

© Коллектив авторов, 2020
УДК 617.3
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15019>
ISSN – 2073-8137

ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ТРОМБОЦИТАРНЫХ ИНТЕГРИНОВ (ITG α 2, ITG β 3) В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕТРАВМАТИЧЕСКОГО АСЕПТИЧЕСКОГО НЕКРОЗА ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

М. А. Панин ¹, Н. В. Загородний ¹, Л. М. Самоходская ², А. В. Бойко ¹

¹ Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

² Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Российская Федерация

THE ROLE OF THE GENETIC POLYMORPHISM OF THROMBOCYTE INTEGRINS (ITG α 2, ITG β 3) IN THE PATHOGENESIS OF NON-TRAUMATIC ASEPTIC NECROSIS OF THE FEMORAL HEAD

Panin M. A. ¹, Zagorodniy N. V. ¹, Samohodskaya L. M. ², Boiko A. V. ¹

¹ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

² M. V. Lomonosov Moscow State University, Russian Federation

Для изучения вклада полиморфизма генов интегрин тромбоцитов (ITG α 2, ITG β 3) в генез нетравматического асептического некроза головки бедренной кости проведен сравнительный анализ частоты встречаемости значимых аллельных вариантов генов интегрин ITG α 2 и ITG β 3 у 41 пациента с верифицированным диагнозом асептического некроза головки бедренной кости и у 320 здоровых пациентов. Установлено, что частота встречаемости гомозиготного генотипа TT гена ITG α 2 у больных асептическим некрозом головки бедренной кости была в 6,5 раза выше, чем в контрольной группе. Частота обнаружения аллеля С в гене ITG β 3 была также достоверно выше у больных остеонекрозом: 41,5 % против 27,5 % в контрольной группе. Статистически достоверные различия были выявлены в частоте встречаемости гомозиготного генотипа СС гена ITG β 3: 4,9 % в основной группе против 1,6 % в контрольной. Выявленные генетические особенности могут указывать на значение полиморфизма генов ITG α 2 и ITG β 3 в патогенезе асептического некроза головки бедренной кости. В качестве «генов предрасположенности» асептического некроза головки бедренной кости следует рассматривать генотипы TT гена ITG α 2 и СС гена ITG β 3 и, особенно, их сочетание.

Ключевые слова: асептический некроз головки бедренной кости, аваскулярный некроз, патогенез нетравматического некроза, полиморфизмы генов интегрин тромбоцитов, гены предрасположенности

In order to estimate the role of platelet ITG α 2 and ITG β 3 genes' polymorphisms in avascular necrosis of femoral head a comparative analysis of the frequency of allelic variants of ITG α 2 and ITG β 3 integrin genes was carried out in 41 patients and in 320 healthy subjects. It was found that the frequency of the homozygous TT genotype of the ITG α 2 gene in patients with aseptic necrosis of the femoral head was 6.5 times higher than in the control group. The detection rate of the C allele in the ITG β 3 gene was also significantly higher in patients with osteonecrosis: 41.5 % vs 27.5 % in the control group. Statistically significant differences were also found in the frequency of the homozygous SS genotype of the ITG β 3 gene: 4.9 % in the main group vs 1.6 % in the control group. The identified genetic characteristics may indicate the importance of the genes ITG α 2 and ITG β 3 polymorphism in the pathogenesis of aseptic necrosis of the femoral head. As the «predisposition genes» for aseptic necrosis of the femoral head, TT genotypes of the ITG α 2 gene and CC of the ITG β 3 gene and, especially, their combination should be considered.

Keywords: aseptic necrosis of the femoral head, avascular necrosis, pathogenesis retraumatization necrosis, integrins polymorphisms of platelet, genes predisposition

Для цитирования: Панин М. А., Загородний Н. В., Самоходская Л. М., Бойко А. В. ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ТРОМБОЦИТАРНЫХ ИНТЕГРИНОВ (ITG α 2, ITG β 3) В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕТРАВМАТИЧЕСКОГО АСЕПТИЧЕСКОГО НЕКРОЗА ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(1):84-87.
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15019>

For citation: Panin M. A., Zagorodniy N. V., Samohodskaya L. M., Boiko A. V. THE ROLE OF THE GENETIC POLYMORPHISM OF THROMBOCYTE INTEGRINS (ITG α 2, ITG β 3) IN THE PATHOGENESIS OF NON-TRAUMATIC ASEPTIC NECROSIS OF THE FEMORAL HEAD. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(1):84-87.
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15019> (In Russ.)

