

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ

На правах рукописи

Лугачёва Юлия Геннадьевна

**ВЗАИМОСВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ
ПОЛИМОРФИЗМОВ С СОСТОЯНИЕМ ТРОМБОЦИТАРНОГО И
ПЛАЗМЕННОГО ЗВЕНЬЕВ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С
ФУНКЦИОНАЛЬНО ЕДИНСТВЕННЫМ ЖЕЛУДОЧКОМ СЕРДЦА**

14.01.05 – кардиология

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
д-р мед. наук, профессор И.А. Ковалёв
канд. мед. наук, И.В. Кулагина

Томск – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Гемодинамическая коррекция врожденных пороков сердца с функционально единственным желудочком.....	13
1.2. Современная модель развития тромбофилических состояний.....	19
1.3. Особенности функционального состояния системы гемостаза у детей.....	33
1.4. Тромбозы у детей с врожденными пороками сердца.....	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
2.1. Характеристика групп исследования.....	42
2.2. Материал исследования.....	44
2.3. Методы исследования.....	44
2.4. Методы статистической обработки результатов.....	54
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	56
3.1. Распределение полиморфных вариантов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с ФЕЖС и практически здоровых детей.....	56
3.2. Распределение полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС и практически здоровых детей.....	65
3.3. Характеристика основных показателей системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС и практически здоровых детей.....	72
3.4. Фенотипические проявления полиморфизма протромбогенных факторов системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС.....	76
3.5. Результаты генетического исследования тромбоцитарных рецепторов и агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ФЕЖС.....	79
3.6. Уровень гомоцистеина в плазме крови у пациентов с ФЕЖС в зависимости от носительства полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла.....	83
3.7. Факторы риска тромботических осложнений у пациентов с ФЕЖС.....	89

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	106
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	122
ВЫВОДЫ.....	125
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	126
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	127

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфат

АПС – активированный протеин С

АПС-Р – резистентность к активированному протеину С

АТ III – антитромбин III

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ВПС – врожденный порок сердца

ГГЦ – гипергомоцистеинемия

ГК – гемодинамическая коррекция

ДКПС – двунаправленное cavoпyльмональное соединение

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЕЖС – единственный желудочек сердца

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ЛА – легочная артерия

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

МБТШ – модифицированный Блелок-Тауссинг шунт

МНО – международное нормализованное отношение

ПЖ – правый желудочек

ПС – протеин С

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РФМК – растворимые фибрин – мономерные комплексы

СН – сердечная недостаточность

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТГВ – тромбоз глубоких вен

ТКПС – тотальное cavoпyльмональное соединение

ТМ – тромбомодулин

ТФ – тканевой фактор, фактор III

ФВ – фактор фон Виллебранда

ФЕЖС – функционально единственный желудочек сердца

F II – коагуляционный фактор II, протромбин

F V – коагуляционный фактор V, проакцелерин

F VII – коагуляционный фактор VII, проконвертин

F XIII – коагуляционный фактор XIII, фибринстабилизирующий фактор

FGB – коагуляционный фактор I, фибриноген

GP – гликопротеин

ITGA2 – тромбоцитарный рецептор к коллагену

ITGB3 – тромбоцитарный рецептор к фибриногену

MTHFR – метилентетрагидрофолатредуктаза

MTR – B₁₂-зависимая метионинсинтаза

MTRR – метионинсинтазаредуктаза

NO – оксид азота

OR – коэффициент «отношение шансов»

PAI -1 – ингибитор активатора плазминогена I типа

RR – коэффициент «относительного риска»

SNP – однонуклеотидный полиморфизм

SpO₂ – насыщение крови кислородом

t-PA – тканевой активатор плазминогена

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В настоящее время в Российской Федерации (РФ) отмечается рост распространенности, заболеваемости и смертности от болезней сердца и сосудов у детей и подростков. Данные статистики РФ за 2016 г. показывают, что распространенность врожденных пороков сердца (ВПС) по сравнению с 2014 г. увеличилась у детей до 14 лет включительно на 11,2%, у подростков — на 7,4 %. Врожденные пороки системы кровообращения по-прежнему являются одним из факторов, определяющих младенческую смертность. В 2015 году смертность от этих причин составила 6,36 на 10 000 родившихся живыми [6].

К критическим аномалиям развития сердца относится широкий спектр пороков с функционально единственным желудочком сердца (ФЕЖС), которые составляют около 5% всех случаев ВПС. Единственный желудочек сердца — это врожденные дефекты с большим спектром анатомических нарушений, которые требуют последовательных стадий хирургических вмешательств [28].

Несмотря на достижения последних десятилетий в области кардиохирургии ВПС, интервенционной кардиологии и терапии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) у детей, имеются проблемы, решения которых может способствовать снижению смертности от данных заболеваний и их осложнений.

Одной из сложных проблем хирургического лечения пациентов с ФЕЖС на этапах гемодинамической коррекции (ГК) является развитие тромбозов различной локализации. Венозные тромбозы и тромбоэмболии приводят к развитию ишемических инсультов, хилоторакса, фибрилляции предсердий и в 25% случаев являются причиной летального исхода у пациентов с ФЕЖС [83; 135; 193; 199].

Исследованию полиморфных вариантов генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии у взрослых, посвящено много работ отечественных и зарубежных авторов [24; 26; 30; 35; 47; 50; 88; 106; 157; 168; 194]. Однако значение молекулярно-генетических исследований у детей в развитии тромбофилических состояний освещено недостаточно [1; 16; 22; 45; 129; 191;

204], особенно у детей с сердечно-сосудистыми заболеваниями [121; 160; 177; 195].

Актуальным является исследование полиморфизма генов системы гемостаза для оценки риска развития тромботических осложнений при лечении детей с врожденными и приобретенными заболеваниями сердца. Сочетание ВПС с наследственными или приобретенными аномалиями свертывающей системы является одним из этиологических факторов развития фатальных осложнений у детей с сердечно-сосудистой патологией, в том числе у успешно прооперированных пациентов.

Степень разработанности темы исследования

Дети с оперированными и неоперированными врожденными пороками сердца, в том числе с функционально единственным желудочком сердца, имеют повышенный риск тромботических осложнений на этапах проведения хирургической коррекции порока. Эти осложнения ассоциируются с высокой смертностью, сводя на нет успехи хирургического вмешательства и терапевтического лечения. Оценка функционального состояния системы свертывания у данной группы пациентов основывается на результатах общепринятых в клинической практике гемостазиологических тестов. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов плазменного и тромбоцитарного звена гемостаза позволяет дать персонализированную оценку риска развития тромботических осложнений. С целью исследования дополнительных протромботических факторов риска необходимо проводить определение полиморфизма генов системы гемостаза и генов ферментов фолатного цикла, определение содержания гомоцистеина в плазме крови, а также функционального состояния системы гемостаза.

Раннее выявление возможных факторов риска тромботических осложнений, а также планирование антитромботической терапии и профилактики позволит уменьшить частоту тромбозов у пациентов, находящихся на этапах хирургической коррекции порока, и значительно улучшить общий прогноз у детей с врожденными пороками сердца.

Цель исследования

Определить встречаемость протромботических полиморфных вариантов генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, исследовать их взаимосвязь с состоянием системы гемостаза и развитием тромботических осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

Задачи исследования:

1. Оценить распределение полиморфных вариантов генов системы гемостаза, ассоциированных с риском развития тромбофилии: *FII* (фактор II), *FV* (фактор V), *FVII* (фактор VII), *FXIII* (фактор XIII), *FGB* (фактор I), *ITGA2* (рецептор тромбоцитов к коллагену), *ITGB3* (рецептор тромбоцитов к фибриногену), *PAI-1* (ингибитор активатора плазминогена I типа) у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.
2. Выявить встречаемость полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR* (метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTR* (B₁₂-зависимой метионинсинтазы), *MTRR* (метионинсинтазыредуктазы) у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.
3. Изучить состояние системы гемостаза у пациентов с функционально единственным желудочком сердца до выполнения тотального кавопульмонального соединения.
4. Установить взаимосвязь генетически обусловленных факторов тромбогенного риска с развитием тромботических осложнений на этапах хирургической коррекции врожденного порока сердца у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

Научная новизна

Впервые у пациентов с функционально единственным желудочком сердца проведено молекулярно-генетическое исследование, направленное на выявление полиморфных вариантов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, ассоциированных с повышенным риском развития тромбофилических состояний. Определена распространенность генотипов и аллелей полиморфизмов *FII*: 20210 G>A, *FV*: 1691 G>A, *FVII*: 10976 G>A, *FXIII*: 163 G>T, *FGB*: -455 G>A,

ITGA2:807 C>T, *ITGB3: 1565T>C*, *PAI-1: - 675 5G>4G*. В исследовании установлено, что носительство гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* в группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца ассоциировано с риском развития тромбоза. В группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца с тромбозом статистически значимо преобладал *GG* генотип гена фактора *VII*.

Установлена взаимосвязь носительства полиморфных вариантов генов *FVII* и *PAI-1* с концентрацией фактора *VII* и *PAI-1* в плазме крови у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

Впервые у пациентов с функционально единственным желудочком сердца проанализированы особенности распределения полиморфных вариантов исследуемых генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR 677 C>T*, *MTHFR 1298 A>C*, *MTR 2756 A>G*, *MTRR 66 A>G*. У носителей *TT* генотипа гена фермента *MTHFR C677T* выявлена взаимосвязь с повышением уровня гомоцистеина в плазме крови.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные результаты молекулярно-генетического анализа полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла могут быть использованы для прогнозирования риска, своевременной профилактики и коррекции терапии тромботических осложнений у пациентов с функционально единственным желудочком сердца на этапах хирургического лечения в комплексе с существующими алгоритмами диагностики и лечения врожденного порока сердца. С целью предупреждения развития сосудистых событий у пациентов с функционально единственным желудочком на этапах гемодинамической коррекции врожденного порока сердца следует осуществлять генетическое исследование полиморфных вариантов генов, кодирующих факторы плазменного звена гемостаза *FII: 20210 G>A* (фактор *II*), *FV: 1691 G>A* (фактор *V*, Лейденская мутация), *FVII: 10976 G>A* (фактор *VII*), *PAI-1: - 675 5G>4G* (ингибитор активатора плазминогена *I* типа), а также фермента фолатного цикла *MTHFR: 677 C>T* (метилентетрагидрофолатредуктазы).

Методология и методы исследования

Методологической базой для проведенного исследования послужили труды отечественных и зарубежных авторов в области изучения системы гемостаза, диагностики тромбофилических состояний и генетической предрасположенности к тромбофилии. Для выполнения поставленных задач были сформированы группа пациентов с функционально единственным желудочком сердца и группа практически здоровых детей для суждения о распределение полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла. В группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца проанализирована частота развития тромботических осложнений на этапах хирургической коррекции порока. У пациентов с функционально единственным желудочком сердца были проведены лабораторные исследования системы свертывания крови, включая оценку показателей плазменного и тромбоцитарно-сосудистого гемостаза, маркеров активации системы гемостаза. Результаты молекулярно-генетического анализа лиц, включенных в исследование, получены методом полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени. Результаты исследования обработаны с использованием методов статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту:

1. Распределение полиморфных вариантов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов, а также генов ферментов фолатного цикла в группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца соответствует их встречаемости в группе практически здоровых детей.
2. Полиморфизм генов коагуляционного фактора *VII* системы гемостаза и ингибитора активатора плазминогена *PAI-1* у пациентов с функционально единственным желудочком сердца обуславливает разные уровни *F VII* и *PAI-1* в плазме крови.
3. Носительство генотипа *677TT* гена фермента *MTHFR* фолатного цикла, ассоциировано с повышением уровня гомоцистеина в плазме крови у пациентов с функционально единственным желудочком сердца.

4. Развитие тромбозов в обследуемой группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца на этапах хирургической коррекции порока связано с носительством генотипа GA полиморфизма 20210 G>A гена плазменного фактора свертывания II (протромбина).

Степень достоверности и апробация результатов

Полученные результаты имеют высокую степень достоверности, которая подтверждается достаточным объемом клинического материала, использованием современных высокоинформативных лабораторных методов исследования (полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (Real-Time PCR), иммуноферментный анализ, коагулологические исследования), высокотехнологичного сертифицированного оборудования и адекватных критериев для статистической обработки результатов.

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на Всероссийских конференциях молодых ученых (Томск, 2013; Москва, 2013); Всероссийском Конгрессе «Детская кардиология» (Москва, 2012), Российском национальном конгрессе кардиологов (Санкт-Петербург, 2013); V и VI Съездах кардиологов Сибирского федерального округа (Барнаул, 2013; Томск, 2015); Всероссийских конференциях с международным участием (Москва, 2013, 2015, 2016); IX Всероссийском семинаре детских кардиологов памяти профессора Н.А. Белоконь (Казань, 2015); 50 Ежегодной сессии Европейской ассоциации детских кардиологов (Рим, Италия, 2016), 51 Ежегодной сессии Европейской ассоциации детских кардиологов (Лион, Франция, 2017).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 16 работ, из них 3 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК для представления основных результатов диссертационных работ на соискание ученой степени.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста. Состоит из списка сокращений, введения, четырех глав (обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований и

обсуждения результатов исследования), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель включает 205 источников, из них 51 на русском языке и 154 на иностранном (английский). Иллюстративный материал представлен 6 рисунками и 38 таблицами.

Личный вклад автора

Автором лично проведено:

1. Молекулярно-генетическое исследование полиморфизма генов системы гемостаза, ассоциированных с риском развития тромбофилии: плазменного звена - *FII*: 20210 G>A (фактор II), *FV*: 1691 G>A (фактор V), *FVII*: 10976 G>A (фактор VII), *FXIII*: 163 G>T (фактор XIII), *FGB*: -455 G>A (фактор I), *PAI-1*: - 675 5G>4G (ингибитор активатора плазминогена I типа) и тромбоцитарного звена системы гемостаза - *ITGA2*: 807 C>T (рецептор тромбоцитов к коллагену), *ITGB3*: 1565T>C (рецептор тромбоцитов к фибриногену) и генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR*: 677 C>T (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTHFR*: 1298 A>C (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTR*: 2756 A>G (B₁₂-зависимая метионинсинтаза), *MTRR*: 66 A>G (метионинсинтазаредуктаза).
2. Исследование уровня гомоцистеина, содержания факторов плазменного компонента системы гемостаза методом иммуноферментного анализа.
3. Анализ данных литературы, изучение историй болезни пациентов с функционально единственным желудочком сердца на этапах хирургической коррекции порока.
- 4.. Статистическая обработка полученных данных, их анализ и описание, а также написание научных статей и самого текста диссертации.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Гемодинамическая коррекция врожденных пороков сердца с функционально единственным желудочком

Статистика последних лет представляет данные о росте числа детей с ВПС и количестве выполняемых оперативных вмешательств по поводу данной патологии [6]. Это связано в первую очередь с улучшением выявляемых аномалий развития сердца и сосудов в пренатальном и раннем неонатальном периодах. Наибольший прирост числа детей с ВПС происходит за счет увеличения количества детей с критическими пороками сердца, диагностика которых и соответственно помощь таким пациентам раньше безнадежно запаздывали. Этим фактором в немалой степени был обусловлен высокий уровень летального исхода среди новорожденных с критическими ВПС [12].

В настоящее время накоплен огромный опыт хирургического лечения ВПС [138]. Большинство хирургических операций и процедур на сердце и магистральных сосудах из некогда прогрессивных и уникальных стали рутинными, результаты операций предсказуемыми, а госпитальная летальность снизилась или перестала иметь место как таковая [6; 138; 144].

К критическим порокам сердца относится широкий спектр пороков с ФЕЖС, которые составляют около 5% всех случаев ВПС. Врожденные пороки сердца с гемодинамикой единственного желудочка сердца (ЕЖС) являются самой сложной и тяжелой группой пороков. При естественном течении порока средняя продолжительность жизни этой категории пациентов не превышает 5-6 лет, при этом в первый год умирает более 75% больных от прогрессирования сердечной недостаточности (СН) и гипоксии, 10% доживают до 10 лет и только 20% доживают до 25 лет [7; 81; 104; 174; 179].

Единственный желудочек сердца – это врожденные дефекты, охватывающие большой спектр анатомических нарушений, которые требуют последовательных стадий хирургических вмешательств. Основным признаком

ЕЖС является сообщением обоих предсердий через митральный и трехстворчатый клапаны или через один из них с общим или единственным желудочком. Таким образом, строение сердца имеет трехкамерный вид. Особенностью унивентрикулярной гемодинамики является параллельное кровообращение малого и большого кругов кровообращения в результате соединения обоих предсердий с полостью ФЕЖС [137]. Вследствие этого происходит развитие цианоза различной степени у всех пациентов с данной патологией сердца [28].

ВПС с гемодинамикой ЕЖС, характеризуются большим разнообразием анатомических форм. В 2000 году Международным Обществом Грудных и Сердечно-сосудистых хирургов была принята терминология, предложенная для ФЕЖС, включающая следующие виды ЕЖС: двуприточный левый желудочек; двуприточный правый желудочек; атрезия митрального клапана; атрезия трикуспидального клапана; несбалансированная форма атриовентрикулярной коммуникации; синдром гетеротаксии; синдром гипоплазии левых отделов сердца; ЕЖС, другие (крайние формы аномалии Эбштейна, атрезия легочной артерии с интактной межжелудочковой перегородкой, некоторые формы двойного отхождения магистральных сосудов от правого желудочка) [73; 127].

По анатомии единственного желудочка различают: доминантный правый, доминантный левый и недифференцированную форму желудочка. Морфологически левый желудочек характеризуется сферической формой и двухстворчатым атриовентрикулярным клапаном, что позволяет обеспечить более адекватный системный кровоток. Морфологически правый желудочек имеет форму трехгранной пирамиды и очень тонкую стенку, что может привести к его быстрой декомпенсации и недостаточности на трикуспидальном клапане. При недифференцированной форме единственного желудочка, полностью отсутствует межжелудочковая перегородка и присутствуют морфологические признаки, как правого, так и левого желудочка [55].

При функционально единственном желудочке сердца невозможно восстановить нормальную двухжелудочковую анатомию сердца. Радикальная коррекция порока у этих больных не представляется возможной. Пересадка

сердца и органокомплекса сердце-легкие показывают часто неудовлетворительные результаты. В связи с этим, ГК, или «обход» правого сердца, остается методом выбора лечения при оказании хирургической помощи больным с ЕЖС [128]. Обычно ГК выполняется в несколько этапов, в итоге кровотока в легкие осуществляется из полых вен без участия ЕЖС [94; 163]. В связи с имеющейся физиологической гипертензией и относительно небольшой площадью поперечного сечения легочного русла ГК не может быть выполнена пациентам в периоде новорожденности. Поскольку для успешной ГК большое значение имеет состояние сосудов малого круга кровообращения, в периоде новорожденности выполняются паллиативные операции, направленные на оптимизацию системного и легочного кровотока [64].

В зависимости от анатомии ВПС можно выделить несколько вариантов легочного кровотока, и соответствующие этому паллиативные вмешательства. Первый вариант сопровождается увеличенным легочным кровотоком, он может быть как без обструкции, так и с обструкцией системного кровотока. Если аорта и легочная артерия (ЛА) отходят от единственного желудочка без препятствия оттоку, то выброс единственного желудочка распределяется между обладающим высоким сопротивлением системным руслом и обладающим низким сопротивлением легочным руслом. После снижения легочного сосудистого сопротивления (происходящего к 3-4 неделе после рождения) кровотока перераспределяется в сторону малого круга кровообращения, вызывая клинически выраженную СН [124]. Данным пациентам требуется суживание ЛА для ограничения легочного кровотока, тем самым защищается единственный желудочек от перегрузки объемом крови, что положительно сказывается на его функции в будущем. Процедура выполняется с помощью тесьмы или нити, заведенной вокруг ствола ЛА [155].

