

*На правах рукописи*

**КОРОЛЁВА АННА АНАТОЛЬЕВНА**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА  
В ОЦЕНКЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ПЕРИОПЕРАЦИОННЫХ СЕРДЕЧНО-  
СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С  
ОПУХОЛЯМИ ТОРАКОАБДОМИНАЛЬНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

**АФТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва - 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН Стилиди Иван Сократович).

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук  
доктор медицинских наук

**Герасимов Сергей Семёнович**  
**Любченко Людмила Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**Варданян Аршак Варданович**, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Наседкина Татьяна Васильевна**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических микрочипов федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской Академии Наук» (ИМБ РАН).

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Защита состоится «6» апреля 2023 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.032.01, созданного на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 и на сайте [www.ronc.ru](http://www.ronc.ru).

Автореферат разослан «.....» ..... 2023 года.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**Кадагидзе Заира Григорьевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы и степень ее разработанности

Результаты хирургического лечения онкологических больных зависят не только от степени распространённости злокачественного процесса и объёма хирургического вмешательства, но также от состояния функциональных возможностей сердечно-сосудистой системы. Грамотная оценка функциональных резервов организма играет ведущую роль в вопросе операбельности, операционных рисков, выборе метода лечения, профилактике послеоперационных осложнений. Такие осложнения, как тромбоэмболия лёгочной артерии (ТЭЛА), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому типу, инфаркт миокарда (ИМ), являются лидерами среди причин послеоперационной летальности у онкологических пациентов, в том числе у больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации. В настоящее время перечень факторов сердечно-сосудистого риска, оценка которых является залогом эффективности планируемого лечения данной категории пациентов, не учитывает роль молекулярно-генетических детерминант сопутствующей сердечно-сосудистой патологии [Воробьев А. В., 2008, Макацария А.Д., и др., 2008, Tesselaar M.E, Osanto S., 2007, Martinelli N., et al., 2008].

Далеко не всегда с помощью клинических показателей, таких как тяжесть постинфарктной дисфункции левого желудочка, нарушения ритма, коронарная недостаточность и др., удаётся достоверно прогнозировать развитие жизнеугрожающих рецидивов сердечно-сосудистой патологии, а иммунобиохимические показатели в таких случаях не всегда информативны из-за их структурной и функциональной динамичности. По этой причине существенной может стать роль генетических факторов [Баркаган, З.С., 2000, Селиванов Е.А., и др., 2011, Tofler, G.H., et al., 2016, Kim K., et al., 2017, Connors J.M., 2017, Powers W.J., et al., 2018, Chiasakul T., et al., 2019].

Наряду с этим, одной из современных и перспективных тенденций в мировой медицине является доклиническая диагностика социально значимой

патологии и её профилактика. Интерес к генетическим основам сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) значительно вырос после расшифровки генома человека в 2003 году. В основе болезней органов кровообращения лежит совокупность причин, и одним из эндогенных факторов является наследственная предрасположенность к данным состояниям, в формировании которой участвуют десятки генов [Agirbasli M., et al., 2011, Mahmoodi B.K., et al., 2016, Dostalova G., et al., 2017, Wintzer-Wehekind, J., et al., 2019].

Впервые возможность использования молекулярно-генетического исследования с целью прогнозирования рисков развития ИМ была показана в 90-х гг. В частности была установлена ассоциация полиморфного маркера *I/D* гена *ACE* (ангиотензин-превращающий фермент) с клинической реализацией первичного ИМ. Несмотря на дальнейший поиск, один ген, всецело определяющий и обосновывающий развитие как атеросклероза, так и его осложнений, не был найден. В настоящее время ведущей является теория совместного вклада различных ассоциаций генов в развитие той или иной сердечно-сосудистой патологии [Jusic-Karic A., et al., 2016, Rallidis L.S., et al., 2017, M'barek, L., et al., 2021].

Помимо этого, сегодня известно много вариантов тромбофилии, сущность которой заключается в патологической склонности к тромботическим состояниям, в том числе к тромбозу артериальных сосудов с ишемией органов. Данная прокоагулянтная предрасположенность может носить как первичный (генетически обусловленный), так и вторичный (приобретенный) характер [Баркаган, З.С., Момот А.П., 2001].

В настоящее время генетические факторы для определения индивидуального риска развития болезней органов кровообращения не учитываются ни одной из статистических систем. Вместе с этим, оценка результатов молекулярно-генетического исследования потенциального пациента является основой для внедрения концепции персонифицированной и предиктивной медицины во врачебную практику.

Значимость мультидисциплинарной концепции в профилактике ССЗ не оспорима, однако ранее не рассматривалась проблема оценки степени риска развития сердечно-сосудистых осложнений у оперированных онкологических больных с учётом генетической предрасположенности к болезням органов кровообращения.

### **Цель исследования**

Определить молекулярно-генетические факторы системы гемостаза, ассоциированные с повышенным риском развития периоперационных сердечно-сосудистых осложнений, у онкологических больных с опухолями торакоабдоминальной локализации.