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
НАН – нетравматический асептический некроз
ПЦР – полимеразная цепная реакция
GPIIIa – тромбоцитарный гликопротеин IIIa

GPIIb – тромбоцитарный гликопротеин IIb
ITGα2 – интегрин альфа-2
ITGβ3 – интегрин бета-3

По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире ежегодно фиксируются около 150 тысяч случаев заболеваемости асептическим некрозом головки бедренной кости нетравматического генеза. Нетравматический асептический некроз (НАН) головки бедренной кости наиболее часто встречается у молодых мужчин в возрасте от 20 до 50 лет [1, 2]. Известны многие этиологические факторы НАН головки бедренной кости: продолжительное использование глюкокортикостероидов, хронический алкоголизм, серповидноклеточная анемия, системные аутоиммунные заболевания (системная красная волчанка), болезнь Легга – Кальве – Пертеса (остеохондропатия головки бедренной кости), ионизирующее излучение, цитостатики [3, 4]. Реже в качестве факторов риска НАН рассматриваются ВИЧ-инфекция, гиперлипидемия, панкреатит, подагра, болезнь Гоше (сфинголипидоз), высотная болезнь [3, 4]. Известно, что НАН головки бедренной кости может наблюдаться и в отсутствие приведенных выше факторов (идиопатический некроз). В качестве причин развития идиопатического некроза рассматривают стеноз и/или спазм артерий, тромбоз, экстравазкулярное сдавление [5].

В развитии ишемических расстройств любой локализации определенную роль играет сочетание генетической предрасположенности с нарушениями гемодинамики и факторов внешней среды. У многих пациентов с НАН головки бедренной кости выявляются наследственно обусловленные нарушения ангиогенеза, гиперкоагуляция, гемоглобинопатии, сдвиги оксидативного гомеостаза [6, 7]. В связи с этим можно предположить роль в развитии НАН наследственных аномалий, способствующих активации прокоагулянтной и тромбоцитарной звеньев гемостаза.

В процессе адгезии тромбоциты взаимодействуют с белками плазмы за счет наличия специфических рецепторов, относящихся к гетеродимерным белкам-интегринам. Присутствие на поверхности тромбоцитов рецепторов (комплекс белков-интегринов) обеспечивает процесс агрегации.

Одним из рецепторов, экспрессирующихся на мембранах клеток и формирующих комплексы с белками крови, является мембранный гликопротеин интегрин альфа-2 (ITGα2), который кодируется геном ITGα2 (локализуется на хромосоме 5q11.2). Продемонстрирована четкая взаимосвязь высокого риска ишемического инсульта (особенно в молодом возрасте), инфаркта миокарда, а также тромбоэмболии с наличием аллеля T гена ITGα2 [8, 9].

Рецептором, кодирующим белок бета-3-интегрин (ITGβ3) – мембранный тромбоцитарный гликопротеин IIIa, является интегрин ITGβ3, расположенный на хромосоме 17q21.32. Комплекс тромбоцитарных гликопротеинов GPIIIa и GPIIb на мембране тромбоцитов представляет собой тромбоцитарный рецептор фибриногена, фактора Виллебранда и фибронектина [10]. При повреждении сосудистой стенки тромбоциты активно взаимодействуют с фибриногеном плазмы крови. Результатом данного процесса является агрегация тромбоцитов. У носителей аллеля C ITGβ3 тромбоциты характеризуются повышенной склонностью к

адгезии, вследствие чего у них значительно повышен риск тромбозов (инфаркта миокарда, тромбоэмболий); беременные женщины – носительницы данной аллели входят в группу риска тромбоза сосудов плаценты как причины невынашивания беременности [11, 12, 13]. Данный маркер информативен при оценке эффективности терапии аспирином качестве антиагреганта: у пациентов с генотипами T/C и C/C (в присутствии аллеля C) эффективность применения аспирина ниже [14].

Целью настоящего исследования явилось изучение вклада полиморфизма генов интегринов тромбоцитов (ITGα2, ITGβ3) в развитие нетравматического асептического некроза головки бедренной кости.

Материал и методы. Проведен сравнительный анализ частоты встречаемости значимых аллельных вариантов генов интегринов ITGα2 и ITGβ3 у пациентов с верифицированным диагнозом НАН (основная группа) и у здоровых пациентов (контрольная группа).

Проведение данного исследования было одобрено этическим комитетом кафедры травматологии и ортопедии РУДН. До начала исследования все пациенты дали письменное информированное согласие на участие.