При увеличенном легочном кровотоке с обструкцией системного кровотока требуется ее устранение [141; 159]. При синдроме гипоплазии левых отделов сердца, сопровождающихся гипоплазией аорты и митрального клапана, в первые недели жизни новорожденному выполняется процедура Норвуда. Она включает в

себя реконструкцию дуги аорты с формированием неоаорты, отходящей от правого желудочка (ПЖ), с помощью ксеноперикардальной заплаты или прямым анастомозом между дугой аорты и стволом ЛА [123; 161; 175], после чего накладывается модифицированный Блелок-Тауссинг шунт (МБТШ) или анастомоз между ПЖ и ЛА с помощью шунта Сано. При подаортальной обструкции системного кровотока выполняют операцию Damus-Kaye-Stansel, которая заключается в пересечении ЛА и соединении проксимального отрезка ЛА с восходящей аортой с наложением системно-легочного или кавопульмонального шунта [143; 185].

При врожденных пороках сердца сочетающихся со стенозом или атрезией ЛА отмечается недостаточный кровоток в легких. В этом случае кровоток перераспределен в сторону системного кровотока и у пациента будет наблюдаться значимый цианоз (сатурация менее 65%). В первые недели жизни этим пациентам необходима инфузия простагландина Е с целью поддержания артериального протока в открытом состоянии для стабилизации и подготовки пациента к паллиативному вмешательству, которое заключается в создании источника кровотока в легкие (системно-легочный шунт) и достижении приемлемых цифр сатурации (70-80%) [78]. Для осуществления этого используются различные типы системно-легочных шунтов: Блелок-Тауссинг шунт (известен с 1944 г. - это анастомоз правой подключичной артерии и правой ЛА), МБТШ (наиболее часто используемый тип шунта - анастомоз между брахицефальным стволом и правой ЛА), аорто-легочный шунт (соединение между аортой и стволом ЛА) и другие [111; 205]. При наложении системно-легочных шунтов возможные осложнения различного вида: стеноз, деформация ЛА, повреждение диафрагмального нерва; СН при большом размере шунта; тромбоз (низкая объемная скорость кровотока, повышенное давление в ЛА, низкое системное давление); хилоторакс, «коронарное обкрадывание» [74; 147].

Существует третий вариант физиологии ФЕЖС со сбалансированным системно-легочным кровотоком. Такое состояние бывает при умеренной степени стеноза ЛА или хорошо функционирующем артериальном протоке. Этим детям

показан второй этап ГК без паллиативных вмешательств. При любом из вариантов сбалансированности легочного кровотока при наличии обструкции легочного венозного возврата или обструкции аорты (перерыв, критическая коарктация) требуется коррекция этого порока при паллиативном вмешательстве или вне зависимости от него [70; 133].

Основная цель первого этапа (паллиативных вмешательств) – это достижение баланса системного и легочного кровотоков с поддержанием насыщения периферической крови кислородом в пределах 75-85% ($Q_p/Q_s = 0,8$), беспрепятственного смешивания крови в предсердиях и устранения обструкции системного кровотока [66; 93].

Вторым этапом ГК является создание анастомоза между верхней поллой веной и ЛА - двунаправленное кавопульмональное соединение (ДКПС). ДКПС устраняет перегрузку объемом желудочка, т.к. весь легочный кровоток осуществляется от верхней поллой вены, а желудочек обеспечивает только системную циркуляцию [28].

Эта операция успешно может быть выполнена только после снижения легочного сопротивления, поэтому оптимальным временем для операции является период от двух до шести месяцев. Раннее устранение перегрузки желудочка объемом кровотока продлевает и улучшает его функцию [104; 156; 162; 192].

Последним этапом коррекции ЕЖС является создание тотального кавопульмонального соединения (ТКПС), т.е. операции Фонтена, которая выполняется в возрасте 3-4 лет. Стадийность хирургической коррекции ФЕЖС позволяет избежать фатального сочетания желудочковой гипертрофии и внезапного уменьшения диастолического объема системного желудочка [166; 200].

Таким образом, коррекция ВПС с гемодинамикой ЕЖС состоит из трех этапов, первым из которых является паллиативное вмешательство, следующие два этапа - проведение ГК. ВПС с гемодинамикой ЕЖС остаются наиболее тяжелыми пороками, госпитальная летальность составляет 45% от всех случаев, большая

часть смертей связана с паллиативными вмешательствами в период новорожденности [28].

Развитие концепция этапности и улучшение методов хирургического вмешательства лечения значительно сократили заболеваемость и смертность пациентов с ФЕЖС в течение последних десятилетий [72; 153, 162]. Однако, проблемы связанные с ведение пациентов и профилактикой осложнений в межэтапном периоде и по завершении гемодинамической коррекции ФЕЖС до сих пор актуальны и далеки от разрешения [28].

Основными проблемами системно-легочных шунтов, сопряженными с высокой летальностью, особенно в период новорожденности, является его избыточная патентность или его обструкция. Для предотвращения избыточного кровотока в легкие размер шунта должен соответствовать весу пациента, но на сегодняшний день разными клиниками используются разные критерии подбора размера шунта [114]. Основными причинами смерти на данном этапе коррекции являются тромбоз шунта, инфаркт миокарда, пневмония или другие болезни легких. В нескольких исследованиях показана важность назначения низкофракционированного гепарина и аспирина, контроль веса и сатурации для снижения межэтапной летальности [57; 96; 123].

Тромбоз шунта является осложнением, развитие которого может быть связано как с размером шунта (слишком маленький), так и с недостаточной антиагрегантной терапией или наследственной тромбофилией (дефицит протеина С (ПС), антитромбина III (АТ III)) [80].

Развитие тромбозов различной локализации является одной из сложных проблем хирургического лечения пациентов ФЕЖС на этапах ГК. Венозные тромбозы и тромбоэмболии приводят к развитию ишемических инсультов, хилоторакса, фибрилляции предсердий и в 25% случаев являются причиной летального исхода у пациентов с ФЕЖС [83; 135; 193; 199].

1.2. Современная модель развития тромбофилических состояний

Тромбофилическое состояние в настоящее время рассматривают как повышенную склонность организма к развитию тромбозов или внутрисосудистому свертыванию крови, обусловленную нарушением регуляторных механизмов системы гемостаза или изменением свойств отдельных ее звеньев [44].

Тромбофилии могут носить приобретенный характер, связанный с действием ряда экзогенных факторов (длительная иммобилизация, послеоперационный и послеродовый периоды). Однако в большинстве случаев в основе развития этих нарушений лежит генетическая предрасположенность. В настоящее время наиболее значимыми факторами такого рода считают мутации *G20210A* в гене *FII* (протромбин), *G1691A* в гене *FV* (Leiden), а также генах АТ III, ПС, протеина S, плазминогена, тканевого активатора плазминогена и других. Достижения исследований последних лет существенно расширили наши представления о молекулярных механизмах формирования тромбофилических состояний. В частности это объясняется неопровержимыми успехами в изучении такой фундаментальной составляющей эндогенного риска, как генетическая предрасположенность [23; 29].

В настоящее время описано более 100 факторов тромбогенного риска и состояний, относящихся к тромбофилиям, которые могут привести к сосудистым катастрофам. По литературным данным среди факторов тромбогенного риска выделяют длительность воздействия на организм человека, управляемость со стороны пациента или с помощью средств современной медицины для снижения вероятности артериального и венозного тромбоза. К неуправляемым факторам риска относятся возраст, семейный и личный тромботический анамнез, носительство тромбогенных мутаций и полиморфизмов, малая подвижность, связанная с тяжелой травмой, не «0» группа крови и ряд других, не поддающихся коррекции и сопровождающих человека пожизненно. Более многочисленны временные и сравнительно более управляемые факторы риска, которые могут

быть разделены на связанные с образом жизни (вредные привычки, гиподинамия, дистресс при физических и психических перегрузках), индивидуальные особенности (беременность), обусловленные болезнью или патологическим состоянием (сахарный диабет, атеросклероз, нарушение ритма сердца). Особое значение уделяется ятрогенным факторам, вызванные медицинским вмешательством (операция, катетерные процедуры, а также назначение медикаментов провоцирующих гиперкоагуляцию). Управляемость этих факторов риска различна и должна рассматриваться с точки зрения, как этиологии, так и патогенеза тромбообразования во всех случаях индивидуально [24].

Система гемостаза, участвуя в сохранении постоянства внутренней среды организма, неотложно реагирует на различные внешние и внутренние агрессивные факторы. В результате выраженный и устойчивый дисбаланс при взаимодействии клеточных и ферментативных факторов, обеспечивающих гемостаз, у больных с различными заболеваниями может стать причиной развития как геморрагических, так и тромботических осложнений [41].

Тромбофилия не является какой-либо болезнью, но представляет собой патологическое состояние, вызванное комбинацией постоянных и/или временных факторов риска, реализованных развитием тромбоза (тромбозов), объективные сведения о котором (которых) могут быть получены в настоящий момент или по данным индивидуального анамнеза [25].

В литературе рассматривается ряд наследственных факторов тромбогенного риска: мутации и полиморфизмы генов факторов системы гемостаза: *FII: 20210 G>A* (фактор II), *FV: 1691 G>A* (фактор V), *FVII: 10976 G>A* (фактор VII), *FXIII: 163 G>T* (фактор XIII), *FGB: -455 G>A* (фактор I), *PAI-1: - 675 5G>4G* (ингибитор активатора плазминогена I типа); полиморфизм генов тромбоцитарных рецепторов: *ITGA2* (рецептор тромбоцитов к коллагену), *ITGB3* (рецептор тромбоцитов к фибриногену) и полиморфизм ферментов фолатного цикла.

Фактор II свертывания крови (протромбин) – витамин К-зависимый гликопротеин, синтезируется в печени в виде неактивного зимогена. Трансформация протромбина в тромбин осуществляется на фосфолипидных

мембранах под воздействием активированных факторов Ха и Va в присутствии ионов кальция. Активированный фермент тромбин играет важную роль в механизмах гемостаза и тромбоза. Он преобразует фибриноген в фибрин с дальнейшим образованием кровяного сгустка, стимулирует агрегацию тромбоцитов и активирует факторы свертывания V, VII, VIII, XI и XIII. Тромбин ингибирует свертывание крови путем активации ПС [18; 132].

Ген протромбина полностью секвенирован, он находится на 11 хромосоме вблизи центromеры, 11p11-q12. Мутация гена протромбина *G20210A* находится в 3'-нетранслируемой области гена протромбина, характеризуется заменой гуанина (G) на аденин (A) в позиции 20210, вследствие чего не происходит изменение структуры молекулы протромбина. Между тем мутация связана с увеличением уровня протромбина в плазме, который может быть в 1,5–2,0 раза выше, чем в норме. Мутация гена протромбина *G20210A* приводит к пожизненному состоянию гиперкоагуляции [113]. Мутация наследуется по аутосомно-доминантному типу и тромбофилия возникает даже у гетерозиготного носителя. Наличие данного полиморфизма повышает риск венозных тромбозов в 3 раза, рекуррентных тромботических эпизодов в 1,4–12 раз, инфаркта миокарда до 6 раз и является значимым фактором риска инсультов у детей и лиц молодого возраста [8; 115].

Фактор V свертывания крови (проакцелерин) – высокомолекулярный белок, входящий в состав протромбиназного комплекса, основной кофактор катализируемой фактором Ха активации протромбина. Протромбиназный комплекс состоит из фактора Ха, Va и Ca^{2+} , связанный с фосфолипидными мембранами и возникает при активации свертывания крови по внешнему или внутреннему пути. Его функция заключается в отщеплении от молекулы протромбина пептидных фрагментов, превращающих протромбин в тромбин (фермент, осуществляющий полимеризацию фибрина из фибриногена). Фибрин является конечным продуктом свертывания крови. Фактор Ха – фермент, расщепляющий протромбин в протромбиназном комплексе, однако без участия фактора V эта реакция протекает очень медленно. Фактор Va, соединяясь с фактором Ха на фосфолипидной поверхности, ускоряет реакцию образования

тромбина в десятки тысяч раз. Тромбин, образующийся при активации системы свертывания крови, вымывается из сгустка и поступает в кровь. На мембране клеток эндотелия он соединяется с белком тромбомодулином (ТМ) и теряет способность участвовать в образовании фибрина. Комплекс тромбин – ТМ активирует ПС, отщепляя от него участок молекулы. Активированный протеин С (АПС) – один из главных физиологических антикоагулянтов, расщепляющих факторы свертывания Va и VIIIa. Устойчивость факторов свертывания V и VIII к разрушающему действию АПС является одной из важных причин тромбофилии – резистентность к активированному протеину С (АПС-Р). Это состояние характеризуется повышенной склонностью к тромбозам [131].

В 1993 г. Лейденская группа исследования тромбофилии впервые расшифровала генную природу нарушений свертывания крови, возникающих при данной мутации, впоследствии получившее аналогичное название. Ген V фактора свертывания находится на первой хромосоме – 1q24.2. Вследствие лейденской мутации в позиции 1691 гена, кодирующего синтез V фактора, происходит замена аденина на гуанин, вследствие чего изменяется структура самого V фактора свертывающей системы крови: в 506-м положении *Arg* заменяется на *Glu* (*Arg506Glu*) [169]. В результате Лейденской мутации фактор Va становится относительно устойчивым к расщепляющему действию АПС. Этот дефект считают одним из распространенных наследственных факторов, способствующих развитию тромбоза [113; 121; 177; 195].

При метаанализе 84 исследований показано, что гетерозиготное носительство фактора V (Лейден) ассоциируется с 3–8-кратным риском возникновения идиопатических венозных тромбозов (спонтанных венозных тромбозов при отсутствии других факторов риска), а гомозиготное носительство – с 9–80-кратным риском [106]. В настоящее время установлено, что наличие гетерозиготного носительства фактора V (Лейден) связано с 2–4-кратным увеличением риска развития повторных тромбозов [176].

У детей с венозными тромбозами частота мутации Лейден сопоставима с таковой во взрослой популяции и варьирует по данным ряда авторов от 5 до 28%

[87; 109]. Мутация фактора V (Лейден) как сама по себе, так и в сочетании с другими наследственными тромбофилиями обуславливает риск развития повторных тромбозов у детей. По литературным данным она в 3 раза увеличивает риск возникновения тромбозов сосудов головного мозга у детей [121]. Повышенное значение частоты фактора V (Лейден) выявляют у детей не только с церебральными, но и с ренальными венозными тромбозами [52].

Фактор VII свертывания крови (проконвертин) – сериновая протеаза является первым ферментом внешнего пути свертывания крови. Фактор VII синтезируется в печени, при участии витамина K [44]. Значительное количество фактора VII циркулирует в плазме крови в виде профермента, и оставшаяся часть фактора VIIa является активной и запускает внешний каскад свертывания. Фактор VIIa взаимодействует с фактором III, активизируя факторы IX и X, т. е. коагуляционный фактор VII участвует в образовании кровяного сгустка. Ген фактора системы гемостаза VII локализован на длинном плече 13-й хромосомы в позиции 13q34. D. Girelli и соавт. (2000) изучили полиморфизм гена фактора VII. Полиморфизм R353Q представляет собой миссенс-мутацию в кодоне 353 гена фактора VII, приводящий к замене *Arg* на *Gln* и наследуется по аутосомно-рецессивному типу [165]. Точечная замена в позиции 10976 цепочки гена одного азотистого основания гуанина (G) на аденин (A) приводит в цепочке белка к замене одной аминокислоты на другую. Наличие варианта *Gln* в гетерозиготном состоянии (R/Q) приводит к снижению концентрации и активности фактора VII в крови примерно на 25%, а в гомозиготном (Q/Q) – на 50% по сравнению с носителями «дикого» варианта R/R. Наличие варианта 353*Gln* (10976A) приводит к снижению экспрессии гена фактора VII и предупреждает развитие тромбозов и инфаркта миокарда [173].

Фактор XIII (фибринстабилизирующий фактор) – циркулирует в плазме в виде профермента и состоит из двух А-цепей (каталитических) и двух В-цепей (транспортных), соединенных нековалентными связями в тетрамер. Фибринстабилизирующий фактор активируется последним в коагуляционном каскаде посредством тромбина в присутствии ионов Ca^{2+} , участвует в

формировании поперечных сшивок, которые стабилизируют фибрин, и способствует ограничению роста тромба путем регуляции адгезии тромбоцитов к фибрину. Цепи А и В фибринстабилизирующего фактора кодируются разными генами: ген субъединицы А секвенирован на хромосоме 6p24-p25, ген цепи В - на 1-ой хромосоме 1q31-q32.1 [89].

Огромный интерес в связи с разноречивостью мнений, вызывают исследования, посвященные изучению связи полиморфизма *FXIII Val34Leu* с риском венозных тромбозов. Неоднозначность мнений заключается в том, что патофизиологический механизм данного полиморфизма противоречит выводам большинства авторов, сообщающих о протективных свойствах данного варианта по отношению к венозному тромбозу. Так в своем исследовании Red G. и соавт. (2009) показали, что аллель *34Leu* снижает риск венозных тромбоэмболий [90]. Другие авторы также исключают какое-либо участие полиморфного варианта *Val34Leu* в формировании венозного тромбоза [60; 89]. Однако в ряде исследований генотип *FXIII-A 34Leu/Leu* является самостоятельным фактором риска венозных тромбоэмболий [26; 34; 50]. В исследовании R.P. Kreutz и соавт. (2014) доказано, что полиморфизм *Val34Leu* ассоциирован с увеличением скорости стабилизации фибрина. В результате этого у гомозиготных носителей данного варианта риск повторного инфаркта миокарда повышен [88]. В работе J. Silvain и соавт. (2011) не доказана роль полиморфизма *FXIII-a Leu34* в развитии ишемической болезни сердца (ИБС) и повторных коронарных событий [98].

Фактор I свертывания крови (фибриноген) – белок, предшественник фибрина, составляющего основу сгустка при свертывании крови. Фибриноген синтезируется паренхиматозными клетками печени. Под действием тромбина фибриноген полимеризуется в фибрин, формирующий каркас тромба. Связываясь с IIb/IIIa- рецепторами тромбоцитов, фибриноген способствует их агрегации [101].

Фибриноген – гликопротеин с молекулярной массой около 340 кДа, состоит из неидентичных трех пар полипептидных цепей (α , β и γ) и кодируется своим геном, расположенным на длинном плече 4-й хромосомы (4q28). Замена – 455G/A

β -цепи фибриногена находится в 5'-промоторной области гена в-цепи фибриногена (*FGB*), связана с повышением экспрессии гена и увеличением уровня фибриногена в плазме крови, по разным источникам до 30 % [198, 101].

Повышение уровня фибриногена в плазме крови считается значимым предиктором артериальных тромбозов, приводящим к таким сосудистым катастрофам, как острый коронарный синдром и нарушение мозгового кровообращения [62]. По данным исследований ряда авторов, увеличение концентрации фибриногена в плазме крови под влиянием полиморфизма *FGB* –455G/A не приводит к увеличению риска венозного тромбоза, а, напротив, данный вариант предупреждает развитие заболевания. Так в исследовании Tiedje V. и соавт. (2011) не было выявлено достоверной связи между риском венозного тромбоза и наличием данного полиморфизма [190], тогда как другие авторы, указывают на протективные свойства аллеля – 455A [106].

Ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI 1) относится к семейству серпинов, его основная функция – быстрая инактивация t-PA [76; 188]. Известны четыре типа PAI: PAI1, PAI2, PAI3 и протеаза нексин. PAI 1 составляет 60% общей ингибиторной активности в отношении активатора плазминогена в плазме и играет важную роль в регуляции фибринолиза. Риск развития тромбозов связан с повышением активности PAI1. Кроме того, доминирующая роль в регуляции клинически значимого фибринолиза принадлежит PAI1 и PAI2. Степень участия PAI3 и протеазы нексина в фибринолизе продолжает изучаться. PAI1 взаимодействует с активатором плазминогена в две стадии: в 1-й – образуется обратимый комплекс активатора плазминогена и PAI1, который во 2-й стадии после расщепления пептидной связи Apr346-Met347 становится ковалентным. Затем из комплекса высвобождается 33-аминокислотный пептид Met347-Pro379 с молекулярной массой 4200 Да. В плазме крови содержится 3/4 уровня PAI1, его значительная часть обнаружена в α -гранулах тромбоцитов, откуда он может высвобождаться при активации этих клеток. PAI 1 синтезируется эндотелиальными клетками, моноцитами, макрофагами, гладкомышечными клетками. Регулируют выделение PAI 1 в процессе фибринолиза эндотелиальные

клетки и тромбоциты. Комплекс PAI 1 и ПС взаимодействует с фибрином и блокирует выделение PAI 1 из эндотелия [31].

