

О.В. Панасюк, П.А. Горячев, О.В. Горчакова
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ПАЦИЕНТОВ С ПОРАЖЕНИЕМ
АОРТО-ПОДВЗДОШНО-БЕДРЕННОГО СЕГМЕНТА МАГИСТРАЛЬНЫХ
АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. Э.В. Могилевец

1-я кафедра хирургических болезней

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно

УЗ «Гродненская университетская клиника», г. Гродно

O.V. Panasiuk, P.A. Goryachev, O.V. Gorchakova
GENETIC POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH LESIONS OF THE AORTO-
ILIO-FEMORAL SEGMENT OF THE MAIN ARTERIES OF THE LOWER LIMB

Tutors: PhD, assistant professor E.V. Mogilevets

1st Department of Surgical Diseases

Grodno State Medical University, Grodno

Grodno University Clinic, Grodno

Резюме. Поражение аорто-подвздошно-бедренного сегмента было диагностировано у 58 пациентов, среди которых были только мужчины. Наиболее распространенным оперативным вмешательством для лечения атеросклеротической окклюзии в изучаемой анатомической области была баллонная ангиопластика в сочетании со стентированием ($n = 15$). Большинство пациентов были носителями гомозиготного аллеля AA гена A1298C MTHFR ($n=28$) и гетерозиготных аллелей генов C677T MTHFR, A2756G MTR, A66G MTRR – 35, 32 и 26 пациентов соответственно.

Ключевые слова: заболевания артерий нижних конечностей, реваскуляризирующие операции, генетический полиморфизм.

Resume. The lesions of the aorto-ilio-femoral segment was diagnosed in 58 patients, among whom were only men. The most common surgical intervention for treatment of atherosclerotic occlusion in the studied anatomical area was balloon angioplasty and stenting ($n = 15$). Most patients were carriers of the homozygous AA allele of the A1298C MTHFR gene ($n=28$) and heterozygous alleles of the C677T MTHFR, A2756G MTR, A66G MTRR genes - 35, 32 and 26 patients, respectively.

Keywords: lower extremity arterial disease, revascularization operations, genetic polymorphism.

Актуальность. Около 20% от всей сердечнососудистой патологии составляют заболевания артерий нижних конечностей (ЗАНК) [1]. Результаты реконструктивно-восстановительных операций нельзя назвать удовлетворительными, так как в течение одного года положительный эффект сохраняется у 73% пациентов при реваскуляризациях выше щели коленного сустава и в 39% случаев при различных вариантах дистальных шунтирований [2]. В общей когорте пациентов с ЗАНК особое место уделяется больным с поражением аорто-подвздошно-бедренного сегмента (АПБС), так как их количество меньше, в сравнении с пациентами, страдающими от окклюзионно-стенотического процесса бедренно-подколенно-берцового сегмента (БПБС), а сама патология протекает хуже [3].

Наличие у пациентов с ЗАНК полиморфных вариантов C677T, A1298C гена метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR), A2756G гена метионинсинтазы (MTR) и

А66G гена метионинсинтазы-редуктазы (MTRR) может влиять на сроки функционирования реваскуляризации [4]. На основании анализа генетического полиморфизма ферментов фолатного цикла можно улучшить эффективность наблюдения за пациентами из группы риска в послеоперационном периоде, что позволит уменьшить частоту послеоперационных осложнений и снизить уровень ампутаций.

Цель: оценить распределение полиморфных локусов генов A1298C MTHFR, C677T MTHFR, A2756G MTR, A66G гена MTRR у пациентов с ЗАНК при окклюзионно-стенотическом поражении АПБС.