Было обследовано 41 больной (все – мужчины) с НАН головки бедренной кости. В данную группу вошли пациенты с неясной причиной заболевания, которое клинически манифестировало в возрасте от 27 до 45 лет. Критериями исключения являлись: алкоголизм, длительный прием кортикостероидов, системные заболевания соединительной ткани, заболевания крови и прочие известные этиологические факторы НАН [15]. Стаж заболевания варьировал от 1 до 20 лет. У 24 из 41 пациента основной группы 1–10 лет назад было проведено одно-двустороннее тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава в связи со вторичным артрозом на фоне НАН 3–4 ст. Пятнадцать пациентов с НАН головки бедренной кости 3 ст. готовятся к аналогичной операции. Два больных (НАН 3 ст.) получают консервативное лечение в связи с отказом от хирургического вмешательства.

Характеризуя семейный анамнез пациентов с НАН головки бедренной кости, необходимо отметить высокий процент (61) сердечно-сосудистых заболеваний (инсульт, инфаркт, острый тромбоз) у ближайших родственников (мать/отец): у 25 из 41 пациента основной группы, причем в 13 случаях сердечно-сосудистые заболевания имели место у обоих родителей, у 6 – с летальным исходом. 12 пациентов основной группы имели артериальную гипертензию 1–3 ст., 6 – варикозную болезнь вен нижних конечностей, у 3 в анамнезе был острый тромбофлебит, потребовавший хирургического вмешательства, у 3 – коагулопатии (гиперфибриногемии), требующие перманентной медикаментозной коррекции. В контрольную группу вошли 320 мужчин аналогичной возрастной категории (25–45 лет) – военнослужащих, обследованных при профилактических осмотрах [16]. Ни у одного из пациентов контрольной группы не было выявлено клинических проявлений заболеваний тазобедренных суставов. В программу обследования было включено исследование полиморфизма генов интегринов тромбоцитов – ITGα2 и ITGβ3.

В процессе молекулярно-генетического исследования производилось выделение геномной ДНК.

Детекцию аллелей исследуемых генов осуществляли в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя методом real-time-ПЦР с использованием амплификатора ДТ-96 (ДНК Технология, Россия) тест-системами для ПЦР анализа того же производителя.

Статистическая обработка полученных данных включала сопоставление результатов в основной и контрольной группах. Достоверность различий определялась с использованием программы STATISTICA путем подсчета значений P по точному двустороннему тесту Фишера.

Результаты и обсуждение. Частота встречаемости аллелей гена ITGα2 у пациентов с НАН головки бедренной кости (основная группа) составила: CC – 36,6 %, CT – 53,6 %, TT – 9,8 %. В контрольной группе частоты аллелей данного гена распределились следующим образом: CC – 46,3 %, CT – 52,2 %, TT – 1,5 %. Были проанализированы частоты встречаемости аллеля T гена ITGα2 у больных НАН и у здоровых людей. Аллель T выявлен у 63,4 % пациентов основной группы, что было несколько выше, чем в контрольной (53,7 %), но различия оказались статистически не достоверны. То есть не нашло подтверждения предположение о значимости аллеля T гена ITGα2 в качестве одного из предикторов асептического некроза головки бедренной кости. Достоверные различия ($p < 0,05$) были выявлены в частотах встречаемости гомозиготного генотипа (TT) в основной и контрольной группах (рис. 1).

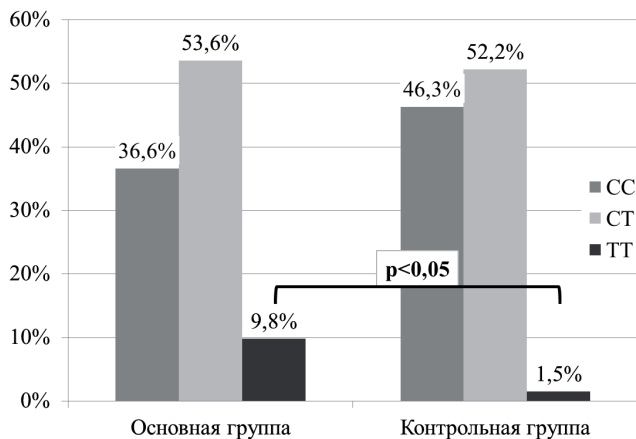


Рис. 1. Частота встречаемости различных генотипов ITGα2 у пациентов основной и контрольной групп

Повышенная более чем в 6,5 раза (по сравнению с контрольной группой) частота встречаемости гомозиготного генотипа TT гена ITGα2 у больных асептическим некрозом головки бедренной кости, вероятно, свидетельствует о высокой значимости нарушений гемостаза в генезе данного заболевания. Носительство аллеля TT гена ITGα2 рассматривается как прогностически неблагоприятное в отношении «сосудистых катастроф» любой локализации [17].