Ген PAI 1 содержит 9 экзонов и кодирует белок массой 50 кДа. Локализация гена – 7q21.3-q22, наследуется по аутосомно-доминантному типу. Наиболее изучен полиморфный маркер гена *PAI 14G/5G* в 675-м положении, в результате делеции/инсерции гуанин образует повтор из 4 или 5 оснований и, соответственно, возможны три варианта сочетания аллелей – *5G/5G*, *5G/4G* и *4G/4G*, причем первый считается «диким». Аллель *4G*-полиморфного маркера *PAI-15G - 675 4G* ассоциируется с высокой активностью PAI1 в плазме крови. Одна из возможных причин предрасположенности к гиперкоагуляции у носителей данного генотипа – повышение уровня PAI 1 на 25–30% [145]. У носителей гомозиготной формы *4G/4G*-полиморфизма повышены количество и функциональная активность тромбоцитов и снижена фибринолитическая активность крови [170].

Данный полиморфизм ассоциируют с риском развития артериальных тромбозов, и в первую очередь, с острым инфарктом миокарда [157]. Кроме того, некоторые авторы продемонстрировали достоверную связь носительства аллеля *4G* с риском тромбоза в венозном русле [106]. Интересно, что в исследовании Balta G. и соавт. (2002) вариант *4G/4G* приводил к увеличению риска тромбоза портальной вены и вен внутренних органов, между тем корреляции с риском тромбоза глубоких вен (ТГВ) обнаружено не было [61].

Важнейший интерес представляет собой исследования полиморфных вариантов генов, кодирующих различные субъединицы рецепторов тромбоцитов. Данные о роли этой наследственной аномалии в развитии тромбозов в артериальном и венозном русле весьма неоднозначны. По данным M.J. Quinn и E.J. Torol, вклад генетических факторов в вариабельность реактивности тромбоцитов составляет около 30% [172].

Гликопротеиновые рецепторы тромбоцитов принадлежат к различным семействам: интегринам, гликопротеинам, богатым лейцином, молекулам адгезии клеточных иммуноглобулинов, селектинам. Существуют и рецепторы

смешанного происхождения. Наиболее важными в функциональном отношении являются рецепторные GPI (субъединицы Ia, Ib, Ic), II (субъединицы IIa, IIb), III (субъединицы IIIa, IIIb), IV, V, рецепторы к АДФ, адреналину, тромбину, фактору Ха, фактору агрегации тромбоцитов, коллагену, которые обуславливают адгезивные и агрегационные функции тромбоцитов [27].

В процессе активации клетки и ее конформационных изменений активируются и рецепторы, которые регулируют участие тромбоцита в реакциях дальнейшей активации, агрегации и адгезии. Адгезия тромбоцитов к субэндотелиальному слою осуществляется за счет рецепторов к коллагену (GPIa/IIa). Образовавшееся соединение стабилизируется фактором фон Виллебранда (ФВ), который образует мостик между волокнами коллагена и другим тромбоцитарным рецептором (GPIb/IX). Агрегация тромбоцитов между собой опосредуется фибриногеном, рецептором для которого служит GPIIb/IIIa. На поверхности тромбоцита, находящегося в спокойном состоянии, имеется около 40–80 тыс. рецепторов GPIIb/IIIa. Еще 20–40 тыс. рецепторов располагаются внутри тромбоцита, преимущественно на мембранах α -гранул и канальцевой системы. Гетеродимер GPIIb/IIIa – поверхностный рецептор для фибриногена, ФВ, витронектина, фибронектина [27].

Ген локализован на длинном плече хромосомы 17 в положении q21.32. Полиморфизм генов, кодирующих α - и β - цепи фибриногенового рецептора тромбоцитов, может приводить к повышению чувствительности рецептора к специфическим лигандам, что может сопровождаться повышением агрегационной активности тромбоцитов и, следовательно, увеличением риска тромбообразования. Наиболее изучен полиморфизм в позиции 1565 2-го экзона гена, кодирующего β 3-субъединицу рецептора GPIIb/IIIa. Данный полиморфизм полипептида IIIa заключается в замене цитозина на тимидин в позиции 1565 2-го экзона гена GPIIIa, что приводит к появлению *Leu* (аллель *PLA1*) или *Pro* (аллель *PLA2*) в позиции 33 [79]. Наличие аллеля *PLA2* ассоциируется с увеличением способности тромбоцитов к агрегации. Полиморфизм гена ITGB3:1565

ассоциирован с инфарктом миокарда, коронарным атеросклерозом [59], коронарным тромбозом стента, острой коронарной недостаточностью [164].

GPIa широко распространен в различных типах клеток, который входит в состав гликопротеинового рецептора Ia/IIa, находящегося на поверхности тромбоцитов. При участии этого рецептора происходят адгезия тромбоцитов к коллагену, размещение их в субэндотелиальных структурах и последующая активация. Этот гетеродимер является главным коллагеновым рецептором тромбоцитов и обеспечивает адгезию пластинок к сосудистому эндотелию. *GPIa* является $\alpha 2$ -цепью массой 165 кДа, а *GPIIa* – $\beta 1$ -цепью массой 145 кДа. Плотность этого рецептора составляет от 800 до 3000 молекул на тромбоцит. Однако даже в норме количество гетеродимера на мембране тромбоцитов может сильно варьировать, что коррелирует со способностью тромбоцитов связываться с коллагеном [201].

Рецептор *GPIa/IIa* относится к группе интегринов и играет ключевую роль в адгезии тромбоцитов к коллагену [27; 105].

Локализация гена – 17q21.32. Идентифицирован полиморфизм гена *GPIa* *C807T* в кодоне Phe224, который ассоциируется с низкой или высокой плотностью тромбоцитарных рецепторов Ia/IIa и, соответственно, с низкой или высокой скоростью адгезии тромбоцитов к коллагену 1-го типа. Таким образом, описанный полиморфизм может лежать в основе генетической предрасположенности к развитию тромботических заболеваний [58].

В качестве одной из причин развития тромбофилии рассматривают генетические полиморфизмы, ассоциированные с изменениями функциональной активности ферментов фолатного цикла. Наиболее распространенным ферментным дефектом, который связан с повышением уровня гомоцистеина, является полиморфизм гена, кодирующего метилентетрагидрофолатредуктазу (*MTHFR*), а также B_{12} -зависимую метионинсинтазу (*MTR*) и метионинсинтазуредуктазу (*MTRR*), участвующие в фолатном цикле.

MTHFR – ключевой фермент фолатного цикла. Этот фермент превращает фолиевую кислоту в ее активную форму 5-метилтетрагидрофолат [197]. Ген

фермента *MTHFR* у человека расположен на коротком плече 1-й хромосомы. Существует ряд полиморфизмов этого гена, вызывающих тяжелую недостаточность фермента, но практическое значение имеют два полиморфизма: *C677T* и *A1298C*. Полиморфизм *C677T*, связан с замещением *C* на *T* в положении 677, вызывает замену *Ala* на *Val* (*Ala222Val*) в каталитическом домене белка-фермента. У гомозигот *677TT* активность фермента *in vitro* снижена на 70%, а у гетерозигот – на 35% [53].

В исследовании Е. Ozyurek и соавт. (2007) у детей с тромбозами церебральных сосудов полиморфизм *C677T* гена *MTHFR* встречалась в 11,3% случаев, а в контрольной группе (здоровые) – в 4,3%. Полиморфизм фермента ассоциировался с увеличением риска развития тромбоза церебральных сосудов в 2,8 раза [181]. Полиморфизм *C677T* гена *MTHFR* выявлялся у 4,8–28,6% детей с тромбоэмболическими заболеваниями [117]. Данные исследований о взаимосвязи носительства *C677T* гена *MTHFR* и тромбоэмболических состояний у детей весьма противоречивы. Многие авторы указывают на отсутствие риска развития тромбоэмболий у детей-носителей данного полиморфизма [71; 118; 119]. Интересным остается тот факт, что некоторые авторы отмечают взаимосвязь между увеличением уровня гомоцистеина в крови, обусловленным *C677T* полиморфизма гена *MTHFR*, и риском развития тромбозов у детей. Н. Koch и соавт. (1999) установили, что более 10% детей с венозными тромбозами были носителями мутации *C677T* гена *MTHFR*. В данном исследовании, средняя концентрация гомоцистеина в крови у этих больных составляла 7 мкмоль/л, что было статистически выше, чем у здоровых детей. Концентрация гомоцистеина в крови >8,3 мкмоль/л ассоциировалась с тромбозом у 40% больных [184].

Вторым по значимости вариантом полиморфизма гена *MTHFR* является замена нуклеотида *A* на *C* в позиции 1298, что приводит к замещению остатка *Glu* на остаток *Ala*, сопровождающимся небольшим снижением активности. Аллель *1298C* также снижает активность фермента, хотя и не так значительно, как аллель *677T*. Предполагается, что снижение активности фермента связано с изменением регуляции фермента его ингибитором S-аденозилметионином. Носительство

комбинации гетерозиготных компаундов гена *MTHFR* 677 и гена *MTHFR* 1298 снижается активность фермента и повышает концентрацию гомоцистеина в плазме [54].

Фермент B_{12} -зависимая метионинсинтаза *MTR* A2756G отвечает за синтез метионина из гомоцистеина. Локализация гена *MTR* – 1q43. Снижение функциональной активности фермента сопровождается повышением уровня гомоцистеина в крови, повышением риск развития синдрома Дауна, незаращением нервной трубки [3; 13; 36]. В метаанализе 17 исследований (3801 пациент и 4196 контрольных здоровых индивидов), выполненных P. Singh и S. Lele (2012), оценивалось влияние *MTR* A2756G, *MTRR* A66G на риск развития ИБС. Авторы подтвердили повышенный риск ИБС у носителей аллеля *MTR* 2756G [182].

Фермент метионинсинтазаредуктаза *MTRR* A66G участвует в восстановлении активности метионинсинтазы *MTR* A2756G — фермента, непосредственно осуществляющего метилирование гомоцистеина. Ген *MTRR* локализован на 5 хромосоме. Полиморфизм A66G в 4 раза снижает активность фермента *MTRR*. Влияние полиморфизма увеличивается с дефицитом витамина B_{12} . Полиморфизм A66G гена *MTRR* также усиливает гипергомоцистеинемию (ГГЦ), вызываемую полиморфизмом C677T гена фермента *MTHFR* [142].

Рассматривая данные литературы, необходимо отметить, что основной патофизиологический механизм воздействия гомоцистеина связан с нарушением функции эндотелия. В механизмах повреждения сосудистой системы при ГГЦ рассматривается роль ряда факторов:

- быстрое окисление гомоцистеина в плазме крови с образованием большого количества радикалов, содержащих активный кислород, что способствует окислению липопротеинов низкой плотности (ЛПНП);
- повреждение эндотелия артерий и обнажение субэндотелиального матрикса и гладкомышечных клеток сосудистой стенки;
- подавление продукции эндотелиального вазодилатирующего фактора — оксида азота (NO);

- развитие артериальной гипертензии;
- специфическое участие гомоцистеина в развитии атеросклероза, который является сильным мутагеном для гладкомышечных клеток сосудов, что сопровождается их усиленной пролиферацией;
- активация XII и V факторов, а также экспрессии тканевого фактора под влиянием избытка гомоцистеина;
- нарушение высвобождения естественного ингибитора коагуляции и антиагрегантов — ПС, ингибитора внешнего пути свертывания крови;
- снижение гликозаминогликанзависимой активации АТ III, подавление активности ТМ;
- повышенная агрегация тромбоцитов вследствие снижения синтеза эндотелием релаксирующего фактора и NO, а также усиленного высвобождения поврежденными эндотелиоцитами ФВ [32].

Обозначенные атерогенные и тромбофилические эффекты в совокупности определяют хроническую эндотелиальную дисфункцию при ГГЦ. Таким образом, ГГЦ оказывает неблагоприятное влияние на механизмы, участвующие в регуляции сосудистого тонуса, обмена липидов и коагуляционного каскада.

По мнению ряда авторов, наличие ГГЦ ведет к увеличению риска развития венозных тромбозов [23; 182]. Тромбогенные свойства избыточного гомоцистеина, прежде всего, связаны с его угнетающим действием на естественные биологические антикоагулянты, выделяемые сосудистой стенкой, — тромбомодулин, антитромбин III, гепарин, простациклин. ГГЦ приводит к повышению концентраций ЛПНП и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), снижению продукции эндотелиального релаксирующего фактора и сульфатированных гликозаминогликанов, активации сериновых протеаз [11; 140]. При вышеуказанных процессах повреждаются эндотелиоциты и эластическая мембрана. Снижается синтез простациклина, стимулируются рост гладкомышечных клеток сосудистой стенки и пролиферация эндотелия. Повышение концентрации гомоцистеина также обуславливает угнетение синтеза ТМ — без этого эндотелиального белка нарушается процесс активации

тромбином естественных антикоагулянтов (протеинов С и S), в норме оказывающих прессорное воздействие на активность факторов Va и VIHa. Одновременно происходит модификация V фактора свертывания крови, в результате чего он становится нечувствительным к действию ПС. Описанные процессы способствуют дополнительному повышению коагуляционных свойств крови [32].

В связи с вышесказанным представляется актуальным исследование полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла, ассоциированных с развитием тромбоз-ассоциированных заболеваний, как у детей, так и у взрослых.

1.3. Особенности функционального состояния системы гемостаза у детей

Система свертывания крови, как и все остальные системы организма, претерпевает изменения в процессе внутриутробного развития, продолжая изменяться в последующем в период роста и развития ребенка. Формирование системы гемостаза в период внутриутробного развития проходит определенные этапы. Так, фибриноген удается обнаружить уже на 5 неделе онтогенеза, первые белки-прокоагулянты появляются у плода на 10-12 неделе внутриутробного развития, в эти же сроки проявляется способность крови эмбриона к свертыванию. Активность факторов свертывания (II, VII и X) в период 12-24 недель внутриутробного развития составляет всего 20-23%, а фактора IX – лишь 14-40% от аналогичных показателей у взрослых. На сравнительно низком уровне находятся также и показатели функционального состояния (и прежде всего агрегации) тромбоцитов [43].

С точки зрения гемостатического потенциала в первые минуты и часы жизни ребенка преобладают прокоагулянтные и проагрегантные влияния. Это связано с целым рядом особенностей, регистрирующихся в неонатальном периоде, прежде всего со стрессовой гиперкатехоламинемией (известно, что адреналин является не только агрегантом, но и общим активатором тромбоиновой, калликреин-кининовой систем, а также системы комплемента). Повышенное содержание адренокортикотропного и соматотропного гормонов, ангиотензина II, альдостерона способно стимулировать гемостаз. Поступление тканевого тромбопластина при отслойке плаценты, физиологическая полицитемия, стимулирующие влияние на агрегацию тромбоцитов невысокой не прямой гипербилирубинемии отмечается в первые минуты и часы жизни ребенка [43].

Сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза у здоровых доношенных детей на протяжении полугода жизни характеризуется: повышенной проницаемостью и хрупкостью сосудистой стенки при повышенной ее простаглицлиновой активности и способности синтезировать оксид азота (как известно, простаглицлин и оксид

азота ингибируют агрегацию тромбоцитов и способствуют вазодилатации); низкой функциональной активностью тромбоцитов к концу первых суток жизни: как адгезии, так и агрегации с коллагеном, аденозиндифосфатом (АДФ) и адреналином. Адреналин-индуцированная агрегация снижена относительно взрослых норм из-за меньшей доступности рецепторов. У здоровых новорожденных к концу 2-х суток жизни агрегация тромбоцитов с АДФ уже не отличается от таковой у взрослых; более коротким временем кровотечения (наиболее объективный тест, показывающий взаимодействие тромбоцитов и сосудистой стенки *in vivo*) [15; 110].

Наличие снижения функциональной активности тромбоцитов следует учитывать при развитии у новорожденных тромбоцитопении любого генеза, так как порог критического снижения тромбоцитов у них значительно выше, чем у детей старшего возраста. В силу этого тяжелый геморрагический синдром (вплоть до внутричерепных кровоизлияний, желудочно-кишечных кровотечений) у новорожденных развивается при количестве тромбоцитов $40-60 \times 10^9/\text{л}$, в то время как у детей старшего возраста, имеющих такой уровень тромбоцитов, геморрагический синдром практически не возникает [43].

Активность витамин К-зависимых факторов (II, VII, IX и X), факторов контактной системы (XII, XI, высокомолекулярного кининогена, и прекалликреина) у новорожденных более низкая, чем у взрослых и постепенно повышается, приходя к взрослой норме к 6 месяцам. Следствием всего этого является более продолжительное активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ). Некоторые коагуляционные белки (факторы XII и VII, прекалликреин, фибриноген) имеют фетальную форму. Плазменный уровень ФВ и фактора XIII у новорожденных аналогичен взрослым нормам. Здоровые дети рождаются с уровнем фибриногена, близким к его нормальному содержанию у взрослых, однако он может быть повышен в течение первой недели жизни [15; 110].

Антикоагулянтная активность крови у доношенного новорожденного представлена низким (55-60% от уровня у взрослого) содержанием АТ III,

существенным снижением содержания протеинов С и S на фоне повышенного в первые 10 дней жизни ребенка уровня гепарина [110].

В неонатальном периоде концентрация плазминогена и α_2 -антиплазмина достоверно ниже, чем у взрослых, в то время как уровень α_2 -макроглобулина – выше. Активность фибринолитической системы у новорожденных имеет разнонаправленные тенденции. Однако у здоровых новорожденных она сбалансирована, но качественно иным путем, чем у взрослых. Это происходит за счет активации фибринолиза по внешнему пути в результате воздействия клеточных киназ, в том числе и за счет их освобождения при гемолизе и цитолизе. В период родов происходит активация фибринолиза, свидетельством чего является укорочение времени лизиса эуглобулинового сгустка и повышение уровня продуктов фибринолиза в плазме новорожденных [15]. В то же время способность плазмы генерировать плазмин в ответ на воздействие различных активаторов фибринолиза снижена, что является следствием относительно низкого содержания плазминогена (50-60% от уровня у детей старше одного месяца жизни и у взрослых). Этот показатель повышается до нормального уровня к 6-месячному возрасту [110].

В работе Баркагана Л.З. и соавт. (1993) сделали вывод, что параметры гемостаза у детей полностью приходят к норме, свойственным детям старшего возраста и взрослым людям молодого возраста, к концу первого года жизни. Более того уже, уже к месячному возрасту выявляемые сдвиги отдельных показателей становятся минимальными и клинически не значимыми. У детей старше одного года отмечаются индивидуальные колебания показателей системы гемостаза, но сохраняется их постоянство [4].

В тоже время необходимо отметить, что в литературе имеются данные о влиянии некоторых факторов на систему гемостаза во время коррекции ВПС [46]. В условиях искусственного кровообращения и обширной хирургической травмы, длительный контакт крови с контуром аппарата искусственного кровообращения, гипотермия, большие дозы гепарина, гипоксия и ацидоз в результате низкого сердечного выброса, гемодиллюция в результате массивной инфузионной терапии

приводят к тяжелым нарушениям системы гемостаза. Они характеризуются снижением коагуляционных факторов, фибриногена, естественных антикоагулянтов, тромбоцитов, агрегационно-адгезивной функции тромбоцитов и их дисфункцией, а также массивной активацией внутреннего пути свертывания, фибринолиза и системного воспалительного ответа, приводящих к усиленной генерации тромбина [19; 48]. Клинически эти изменения проявляются склонностью к кровотечению и, по сути, являются экстракорпоральной индуцированной коагулопатией. Ее развитие связано с тяжестью синдрома полиорганной недостаточности в послеоперационном периоде и смертностью [99]. Стандартная интенсивная терапия таких нарушений гемостаза посредством массивной гемотрансфузии и гемостатической терапии на фоне дефицита естественных антикоагулянтов, сниженной активности фибринолиза, усиленной генерации тромбина может привести к тромбозам, особенно в сосудах со сниженным кровотоком (сосуды, в которых расположены катетеры; хирургические анастомозы и т. д.). У кардиохирургических пациентов раннего возраста к факторам риска развития тромбогеморрагических осложнений относят следующее: возраст менее 1 месяца, вес менее 8 кг, большой объем хирургического вмешательства (операция артериального переключения, процедура Фонтена, создание ДКПС), длительное искусственное кровообращение, низкий уровень тромбоцитов во время искусственного кровообращения [20; 108].