Задачи:

1. Проанализировать варианты реваскуляризирующих операций при изолированном поражении АПБС.
2. Оценить характер реваскуляризации при сочетанном поражении АПБС и БПБС.
3. Проанализировать распределение полиморфных локусов исследуемых генов у пациентов с поражением АПБС

Материалы и методы. 58 пациентов с ЗАНК приняли участие в исследовании. По данным инвазивной ангиографии, или КТ-ангиографии у них было диагностировано изолированное поражение АПБС, либо сочетание окклюзионно-стенотического процесса в данной анатомической области и БПБС. Возраст исследуемых составил (медиана [1-й квартиль; 3-й квартиль]) – 61 [59; 66] лет. Большинство пациентов были из сельской местности в соотношении 2,4:1. 17 (29,3%) пациентов были из города Гродно, остальные 41 (70,7%) из других населённых пунктов Гродненской области. Характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Табл. 1. Характеристика исследуемых пациентов

Показатель	n (%)
Количество пациентов	58
Мужской пол (%)	58 (100)
Возраст, лет	61 [59; 66]
Сахарный диабет (%)	4 (6,9)
Артериальная гипертензия (%)	54 (93,1)
Ишемическая болезнь сердца (%)	52 (89,7)
Хроническое нарушение мозгового кровообращения (%)	11 (19)
Реваскуляризация нижней конечности в анамнезе (%)	11 (19)
Стадия ХАН (%):	
II Б	27 (46,5)
III	15 (25,9)
IV	16 (27,6)

На базе лаборатории молекулярно-генетических методов исследования УО «Гродненский государственный медицинский университет» выполнено выделение ДНК из цельной крови пациентов с ЗАНК. На базе отделения сосудистой хирургии УЗ «Гродненская университетская клиника» утром натощак у каждого пациента с

ЗАНК, включённого в исследование, был выполнен забор венозной крови в вакуумную пробирку с ЭДТА 13*100 mm, 5 мл. После этого пробирки с цельной кровью замораживались и транспортировались в лабораторию молекулярно-генетических методов исследования.

Далее был выполнен молекулярно-генетический анализ распределения частот аллелей и генотипов генов MTHFR (rs 1801131), MTHFR (rs 1801133), MTR (rs 1805087). Экстракция геномной ДНК проводилась из образцов крови, набранных с использованием вакуумных систем с ЭДТА и комплекта реагентов для выделения ДНК из цельной крови методом магнитной сорбции.

Генотипирование олигонуклеотидных полиморфизмов SNP rs 1801131 (замена аденина (А) на цитозин (С)) в последовательности 1298 гена MTHFR, rs 1801133 (Ala 222 Val) - замена цитозина (С) на тимин (Т) в последовательности 677 гена MTHFR, rs 1805087 – (Asp 919 Gly) – замена аденина (А) на гуанин (G) в последовательности 2756 гена MTR проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» посредством термоциклирующей системы, в соответствии с протоколами реакции фирмы производителя к указанным полиморфизмам. Качественную и количественную оценку содержания ДНК в полученных препаратах проводили спектрофотометрически при длине волны 260 нм.

Результаты и их обсуждение. По данным ангиографического исследования у 39 (67,2%) пациентов было диагностировано изолированное поражение АПБС. При изолированном окклюзионно-стенотическом процессе пациенту с ЗАНК выполнялась рентгенэндоваскулярная, или открытая операция на артериях АПБС. Варианты реваскуляризирующих вмешательств в данной анатомической области отображены в таблице 2.

Табл. 2. Варианты и количество реваскуляризирующих операций при изолированном поражении АПБС

Вариант реваскуляризации	Количество операций n (%)
Баллонная ангиопластика в сочетании со стентированием	15 (38,5)
Аорто-бедренное бифуркационное шунтирование (протезирование)	12 (30,8)
Эндартерэктомия (ЭАЭ)	7 (17,9)
Аорто-бедренное линейное шунтирование (АБЛШ)	4 (10,3)
Перекрёстное бедренно-бедренное шунтирование	1(2,5)
Всего	39 (100%)

Наиболее распространённым вмешательством оказалась баллонная ангиопластика и стентирование артерий АПБС – 15 (38,5%).

У 19 (32,8%) пациентов было установлено многоуровневое поражение магистрального артериального русла, т.е. сочетание атеросклеротического процесса в АПБС и БПБС. С целью устранения ишемии нижней конечности у данной категории пациентов, им выполнялись гибридные, или открытые многоуровневые реваскуляризации. В таблице 3 представлены варианты и количество реконструктивно-восстановительных операций при поражении АПБС и БПБС.