### **Задачи исследования**

1. Определить частоту аллельных вариантов генов системы гемостаза (*FII G20210A*; *FV G1691A (Arg506Gln)*; *FVII G10976A (Arg353Gln)*; *FXIII G103T (Val34Leu)*; *FGB G(-455)A*; *ITGA2 C807T (Phe224Phe)*; *ITGB3 T1565C (Leu33Pro)*; *SERPINE1 (PAI-1) 4G(-675)4G*) у оперированных онкологических больных с опухолями торакоабдоминальной локализации.

2. Сравнить частоту носительства прокоагулянтных мутаций в генах системы гемостаза у онкологических больных, перенесших ИМ, ишемический инсульт, венозный тромбоз/ТЭЛА с пациентами без сопутствующих ССЗ.

3. Определить и сравнить частоту синергизма полиморфизмов генов системы гемостаза у онкологических больных с и без сопутствующих ССЗ.

4. Изучить и сопоставить частоту гомо- и гетерозиготности прокоагулянтных мутаций генов системы гемостаза у онкологических больных с и без сопутствующих ССЗ.

5. Оценить и сравнить частоту носительства протромботических мутаций в генах системы гемостаза у онкологических больных с отягощенным семейным анамнезом в отношении ССЗ и контрольной группе.

## Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена на основании анализа данных 223 больных раком желудка, раком лёгкого, раком пищевода, оперированные в онкологическом отделении хирургических методов лечения № 11 (торакальной онкологии) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2018-2019 гг. Исследование проведено в лаборатории клинической онкогенетики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

В соответствии с поставленными задачами были сформированы критерии включения пациентов в исследование: верифицированный диагноз рака желудка, рака пищевода или рака лёгкого, наличие в периоперационном периоде и/или в анамнезе диагностированного ИМ, венозного тромбоза/ТЭЛА, ишемического инсульта, а также пациенты без ИМ, ОНМК, венозного тромбоза, но с отягощённым семейным анамнезом в отношении сердечно-сосудистых заболеваний. В контрольную группу были включены пациенты без сердечно-сосудистой патологии, в том числе в семейном анамнезе.

Молекулярно-генетическое исследование с целью определения полиморфизмов генов системы гемостаза проведено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Полученные данные обработаны стандартным пакетом STATISTIKA 10. Оценка статистической достоверности различий полученных результатов проведена по критерию  $\chi^2$  Пирсона. Результаты считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## Научная новизна

Впервые в российской популяции выполнено исследование по оценке риска развития периоперационных сердечно-сосудистых осложнений у онкологических больных с учётом генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Определена частота аллельных вариантов генов системы гемостаза (*FII* G20210A; *FV* G1691A (Arg506Gln); *FVII* G10976A (Arg353Gln); *FXIII* G103T (Val34Leu); *FGB* G(-455)A; *ITGA2* C807T (Phe224Phe); *ITGB3* T1565C (Leu33Pro);

*SERPINE1 (PAI-1) 4G(-675)4G*) у оперированных онкологических больных с опухолями торакоабдоминальной локализации.

Выявлены генотипы со статистически значимым риском развития тяжёлых сердечно-сосудистых осложнений (ИМ, ОНМК по ишемическому типу, венозный тромбоз/эмболизм) у этой категории пациентов.

Определена принципиальная значимость синергизма генетических факторов тромбофилии в развитии артериального и венозного тромбоза.

В работе выявлен новый, ранее не учитываемый генетический фактор прогноза развития тяжёлых сердечно-сосудистых осложнений среди онкологических больных, а также конкретизированы группы пациентов, которым следует проводить молекулярно-генетическое тестирование в предоперационном периоде.

Результаты проведенного исследования позволили обратить внимание на большие перспективы ДНК-диагностики мутаций в генах свёртывающей системы крови, обуславливающих высокий риск развития таких сердечно-сосудистых осложнений хирургического лечения больных раком желудка, пищевода, лёгкого, как ОНМК по ишемическому типу, инфаркт миокарда, тромбоз вен и ТЭЛА, что создаёт возможность разработки патогенетически обоснованной профилактики сердечно-сосудистой патологии среди носителей генетических маркеров повышенного риска тромбообразования.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Использование высокотехнологичного метода ДНК-диагностики генетических детерминант тромбофилии с целью оценки риска развития и профилактики сердечно-сосудистых осложнений в периоперационном периоде у больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации, перенесшим ИМ, ишемический инсульт, венозный тромбоз/ТЭЛА, а также пациентам без сердечно-сосудистой патологии, но имеющим ССЗ в семейном анамнезе, позволит на принципиально новом уровне, в соответствии с основами персонализированной медицины, разработать эффективные схемы медикаментозной профилактики сердечно-сосудистых осложнений.

### **Личный вклад автора**

Автор провела анализ научной литературы, изучила степень разработанности проблемы, принимала участие в постановке цели и задач исследования, выполняла молекулярно-генетическое исследование, участвовала в хирургическом лечении исследуемых больных, осуществляла курацию пациентов, сбор и статистический анализ данных. Автором выполнен анализ и оценка результатов исследований, указанных в диссертации, подготовлены полученные результаты к публикации.