1.4. Тромбозы у детей с врожденными пороками сердца

До настоящего времени имеются лишь единичные описания исследования наследственных аномалий свертывающей системы у детей с врожденными и приобретенными заболеваниями сердца. Патогенез тромботических состояний мало изучен. Имеющиеся данные не позволяют выработать национальные и международные рекомендации по стратегии назначения антикоагулянтов и управления системой свертывания крови у детей.

Дети с оперированными и неоперированными ВПС, в том числе с ЕЖС, с кардиомиопатиями, тяжелыми аритмическими синдромами, а также пациенты с имплантированными антиаритмическими устройствами, сосудистыми протезами и клапанами имеют повышенный риск тромботических и /или тромбоэмболических осложнений на различных этапах лечения [20; 67; 80]. Эти осложнения ассоциируются с высокой заболеваемостью и смертностью, сводя на нет успехи хирургического лечения и терапии [28].

Существуют немногочисленные исследования, посвященные изучению возникновения тромботических осложнений у детей с ФЕЖС.

Одной из сложных проблем хирургического лечения пациентов ФЕЖС является развитие тромбозов различной локализации на этапах ГК. Венозные тромбозы и тромбоемболии приводят к развитию ишемических инсультов, хилоторакса, фибрилляции предсердий и в 25% случаев являются причиной летального исхода у пациентов с ФЕЖС [83; 135; 193; 199].

У пациентов с ФЕЖС в связи с особенностями венозного кровотока и изменениями реологических свойств крови, одним из послеоперационных осложнений является развитие тромбоза различной локализации [100]. В ряде проведенных исследований системы гемостаза у пациентов в периоде между ДКПС и операцией Фонтена описано снижение VII фактора свертывания, протеина С и S, что ведет к дисбалансу между прокоагулянтной и антикоагулянтной активностью факторов гемостаза [82; 196].

Также, показано, что развитие тромбозов наиболее часто отмечается у пациентов с перерывом нижней полой вены, в связи с низкой скоростью кровотока в печеночных венах, в том числе, и на фоне приема антикоагулянтной терапии [130].

По результатам исследования В. W. McCrindle и соавт. (2006) тромбоз часто встречается у детей с кардиомиопатиями, который может произойти в любое время в ходе наблюдения. Тромбоз не связан клиническим течением заболевания или продолжительностью жизни свободной от трансплантации [139].

Описаны также случаи тромботических осложнений при имплантации эндокардиальных электродов системы электрокардиостимуляции в детском возрасте [183].

В работе J. M. Cholette и соавт. (2007) при исследовании 22 новорожденных с ЕЖС, которым были выполнены паллиативные вмешательства, признаки тромбоза были выявлены у 5 (22,7 %) детей. У одного пациента тромбоз явился причиной смерти. Признаки тромбоза в данной группе были идентифицированы в течение от 4 часов до 9 месяцев после оперативного вмешательства (медиана составила 14 дней после операции). Авторы пришли к выводу, что антитромботическая терапия только с использованием аспирина может оказаться недостаточной для предотвращения тромбообразования. Они высказали гипотезу, что одной из причин повышенного тромбообразования явилось повышенное содержание С-реактивного белка в крови у пациентов в предоперационном периоде [80].

За последние 20 лет в литературе представлены различные данные о пациентах после операции Фонтена, имевших в анамнезе тромбоэмболические события или тромбозы. По мере увеличения срока наблюдения за пациентами отмечается увеличение частоты тромбозов [55; 134; 146; 203].

Н. А. Walker и соавт. (2005) сообщили в своей обзорной статье, что несмотря на свидетельства о повышенном риске тромбообразования у пациентов после операции Фонтена, не имеется достаточной информации по лечению таких пациентов антикоагулянтами, что не позволяет на основе

современных знаний создать общие рекомендации в пользу или против антикоагулянтной терапии, её состава и сроков [203].

По данным P.D. Coop и соавт. (2001) отсутствие тромбоза после операции Фонтена через 1, 3, 8 и 10 лет составила 92%, 90%, 84% и 82% соответственно. Авторы не выявили взаимосвязи между тромбозом и модификацией Фонтена и наличием либо отсутствием фенестрации [196].

C. Varma и соавт. (2003) проанализировали результаты обследования 30 взрослых с ФЕЖС и обнаружили у 5 (17%) «латентную» лёгочную эмболию в течение 5-17 лет после операции Фонтена. Данные пациенты не получали варфарин. Авторами было отмечено, что 30% больных, которые получали постоянно варфарин, не имели тромботических осложнений [202].

В работе P. Khairy и соавт. (2008) было показано, что среди 261 пациентов, прооперированных по поводу ФЕЖС, тромбоэмболические осложнения после операции Фонтена были одной из частых причин смертности, их доля составила 7,9% среди всех случаев смерти [136].

По итогам проведенного исследования M. Jahangiri и соавт. (2000) констатировано, что механизмы и причины развития коагулопатий у пациентов после операции Фонтена остаются неясными. Авторы обнаружили, что количество фактора VII не только не увеличилось, но и уменьшилось после операции Фонтена. Риск тромбоэмболии повышался у больных с наследственным дефицитом фактора VII [82].

У пациентов с ФЕЖС в связи с печеночной дисфункцией может отмечаться снижение факторов свертывающей и противосвертывающей системы, которое может приводить к развитию тромбозов или кровотечений в послеоперационном периоде [196].

В настоящее время интенсивно идет изучение этиологии, патогенеза и клиники наследственных и приобретенных тромбофилий у взрослых [25; 26; 30; 35; 50; 194]. В детской популяции данные исследования не многочисленны [9; 14; 40]. Однако нет сомнения в том, что сочетание гемодинамических нарушений у пациентов с ВПС с наследственными аномалиями свертывающей системы

является определяющим фактором для развития тромботических осложнений у детей с ВПС, в том числе и успешно прооперированных пациентов. Исследование полиморфизма генов, участвующих в системе свертывания крови является актуальным с точки зрения оценки риска развития фатальных сердечно-сосудистых событий у детей с врожденными и приобретенными заболеваниями сердца [121; 177; 195].

Несмотря на общепризнанное мнение о протромботической роли указанных полиморфных вариантов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, ассоциированных с повышенным риском развития тромбофилических состояний: *FII: 20210 G>A*, *FV: 1691 G>A*, *FVII: 10976 G>A*, *FXIII: 163 G>T*, *FGB: -455 G>A*, *ITGA2:807 C>T*, *ITGB3: 1565T>C*, *PAI-1: - 675 5G>4G* по-прежнему существует множество вопросов относительно их участия в патогенезе различных клинических проявлений тромбофилических состояний и целесообразности диагностики их использования в практических целях. Сложившаяся ситуация во многом объясняется многофакторной природой тромбозов и сложным характером взаимодействия генетических и экзогенных факторов риска, лежащих в основе или провоцирующих развитие патологических сдвигов в системе свертывания крови [171].

Факторами, обуславливающими повышенное тромбообразование в группе пациентов с врожденными и приобретенными заболеваниями сердца, являются следующие события: повторные хирургические вмешательства, неоднократные диагностические и лечебные катетерные процедуры, использование синтетических материалов (сосудистые протезы, клапаны), изменения в профиле кровотока из-за пассивного кровообращения и полицитемия. При этом еще необходимо учитывать такие факторы как нарушения со стороны системы гемостаза, обусловленные генетической предрасположенностью или функциональной недостаточностью факторов свертывания.

Таким образом, большинство исследователей считает необходимым дальнейшее изучение факторов риска развития тромбозов, включая генетические факторы [77; 136]. Раннее выявление возможных факторов риска тромботических

осложнений, а также планирование антитромботической терапии и профилактики позволит исключить развитие осложнений и значительно улучшить общий прогноз у детей с ВПС и другими потенциально жизнеугрожающими болезнями сердца и избежать рисков от необоснованного назначения антикоагулянтов.

Ни в России, ни за рубежом не проводилось систематических исследований, посвященных анализу молекулярно-генетических полиморфизмов генов, ассоциированных с дисфункцией плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, а так же с нарушением активности ферментов фолатного обмена у пациентов с ФЕЖС.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика групп исследования

Для решения поставленных задач в исследование включен 191 ребенок в возрасте от периода новорожденности до 17 лет, постоянно проживающий на территории Западно-Сибирского региона РФ.

Все обследованные дети были разделены на две группы. Группу с ВПС составляли 102 пациента с ФЕЖС. Группа сформирована из пациентов, находившихся на госпитализации в НИИ кардиологии г. Томска с 2012-2014 гг. Всем детям в этой группе выполнялась этапная хирургическая ГК функционально единственного желудочка.

В группе с ФЕЖС среди обследованных пациентов, мальчики составили 53,9 % (n = 55), девочки – 46,1 % (n = 47). Средний возраст детей в группе с ВПС составлял 3,3 (0,6; 5,0) года.

Подбор пациентов проводили в соответствии с разработанными критериями включения и критериями исключения.

Критерии включения:

1. Пациенты с функционально единственным желудочком сердца, которым планировалась гемодинамическая коррекция врожденного порока.
2. Информированное согласие на участие в клиническом исследовании родителей пациентов.
3. Возраст от первых суток до 17 лет.

Критерии исключения:

1. Пациенты с другими врожденными пороками сердца.
2. Отказ на участие в клиническом исследовании родителей пациентов.
3. Возраст 18 лет и старше.

Структура и частота встречаемости ВПС, входящих в группу ФЕЖС, среди обследованных пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Структура ВПС с ФЕЖС пациентов, включенных в исследование

Структура ВПС	n (%)
Двуприточный левый желудочек	23 (22,5)
Атрезия трикуспидального клапана	17 (16,7)
Атрезия митрального клапана	9 (8,8)
Несбалансированная форма атриовентрикулярной коммуникации	14 (13,8)
Двойное отхождение сосудов от правого желудочка	6 (5,9)
Синдром гипоплазии левых отделов сердца	22 (21,6)
Атрезия легочной артерии с интактной межжелудочковой перегородкой	2 (1,9)
Аномалия Эбштейна	2 (1,9)
Другие варианты ФЕЖС	7 (6,9)
Итого:	102 (100)

Основной целью первого этапа лечения (паллиативное вмешательство) являлось достижение баланса системного и легочного кровотоков ($Q_p/Q_s = 1$), беспрепятственного смешивания крови в предсердиях и устранения обструкции системного кровотока. Этот этап выполнялся в периоде новорожденности. Вторым этапом ГК являлось создание анастомоза между верхней поллой веной и легочной артерией (двунаправленное кавопульмональное соединение (ДКПС)). Создание анастомоза устраняло перегрузку объемом желудочка, в который поступал весь легочный кровоток от верхней поллой вены. Эта операция успешно может быть выполнена только после снижения легочного сопротивления, поэтому оптимальным временем для операции является период от двух до шести месяцев. Третьим этапом коррекции ЕЖС являлось создание тотального кавопульмонального соединения (ТКПС), которое выполнялось в возрасте 3-4 лет. Завершающим вмешательством являлось эндоваскулярное закрытие фенестрации.

Лечение пациентов с ФЕЖС в послеоперационном периоде проводилось по индивидуально подобранной схеме с учетом анамнестических данных, результатов молекулярно-генетического исследования генотипов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла, течения раннего послеоперационного периода. Пациенты получали антиагрегантную терапию кардиомагнилом после

наложения МБТШ и/или операции ТКПС. Антикоагулянтная терапия варфарином назначалась на постоянной основе при наличии в анамнезе у пациента тромбоза, а также пациентам, являющимся носителями мутаций в гене F II и F V.

В группу практически здоровых детей вошли 89 детей. Критерием отбора явилось отсутствие признака сосудистого тромбоза в анамнезе, мальчики составили 48,3 % ($n = 43$), девочки – 51,7 % ($n = 46$). Средний возраст в группе практически здоровых детей был сопоставим с возрастом группы пациентов с ФЕЖС – 2,6 (1,25;7,0) года ($p=0,131$).

2.2 Материал исследования

Материалом для исследования послужили образцы цельной крови, плазмы и сыворотки, образцы ДНК, а также истории болезни пациентов с ВПС.

Образцы периферической (венозной) крови собирали в асептических условиях, с использованием стерильных одноразовых систем в пробирки типа «BD Vacutainer»:

- 1) BD Vacutainer K₃-EDTA (фиолетовая крышка) для цельной крови;
- 2) BD Vacutainer Gel and Clot Act. (красная крышка) для получения сыворотки крови;
- 3) BD Vacutainer с 0,11М (3,2%) цитрата натрия (голубая крышка) для получения плазмы крови.

2.3. Методы исследования

Лабораторные исследования детям проводилась при условии подписания формы добровольного информированного согласия их родителями (форма и структура информированного согласия одобрены комитетом по биомедицинской этике при ФГБУ «НИИ Кардиологии» СО РАМН – выписка из протокола №98 от 09.10.2012).

Молекулярно-генетическое исследование проводилось детям во всех обследованных группах однократно (таблица 2).

В группе пациентов с ФЕЖС молекулярно-генетическое исследование проводилось на разных этапах гемодинамической коррекции ВПС.

Исследование полиморфных вариантов генов факторов системы гемостаза и ферментов фолатного обмена проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием оборудования и реагентов «ДНК-Технология» (Россия). Исследование с использованием комплектов реагентов для определения генетических полиморфизмов состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) и ПЦР-амплификация в режиме реального времени.

Таблица 2 – Количество молекулярно-генетических исследований в обследованных группах

Группы Вид исследования		Группа пациентов с ФЕЖС (n)	Практически здоровые дети (n)
Полиморфизм	Генов факторов системы гемостаза	102	89
	Генов тромбоцитарных рецепторов	102	89
	Генов ферментов фолатного цикла	102	89

Выделение ДНК осуществлялось с помощью наборов «ПРОБА – РАПИД – ГЕНЕТИКА» (ДНК Технология, Россия) по предлагаемому фирмой протоколу (представлен ниже).

В стерильные пробирки типа «Эппендорф» добавить к 600 мкл лизирующего раствора 100 мкл периферической крови, перемешать переворачиванием. В контрольный отрицательный образец внести 100 мкл физиологического раствора. Встряхнуть пробирки на вортексе в течение 3–5 секунд. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 1 минуты. Удалить надосадочную жидкость. Добавить к осадку 300 мкл реактива «Проба-

Рapid», встряхнуть пробирки на вортексе в течение 5–10 секунд. Термостатировать пробирки при 98°C в течение 10 минут. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 3 минут. Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР-амплификации.

Принцип метода ПЦР основан на использовании процесса амплификации ДНК, заключающегося в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

В смесь для амплификации введены сигнальные зонды, содержащие флуоресцентные метки Fam и Hex, на каждый вариант определяемого генетического полиморфизма. После окончания полимеразной цепной реакции проводится раунд температурного плавления дуплексов, образованных ампликонами и сигнальными зондами, в результате чего изменяется уровень флуоресценции, который фиксируется и представляется программным обеспечением прибора в виде графика. Если сигнальный зонд частично комплементарен ДНК-мишени, температура плавления такого дуплекса будет ниже температуры плавления дуплекса в случае полной комплементарности зонда. На основании температуры плавления сигнальных зондов проводится интерпретация результатов анализа.

В состав смесей для амплификации, специфичных для каждого генетического полиморфизма, включена система для амплификации фрагмента геномной ДНК человека, которая позволяет контролировать количество ДНК в амплификационной пробирке и исключить ошибки генотипирования.

Система для амплификации геномной ДНК человека включает ДНК-зонд, который содержит флуоресцентную метку (Cy5) и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК–зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень

флуоресценции) возрастает пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации. Комплекты реагентов для определения генетических полиморфизмов включают смеси для амплификации, специфичные для каждого генетического полиморфизма. Использование трёх флуоресцентных красителей позволяет одновременно определять два аллеля и оценивать количество геномной ДНК в одной пробирке. Определение генетических полиморфизмов методом полимеразной цепной реакции выполнялось в режиме реального времени по предлагаемому фирмой протоколу, который представлен ниже.

Приготовить пробирки для проведения амплификации вместимостью 0,2 мл в соответствии с количеством проб плюс отрицательный контроль. Встряхнуть пробирки со смесью для амплификации в течение 3–5 секунд и центрифугировать в течение 1–3 секунд на вортексе. Внесите в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей приготовленной смеси для амплификации. Приготовить смесь ПЦР-буфера с Taq-АТ-полимеразой и внести в каждую пробирку по 10 мкл. Добавить в по 1 капле минерального масла. Внести в пробирки для исследуемых образцов по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, с отрицательным контролем, по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК. Центрифугировать пробирки на микроцентрифуге в течение 1–3 секунд. Установить все пробирки в амплификатор DT-96 (ДНК Технология, Россия) и запустить программное обеспечение RealTime_PCR.

Прибор оснащен специально разработанным русскоязычным программным обеспечением, поддерживающим автоматическую обработку данных и выдачу результатов исследования. В случае возникновения замены в нуклеотидной последовательности ДНК возможно обнаружение трех вариантов генотипа: гомозиготы с исходной последовательностью нуклеотидов, гетерозиготы и гомозиготы с заменой в последовательности нуклеотидов.

Пример кривой плавления методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени представлен на рисунке 1.

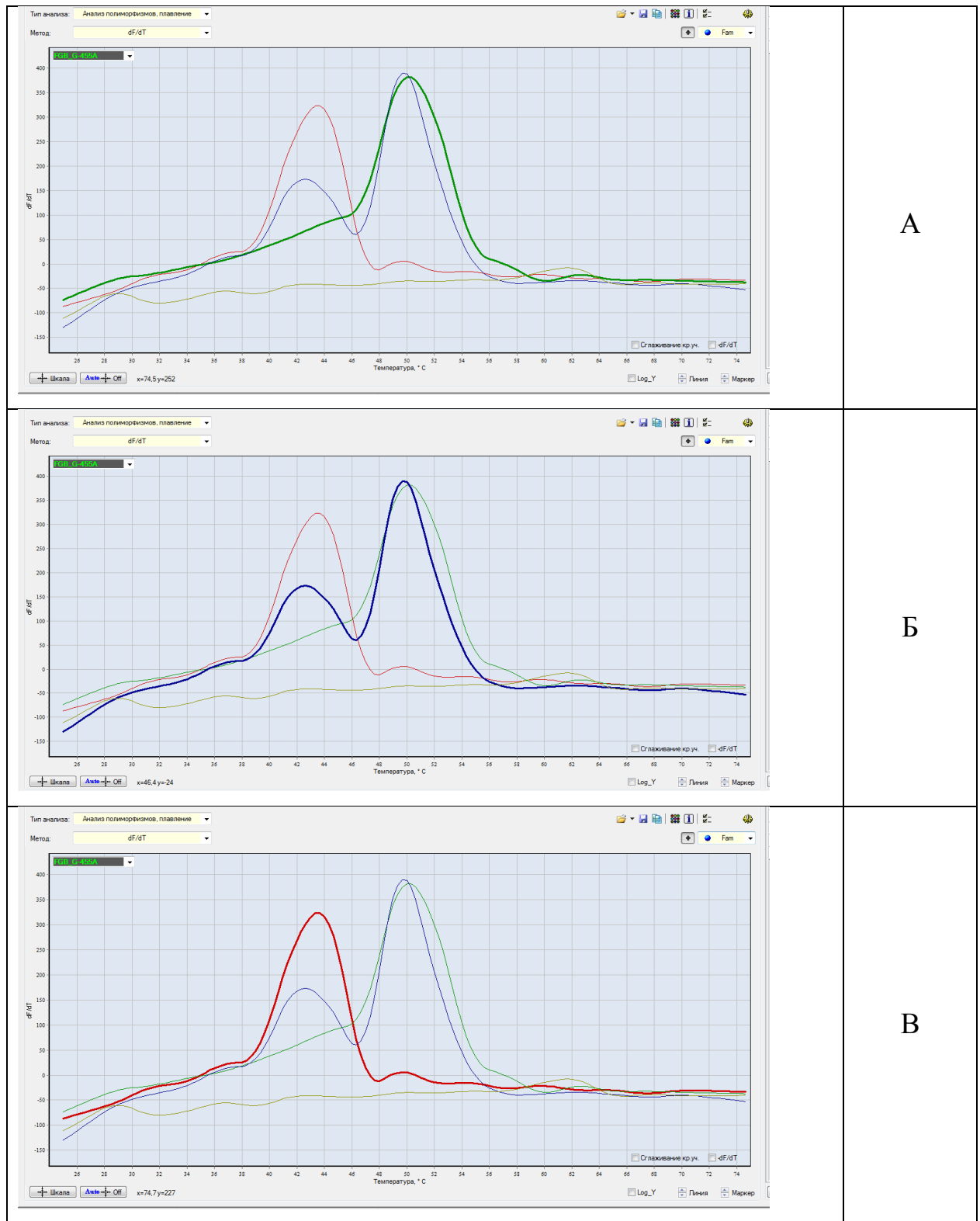


Рисунок 1 – Пример кривой плавления методом ПЦР в режиме реального времени.

