-активирующий пептид-1 IL8. Необходимо отметить, что уровень данных маркеров может быть неодинаков в различных выборках, иметь этнические различия и генетически обусловлен, в связи с чем необходима верификация референсных значений для каждой изолированной популяции.

Таким образом, целью исследования явился анализ содержания маркеров эндovasкулярного воспаления в сыворотке крови как предикторов развития сосудистой патологии у коренных жителей Ненецкого автономного округа (НАО) — ненцев.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования являлась популяция ненцев — коренного населения Ненецкого автономного округа, ведущих оседлый или полукочевой образ жизни (n = 68). Средний возраст изучаемой выборки составил 43 года (30–51). Критериями включения в основную группу (ненцы) являлись этническая принадлежность до 4-й степени родства к коренному населению (ненцы) НАО; постоянное проживание на территории НАО; наличие добро-