В основной группе носителями прогностически неблагоприятного гомозиготного генотипа TT гена ITGα2 являлись 4 пациента. Важно отметить, что у всех этих пациентов заболевание характеризовалось ранней манифестацией (в возрасте 28–31 год), тогда как в

целом по группе средний возраст клинической манифестации НАН составил $36,7 \pm 4,8$ лет.

Анализ частоты полиморфизма гена ITGβ3 проводился с учетом того, что, по данным литературы, носительство аллеля C ITGβ3 – фактор, предрасполагающий к повышенной агрегации тромбоцитов и соответственно к тромбообразованию и сосудистой патологии [11]. Нами подтверждены данные о значимой роли аллеля C и генотипа CC в патогенезе НАН головки бедренной кости. Так, частота обнаружения аллеля C была достоверно выше у больных НАН: 41,5 % против 27,5 % в контрольной группе. Статистически достоверные различия были выявлены также в частоте встречаемости гомозиготного генотипа CC: 4,9 % в основной группе против 1,6 % в контрольной (рис. 2).

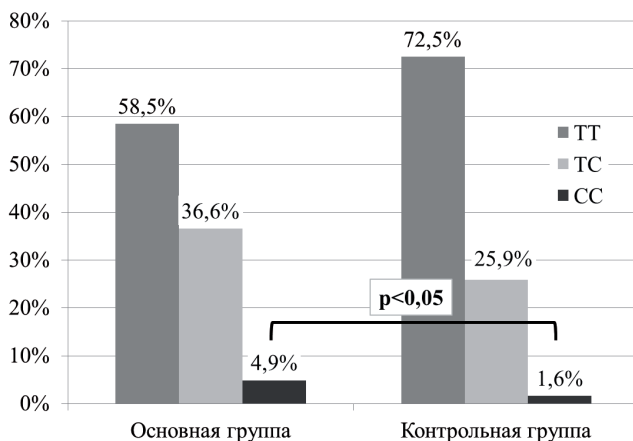


Рис. 2. Частота встречаемости различных генотипов ITGβ3 у пациентов основной и контрольной групп

При сопоставлении «прогностически неблагоприятных» генотипов ITGα2 (наличие аллеля T) и ITGβ3 (наличие аллеля C) с клинико-анамнестическими данными больных с НАН головки бедренной кости оказалось, что больных, являющихся носителями одновременно аллеля T гена ITGα2 и аллеля C гена ITGβ3, в настоящем исследовании выявлено 8 (19,5 %). При изучении семейного анамнеза установлено, что у обоих родителей всех восьми больных (100 %) имели место тяжелые сердечно-сосудистые заболевания (инфаркт миокарда, инсульт, острый тромбоз), причем у половины – с летальным исходом. Частотаотягощенного семейного анамнеза в целом по основной группе составляла 68,3 %. Вероятно, наличие сердечно-сосудистых заболеваний у близких родственников большинства больных с НАН можно рассматривать как одно из свидетельств наследственной предрасположенности к тромбообразованию.

Заключение. Результаты проведенного молекулярно-генетического исследования продемонстрировали значимость полиморфизмов генов ITGα2 и ITGβ3 в патогенезе асептического некроза головки бедренной кости. В качестве «генов предрасположенности» НАН головки бедренной кости следует рассматривать генотипы TT гена ITGα2 и CC гена ITGβ3 и, особенно, их сочетание.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

- Shannon B. D., Trousdale R. T. Femoral osteotomies for avascular necrosis of the femoral head. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2004;418:34-40.
- DeSmet A. A., Dalinka M. K., Alazraki N. P. [et al.]. Expert Panel on Musculoskeletal Imaging. Avascular necrosis of the hip. VA: American College of Radiology (ACR), 2005.

- Mont M. A., Marulanda G. A., Jones L. C. [et al.]. Systematic analysis of classification systems for osteonecrosis of the femoral head. *J. Bone Joint Surg.* 2006;88(3):16-26. <https://doi.org/10.2106/JBJS>
- Панин М. А., Загородний Н. В., Карчевный Н. Н. [и др.]. Современный взгляд на патогенез нетравматического остеонекроза. *Вестник травматологии и ортопедии*