А – нормальная гомозигота (кривая плавления - выделена зеленым цветом);

Б – гетерозигота (кривая плавления - выделена синим цветом);

В – мутантная гомозигота (кривая плавления - выделена красным цветом)

Панель исследуемых полиморфных вариантов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза состояла из следующих тестов:

- *FII*: 20210 G>A (фактор II),
- *FV*: 1691 G>A (фактор V, Лейденская мутация),
- *FVII*: 10976 G>A (фактор VII),
- *FXIII*: 163 G>T (фактор XIII),
- *FGB*: -455 G>A (фактор I),
- *PAI-1*: - 675 5G>4G (ингибитор активатора плазминогена I типа)
- *ITGA2*: 807 C>T (рецептор тромбоцитов к коллагену),
- *ITGB3*: 1565T>C (рецептор тромбоцитов к фибриногену).

В таблице 3, представлено описание полиморфной замены генов факторов плазменного компонента системы гемостаза, определение которых проводилось в группе пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей.

Таблица 3 – Характеристика исследованных генов факторов плазменного звена гемостаза

Ген	Белковый продукт	Полиморфизм/ мутация	SNP	Расположение гена на хромосоме
<i>FII</i>	Коагуляционный фактор II	20210 G>A	rs1799963	11p11-q12
<i>FV</i>	Коагуляционный фактор V	1691 G>A (Arg506Gln)	rs6025	1q24.2
<i>F VII</i>	Коагуляционный фактор VII	10976 G>A (Arg353Gln)	rs6046	13q34
<i>F XIII</i>	Фибриназа	G>T (Val34Leu)	rs5985	6p25.1
<i>FGB</i>	Фибриноген	-455 G>A	rs1800790	4q28
<i>PAI-1</i>	Ингибитор активатора плазминогена 1 типа	-675 5G>4G	rs1799889	7q21.3-q22

В таблице 4, представлено описание полиморфизма тромбоцитарных рецепторов, выявление которых проводилось в группе пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей.

Таблица 4 – Характеристика исследованных генов факторов тромбоцитарного звена гемостаза

Ген	Белковый продукт	Полиморфизм	SNP	Расположение гена на хромосоме
<i>ITGA2</i>	Гликопротеин (GP Ia-IIa)	807 C>T (Phe224 Phe)	rs1126643	5q23-q31
<i>ITGB3</i>	Гликопротеин (IIb-IIIa)	1565 T>C (Leu33Pro)	rs5918	17q21.32

Для исследования полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла, использовалась следующая панель тестов: *MTHFR*: 677 C>T (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTHFR*: 1298 A>C (метилентетрагидрофолатредуктаза), *MTR*: 2756 A>G (B₁₂-зависимая метионинсинтаза), *MTRR*: 66 A>G (метионинсинтазаредуктаза).

В таблице 5 представлено описание генов ферментов фолатного метаболизма, выявление которых проводилось в группе пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей.

Таблица 5 – Характеристика исследованных генов ферментов фолатного метаболизма

Ген	Белковый продукт	Полиморфизм	SNP	Расположение гена на хромосоме
<i>MTHFR</i>	метилентетрагидро-фолатредуктаза	C677T	rs1801133	1p36.3
		A1298C	rs1801131	
<i>MTR</i>	B ₁₂ -зависимая-метионинсинтаза	A2756G	rs1805087	1q43
<i>MTRR</i>	метионинсинтаза-редуктаза	A66G	rs1801394	5p15.3-15.2

Для оценки состояния системы гемостаза проводили исследование сосудисто-тромбоцитарного и плазменного звеньев гемостаза. Исследование показателей системы гемостаза было проведено у 37 пациентов с ФЕЖС до проведения ДКПС и ТКПС, и у 12 практически здоровых детей. В таблице 6

представлены количество выполненных показателей системы гемостаза в обследуемых группах.

Для характеристики плазменного звена гемостаза использовались следующие коагуляционные тесты: протромбиновое время, представленное в виде международного нормализованного отношения (МНО), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), общий фибриноген (ФГ). Содержание в плазме данных показателей выполнялись на автоматическом анализаторе гемостаза ACL TOP 700 (Instrumentation Laboratory Company, USA) с использованием реагентов этой же фирмы.

Таблица 6 – Количество обследованных пациентов по основным исследуемым показателям

Группы пациентов Вид исследования		Пациенты с ФЕЖС до ДКПС (n)	Пациенты с ФЕЖС до ТКПС (n)	Практически здоровые дети (n)
Показатели плазменного гемостаза	МНО	13	35	12
	АЧТВ	13	35	12
	Общий фибриноген	13	35	12
	Антитромбин III	6	27	12
	Протеин С	6	27	12
Показатели тромбоцитарно- сосудистого гемостаза	Количество тромбоцитов	17	37	11
	Агрегационная активность тромбоцитов	-	50	12
Маркеры активации системы гемостаза	РФМК	13	35	12
	Д - димер	-	27	-
Гематологические показатели	Эритроциты, гемоглобин, гематокрит, лейкоциты, СОЭ	17	36	-
Биохимические показатели	Уровень мочевины, креатинина	17	33	-

Определение количества лейкоцитов (WBC), эритроцитов (RBC), гемоглобина (HGB), гематокрита (HCT), тромбоцитов (PLT) проводили на автоматическом гематологическом анализаторе (Pentra 80, ABX HORIBA, Франция) с использованием реагентов этой же фирмы. Показатель скорости оседания эритроцитов (СОЭ) определяли на автоматическом анализаторе Roller 20 PN (Alifax, Италия).

Исследование агрегационной активности тромбоцитов проводили на четырехканальном агрегометре AggRAM Helena Laboratories Corp.(UK). Для оценки функциональной активности тромбоцитов проводилась оценка максимальной величины их агрегации на фоне индукторов. В качестве индукторов агрегации тромбоцитов применялись следующие вещества: АДФ – 20 мкМ/л, эпинефрин – 2 мМ/л, коллаген – 10 мкг/мл.

После проведения операции ТКПС на 5-7-е сутки у 50 пациентов с ФЕЖС принимающих кардиомагнил (37,5-112 мг/сутки) проводили определение показателя величины максимальной агрегации тромбоцитов на фоне индуктора эпинефрина.

Для оценки антикоагулянтного потенциала крови использовались хромогенные методы определения активности антитромбина – III и протеина C, которые выполнялись на автоматическом анализаторе гемостаза ACL TOP 700 (Instrumentation Laboratory Company, USA) с использованием реагентов этой же фирмы.

Для оценки маркеров активации системы гемостаза в исследование проводилось определение растворимых фибрин – мономерных комплексов (РФМК) с помощью наборов (Технология - стандарт, Россия). Определение концентрации D-димера в плазме крови выполняли иммуноферментным методом с помощью набора реагентов фирмы (TECHNOZYM Antigen EDTA ELISA, Technoclone, Austria). Оптическую плотность образцов и стандартов измеряли на микропланшетном ридере Sunrise (TECAN, Austria) при длине волны, указанной в инструкции производителя набора. Расчет концентрации определяемых факторов осуществляли с помощью программного обеспечения Magellan.

Исследование факторов системы гемостаза были выполнены у 32 пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС (таблица 7).

Содержание факторов системы гемостаза: протромбина (фактора II), тромбина, проконвертина (фактора VII) и фибринстабилизирующего фактора (фактора XIII) определяли в плазме крови методом иммуноферментного анализа с использованием следующих наборов реагентов AssayMax Human ELISA Kit, Assaypro (USA), согласно инструкциям производителя. Оптическую плотность образцов и стандартов измеряли на микропланшетном ридере Sunrise (TECAN, Austria) при длине волны, указанной в инструкции производителя набора. Расчет концентрации определяемых факторов осуществляли с помощью программного обеспечения Magellan.

Таблица 7 – Количество исследований показателей системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС

Вид исследования \ Группы пациентов	Пациенты с ФЕЖС (n)
F II, (протромбин)	31
F VII, (проконвертин)	31
F XIII, (фибринстабилизирующий фактор)	31
t-РА, (тканевой активатор плазминогена)	32
РАI-1(ингибитор активатора плазминогена 1-го типа)	31
Плазминоген	19
Д – димер	27
Тромбин	31

Фибринолитическую активность оценивали путем определение антигенов тканевого активатора плазминогена (t-РА) и ингибитора активации первого типа (РАI-1) иммуноферментным методом фирмы (TECHNOZYM Antigen EDTA ELISA, Technoclone, Austria). Содержания плазминогена в плазме выполнялись на автоматическом анализаторе гемостаза ACL TOP 700 (Instrumentation Laboratory Company, USA) с использованием реагентов этой же фирмы.

Содержание в периферической крови гомоцистеина оценивалось методом иммуноферментного анализа с использованием реагентов фирмы AXIS-SHIELD

Diagnostics Limited (UK). Оптическую плотность образцов и стандартов измеряли на микропланшетном ридере Sunrise (TECAN, Austria) при длине волны, указанной в инструкции производителя набора. Расчет концентрации определяемых факторов осуществляли с помощью программного обеспечения Magellan.

Для оценки выделительной функции почек проводили определение уровня мочевины и креатинина в сыворотке крови. Использовали набор реагентов фирмы Thermo Fisher Scientific (USA) и автоматический биохимический анализатор Konelab 60i (Thermo Scientific, USA).

Определение насыщение крови кислородом проводилось по данным пульсоксиметрии с использованием монитора Life scope IBSM-2301K (Nihon Kohden, Япония).

2.3. Методы статистической обработки результатов

Статистическая обработка результатов, проводилась с помощью программ SPSS v.20.0, MedCalc v.17.9.7. Для всех видов анализа статистически значимыми считались различия при уровне значимости $p < 0,05$.

1. Анализ качественных данных. Оценка отклонения распределений полиморфных вариантов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, а также ферментов фолатного цикла от канонического распределения Харди—Вайнберга проводилась с помощью on-line программы DeFinetti на сайте Института генетики человека (Мюнхен, Германия): <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>. Сравнение частот генотипов проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса (Y) на непрерывность при условии, что все значения частот сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера (F). Расчет коэффициента «относительного риска» (RR) с 95% доверительным интервалом и p-значения проводились с помощью онлайн калькулятора, представленного на сайте: https://www.medcalc.org/calc/relative_risk.php. Расчет коэффициента

«отношения шансов» (OR) с 95% доверительным интервалом и р-значения проводились с помощью онлайн калькулятора, доступного на сайте: https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php.

2. Анализ количественных данных. Проверка выборок на соответствие нормальному закону распределения проводилась с помощью критериев Колмогорова-Смирнова, Шапиро – Вилка. Данные представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (Me) (25%Q - 75%Q), где Me - медианное значение показателя, а (25%Q - 75%Q) - интерквартильный разброс. Для анализа количественных данных использовали тест Манна-Уитни для двух независимых групп или тест Крускала-Уолиса для нескольких независимых групп с поправкой на количество групп исследования. Корреляционный анализ данных проводился с помощью определения коэффициента корреляции Спирмена.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Распределение полиморфных вариантов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с ФЕЖС и практически здоровых детей

Молекулярно-генетическое исследование полиморфных вариантов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов проведено в группе с ФЕЖС у 102 пациентов и в группе практически здоровых у 89 детей: *FII*: 20210 G>A (фактора II), *FV*: 1691 G>A (фактора V, Лейденская мутация), *FVII*: 10976 G>A (фактора VII), *FXIII*: 163 G>T (фактора XIII), *FGB*: -455 G>A (фактора I), *PAI-1*: - 675 5G>4G (ингибитора активатора плазминогена I типа) и *ITGA2*: 807 C>T (рецептора тромбоцитов к коллагену), *ITGB3*: 1565T>C (рецептора тромбоцитов к фибриногену).

Результаты проведенного анализа распределения частот генотипов и аллелей генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в группе пациентов с ФЕЖС представлены в таблице 8.

В исследуемой группе распределение генотипов всех изучаемых генов не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга. При анализе частот генотипов полиморфной замены G20210A гена *FII* обнаружено, что 3 пациента с ФЕЖС являлись носителями гетерозиготного генотипа GA, при этом гомозиготы AA не встречались. Мы также не выявили носителей гомозиготного генотипа AA при анализе полиморфной замены G1691A гена *FV*, между тем 6 пациентов с ФЕЖС являлись носителями гетерозиготного генотипа GA.

По нашим данным для распределения полиморфных вариантов гена ингибитора активности плазминогена типа I - *PAI-1*: - 675 5G>4G характерно преобладание гетерозиготного генотипа 5G4G в группе пациентов с ФЕЖС по сравнению с гомозиготным генотипом 4G4G. Носителями гомозиготного генотипа 5G5G гена ингибитора активности плазминогена типа I являлись только 15 пациентов с ФЕЖС.

Таблица 8 – Распределение частот генотипов и аллелей генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с ФЕЖС

Ген	Мутация/ полиморфизм	Генотип	Частота генотипа	Частота аллеля	Соответствие равновесию Харди- Вайнберга, p
FII	G 20210 A	GG	99 (99,02)	G=0,99 A=0,01	p=0,880
		GA	3 (2,96)		
		AA	0 (0,02)		
FV	G 1691 A	GG	96 (96,09)	G=0,97 A=0,03	p=0,759
		GA	6 (5,82)		
		AA	0 (0,09)		
FVII	G 10976 A	GG	74 (72,5)1	G=0,84 A=0,16	p=0,264
		GA	24 (26,98)		
		AA	4 (2,51)		
FXIII	G 163 T	GG	52 (53,69)	G=0,73 T=0,27	p=0,401
		GT	44 (40,63)		
		TT	6 (7,69)		
FGB	G - 455 A	GG	53 (52,25)	G=0,72 A=0,28	p=0,713
		GA	40 (41,51)		
		AA	9 (8,25)		
PAI-1	5G - 675 4G	5G5G	15 (15,69)	5G=0,39 4G=0,61	p=0,775
		5G4G	50 (48,63)		
		4G4G	37 (37,69)		
ITGA2	C 807 T	CC	45 (42,06)	C=0,64 T=0,36	p=0,205
		CT	41 (46,88)		
		TT	16 (13,06)		
ITGB3	T 1565 C	TT	77 (75,92)	T=0,86 C=0,14	p=0,367
		TC	22 (24,16)		
		CC	3 (1,92)		
Примечание: p – уровень значимости, показывающий соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга					

В таблице 9 представлено распределение частот генотипов и аллелей генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в группе практически здоровых детей.

При проверке распределений частот генотипов и аллелей генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в группе практически здоровых детей наблюдалось соответствие равновесию Харди-Вайнберга для семи из восьми генов. Отмечалось отклонение для распределения генотипов гена *FVII* (*p*=0,030).

Таблица 9 – Распределение частот генотипов и аллелей генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у практически здоровых детей

Ген	Мутация/ полиморфизм	Генотип	Частота генотипа	Частота аллеля	Соответствие равновесию Харди- Вайнберга, р
FII	G 20210 A	GG	87 (87,01)	G=0,99 A=0,01	p=0,914
		GA	2 (1,98)		
		AA	0 (0,02)		
FV	G 1691 A	GG	88 (88,0)	G=0,99 A=0,01	p=0,957
		GA	1 (0,99)		
		AA	0 (0,00)		
FVII	G 10976 A	GG	69 (66,62)	G=0,87 A=0,13	p=0,030
		GA	16 (20,76)		
		AA	4 (1,62)		
FXIII	G 163 T	GG	52 (52,72)	G=0,77 T=0,23	p=0,666
		GT	33 (31,56)		
		TT	4 (4,72)		
FGB	G - 455 A	GG	58 (55,85)	G=0,79 A=0,21	p=0,165
		GA	25 (29,31)		
		AA	6 (3,85)		
PAI-1	5G - 675 4G	5G5G	17 (18,43)	5G=0,46 4G=0,54	p=0,541
		5G4G	47 (44,14)		
		4G4G	25 (26,43)		
ITGA2	C 807 T	CC	41 (40,45)	C=0,67 T=0,33	p=0,790
		CT	38 (39,10)		
		TT	10 (9,45)		
ITGB3	T 1565 C	TT	66 (66,62)	T=0,87 C=0,13	p=0,574
		TC	22 (20,76)		
		CC	1 (1,62)		
Примечание: р – уровень значимости, показывающий соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга					

Частота встречаемости гомозиготного генотипа *GG* гена *FVII* превалировала над генотипом *GA*, и частота гетерозиготного генотипа была в три раза ниже. При этом носительство гомозиготного генотипа *AA* гена *FVII*, выявлено лишь у 4 практически здоровых детей. Мы также не выявили носителей гомозиготного генотипа *AA* в группе практически здоровых детей при анализе полиморфной замены *G1691A* гена *FV*, между тем 1 ребенок являлся носителем гетерозиготного генотипа *GA*.

Распределение генотипов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с ФЕЖС изучено с учетом пола (таблица 10).

Таблица 10 – Распределение генотипов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в зависимости от пола у пациентов с ФЕЖС

Ген	Генотип	Частота генотипа			Критерий Фишера/ χ^2
		Девочки(%) n=47	Мальчики(%) n=55	Всего(%) n=102	
FII	20210 GG	46(97,9)	53(96,4)	99(97,1)	F=(-) p=0,559
	20210 GA	1(2,1)	2(3,6)	3(2,9)	
	20210 AA	0	0	0	
FV	1691 GG	44(93,6)	52(94,5)	96(94,1)	F=(-) p=0,583
	1691 GA	3(6,4)	3(5,5)	6(5,9)	
	1691 AA	0	0	0	
FVII	10976 GG	34(72,3)	40(72,7)	74(72,5)	F=1,471 p=0,485
	10976 GA	10(21,3)	14(25,5)	24(23,5)	
	10976 AA	3(6,4)	1(1,8)	4(3,9)	
FXIII	163 GG	26(55,3)	26(47,3)	52(51,0)	F=0,919 p=0,654
	163 GT	18(38,3)	26(47,3)	44(43,1)	
	163 TT	3(6,4)	3(5,5)	6(5,9)	
FGB	(-455) GG	24(51,1)	29(52,7)	53(52,0)	F=0,124 p=0,956
	(-455) GA	19(40,4)	21(38,2)	40(39,2)	
	(-455) AA	4(8,5)	5(9,1)	9(8,8)	
PAI-1	(-675) 5G/5G	7(14,9)	8(14,5)	15(14,7)	$\chi^2=0,187$ p=0,962
	(-675) 4G/5G	22(46,8)	28(50,9)	50(49,0)	
	(-675) 4G/4G	18(38,3)	19(34,5)	37(36,3)	
ITGB3	1565 TT	35(74,5)	42(76,4)	77(75,5)	F=0,455 p=0,923
	1565 TC	11(23,4)	11(20,0)	22(21,6)	
	1565 CC	1(2,1)	2(3,6)	3(2,9)	
ITGA2	807 CC	20(42,6)	25(45,5)	45(44,1)	$\chi^2=0,958$ p=0,621
	807 CT	21(44,7)	20(36,4)	41(40,2)	
	807 TT	6(12,8)	10(18,2)	16(15,7)	
Примечание: сравнение частот проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона при условии, если частоты сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера; n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость					

В таблице 11 представлено распределение генотипов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в группе практически здоровых детей с учетом половых различий.