### **Соответствие паспорту специальности**

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия («медицинские науки»), области исследований п.3 «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики».

### **Положения, выносимые на защиту**

У больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации полиморфизмы в генах *F5*, *FGB*, *ITGA2*, *ITGB3*, *PAI-1* могут быть детерминантами сопутствующего инфаркта миокарда, в генах *F5*, *ITGA2*, *ITGB3*, *PAI-1* - венозного тромбоза, в генах *F2*, *ITGA2*, *ITGB3* - ишемического инсульта.

Повышенный риск сердечно-сосудистых осложнений у больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации ассоциирован с синергизмом генетических факторов тромбоза.

У больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации статистически значимый риск развития: инфаркта миокарда ассоциирован с носительством генотипов *GA* (ген *F5*), *AA* (ген *FGB*), *CT* и *TT* (ген *ITGA2*), *TC* (ген *ITGB3*), *4G/4G* (ген *PAI-1*), ишемического инсульта - *GA* (ген *F2*), *TT* (ген *ITGA2*), *TC* (ген *ITGB3*), венозного тромбоза - *GA* (ген *F5*), *CT* и *TT* (ген *ITGA2*) и *CC* (ген *ITGB3*).



Носительство мутаций в генах системы гемостаза могут носить субклинический характер, что нужно учитывать у больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации с отягощённым семейным анамнезом в отношении сердечно-сосудистой патологии.

С целью оценки риска развития и профилактики сердечно-сосудистых осложнений в периоперационном периоде больным злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации, перенесшим ИМ, ишемический инсульт, венозный тромбоз/ТЭЛА, а также пациентам без сердечно-сосудистой патологии, но имеющим ССЗ в семейном анамнезе, целесообразно проведение ДНК-диагностики для выявления маркеров тромбофилии.

### **Апробация**

Апробация диссертации состоялась 30 ноября 2021 года на совместной научной конференции онкологического отделения хирургических методов лечения № 11 (торакальной онкологии), молекулярно-биологической лаборатории, отделения реанимации и интенсивной терапии №1, лаборатории клинической иммунологии, научно-консультативного отделения, клинко-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Результаты работы были представлены на V юбилейном международном форуме онкологии и радиотерапии «Ради жизни» в 2022 году.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 3 публикации, из них - 2 статьи в журналах, которые внесены в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных результатов исследований.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация построена по традиционному стилю и состоит из введения, трёх глав, включающих литературный обзор, материалы и методы, результаты исследования, а также заключения, выводов, практических рекомендаций и

списка литературы, содержащий 134 источника, из них 114 зарубежных авторов. Работа представлена на 90 страницах машинописного текста, иллюстрирована 13 таблицами и 1 рисунком.

## **СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

В исследование включено 223 пациента, оперированных в онкологическом отделении хирургических методов лечения №11 (торакальной онкологии) НИИ клинической онкологии им. акад. РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2018-2019гг. Молекулярно-генетическое исследование с целью определения полиморфизмов генов системы гемостаза проведено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в лаборатории клинической онкогенетики ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Особенностью больных, включённых в исследуемую группу (n=109), было наличие сердечно-сосудистой патологии в анамнезе и/или на момент нахождения в онкологическом стационаре. Кроме того, отдельную группу пациентов (n=33) составили больные без ССЗ, но вместе с этим отмечавшие ОНМК, ИМ, венозный тромбоз/ТЭЛА в семейном анамнезе. Пациенты без ССЗ, в том числе в семейном анамнезе, были выбраны в качестве группы контроля (n=81). Всем больным проведён обязательный объём диагностических исследований, который включал в себя клинические, инструментальные, морфологические, лабораторные, статистические методы.

В исследовании преобладали больные раком легкого (42,2%) и желудка (40,4%), пациенты с заболеванием пищевода составили 17,4%. Наибольшее число пациентов (51,1%) относилось к возрастной группе 60-69 лет, 24,7% - 70-79 лет, 18,8% - 50-59 лет, 3,1% - 80-89 лет, 1,3% - 40-49 лет, 0,9% - 30-39 лет.

У 2 пациентов с венозным тромбозом, диагностированным в раннем послеоперационном периоде, в анамнезе был отмечен ишемический инсульт, у 10 пациентов с тромбозом - ИМ. У пациента с тромбоэмболией субсегментарных

ветвей лёгочной артерии, возникшей на 9-е сутки после дистальной субтотальной резекции желудка, также в анамнезе зафиксирован ишемический инсульт. У 4 пациентов в анамнезе были отмечены и ишемический инсульт, и ИМ. При включении этих пациентов в подгруппы были учтены все манифестации сердечно-сосудистой патологии (Таблица 1).