Табл. 3. Варианты и количество реваскуляризации при поражении АПБС и БПБС у пациентов с ЗАНК

Вариант реваскуляризации	Количество операций n (%)
Ангиопластика и стентирование АПБС в сочетании с бедренно-подколенным шунтированием (БПШ)	7(36,8)
Ангиопластика и стентирование АПБС в сочетании с ЭАЭ из БПБС	7(36,8)
Балонная ангиопластика в сочетании со стентированием АПБС и БПБС	2 (10,5)
Ангиопластика и стентирование в сочетании с бедренно-берцовым шунтированием	1(5,3)
ЭАЭ из АПБС в сочетании с БПШ	1(5,3)
АБЛШ в сочетании с БПШ	1(5,3)
Всего	19 (100%)

Наиболее распространёнными операциями у данной когорты пациентов были гибридные реваскуляризации заключающиеся в ангиопластике и стентировании артерий АПБС и открытых вмешательствах на БПБС – ЭАЭ (n=7), или БПШ (n=7).

После выполненных реваскуляризации у пациентов выполнялся забор венозной крови, из которой производилось генотипирование олигонуклеотидных полиморфизмов исследуемых генов. В таблице 4 представлено распределение полиморфных локусов генов A1298C MTHFR, C677T MTHFR, A2756G MTR, A66G гена MTRR у пациентов с ЗАНК.

Табл. 4. Распределение полиморфных локусов исследуемых генов у пациентов с ЗАНК при поражении АПБС

Ген	Аллель	Количество пациентов n (%)
A1298C MTHFR	AA	28 (48,3)
	AC	20 (34,5)
	CC	10 (17,2)
C677T MTHFR	CC	23 (39,7)
	CT	35 (60,3)
	TT	-
A2756G MTR	AA	22 (37,9)
	AG	32 (55,2)
	GG	4 (6,9)
A66G MTRR	AA	18 (31,1)
	AG	26 (44,8)
	GG	14 (24,1)

Наиболее распространёнными аллелями у пациентов с ЗАНК при окклюзионно-стенотическом процессе в АПБС оказались: AA гена A1298C MTHFR – 28 (48,3%) пациентов, CT C677T MTHFR – 35 (60,3%), AG A2756G MTR – 32 (55,2%), AG A66G MTRR – 26 (44,8%).

Выводы:

1. Балонная ангиопластика в сочетании со стентированием (n=15) была наиболее распространённой реваскуляризацией при изолированном поражении АПБС.
2. Наиболее распространёнными операциями при сочетанном поражении были гибридные реваскуляризации заключающиеся в ангиопластике и стентировании артерий АПБС и открытых вмешательствах на БПБС – ЭАЭ (n=7), или БПШ (n=7).
3. Среди пациентов с окклюзионно-стенотическим поражением АПБС большинство оказалось носителями гетерозиготных аллелей генов С677Т МТНFR, А2756G МTR, А66G МTRR. Для гена А1298С МТНFR большинство пациентов было носителями гомозиготного аллеля АА (n=28).

Литература

1. Покровский, А.В. Клиническая ангиология: руководство для врачей / А.В.Покровский. – Москва: Медицина, 2004. – 888с.
2. Янушко, В.А. Современные подходы диагностики и лечения многоуровневых поражений артерий нижних конечностей ниже паховой складки в стадии критической ишемии / В.А. Янушко, Д.В. Турлюк, П.А. Ладыгин, Д.В. Исачкин // Новости хирургии. – 2011. – Т. 19, № 6. – С. 115-128.
3. Панасюк, О.В. Влияние гипергомоцистеинемии на развитие облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей / О.В. Панасюк, Э.В. Могилевец, А.В. Наумов // Здоровоохранение. – 2020. – Т. 875, №2. – с. 30 – 35.
4. Бурков, Н.Н. Госпитальные исходы реконструктивных вмешательств на аорто-бедренном сегменте у пациентов с мультифокальным атеросклерозом / Н.Н. Бурков, А.Н. Казанцев, Р.С.Тарасов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т. 24, №2. – С. 139-145.