Таблица 11 – Распределение генотипов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов в зависимости от пола у практически здоровых детей

Ген	Генотип	Частота генотипа			Критерий Фишера/ χ^2
		Девочки(%) n=46	Мальчики(%) n=43	Всего(%) n=89	
<i>FII</i>	20210 GG	44(95,7)	43(100)	87(97,8)	F=(-) p=0,264
	20210 GA	2(4,3)	0(0)	2(2,2)	
	20210 AA	0	0	0	
<i>FV</i>	1691 GG	45(97,8)	43(100)	88(98,9)	F=(-) p=0,517
	1691 GA	1(2,2)	0(0)	1(1,1)	
	1691 AA	0	0	0	
<i>FVII</i>	10976 GG	35(76,1)	34(79,1)	69(77,5)	F=0,309 p=0,918
	10976 GA	9(19,6)	7(16,3)	16(18,0)	
	10976 AA	2(4,3)	2(4,7)	4(4,5)	
<i>FXIII</i>	163 GG	30(65,2)	22(51,2)	52(58,4)	F=1,995 p=0,348
	163 GT	14(30,4)	19(44,2)	33(37,1)	
	163 TT	2(4,3)	2(4,7)	4(4,5)	
<i>FGB</i>	(-455) GG	33(71,7)	25(58,1)	58(65,2)	F=2,063 p=0,390
	(-455) GA	10(21,7)	15(34,9)	25(28,1)	
	(-455) AA	3(6,5)	3(7,0)	6(6,7)	
<i>PAI-1</i>	(-675) 5G/5G	5(10,9)	12(27,9)	17(19,1)	$\chi^2=4,318$ p=0,112
	(-675) 4G/5G	26(56,5)	21(48,8)	47(52,8)	
	(-675) 4G/4G	15(32,6)	10(23,3)	25(28,1)	
<i>ITGB3</i>	1565 TT	33(71,7)	33(76,7)	66(74,2)	F=1,036 p=0,900
	1565 TC	12(26,1)	10(23,3)	22(24,7)	
	1565 CC	1(2,2)	0(0)	1(1,1)	
<i>ITGA2</i>	807 CC	23(50,0)	18(41,9)	41(46,1)	$\chi^2=0,615$ p=0,792
	807 CT	18(39,1)	20(46,5)	38(42,7)	
	807 TT	5(10,9)	5(11,6)	10(11,2)	
Примечание: сравнение частот проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона при условии, если частоты сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера; n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость					

На основании данных в таблицах 10,11 можно говорить, что ни для одного из исследуемых генов как в группе пациентов с ФЕЖС, так и в группе практически здоровых детей мы не выявили достоверных различий между девочками и мальчиками по распределению частот генотипов.

В нашей работе проведен сравнительный анализ частот полиморфных вариантов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звена системы гемостаза (таблица 12).

В результате проведенного анализа *GG* генотип гена *F II* в группе пациентов с ФЕЖС встречался в 97,1%, в группе практически здоровых детей – 97,8%. Частота гетерозиготного генотипа *GA* в исследуемых группах составила 2,9% и 2,2% соответственно, и достоверно не различалась в данных группах. Гомозиготный генотип *AA* гена *F II* в обследуемых группах не встречался (таблица 12).

При сравнении частоты встречаемости *GG* генотипа гена *F V* в группе пациентов с ФЕЖС, которая составляла 94,1% с группой практически здоровых детей – 98,9% статистически значимых различий не выявлено. Носителями гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *V* (Лейденская мутация) в группе пациентов с ФЕЖС являлись 5,9%, в группе практически здоровых детей – 1,1%. Гомозиготный генотип *AA* гена *F V* в обследуемых группах не встречался (таблица 12).

В группе пациентов с ФЕЖС носителями *GG* генотипа гена *F VII* являлись 72,5%, а в группе практически здоровых детей – 77,5%. В 23,5% случаев выявлено гетерозиготное носительство *GA* гена *F VII* в группе пациентов с ФЕЖС и 18,0% в группе практически здоровых детей. Гомозиготное *AA* носительство – в 4,0% и 4,5% случаях соответственно в обследуемых группах. При анализе частоты встречаемости генотипов гена *F VII* между группой пациентов с ФЕЖС и группой практически здоровых детей статистически значимых различий не выявлено (таблица 12).

Гомозиготный генотип *GG* гена *F XIII* составлял 51% в группе пациентов с ФЕЖС и 58,4% в группе практически здоровых детей. Гетерозиготный генотип *GT* обнаружен в 43,1% случаев в группе пациентов с ФЕЖС и в 37,1% – в группе практически здоровых детей, а гомозиготный *TT* генотип – в 5,9% и 4,5% случаях соответственно. В обследованных группах достоверных различий носительства генотипов *F XIII* не выявлено (таблица 12).

Таблица 12 – Распределение полиморфных вариантов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звена системы гемостаза в группе пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей

Мутация/ полиморфизм	Генотип	Группа пациентов с ФЕЖС(%)		Группа практически здоровых детей(%)		Критерий Фишера/ χ^2
		Частота		Частота		
		генотипа	аллеля	генотипа	аллеля	
<i>FII</i> <i>G20210A</i>	<i>GG</i>	97,1	G=0,99 A=0,01	97,8	G=0,99 A=0,01	F=(-) p=0,564
	<i>GA</i>	2,9		2,2		
	<i>AA</i>	0		0		
<i>FV</i> <i>G1691A</i>	<i>GG</i>	94,1	G=0,97 A=0,03	98,9	G=0,99 A=0,01	F=(-) p=0,084
	<i>GA</i>	5,9		1,1		
	<i>AA</i>	0		0		
<i>FVII</i> <i>G10976A</i>	<i>GG</i>	72,5	G=0,84 A=0,16	77,5	G=0,87 A=0,13	F=0,948 p=0,619
	<i>GA</i>	23,5		18,0		
	<i>AA</i>	4,0		4,5		
<i>FXIII</i> <i>G163T</i>	<i>GG</i>	51,0	G=0,73 T=0,27	58,4	G=0,77 T=0,23	F=1,108 p=0,598
	<i>GT</i>	43,1		37,1		
	<i>TT</i>	5,9		4,5		
<i>FGB</i> <i>G-455A</i>	<i>GG</i>	52,0	G=0,72 A=0,28	65,2	G=0,79 A=0,21	χ^2 =3,418 p=0,181
	<i>GA</i>	39,2		28,1		
	<i>AA</i>	8,8		6,7		
<i>PAI-1</i> <i>5G-6754G</i>	<i>5G5G</i>	14,7	5G=0,39 4G=0,61	19,1	5G=0,46 4G=0,54	χ^2 =1,663 p=0,433
	<i>5G4G</i>	49,0		52,8		
	<i>4G4G</i>	36,3		28,1		
<i>ITGA2</i> <i>C807T</i>	<i>CC</i>	44,1	C=0,64 T=0,36	46,1	C=0,67 T=0,33	χ^2 =0,812 p=0,690
	<i>CT</i>	40,2		42,7		
	<i>TT</i>	15,7		11,2		
<i>ITGB3</i> <i>T1565C</i>	<i>TT</i>	75,5	T=0,86 C=0,14	74,2	T=0,87 C=0,13	F=0,916 p=0,696
	<i>TC</i>	21,6		24,7		
	<i>CC</i>	2,9		1,1		

Примечание: сравнение частот проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона при условии, если частоты сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера;
p – статистическая значимость

При исследовании гена *FGB* у 52,0% пациентов с ФЕЖС отмечалось носительство *GG* генотипа и у 65,2% детей в группе практически здоровых. В 39,2% случаев выявлено гетерозиготное носительство *GA* гена *FGB* в группе

пациентов с ФЕЖС, в 28,1% случаев - в группе практически здоровых детей. Гомозиготное *AA* носительство – в 8,8% и 6,7% случаях соответственно. При анализе частоты встречаемости генотипов гена *FGB* между группой пациентов с ФЕЖС и группой практически здоровых детей достоверных различий не выявлено (таблица 12).

В нашем исследовании 14,7% пациентов с ФЕЖС являлись носителями *5G5G* генотипа гена *PAI-1*, 19,1% – в группе практически здоровых детей. Гетерозиготный генотип *5G4G* в группе пациентов с ФЕЖС встречался в 49,0%, в группе практически здоровых детей выявлен у 52,8%, гомозиготный *4G4G* генотип – у 36,3% и 28,1% детей соответственно. При анализе частоты встречаемости генотипов гена *PAI-1* между группой пациентов с ФЕЖС и группой практически здоровых детей статистически значимых различий не выявлено (таблица 12).

Генотип *CC* в гене рецептора тромбоцитов для коллагена *ITGA2* у пациентов с ФЕЖС выявлен в 44,1% случаев, в группе практически здоровых детей в 46,1%. В 40,2% случаях носителями гетерозиготного *CT* генотипа гена рецептора тромбоцитов для коллагена *ITGA2* являлись пациенты с ФЕЖС, 42,7% детей – в группе практически здоровых. Носителями гомозиготного *TT* генотипа гена рецептора тромбоцитов для коллагена *ITGA2* – 15,7% и 11,2% соответственно. Анализ частоты встречаемости генотипов гена *ITGA2* между пациентами с ФЕЖС и группой практически здоровых детей достоверных различий не выявил (таблица 12).

В гене рецептора тромбоцитов для фибриногена *ITGB3* *TT* генотип выявлялся у 75,5% пациентов с ФЕЖС и у 74,2% группы практически здоровых детей. Гетерозиготный *TC* генотип определялся в 21,6% случаях пациентов с ФЕЖС, в 24,7% – в группе практически здоровых детей, а гомозиготный *CC* генотип – в 2,9% и 1,1% случаях соответственно. При анализе частоты встречаемости генотипов гена *ITGB3* между пациентами с ФЕЖС и группой практически здоровых детей статистически значимых различий не выявлено (таблица 12).

Таким образом, согласно полученным данным распределение генотипов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звена системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС соответствует соотношению Харди-Вайнберга. Зафиксировано отклонение для распределения генотипов полиморфной замены *G10976A* гена *FVII* в группе практически здоровых детей.

Полиморфные варианты генов факторов плазменного и тромбоцитарного звена системы гемостаза распространены среди девочек и мальчиков у пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей с одинаковыми частотами.

Анализ частоты генотипов генов плазменного: *FII*: 20210 *G>A*, *FV*: 1691 *G>A*, *FVII*: 10976 *G>A*, *FXIII*: 163 *G>T*, *FGB*: -455 *G>A*, *PAI-1*: - 675 5*G>4G* и тромбоцитарного: *ITGA2*:807 *C>T*, *ITGB3*: 1565*T>C* звеньев системы гемостаза показал, что группа пациентов с ФЕЖС сопоставима с группой практически здоровых детей.

3.2. Распределение полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС и практически здоровых детей

Молекулярно-генетическое исследование полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR*: 677 C>T (метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTHFR*: 1298 A>C (метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTR*: 2756 A>G (B₁₂-зависимой метионинсинтазы), *MTRR*: 66 A>G (метионинсинтазаредуктазы) проведено в группе пациентов с ФЕЖС и группе практически здоровых детей.

Распределение частот аллелей и генотипов в изученных генах ферментов фолатного цикла проверено на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Обнаружено, что распределение трех из исследуемых четырех полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла в группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца (n=102) соответствует соотношению Харди-Вайнберга (таблица 13).

Таблица 13 – Распределение частот генотипов и аллелей генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС

Ген	Полиморфизм	Генотип	Частота генотипа	Частота аллеля	Соответствие равновесию Харди- Вайнберга, p
MTHFR	C677T	CC	58 (57,38)	C=0,75 T=0,25	p=0,741
		CT	37 (38,25)		
		TT	7 (6,38)		
MTHFR	A1298C	AA	45 (50,12)	A=0,70 C=0,30	<u>p=0,015</u>
		AC	53 (42,76)		
		CC	4 (9,12)		
MTR	A2756G	AA	58 (59,65)	A=0,76 G=0,24	p=0,364
		AG	40 (36,71)		
		GG	4 (5,65)		
MTRR	A66G	AA	19 (22,59)	A=0,47 G=0,53	p=0,153
		AG	58 (50,82)		
		GG	25 (28,59)		
Примечание: p – уровень значимости, показывающий соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга					

Отклонение было зафиксировано для частот генотипа *A1298C* гена метилентетрагидрофолатредуктазы ($p=0,015$) (таблица 13). По нашим данным для распределения полиморфных вариантов гена *MTHFR* характерно преобладание гетерозиготного генотипа *АС* в группе пациентов с ФЕЖС по сравнению с гомозиготным генотипом *АА*. Напротив, носителями гомозиготного генотипа *СС* гена фермента *MTHFR* являлись 4 пациента с ФЕЖС.

При проведении анализа распределения частот аллелей и генотипов в генах ферментов фолатного цикла выявлено соответствие равновесию Харди-Вайнберга в группе практически здоровых детей ($n=89$) (таблица 14).

Таблица 14 – Распределение частот генотипов и аллелей генов ферментов фолатного цикла у практически здоровых детей

Ген	Полиморфизм	Генотип	Частота генотипа	Частота аллеля	Соответствие равновесию Харди- Вайнберга, p
MTHFR	C677T	CC	43 (39,78)	C=0,67 T=0,33	p=0,125
		CT	33 (39,44)		
		TT	13 (9,78)		
MTHFR	A1298C	AA	45 (47,47)	A=0,73 C=0,27	p=0,183
		AC	40 (35,06)		
		CC	4 (6,47)		
MTR	A2756G	AA	51 (50,44)	A=0,75 G=0,25	p=0,748
		AG	32 (53,12)		
		GG	6 (5,44)		
MTRR	A66G	AA	22 (23,26)	A=0,51 G=0,49	p=0,592
		AG	47 (44,48)		
		GG	20 (21,26)		
Примечание: p – уровень значимости, показывающий соответствие распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга					

Обнаружено, что распределение частот всех генотипов генов ферментов фолатного цикла соответствует соотношению Харди-Вайнберга (таблица 14).

Результаты распределения генотипов генов ферментов фолатного цикла в группе пациентов с ФЕЖС с учетом пола, представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Распределение генотипов генов фолатного обмена *MTHFR*: 677 *C>T*, *MTHFR*: 1298 *A>C*, *MTR*: 2756 *A>G*, *MTRR*: 66 *A>G* у пациентов с ФЕЖС

Ген	Генотип	Частота генотипа			Критерий Фишера/ χ^2
		Девочки(%) n=47	Мальчики(%) n=55	Всего(%) n=102	
<i>MTHFR</i>	677 <i>CC</i>	31(66,0)	27(49,1)	58(56,9)	F=4,390 p=0,117
	677 <i>CT</i>	15(31,9)	22(40,0)	37(36,3)	
	677 <i>TT</i>	1(2,1)	6(10,9)	7(6,9)	
<i>MTHFR</i>	1298 <i>AA</i>	22(46,8)	23(41,8)	45(44,1)	F=0,461 p=0,881
	1298 <i>AC</i>	23(48,9)	30(54,5)	53(52,0)	
	1298 <i>CC</i>	2(4,3)	2(3,6)	4(3,9)	
<i>MTR</i>	2756 <i>AA</i>	27(57,4)	31(56,4)	58(56,9)	F=1,494 p=0,499
	2756 <i>AG</i>	17(36,2)	23(41,8)	40(39,2)	
	2756 <i>GG</i>	3(6,4)	1(1,8)	4(3,9)	
<i>MTRR</i>	66 <i>AA</i>	9(19,1)	10(18,2)	19(18,6)	$\chi^2=2,751$ p=0,273
	66 <i>AG</i>	30(63,8)	28(50,9)	58(56,9)	
	66 <i>GG</i>	8(17,0)	17(30,9)	25(24,5)	

Примечание: сравнение частот проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона при условии, если частоты сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера; n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость

Как следует из таблицы 15, статистически значимых различий в распределении полиморфных вариантов генов фолатного цикла от гендерных особенностей у пациентов с ФЕЖС не выявлено.

В таблице 16 представлены результаты распределения генотипов генов ферментов фолатного цикла в группе практически здоровых детей с учетом половых различий.

В результате проведенного анализа частоты генотипов генов фолатного цикла: *MTHFR*: 677 *C>T*, *MTHFR*: 1298 *A>C*, *MTRR*: 66 *A>G* в группе практически здоровых детей были сопоставимы между девочками и мальчиками. Однако, при анализе распределения генотипов гена фермента фолатного цикла *MTR*: 2756 *A>G* в группе практически здоровых детей, мы установили значимые различия (p=0,060). При сравнении генотипов гена фермента фолатного цикла *MTR*: 2756 *A>G* в группе практически здоровых детей гетерозиготный *AG* генотип у девочек, достоверно чаще встречается, чем у мальчиков (p=0,026).

Гомозиготный генотип *AA* гена фермента фолатного цикла *MTR*: 2756 *A>G* у девочек встречался в 47,8% случаев, у мальчиков в 67,4% ($p=0,086$). Гомозиготный генотип *GG* гена фермента фолатного цикла *MTR*: 2756 *A>G* у девочек встречался в 4,3% случаев, у мальчиков в 9,3 % ($p=0,424$).

Таблица 16 – Распределение генотипов генов фолатного обмена *MTHFR*: 677 *C>T*, *MTHFR*: 1298 *A>C*, *MTR*: 2756 *A>G*, *MTRR*: 66 *A>G* у практически здоровых детей

Ген	Генотип	Частота генотипа			Критерий Фишера/ χ^2
		Девочки(%) n=46	Мальчики(%) n=43	Всего(%) n=89	
<i>MTHFR</i>	677 CC	28(56,5)	17(39,5)	43(48,3)	F=3,667 p=0,159
	677 CT	16(34,8)	17(39,5)	33(37,1)	
	677 TT	4(8,7)	9(20,9)	13(14,6)	
<i>MTHFR</i>	1298 AA	22(47,8)	23(53,5)	45(50,6)	F=1,758 p=0,415
	1298 AC	23(50,0)	17(39,5)	40(44,9)	
	1298 CC	1(2,2)	3(7,0)	4(4,5)	
<i>MTR</i>	2756 AA	22(47,8)	29(67,4)	51(57,3)	F=5,989 p=0,060
	2756 AG	22(47,8)	10(23,3)	32(36,0)	
	2756 GG	2(4,3)	4(9,3)	6(6,7)	
<i>MTRR</i>	66 AA	13(28,3)	9(20,9)	22(24,7)	$\chi^2=0,848$ p=0,665
	66 AG	24(52,2)	23(53,5)	47(52,8)	
	66 GG	9(19,6)	11(25,6)	20(22,5)	
Примечание: сравнение частот проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона при условии, если частоты сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера; n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость					

Далее, в рассматриваемых группах мы провели сравнительный анализ полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла (таблица 17).

В группе пациентов с ФЕЖС носителями генотипа *CC* гена фермента *MTHFR* *C677T* являлись 56,9% детей, в группе практически здоровых детей – 48,3%. Среди пациентов с ФЕЖС в 36,3% случаев выявлено гетерозиготное носительство *CT* генотипа гена фермента *MTHFR*, в группе практически здоровых детей – 37,1%. Гомозиготное носительство *677TT* генотипа гена фермента *MTHFR* наблюдалось в 6,8% и 14,6% случаев, в рассматриваемых группах. В

обследованных группах достоверных различий носительства генотипов фермента *MTHFR C677T* не выявлено (таблица 17).

В нашем исследовании у пациентов с ФЕЖС генотип *1298AA* гена фермента *MTHFR* встречался в 44,1% случаев, в группе практически здоровых детей – в 50,6%. Гетерозиготный генотип *1298AC* диагностирован в 52,0% случаев у пациентов с ФЕЖС, 44,9% в группе практически здоровых детей. Гомозиготный генотип *1298CC* гена фермента *MTHFR* в 3,9% и 4,5% случаев соответственно, в рассматриваемых группах. В обследованных группах достоверных различий носительства генотипов фермента *MTHFR A1298C* не выявлено (таблица 17).