**Таблица 1** - Распределение пациентов в исследуемой группе по наличию сердечно-сосудистых осложнений в периоперационном периоде и/или в анамнезе ИМ, ОНМК, ТЭЛА/венозного тромбоза, [n (%)]

| ИМ      | ОНМК      | Венозный тромбоз/ТЭЛА | ОНМК + венозный тромбоз/ТЭЛА | ИМ+ венозный тромбоз/ТЭЛА | ИМ + ОНМК | Всего     |
|---------|-----------|-----------------------|------------------------------|---------------------------|-----------|-----------|
| 48 (44) | 17 (15,6) | 27 (24,8)             | 3 (2,7)                      | 10 (9,2)                  | 4 (3,7)   | 109 (100) |

Подгруппу с ИМ составили 62 пациента, (мужчины - 57, женщины - 5): 23 пациента с диагнозом рак желудка, 28 - рак лёгкого, 11 - рак пищевода. Средний возраст в данной подгруппе составил 67,7 лет. У 60 пациентов (96,8%) инфаркт миокарда был зафиксирован в анамнезе (у 9 из них инфаркт повторно развился в течение месяца от начала предыдущего), в раннем послеоперационном периоде инфаркт диагностирован у 2-х больных (3,2%), один из которых скончался.

Подгруппу с венозным тромбозом/ТЭЛА составили 40 больных (мужчины - 29, женщины - 11): 19 больных с диагнозом рак желудка, 12 - рак лёгкого, 9 - рак пищевода. Средний возраст в данной подгруппе составил 65,2 года. В послеоперационном периоде венозный тромбоз был диагностирован у 28 пациентов, ТЭЛА – в 5 случаях, венозный тромбоз и ТЭЛА одновременно у 7 пациентов. Летальный исход зафиксирован у 8 пациентов с ТЭЛА.

Подгруппу с ишемическим инсультом составили 24 человека (мужчины - 18, женщины - 6), из них 15 больных с диагнозом рак лёгкого, 9 - с

заболеванием желудка. Пациенты с диагнозом рак пищевода в данной подгруппе не отмечены. Средний возраст составил 68,3 лет. В послеоперационном периоде ОНМК диагностировано в 1 случае (4,2%), пациент скончался, у 23 пациентов (95,8%) ишемический инсульт отмечен в анамнезе.

Среди пациентов, перенесших ИМ, ишемический инсульт, ТЭЛА в послеоперационном периоде, летальность составила 66,7%.

Мужчины в группе пациентов без ССЗ, но с отягощённым по ОНМК, ИМ, венозному тромбозу/ТЭЛА семейным анамнезом, составили 75,8% (25/33), женщины - 24,2% (8/33), (соотношение 3,1:1). Средний возраст в группе - 64,3 лет, среди мужчин - 63,4 лет, среди женщин - 65,6 лет. Наибольшее число пациентов (16/33; 48,4%) относилось к возрастной группе 60-69 лет, к группе 50-59 лет – 12 пациентов (36,6%), 70-79 лет – 3 больных (9%), 40-49 лет – 1 (3%), 30-39 лет – 1 (3%). Пациенты с заболеванием лёгкого составили 39,4% (13/33), с диагнозом рак желудка - 33,3% (11/33), с заболеванием пищевода - 27,3% (9/33).

Частота встречаемости сердечно-сосудистой патологии у родственников пробандов представлена в таблице 2.

**Таблица 2** - Распределение в группе пациентов с ССЗ в семейном анамнезе по встречаемости сердечно-сосудистой патологии у родственников прямой восходящей линии, [n (%)]

| Диагноз пациента с сердечно-сосудистой патологией в семейном анамнезе | ИМ        | ОНМК     | ТЭЛА    | Тромбо-флебит | ИМ + ОНМК | Всего    |
|---|-----------|----------|---------|---------------|-----------|----------|
| Рак лёгкого   | 9         | 1        | 1       | 1             | 1         | 13       |
| Рак желудка   | 8         | 2        | 0       | 1             | 0         | 11       |
| Рак пищевода  | 5         | 4        | 0       | 0             | 0         | 9        |
| Всего   | 22 (66,7) | 7 (21,2) | 1 (3,0) | 2 (6,1)       | 1 (3,0)   | 33 (100) |

В контрольной группе мужчины составили 79% (64/81), женщины - 21% (17/81), (соотношение 3,8:1). Средний возраст составил 67,5 лет, среди мужчин - 66,8 лет, среди женщин - 69,2 года. Наибольшее число пациентов также относилось к возрастной группе 60-69 лет (48/81; 59,3%), к группе 70-79 лет – 23,5% (19/81), группу 50-59 лет составили 12 пациентов (14,8%), 40-49 лет – 1,2% (1/81), 30-39 лет - 1,2% (1/81). Пациенты с диагнозом рак желудка составили 43,2% (n=35), рак лёгкого – 42% (n=34), рак пищевода – 14,8% (n=12).

В исследовании использованы комплекты реагентов для получения ДНК из цельной периферической венозной крови «ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА» (ООО «ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08695 от 24.10.2016г.) и «КардиоГенетика Тромбофилия» для определения генетических полиморфизмов системы гемостаза (ООО «ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08414 от 22.11.2016г.) (Таблица 3). Анализ кривых плавления проводился на платформе детектирующего амплификатора («DTPPrime» ООО «НПО ДНК-Технология») с использованием программного обеспечения.