Таблица 17 – Распределение полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей

Полиморфизм	Генотип	Группа пациентов с ФЕЖС(%)		Группа практически здоровых детей(%)		Критерий Фишера/ χ^2
		Частота		Частота		
		генотипа	аллеля	генотипа	аллеля	
<i>MTHFR C677T</i>	<i>CC</i>	56,9	C=0,75 T=0,25	48,3	C=0,67 T=0,33	$\chi^2=3,387$ p=0,177
	<i>CT</i>	36,3		37,1		
	<i>TT</i>	6,8		14,6		
<i>MTHFR A1298C</i>	<i>AA</i>	44,1	A=0,70 C=0,30	50,6	A=0,73 C=0,27	F=1,003 p=0,629
	<i>AC</i>	52,0		44,9		
	<i>CC</i>	3,9		4,5		
<i>MTR A2756G</i>	<i>AA</i>	56,9	A=0,76 G=0,24	57,3	A=0,75 G=0,25	F=0,876 p=0,671
	<i>AG</i>	39,2		36,0		
	<i>GG</i>	3,9		6,7		
<i>MTRR A66G</i>	<i>AA</i>	18,6	A=0,47 G=0,53	24,7	A=0,51 G=0,49	$\chi^2=1,047$ p=0,621
	<i>AG</i>	56,9		52,8		
	<i>GG</i>	24,5		22,5		

Примечание: сравнение частот проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона при условии, если частоты сравниваемых признаков больше 5. При частотах меньше 5 сравнение проводилось с использованием точного критерия Фишера;
p – статистическая значимость

В гене фермента *MTR* носительство генотипа *2756AA* в группе пациентов с ФЕЖС отмечалось в 56,9%, в группе практически здоровых - в 57,3%. В 39,2%

случаев выявлено гетерозиготное носительство 2756AG генотипа гена фермента *MTR* в группе пациентов с ФЕЖС и 36,0% в группе практически здоровых детей. Гомозиготное носительство 2756GG генотипа гена фермента *MTR* наблюдалось в 3,9% и 6,7% случаев в рассматриваемых группах. В обследованных группах достоверных различий носительства генотипов фермента *MTR* A2756G не выявлено (таблица 17).

При исследовании гена фермента *MTRR* A66G в группе пациентов с ФЕЖС 18,6% пациентов являлись носителями генотипа 66AA, в группе практически здоровых – 24,7% детей. В 56,9% случаев пациентов с ФЕЖС выявлено гетерозиготное носительство 66AG генотипа гена фермента *MTRR*, в группе практически здоровых детей – 52,8%. Гомозиготное носительство 66GG генотипа гена фермента гена фермента *MTRR* наблюдалось в 24,5% и 22,5% случаев, в рассматриваемых группах. В обследованных группах достоверных различий носительства генотипов фермента *MTRR* A66G не выявлено (таблица 17).

Обобщая выше изложенное, необходимо отметить, что в группе пациентов с ФЕЖС наблюдалось статистически значимое отклонение распределения генотипов гена фермента фолатного цикла A1298C *MTHFR* от распределения Харди-Вайнберга. Распределение частот генотипов четырех генов ферментов фолатного цикла, а именно *MTHFR*: 677 C>T, *MTHFR*: 1298 A>C, *MTR*: 2756 A>G, *MTRR*: 66 A>G в группе практически здоровых детей не отклонялось от соотношения Харди-Вайнберга.

Полиморфные варианты генов ферментов фолатного цикла распространены среди девочек и мальчиков у пациентов с ФЕЖС с одинаковыми частотами.

При сравнении генотипов гена фермента фолатного цикла *MTR*: 2756 A>G в группе практически здоровых детей гетерозиготный 2756AG генотип у девочек, достоверно чаще встречается, чем у мальчиков ($p=0,026$). Статистически значимых различий в распределении полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR*: 677 C>T, *MTHFR*: 1298 A>C, *MTRR*: 66 A>G в группе практически здоровых детей в зависимости от гендерных особенностей выявлено не было.

Анализ частоты генотипов генов ферментов фолатного цикла показал, что группа пациентов с ФЕЖС сопоставима с группой практически здоровых детей.

3.3. Характеристика основных показателей системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС и практически здоровых детей

В группе пациентов до проведения заключительного этапа гемодинамической коррекции порока (создание ТКПС) было проведено исследование функционального состояния системы гемостаза.

Результаты, полученные при исследовании агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС и в группе практически здоровых детей, представлены в таблице 18. В группе пациентов с ФЕЖС величина максимальной агрегации тромбоцитов на фоне индуктора АДФ варьировала от 84,2 до 94,9%, на фоне индуктора эпинефрина - от 90,1 до 94,7%. При активации тромбоцитов коллагеном их агрегационная активность находилась в пределах от 83,1 до 90,1%, с медианой равной 87,0 %.

Таблица 18 – Показатели агрегации тромбоцитов (светопропускание, %) у пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей

Индукторы агрегации тромбоцитов	Пациенты с ФЕЖС (n=8)	Группа практически здоровых детей (n=12)	p
Эпинефрин, 2мМ/л	91,5 (90,1–94,7)	93,8 (91,5–95,5)	p=0,252
АДФ, 20 мкМ/л	87,5 (84,2–94,9)	94,1 (91,3–96,4)	p=0,081
Коллаген, 10мкг/мл	87,0 (83,1–90,1)	92,4 (87,3–95,4)	p=0,162
Примечание: Ме – медиана, IQR – интерквартильная широта (25-й перцентиль – 75-й перцентиль), n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость			

В группе практически здоровых детей величина максимальной агрегации тромбоцитов на фоне индуктора эпинефрин варьировала от 91,5 до 95,5%, на фоне индуктора АДФ - от 91,3 до 96,4%. При активации тромбоцитов коллагеном их агрегационная активность находилась в пределах от 87,3 до 95,4%, с медианой равной 92,4 % (таблица 18). Таким образом, показатели функциональной

активности тромбоцитов индуцированной эпинефрином, АДФ и коллагеном в рассматриваемых группах сопоставимы. Количество тромбоцитов в группе практически здоровых детей ($n=11$) составляло $252 \times 10^9/\text{л}$ с диапазоном от 226 до $298 \times 10^9/\text{л}$ и у пациентов с ФЕЖС ($n=13$) с медианой равной $233 \times 10^9/\text{л}$ в пределах от 191 до $299 \times 10^9/\text{л}$ не различалось и находилось в пределах референсных значений ($p=0,414$).

Результаты исследования плазменного звена системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС и группе практически здоровых детей представлены в таблице 19. Оценка состояния системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей показала, что в рассматриваемых группах медиана значений МНО, АЧТВ и РФМК не имеют значимых различий. Содержание общего фибриногена у пациентов с ФЕЖС было сопоставимо с показателями в группе практически здоровых детей.

Таблица 19 – Основные показатели системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС и в группе практически здоровых детей

Показатель	Пациенты с ФЕЖС ($n = 35$)	Группа практически здоровых детей ($n = 12$)	p
МНО, у.е.	1,05 (0,95–1,12)	1,04 (1,01–1,06)	$p=0,781$
АЧТВ, сек	30,0 (28,6–33,2)	32 (30,6–38,7)	$p=0,236$
РФМК, мг%	3,5 (3,2–4,5)	4,5 (4,5–5,0)	$p=0,101$
Общий фибриноген, г/л	3,0 (2,3–3,3)	3,3 (3,0–3,9)	$p=0,104$
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость			

Результаты исследования показателей антикоагулянтной системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС и группе практически здоровых детей представлены в таблице 20.

Активность антитромбин III в плазме крови в группе пациентов с ФЕЖС находилось в пределах 93,3–106,3%, с медианой значения 98,5%, и было сопоставимо с группой практически здоровых детей, где активность составляла 101,8% (таблица 20).

Таблица 20 – Основные показатели антикоагулянтной системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС и в группе практически здоровых детей

Показатель	Пациенты с ФЕЖС (n = 27)	Группа практически здоровых детей (n = 12)	p
Антитромбин III, %	98,5 (93,3–106,3)	101,8 (95,2–110,5)	p=0,374
Протеин С, %	70,6 (61,6–79,3)*	79,3 (73,3–96,1)	p=0,041
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й перцентиль – 75-й перцентиль); * – статистическая значимость различий в группе пациентов с ФЕЖС и группе практически здоровых детей ($p < 0,05$)			

Активность протеина С в группе пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС находилось в интервале от 61,6 до 79,3%, с медианой значения 70,6 %. Нами определено, что у пациентов с ФЕЖС активность протеина С значимо снижена по сравнению с группой практически здоровых детей (таблица 20). В группе с ФЕЖС до проведения ТКПС у 19 (52,8%) пациентов активность протеина С была в пределах нормы, у 17 (47,2%) – снижена.

У пациентов с ФЕЖС при определении активности плазминогена получены следующие результаты. Величина активности плазминогена варьировала пределах от 70,0 до 83,7%, медиана составила – 79,5%.

При оценке концентрации тканевого активатора плазминогена (t-РА) выявлено, что у всех пациентов с ФЕЖС она находилась в пределах референсных значений (2-8 нг/мл) и составляла от 2,0 до 3,9 нг/мл с медианой значения 2,0 нг/мл.

Для оценки маркеров активации системы гемостаза в исследование проводилось определение концентрация D-димера в плазме крови. У 24

пациентов с ФЕЖС концентрация его не превышала уровень референсных значений (0-250 нг/мл) и у 3 пациентов выявлялось величина более 250 нг/мл. Медиана содержания Д-димера в плазме крови составляла 121 нг/мл с диапазоном концентрации в диапазоне от 70 до 138 нг/мл.

Содержание тромбина в плазме крови у 11 пациентов с ФЕЖС было в пределах нормы, у 20 пациентов с ФЕЖС превышало референсные значения (1-10 нг/мл). Медиана концентрации тромбина составила 19,8 нг/мл, с диапазоном значений от 7,2 до 25 нг/мл. По результатам корреляционного анализа между концентрацией Д-димера и содержанием тромбина выявлена статистически значимая зависимость ($r=0,45$; $p=0,012$).

Исходя из описанных выше результатов, можно заключить, что в нашем исследовании показатели плазменного звена гемостаза у пациентов с ФЕЖС характеризовались сбалансированностью гемостатических реакций. При исследовании показателей функционального состояния системы гемостаза были сопоставимы в группе пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей.

При анализе функциональной активности тромбоцитов индуцированной эпинефрином, АДФ и коллагеном в группе пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС с группой практически здоровых детей мы установили, что рассматриваемые группы были сопоставимы по величине данных показателей.

Со стороны антикоагулянтного звена системы гемостаза наблюдалось значимое снижение активности протеина С в плазме крови у пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС.

3.4. Фенотипические проявления полиморфизма протромбогенных факторов системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС

Для оценки фенотипических проявлений полиморфизма генов системы гемостаза у части пациентов с ФЕЖС был проведен анализ содержания следующих плазменных факторов системы гемостаза фактора II, VII и XIII, а также исследования параметров функционального состояния фибринолитической системы PAI-1 (таблица 21).

Концентрация протромбина (F II) у всех пациентов с ФЕЖС находилась в пределах референсных значений (0,1-10 нг/мл) и составляла от 0,18 до 0,26 нг/мл с медианой значения 0,23 нг/мл (таблица 21).

Таблица 21 – Соотношение нормального и повышенного уровней содержания плазменных факторов системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС

Показатель	Количество пациентов (n)	Распределение показателей(%)	
		В пределах референсных значений	За пределами референсных значений
F II (протромбин)	31	100%	0
F VII (проконвертин)	33	87,9%	12,1%
F XIII (фибрин-стабилизирующий фактор)	31	19,4%	80,6%
PAI-1(ингибитор активатора плазминогена I типа)	31	12,9%	87,1%

В группе пациентов с ФЕЖС содержание проконвертина (F VII) в плазме крови находилось в пределах от 20,2 до 43,1 нг/мл, медиана 29,0 нг/мл. У 29 пациентов соответствовало нормальным значениям, у 4 превышало референсный диапазон (10-100 нг/мл) (таблица 21).

Содержание фибринстабилизирующего фактора (F XIII) у 6 пациентов с ФЕЖС было в пределах нормы, у 25 превышало референсные значения (5-50 нг/мл). Концентрация F XIII в плазме крови находилось в интервале от 54,2 до 136 нг/мл, медиана 79,3 нг/мл (таблица 21).

Содержание ингибитора активации плазминогена первого типа (РАI-1) в плазме у 4 пациентов с ФЕЖС находилось в пределах нормы, у 27 превышало референсные значения (7-43 нг/мл). Концентрация РАI-1 в плазме крови находилось в интервале от 61,4 до 109,0 нг/мл, медиана 87,4 нг/мл (таблица 21).

Нами проанализирована взаимосвязь концентрации в крови факторов II, VII, XIII, GB и РАI-1 и носительства полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фибринолиза в группе пациентов с ФЕЖС (таблица 22).

Согласно результатам, представленным в таблице 22 концентрация F II в группе пациентов с ФЕЖС, являющимися носителями 20210GG генотипа составила 0,22 нг/мл, что статистически значимо не отличалось от пациентов с 20210GA генотипом – 0,22 нг/мл.

Таблица 22 – Концентрация факторов плазменного звена системы гемостаза в группе пациентов с ФЕЖС в зависимости от носительства полиморфных вариантов соответствующих генов

Ген	Мутация/ полиморфизм	Генотип	Концентрация факторов в плазме (нг/мл)	p
FII	G 20210 A	GG(n=29)	0,22 (0,17 – 0,26)	p=0,696
		GA(n=2)	0,24(0,24 – 0,25)	
FVII	G 10976 A	GG(n=28)	29,5(21,2 – 46,5)	p=0,020
		GA/AA(n=5)	17,2(14,7 – 25,7)*	
FXIII	G 163 T	GG(n=15)	84(42,5 – 137)	p=0,776
		GT/TT(n=16)	73(54,4 – 125,5)	
FGB	G - 455 A	GG(n=25)	3(2,4 – 3,3)	p=0,766
		GA/AA(n=21)	2,9(2,3 – 3,3)	
PAI-1	5G - 675 4G	5G5G(n=7)	58,0(44,2 – 87,4)	p=0,021
		5G4G/4G4G (n=24)	97,2(69,5 – 113,7)*	
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль); * – статистическая значимость различий показателей в зависимости от носительства полиморфизмов (p < 0,05)				

В нашем исследовании медиана концентрации *F VII*, являющимися носителями 10976GG генотипа *FVII* была равна 29,5 нг/мл, у пациентов с ФЕЖС с 10976GA/AA генотипами наблюдалась статистически значимое снижение – 17,2

нг/мл по сравнению с пациентами носителями *GG* генотипа ($p=0,020$) (таблица 22).

Концентрация *F XIII*, являющимися носителями *163GG* генотипа *FXIII* составляла 84 нг/мл и статистически значимо не отличалась от таковой у пациентов с ФЕЖС с *163GT/TT* генотипами – 73 нг/мл (таблица 22).

В нашем исследовании медиана концентрации *FGB* у пациентов с ФЕЖС, являющимися носителями - *455GG* была равна 3,0 нг/мл и оказалась сопоставима с пациентами - *455GA/AA* генотипами – 2,9 нг/мл а ($p=0,766$) (таблица 22).

Как видно из таблицы 22, в группе пациентов с ФЕЖС, являющимися носителями – *6755G5G* генотипа концентрация PAI-1 в плазме крови составила 58,0 нг/мл, однако у пациентов с генотипами – *6755G4G/4G4G* мы отметили статистически значимое повышение концентрации фактора в плазме крови – 97,2 нг/мл ($p=0,021$).

Таким образом, в нашем исследовании носительство полиморфных вариантов генов *FVII* и PAI-1 связано с изменением их концентрации в плазме крови. У пациентов с ФЕЖС, являющимися носителями *10976GA/AA* генотипов гена *F VII*, концентрация в плазме фактора VII значимо снижена по сравнению с пациентами носителями *10976GG* генотипа ($p=0,020$). Концентрация PAI-1 в плазме крови выше у пациентов с ФЕЖС с генотипами – *6755G4G/4G4G*, по сравнению с пациентами являющимися носителями – *6755G5G* генотипа ($p=0,021$).

3.5. Результаты генетического исследования тромбоцитарных рецепторов и агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ФЕЖС

Профилактика тромботических осложнений после проведения ТКПС пациентам с ФЕЖС проводилась с помощью дезагрегантной терапии. На фоне приема кардиомагнила у пациентов с ФЕЖС оценивалась агрегационная активность тромбоцитов. В исследование были включены пациенты с нормальным содержанием тромбоцитов. Количество тромбоцитов в группе пациентов с ФЕЖС на фоне приема кардиомагнила составляло от 217 до $291 \times 10^9/\text{л}$, медиана $269 \times 10^9/\text{л}$.

При исследовании агрегации тромбоцитов с различными видами индукторов у пациентов с ФЕЖС на фоне приема кардиомагнила были получены результаты, свидетельствующие об изменении функциональной активности тромбоцитов (таблица 23).

Как демонстрируют данные, представленные в таблице 23, максимальная агрегация тромбоцитов индуцированная эпинефрином варьировала от 44,7 до 77,4%, с медианой значения равной 61,1%. Максимальная агрегация тромбоцитов при активации индуктором АДФ составляла от 36,6 до 76,4%, с медианой значения 64,9%. Агрегационная активность тромбоцитов при использовании индуктора коллагена была в пределах от 24,3 до 69,0%, с медианой равной 52,5 % (таблица 23).

При сравнении группы пациентов с ФЕЖС без антиагрегантной терапии с группой пациентов на фоне приема кардиомагнила величина максимальной агрегации тромбоцитов, индуцированная эпинефрином, АДФ и коллагеном была статистически значимо снижена. Медиана количества тромбоцитов в группе пациентов с ФЕЖС без кардиомагнила составляла $233 \times 10^9/\text{л}$ с диапазоном значений от 191 до $299 \times 10^9/\text{л}$ и не отличалась от группы пациентов на фоне приема препарата ($p=0,782$) (таблица 23).

При сравнении группы пациентов с ФЕЖС на фоне приема кардиомагнила и группой практически здоровых детей наблюдалось статистически значимое

снижение величины максимальной агрегации тромбоцитов индуцированной эпинефрином, АДФ и коллагеном. Количество тромбоцитов в группе практически здоровых детей составляло $252 \times 10^9/\text{л}$ с диапазоном значений от 226 до $298 \times 10^9/\text{л}$ и значимо не различалось с группой пациентов с ФЕЖС на фоне приема кардиомагнила ($p=0,922$) и находилось в пределах референсных значений (таблица 23).

Таблица 23 – Показатели агрегации тромбоцитов (светопропускание, %) у пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей

Индукторы агрегации тромбоцитов	Пациенты с ФЕЖС		Группа практически здоровых детей
	без препарата	на фоне приема кардиомагнила	
Эпинефрин, 2мМ/л	91,5 (90,1–94,7) (n=8)	61,1 (44,7–77,4) ** (n=34)	93,8 (91,5–95,5) * (n=12)
АДФ, 10 мкМ/л	87,5 (84,2–94,9) (n=8)	64,9 (36,6–76,4) ** (n=27)	94,1 (91,3–96,4) * (n=12)
Коллаген, 10мкг/мл	87,0 (83,1–90,1) (n=7)	52,5 (24,3–69,0) ** (n=25)	92,4 (87,3–95,4) * (n=12)
Примечание: Ме – медиана, IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль); * – статистическая значимость различий в группе пациентов с ФЕЖС на фоне приема кардиомагнила и в группе практически здоровых детей ($p < 0,01$); ** – статистическая значимость различий в группе пациентов с ФЕЖС без приема и на фоне приема кардиомагнила ($p < 0,01$)			

В ходе работы была проведена оценка результатов генетического исследования рецепторов тромбоцитов и взаимосвязь выявленных полиморфизмов гликопротеинов рецепторов тромбоцитов для коллагена *ITGA2 C807T* и фибриногена *ITGB3 T1565C* с выраженностью агрегационной активности тромбоцитов на фоне приема кардиомагнила у детей с ФЕЖС. Результаты исследования величины максимальной агрегации тромбоцитов в зависимости от генотипа тромбоцитарного рецептора представлены в табл. 24 и 25.