**Таблица 3 - Полиморфизмы генов системы гемостаза**

| Ген   | Полиморфный маркер | Нейтральный генотип | Генотип тромбогенного риска | Биологические проявления при наличии мутации                                      |
|---|--------------------|---------------------|-----------------------------|---|
| <i>F2</i> , коагуляционный фактор II протромбин | <i>G20210A</i>     | <i>GG</i>           | <i>GA, AA</i>               | Увеличение протромбина в плазме крови   |
| <i>F5</i> , коагуляционный фактор V             | <i>G1691A</i>      | <i>GG</i>           | <i>GA, AA</i>               | Резистентность к активированному протеину C                                       |
| <i>F7</i> , коагуляционный фактор VII           | <i>G10976A</i>     | <i>GG</i>           | <i>GA, AA</i>               | Снижение концентрации F7 в крови, повышение риска гипокоагуляции                  |
| <i>F13</i> , коагуляционный фактор XIII         | <i>G103T</i>       | <i>GG</i>           | <i>GT, TT</i>               | Нарушение структуры и свойств фибринового сгустка, повышение риска гипокоагуляции |

|  |                   |              |                     |  |
|--|-------------------|--------------|---------------------|--|
| <i>FGB</i> ,<br>фибриноген                                       | <i>G(-455)A</i>   | <i>GG</i>    | <i>GA, AA</i>       | Повышение уровня фибриногена в крови   |
| <i>ITGA2</i> ,<br>интегрин-<br>альфа 2                           | <i>C807T</i>      | <i>CC</i>    | <i>CT, TT</i>       | Увеличение адгезии тромбоцитов   |
| <i>ITGB3</i> ,<br>тромбоци-<br>тарный<br>рецептор<br>фибриногена | <i>T1565 C</i>    | <i>TT</i>    | <i>TC, CC</i>       | Повышенная адгезия клеток, высокое сродство к фибриногену, интенсивная ретракция фибринового сгустка |
| <i>PAI-1</i> ,<br>ингибитор<br>активатора<br>плазминогена        | <i>4G(-675)5G</i> | <i>5G/5G</i> | <i>5G/4G, 4G/4G</i> | Снижение фибринолитической активности  |

### Результаты исследования

В ходе оценки частоты носительства полиморфных вариантов генов системы гемостаза у оперированных больных с опухолями торакоабдоминальной локализации наиболее часто отмечен полиморфный маркер *4G(-675)5G* в гене *PAI-1* (ингибитор активатора плазминогена) – в 81,2% случаев (Таблица 4). В исследовании каждый четвертый пациент (25,6%) являлся носителем генотипа гомозиготного по аллелю *4G*. Почти у половины больных (44,4%) выявлен ОНП *C/T* гена *ITGA2*. В 27,8% случаев зафиксировано гетерозиготное носительство данной мутации, в 16,6% случаев установлен гомозиготный генотип по неблагоприятному аллелю *T*. Генетические aberrации, ассоциированные с пониженным риском развития тромботических состояний, отмечены: в гене *F13* – в 39,9% случаев (гомозиготы по мутантному аллелю составили 3,1%), в гене *F7* – в 17,9% (в 0,9% случаев мутация представлена в гомозиготной форме). У трети пациентов (32,2%) диагностирован полиморфизм *G/A* гена *FGB*, среди них 4% больных являлись гомозиготами по прокоагулянтному аллелю *A*. В 20,6% случаев

отмечена мутация еще в одном гене-кандидате тромбофилии - тромбоцитарном рецепторе фибриногена *ITGB3*; в 1,3% выявлена гомозиготная форма данной мутации. Структурные нарушения в коагуляционном факторе II протромбине *F2* наблюдались у 8 пациентов (3,5%). Минорный аллель *A* в гене *F5* выявлен в 3,1%. Мутация в генах *F2* и *F5* встречалась только в гетерозиготной форме.

**Таблица 4** - Частота носительства мутаций генов системы гемостаза у пациентов со злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации (n=223), [n (%)]

| Ген          | Гомозиготная мутация |          |                         | Гетерозиготная мутация |           |                         | Частота аллельных вариантов (n=223) |
|--------------|----------------------|----------|-------------------------|------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------------------|
|              | с ССЗ                | без ССЗ  | ССЗ в семейном анамнезе | с ССЗ                  | без ССЗ   | ССЗ в семейном анамнезе |                                     |
| <i>F2</i>    | -                    | -        | -                       | 5 (2,2)                | -         | 3 (1,3)                 | 8 (3,5)                             |
|              | -                    |          |                         | 8 (3,5)                |           |                         |                                     |
| <i>F5</i>    | -                    | -        | -                       | 5 (2,2)                | -         | 2 (0,9)                 | 7 (3,1)                             |
|              | -                    |          |                         | 7 (3,1%)               |           |                         |                                     |
| <i>F7</i>    | 1 (0,4)              | 1 (0,4)  | -                       | 17 (7,6)               | 14 (6,3)  | 7 (3,1)                 | 40 (17,9)                           |
|              | 2 (0,9)              |          |                         | 38 (17,0)              |           |                         |                                     |
| <i>F13</i>   | 4 (1,8)              | 3 (1,3)  | -                       | 40(17,9)               | 34 (15,3) | 8 (3,6)                 | 89 (39,9)                           |
|              | 7 (3,1)              |          |                         | 82 (36,8)              |           |                         |                                     |
| <i>FGB</i>   | 7 (3,1)              | -        | 2 (0,9)                 | 39 (17,5)              | 21 (9,4)  | 3 (1,3)                 | 72 (32,2)                           |
|              | 9 (4,0)              |          |                         | 63 (28,2)              |           |                         |                                     |
| <i>ITGA2</i> | 26 (11,7)            | 5 (2,2)  | 6 (2,7)                 | 45 (20,2)              | 11 (4,9)  | 6 (2,7)                 | 99 (44,4)                           |
|              | 37 (16,6)            |          |                         | 62 (27,8)              |           |                         |                                     |
| <i>ITGB3</i> | 2 (0,9)              | -        | 1 (0,4)                 | 28(12,6)               | 10 (4,5)  | 5 (2,2)                 | 46 (20,6)                           |
|              | 3 (1,3)              |          |                         | 43 (19,3)              |           |                         |                                     |
| <i>PAI-1</i> | 30(13,5)             | 16 (7,2) | 11 (4,9)                | 67 (30)                | 39 (17,5) | 18 (8,1)                | 181 (81,2)                          |
|              | 57 (25,6)            |          |                         | 124 (55,6)             |           |                         |                                     |

В целом, у 223 исследуемых отмечено 430 структурных нарушений в генах системы гемостаза: среди пациентов с сердечно-сосудистой патологией (n=109) - 316 мутаций (в среднем 2,9 мутаций/пациента), в контрольной группе (n=81) - 154 (1,9/пациента), в группе пациентов с ССЗ в семейном анамнезе (n=33) - 72 (2,2/пациента).

Ассоциация с ИМ прослежена в отношении полиморфных маркеров генов: *F5* (коагуляционный фактор V), *PAI-1* (ингибитор активатора плазминогена), *FGB* (фибриноген), *ITGA2* (интегрин-альфа 2) и *ITGB3* (тромбоцитарный рецептор фибриногена) (Таблица 5).

**Таблица 5** - Частота встречаемости полиморфизмов системы гемостаза у пациентов с опухолями торакоабдоминальной локализации и перенесенным ИМ, [n (%)]

| Группа                                       | <i>F2</i> | <i>F5</i> | <i>F7</i> | <i>F13</i> | <i>FGB</i> | <i>ITGA2</i> | <i>ITGB3</i> | <i>PAI-1</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| Частота гомозиготного носительства мутации   |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | -         | -         | 1 (1,6)   | 3 (4,8)    | 6(9,7)     | 15(24,2)     | -            | 22 (35,5)    |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 1 (1,2)   | 3 (3,7)    | -          | 5 (6,2)      | -            | 16 (19,8)    |
| <i>p</i>                                     | -         | -         | 0,849     | 0,738      | 0,005      | 0,003        | -            | 0,035        |
| Частота гетерозиготного носительства мутации |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 2 (3,2)   | 3 (4,8)   | 10(16,1)  | 23(37,1)   | 24(38,7)   | 26(41,9)     | 16 (25,8)    | 34 (54,8)    |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 14 (17,3) | 34 (42,0)  | 21 (25,9)  | 11 (13,6)    | 10 (12,4)    | 39 (48,2)    |
| <i>p</i>                                     | 0,104     | 0,046     | 0,855     | 0,555      | 0,103      | <0,001       | 0,039        | 0,428        |
| Общая частота носительства полиморфизмов     |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 2 (3,2)   | 3 (4,8)   | 11 (17,7) | 26 (41,9)  | 30(48,4)   | 41 (66,1)    | 16 (25,8)    | 56 (90,3)    |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 15 (18,5) | 37 (45,7)  | 21 (25,9)  | 16 (19,8)    | 10 (12,4)    | 55 (67,9)    |
| <i>p</i>                                     | 0,104     | 0,046     | 0,906     | 0,655      | 0,006      | <0,001       | 0,039        | 0,002        |



В группе пациентов, перенесших венозный тромбоз/ТЭЛА, статистически достоверная разница в частоте носительства полиморфизмов генов системы гемостаза в сравнении с больными без ССЗ достигнута в отношении ОНП G/A гена *F5*, C/T гена *ITGA2*, T/C гена *ITGB3* и 4G/5G гена *PAI-1* (Таблица 6).

**Таблица 6** - Частота встречаемости ОНП системы гемостаза у пациентов с опухолями торакоабдоминальной локализации и перенесенным венозным тромбозом/ТЭЛА, [n (%)]

| Группа                                       | <i>F2</i> | <i>F5</i> | <i>F7</i> | <i>F13</i> | <i>FGB</i> | <i>ITGA2</i> | <i>ITGB3</i> | <i>PAI-1</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| Частота гомозиготного носительства мутации   |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | -         | -         | -         | 3 (7,5)    | 1 (2,5)    | 9 (22,5)     | 2 (5)        | 11 (27,5)    |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 1 (1,2)   | 3 (3,7)    | -          | 5 (6,2)      | -            | 16 (19,8)    |
| <i>p</i>                                     | -         | -         | 0,481     | 0,366      | 0,154      | 0,009        | 0,043        | 0,336        |
| Частота гетерозиготного носительства мутации |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 1 (2,5)   | 2 (5)     | 6 (15)    | 21 (52,5)  | 15 (37,5)  | 15 (37,5)    | 8 (20)       | 23 (57,5)    |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 14(17,3)  | 34 (42)    | 21(25,9)   | 11(13,6)     | 10(12,4)     | 39 (48,1)    |
| <i>p</i>                                     | 0,154     | 0,043     | 0,751     | 0,275      | 0,191      | 0,003        | 0,266        | 0,333        |
| Общая частота носительства полиморфизмов     |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 1(2,5)    | 2 (5)     | 6 (15)    | 24 (60)    | 16(40)     | 24 (60)      | 10 (25)      | 34 (85)      |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 15(18,5)  | 37(45,7)   | 21(25,9)   | 16(19,8)     | 10(12,4)     | 55(67,9)     |
| <i>p</i>                                     | 0,154     | 0,043     | 0,631     | 0,139      | 0,114      | <0,001       | 0,078        | 0,045        |

Анализ результатов диагностики показал ассоциацию ишемического инсульта с полиморфизмами в генах *F2*, *ITGA2*, *ITGB3* (Таблица 7).

**Таблица 7 - Частота встречаемости ОНП системы гемостаза у пациентов с опухолями торакоабдоминальной локализации и перенесенным ОНМК, [n (%)]**

| Группа                                       | <i>F2</i> | <i>F5</i> | <i>F7</i> | <i>F13</i> | <i>FGB</i> | <i>ITGA2</i> | <i>ITGB3</i> | <i>PAI-1</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| Частота гомозиготного носительства мутации   |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | -         | -         | -         | 1 (4,2)    | 1 (4,2)    | 9 (37,5)     | -            | 5 (20,8)     |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 1 (1,2)   | 3 (3,7)    | -          | 5 (6,2)      | -            | 16 (19,8)    |
| <i>p</i>                                     | -         | -         | 0,585     | 0,918      | 0,065      | <0,001       | -            | 0,908        |
| Частота гетерозиготного носительства мутации |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 2 (8,3)   | 1(4,2)    | 4 (16,7)  | 6 (25)     | 9 (37,5)   | 6 (25)       | 7 (29,2)     | 12 (50)      |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 14(17,3)  | 34 (42)    | 21(25,9)   | 11(13,6)     | 10(12,4)     | 39 (48,1)    |
| <i>p</i>                                     | 0,009     | 0,065     | 0,944     | 0,133      | 0,271      | 0,183        | 0,05         | 0,874        |
| Общая частота носительства полиморфизмов     |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 2 (8,3)   | 1(4,2)    | 4 (16,7)  | 7 (29,2)   | 10(41,7)   | 15(62,5)     | 7 (29,2)     | 17 (70,8)    |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 15(18,5)  | 37(45,7)   | 21(25,9)   | 16(19,8)     | 10 (12,4)    | 55 (67,9)    |
| <i>p</i>                                     | 0,009     | 0,065     | 0,837     | 0,150      | 0,138      | <0,001       | 0,05         | 0,786        |

В группе больных с ССЗ в семейном анамнезе статистически значимая разница относительно контрольной группы выявлена в отношении ОНП генов *F2*, *F5*, *F13*, *FGB*, *ITGA2*, *PAI-1* (Таблица 8).

В проведенном исследовании у всех пациентов с перенесенным ИМ и венозным тромбозом/ТЭЛА и в 92% случаев среди пациентов, перенесших ишемический инсульт, отмечено наличие в генотипе нескольких прокоагулянтных полиморфизмов; в группе пациентов без ССЗ синергизм прокоагулянтных мутаций составил только 53%, ( $\chi^2=39,61$ ,  $p<0,001$ ;  $\chi^2=27,357$ ,  $p<0,001$ ;  $\chi^2=11,685$ ,  $p<0,001$ , соответственно).

**Таблица 8 - Частота встречаемости ОНП системы гемостаза у пациентов с опухолями торакоабдоминальной локализации и сердечно-сосудистой патологией в семейном анамнезе**

| Группа                                       | <i>F2</i> | <i>F5</i> | <i>F7</i> | <i>F13</i> | <i>FGB</i> | <i>ITGA2</i> | <i>ITGB3</i> | <i>PAI-1</i> |
|--|-----------|-----------|-----------|------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| Частота гомозиготного носительства мутации   |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | -         | -         | -         | -          | 2 (6,1)    | 6 (18,2)     | 1 (3,0)      | 11 (33,3)    |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 1 (1,2)   | 3 (3,7)    | -          | 5 (6,2)      | -            | 16 (19,8)    |
| <i>p</i>                                     | -         | -         | 0,522     | 0,263      | 0,026      | 0,049        | 0,116        | 0,122        |
| Частота гетерозиготного носительства мутации |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 3(9,1)    | 2(6,1)    | 7 (21,2)  | 8 (24,2)   | 3 (9,1)    | 6 (18,2)     | 5 (15,2)     | 18(54,6)     |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 14(17,3)  | 34 (42)    | 21(25,9)   | 11(13,6)     | 10(12,4)     | 39(48,1)     |
| <i>p</i>                                     | 0,006     | 0,026     | 0,624     | 0,076      | 0,046      | 0,532        | 0,688        | 0,536        |
| Общая частота носительства полиморфизмов     |           |           |           |            |            |              |              |              |
| Исследуемая группа                           | 3(9,1)    | 2(6,1)    | 7 (21,2)  | 8 (24,2)   | 5 (15,6)   | 12(36,4)     | 6 (18,2)     | 29(87,9)     |
| Контрольная группа                           | -         | -         | 15(18,5)  | 37(45,7)   | 21(25,9)   | 16(19,8)     | 10(12,4)     | 55(67,9)     |
| <i>p</i>                                     | 0,006     | 0,026     | 0,742     | 0,034      | 0,214      | 0,062        | 0,416        | 0,029        |

В группе больных с отягощённым по ССЗ семейным анамнезом данный показатель отмечен в 72,7% случаев; разница относительно контрольной группы статистически не достоверна, ( $\chi^2=3,733$ ,  $p=0,054$ ).

### Выводы

1. Во всей группе анализируемых больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации российской популяции ( $n=223$ ) носительство полиморфизмов в генах системы гемостаза составило: *FII G20210A*- 3,5%; *FV G1691A (Arg506Gln)* - 3,1%; *FVII G10976A (Arg353Gln)* - 17,9%; *FXIII G103T (Val34Leu)* - 39,9%; *FGB G(-455)A* - 32,2%; *ITGA2 C807T (Phe224Phe)* - 44,4%; *ITGB3 T1565C (Leu33Pro)* - 20,6%; *SERPINE1 (PAI-I) (4G(-675)5G)* - 81,2%.

2. У больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации, перенесших инфаркт миокарда, в сравнении с контрольной группой чаще выявлены полиморфизмы в генах *F5*, *FGB*, *ITGA2*, *ITGB3*, *PAI-1* ( $p < 0,05$ ), перенесших венозный тромбоз/эмболизм - в генах *F5*, *ITGA2*, *ITGB3*, *PAI-1* ( $p < 0,05$ ), ишемический инсульт - в генах *F2*, *ITGA2*, *ITGB3* ( $p < 0,05$ ).

3. Синергизм генетических факторов тромбоза достоверно чаще отмечен в группе больных перенесших ИМ, ОНМК и венозный тромбоз/эмболизм по сравнению с контрольной группой, ( $p < 0,05$ ).

4. Среди больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации статистически значимый риск развития: инфаркта миокарда ассоциирован с носительством генотипов *GA* (ген *F5*), *AA* (ген *FGB*), *CT* и *TT* (ген *ITGA2*), *TC* (ген *ITGB3*), *4G/4G* (ген *PAI-1*), ( $p < 0,05$ ), ишемического инсульта - *GA* (ген *F2*), *TT* (ген *ITGA2*), *TC* (ген *ITGB3*), ( $p < 0,05$ ), венозного тромбоза - *GA* (ген *F5*), *CT* и *TT* (ген *ITGA2*) и *CC* (ген *ITGB3*), ( $p < 0,05$ ).

5. Носительство мутаций в генах *F2*, *F5*, *FGB*, *ITGA2*, *PAI-1* у оперированных больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации с ССЗ в семейном анамнезе статистически значимо выше, а в гене *F13* статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой, ( $p < 0,05$ ).

### **Практические рекомендации**

Учитывая результаты проведённого исследования, с целью оценки риска развития и профилактики сердечно-сосудистых осложнений в периоперационном периоде больным злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации, перенесшим ИМ, ишемический инсульт, венозный тромбоз/ТЭЛА, а также пациентам без сердечно-сосудистой патологии, но имеющим ССЗ в семейном анамнезе, целесообразно проведение ДНК-диагностики для выявления маркеров тромбофилии.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Королёва, А.А.** Роль полиморфизмов генов свертывающей системы крови в развитии инфаркта миокарда у пациентов со злокачественными

опухолями торакоабдоминальной локализации / А.А. Королёва, С.С. Герасимов, П.В. Кононец, Л.Н. Любченко // Современная онкология. — 2020. — Т. 22, № 4. — С. 66-70. (Журнал ВАК).

2. **Королёва, А.А.** Оценка роли полиморфизмов генов системы гемостаза в развитии венозного тромбоза и тромбоземболии легочной артерии в периоперационном периоде у пациентов со злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации / А.А. Королёва, С.С. Герасимов, П.В. Кононец, Л.Н. Любченко // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. — 2021. — Т. 9, № 1. — С. 55-62. (Журнал ВАК).

3. **Королёва, А.А.** Молекулярно-генетические детерминанты артериального тромбоза у больных злокачественными опухолями торакоабдоминальной локализации А.А. Королёва, С.С. Герасимов, Л.Н. Любченко // MD-ONCO. — 2022. — Т. 2, № 4. — С. 46-55.