У 13 пациентов с ФЕЖС отмечался *807CC* генотип гена рецептора тромбоцитов для коллагена *ITGA2 C807T*, у 14 выявлено гетерозиготное носительство *807CT*, у 3 – гомозиготное *807TT* (таблица 24). При анализе результатов агрегатометрии у пациентов с ФЕЖС на фоне приема кардиомагнила выявлялась вариабельность агрегационного ответа тромбоцитов на коллаген и эпинефрин. В группе пациентов с ФЕЖС величина максимальной агрегации тромбоцитов на фоне индуктора коллаген у носителей *CC* генотипа гена *ITGA2:807* составлял 52,5%, а у пациентов с ФЕЖС, являющихся носителями *CT/TT* генотипами – 50,1 % (таблица 24).

Таблица 24 – Агрегационная активность тромбоцитов на фоне индуктора коллагена в зависимости от генотипа тромбоцитарного рецептора *ITGA2 C807T* у пациентов с ФЕЖС

Полиморфизм	Генотип	Агрегационная активность тромбоцитов(%), индуктор коллаген
<i>ITGA2 C 807 T</i> (n=30)	<i>CC</i> (n=13)	52,5 (22,0–79,8)
	<i>CT/TT</i> (n=17)	50,1 (27,3–67,1)
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), n - количество обследованных пациентов		

В проведенном исследовании агрегационная активность тромбоцитов не зависела от носительства данных генотипов рецептора тромбоцитов для коллагена *ITGA2 C807T* у пациентов с ФЕЖС ($p=0,952$).

Для гена рецептора тромбоцитов для фибриногена *ITGB3 T1565C* у 39 пациентов с ФЕЖС определялся нормальный генотип *1565TT*, у 9 – гетерозиготный *1565TC*, у 2 – гомозиготный *1565CC* (таблица 25).

Величина максимальной агрегации тромбоцитов на фоне индуктора эпинефрина у детей с ФЕЖС, являющимися носителями *TT* генотипа гена *ITGB3:1565* составляла 56,3 % и достоверно не отличалась от показателя

агрегации у пациентов с ФЕЖС с генотипами *TC/CC* – 63,2 % ($p=0,961$) (таблица 25).

Носительство генотипов рецептора для фибриногена *ITGB3:1565 TC/CC*, может обуславливать отсутствие или недостаточное снижение агрегационной активности тромбоцитов на фоне приема кардиомагнила [107].

Таблица 25 – Агрегационная активность тромбоцитов на фоне индуктора эpineфрин в зависимости от генотипа тромбоцитарного рецептора *ITGB3 T1565C* у пациентов с ФЕЖС

Полиморфизм	Генотип	Агрегационная активность тромбоцитов(%), индуктор эpineфрин
<i>ITGB3 T 1565 C</i> (n=50)	<i>TT</i> (n=39)	56,3 (41,8–77,9)
	<i>TC/CC</i> (n=11)	63,2 (40,9–76,9)
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), n - количество обследованных пациентов		

Согласно представленным в данном разделе результатам исследования, проведенный анализ результатов молекулярно-генетического исследования у пациентов с ФЕЖС гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов для коллагена *ITGA2:807C>T* и для фибриногена *ITGB3:1565T>C* не подтвердил взаимосвязи с величиной агрегационной активности тромбоцитов. Между тем, отсутствие изменения агрегационной активности тромбоцитов на коллаген наблюдалось у 30 % и на эpineфрин у 38 % пациентов с ФЕЖС на фоне приема кардиомагнила.

3.6. Уровень гомоцистеина в плазме крови у пациентов с ФЕЖС в зависимости от носительства полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла

Исследования уровня гомоцистеина в плазме крови проведено у 44 пациентов с ФЕЖС на разных этапах гемодинамической коррекции порока.

У пациентов с ФЕЖС повышенный уровень гомоцистеина наблюдался у 75% ($n = 33$), медиана значения составила 7,4 мкмоль/л, в диапазоне от 6,5 до 8,9 мкмоль/л. За нормальные значения принимали значение менее 5 мкмоль/л для детей в возрасте до 10 лет [51]. По данным Ю. Г. Самойловой и соавт. (2008) уровень гомоцистеина в группе здоровых детей составлял – 4,8 мкмоль/л, интервал 3,8–5,3 мкмоль/л [39]. Нормальный уровень гомоцистеина определен у 25% пациентов с ФЕЖС ($n = 11$), медиана равна 4,5 мкмоль/л, а диапазон значений уровня гомоцистеина составлял от 3,9 до 4,7 мкмоль/л ($p < 0,001$).

В работе была поставлена задача проведения анализа уровня гомоцистеина в зависимости от носительства полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла.

Согласно результатам, представленным в таблице 26, средний уровень гомоцистеина у пациентов с ФЕЖС, являющихся носителями 677TT генотипа гена фермента *MTHFR*, был значимо выше по сравнению с пациентами с 677CC генотипом: 9,0 мкмоль/л (IQR 8,6-9,2) и 6,3 мкмоль/л (IQR 4,8-7,3), соответственно ($p = 0,020$).

В исследовании у пациентов с ФЕЖС средний уровень гомоцистеина носителей 1298AA генотипа гена фермента *MTHFR* был повышен и равен 7,4 мкмоль/л (IQR 5,7-8,6), у пациентов с 1298AC – 6,1 мкмоль/л (IQR 4,5-7,4) и 1298CC генотипом 6,2 мкмоль/л (IQR 5,3-7,0). Достоверных различий уровня гомоцистеина между носителями генотипов полиморфизма A1298C гена фермента *MTHFR* не выявлено (таблица 26).

Средний уровень гомоцистеина у пациентов с ФЕЖС носителей 2756AA генотипа гена фермента *MTR* был равен 7,5 мкмоль/л (IQR 5,7-8,6) и не отличался

от такового у пациентов с 2756AG – 6,7 мкмоль/л (IQR 4,7-7,3) и 2756GG генотипом 4,8 мкмоль/л (IQR 4,7-4,8) по критерию Манна–Уитни (таблица 26).

Таблица 26 – Уровень гомоцистеина в плазме крови в группе пациентов с ФЕЖС (n=44) в зависимости от носительства полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла

Полиморфизм	Генотип	Уровень гомоцистеина Ме (IQR)	Критерий Краскела– Уоллиса	Критерий Манна–Уитни
<i>MTHFR</i> <i>C677T</i>	<i>CC</i>	6,3 (4,8 – 7,3)	$\chi^2=7,8$ p=0,002	p ₁₋₂ =0,479
	<i>CT</i>	7,0 (5,3 – 7,8)		p ₁₋₃ =0,020
	<i>TT</i>	9,0 (8,6 – 9,2)		p ₂₋₃ =0,060
<i>MTHFR</i> <i>A1298C</i>	<i>AA</i>	7,4 (5,7 – 8,6)	$\chi^2=4,5$ p=0,104	p ₁₋₂ =0,039
	<i>AC</i>	6,1 (4,5 – 7,4)		p ₁₋₃ =0,353
	<i>CC</i>	6,2 (5,3 – 7,0)		p ₂₋₃ =0,957
<i>MTR</i> <i>A2756G</i>	<i>AA</i>	7,5 (5,7 – 8,6)	$\chi^2=5,1$ p=0,080	p ₁₋₂ =0,101
	<i>AG</i>	6,7 (4,7 – 7,3)		p ₁₋₃ =0,060
	<i>GG</i>	4,8 (4,7 – 4,8)		p ₂₋₃ =0,303
<i>MTRR</i> <i>A66G</i>	<i>AA</i>	8,9 (6,9 – 11,7)	$\chi^2=3,05$ p=0,217	p ₁₋₂ =0,095
	<i>AG</i>	6,5 (5,0 – 7,5)		p ₁₋₃ =0,427
	<i>GG</i>	7,4 (5,3 – 8,2)		p ₂₋₃ =0,405
Примечание. Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль); p – уровень значимости различий (критерий Манна – Уитни); критерий множественных сравнений Краскела–Уоллиса, с поправкой Бонферрони; p – уровень значимости различий между 1 – нормальная гомозигота, 2 – гетерозигота, 3 – патологическая гомозигота				

Средний уровень гомоцистеина носителей 66AA генотипа гена фермента *MTRR* был повышен до 8,9 мкмоль/л (IQR 6,9-11,7), у пациентов с 66AG – 6,5 мкмоль/л (IQR 5,0-7,5) и 66GG генотипом – 7,4 мкмоль/л (IQR 5,3-8,2). Достоверных различий уровня гомоцистеина между носителями генотипов полиморфизма *A66G* гена фермента *MTRR* не выявлено (таблица 26).

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о взаимосвязи повышенного уровня гомоцистеина у пациентов с ФЕЖС с носительством полиморфного варианта 677TT гена фермента *MTHFR*.

Для оценки самостоятельной значимости исследуемых полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR C677T* и *MTHFR A1298C* нами был проведен сравнительный анализ сочетания данных генотипов и уровня гомоцистеина в плазме крови (таблица 27).

У пациентов с ФЕЖС, носителей полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR 677CT/TT* и *MTHFR 1298AA* уровень гомоцистеина в плазме крови был повышен - 8,4 мкмоль/л. При сочетании *MTHFR 677CT* и *MTHFR 1298AC* генотипов у пациентов с ФЕЖС в плазме крови уровень гомоцистеина составлял 7,0 мкмоль/л (таблица 27).

Таблица 27 – Уровень гомоцистеина крови в группе пациентов с ФЕЖС в зависимости от носительства компаундов гетерозиготных и гомозиготных генотипов генов ферментов фолатного цикла

	Полиморфизм	Пациенты с ФЕЖС п (%)	Уровень гомоцистеина, мкмоль/л	Критерий Краскела– Уоллиса.	Критерий Манна– Уитни
1	<i>MTHFR 677CT/TT</i> <i>MTHFR 1298AA</i>	14(30,4)	8,4 (5,6 – 9,8)	$\chi^2=5,06$ $p=0,171$	$p_{1-2}=0,071$ $p_{1-3}=0,190$ $p_{1-4}=0,152$ $p_{2-3}=0,871$ $p_{2-4}=1,000$ $p_{3-4}=0,591$
2	<i>MTHFR 677CT</i> <i>MTHFR 1298AC</i>	7 (15,2)	7,0 (4,0 – 7,4)		
3	<i>MTHFR 677CC</i> <i>MTHFR 1298AA</i>	8(17,4)	6,9 (5,0 – 7,4)		
4	<i>MTHFR 677CC</i> <i>MTHFR1298AC/CC</i>	15 (37)	6,1 (4,6 – 7,6)		
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль); p – уровень значимости различий (критерий Манна–Уитни); критерий множественных сравнений Краскела–Уоллиса, с поправкой Бонферрони					

У пациентов с ФЕЖС с генотипами генов ферментов фолатного цикла *MTHFR 677CC* и *MTHFR 1298AA* содержание гомоцистеина в плазме крови составляло 6,9 мкмоль/л. Концентрация гомоцистеина у носителей полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR 677CC* и *MTHFR1298AC/CC* – 6,1 мкмоль/л (таблица 27).

При исследовании сочетания генотипов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR C677T* и *MTHFR A1298C* и уровня гомоцистеина в плазме крови статистически значимых различий не выявлено.

При анализе сочетания полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR C677T* и *MTR A2756G* отмечались следующие закономерности. У носителей полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR 677CT/TT* и *MTR 2756AA* уровень гомоцистеина в плазме крови составлял 8,2 мкмоль/л (таблица 28).

Таблица 28 – Уровень гомоцистеина крови в группе пациентов с ФЕЖС в зависимости от носительства компаундов гетерозиготных и гомозиготных генотипов генов ферментов фолатного цикла

	Полиморфизм	Пациенты с ФЕЖС n (%)	Уровень гомоцистеина Me (IQR)	Критерий Краскела– Уоллиса.	Критерий Манна– Уитни
1	<i>MTHFR 677CT/TT</i> <i>MTR 2756AA</i>	13(28,3)	8,2(6,1 – 8,9)	$\chi^2=5,2$ p=0,153	p ₁₋₂ =0,262 p ₁₋₃ =0,161 p ₁₋₄ =0,090 p ₂₋₃ =0,612 p ₂₋₄ =0,381 p ₃₋₄ =0,833
2	<i>MTHFR 677CC</i> <i>MTR 2756AA</i>	9 (19,6)	7,1(5,0 – 7,8)		
3	<i>MTHFR 677CT/TT</i> <i>MTR 2756AG</i>	8(17,4)	6,1(4,2 – 8,7)		
4	<i>MTHFR 677CC</i> <i>MTR 2756AG</i>	14(34,7)	6,3 (4,7 – 7,0)		
Примечание: Me – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль); p – уровень значимости различий (критерий Манна–Уитни); критерий множественных сравнений Краскела–Уоллиса, с поправкой Бонферрони					

При сочетании *MTHFR 677CC* и *MTR 2756AA* генотипов у пациентов с ФЕЖС в плазме крови уровень гомоцистеина составлял 7,1 мкмоль/л. У пациентов с ФЕЖС с генотипами ферментов фолатного цикла *MTHFR 677CT/TT* и *MTR 2756AG* содержание гомоцистеина в плазме крови составляла 6,1 мкмоль/л. Концентрация гомоцистеина у носителей полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR 677CC* и *MTR 2756AG* – 6,3 мкмоль/л (таблица 28).

При исследовании сочетания полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR C677T* и *MTR A2756G* и уровня гомоцистеина в плазме крови статистически значимых различий не выявлено.

Далее в нашей работе была проанализирована взаимосвязь количества выявленных полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла и уровня гомоцистеина в плазме крови. При этом количество полиморфизмов непосредственно не влияло на уровень гомоцистеина: у пациентов с ФЕЖС с одним полиморфизмом его уровень был 7,5 мкмоль/л (n=7), с двумя – 6,9 мкмоль/л (n=19), с тремя – 5,7 мкмоль/л (n=14), с четырьмя – 5,6 мкмоль/л (n=4) ($\chi^2=5,141$; $p=0,162$) (рисунок 2).

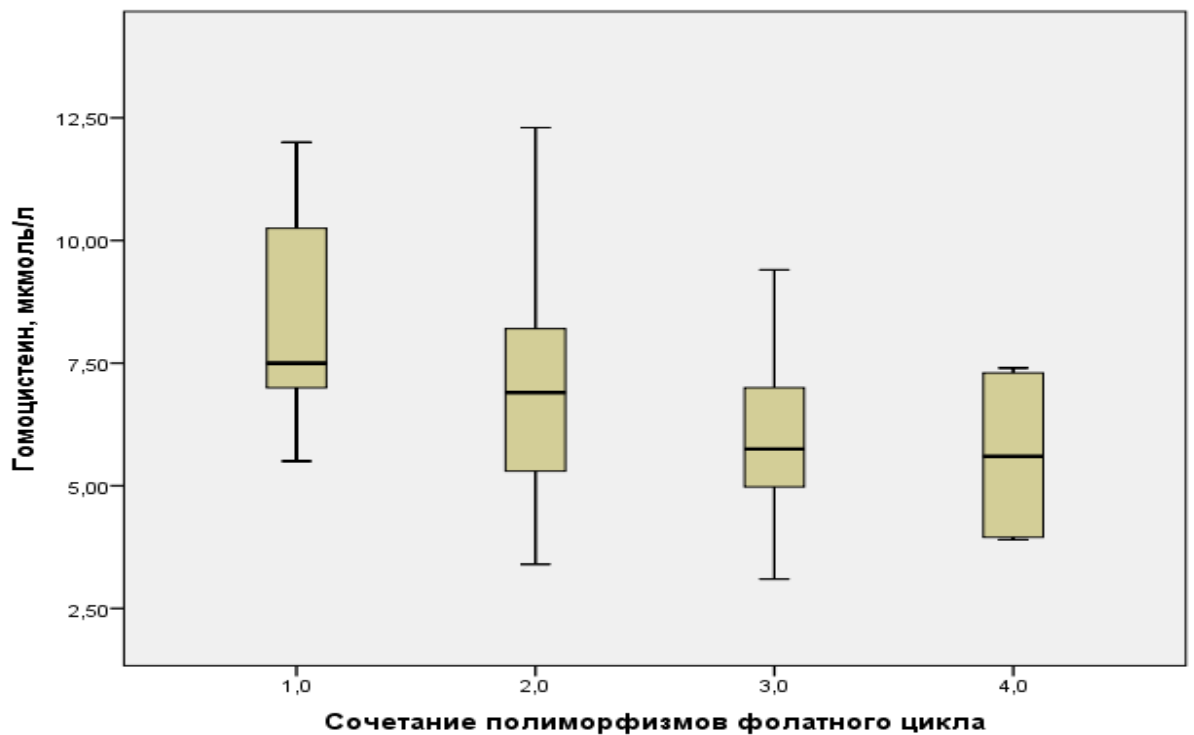


Рисунок 2 – Сочетание полиморфизма генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС

Так как в группе с ФЕЖС повышенный уровень гомоцистеина в плазме крови наблюдался у 75% пациентов, мы оценили выделительную функцию почек у пациентов до проведения второго (ДКПС) и третьего (ТКПС) этапов лечения по концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови.

Мы установили, что у пациентов с ФЕЖС до проведения ДКПС (n=17) и ТКПС (n=33) хирургической коррекции порока значения показателей мочевины (p=0,521) и креатинина (p=0,173) были сопоставимы. Медиана концентраций мочевины в группе пациентов с ФЕЖС до проведения ДКПС составила 4,5 мкмоль/л, до ТКПС – 4,1 мкмоль/л и находилось в пределах 3,2 – 5,4 мкмоль/л и 3,1–5,05 мкмоль/л, соответственно.

Концентрация креатинина в группе пациентов с ФЕЖС до ДКПС находилось в интервале от 31,0 до 41,5 мкмоль/л, с медианой значения – 35,0 мкмоль/л и было сопоставима по сравнению с группой пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС 37,0 мкмоль/л с интервалом значений 35,0 – 41,5 мкмоль/л.

Таким образом, в группе пациентов с ФЕЖС у 75% детей наблюдался повышенный уровень гомоцистеина в крови. Согласно полученным данным, нами не выявлено отклонения показателей, характеризующих выделительную функцию почек у пациентов с ФЕЖС.

В ходе исследования установлено, что в группе пациентов с ФЕЖС, являющиеся носителями полиморфного варианта 677TT гена фермента *MTHFR* определен повышенный уровень гомоцистеина в плазме крови.

При исследовании сочетания генотипов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR C677T* и *MTHFR A1298C*, *MTHFR C677T* и *MTR A2756G* с уровнем гомоцистеина в плазме крови в группе пациентов с ФЕЖС статистически значимых различий не выявлено.

При сравнительном анализе сочетания полиморфизмов фолатного цикла выявлено, что уровень гомоцистеина больше у пациентов с меньшим количеством сочетания полиморфизма. При этом значимое повышение уровня гомоцистеина у пациентов с ФЕЖС связано с носительством полиморфизма гена фермента фолатного цикла *MTHFR C677T*.

3.7. Факторы риска тромботических осложнений у пациентов с ФЕЖС

Многоэтапность и сложность хирургической коррекции ВПС с ФЕЖС, обуславливает у этих пациентов риск развития тромботических и геморрагических осложнений, как на любом из этапов хирургической коррекции, так и при проведении инвазивных диагностических процедур, сопровождающихся катетеризацией сосудов. Кроме того, риск тромбообразования связан с использованием синтетических сосудистых протезов, изменениями в профиле венозного кровотока, возможной полицитемией.

В ходе исследования ретроспективно, были проанализированы истории болезни пациентов с ФЕЖС на этапах хирургической коррекции врожденного порока. Из 102 обследованных пациентов у 13 диагностирован тромбоз на различных этапах гемодинамической коррекции врожденного порока (рисунок 3). На I этапе (паллиативное вмешательство) тромбоз диагностирован у трех пациентов с ФЕЖС, на II этапе (ДКПС) у восьми пациентов и на III этапе (ТКПС) – двух пациентов. У 89 пациентов в период проведения хирургической коррекции порока не отмечалось признаков тромбоза.



Рисунок 3 – Распределение пациентов с ФЕЖС с тромбозами на различных этапах гемодинамической коррекции порока

Среди пациентов с тромботическими осложнениями у трех был диагностирован тромбоз подключичной вены, у двух – тромбоз верхней поллой

вены, у трех – бедренной вены, у одного – подвздошной вены. Тромбоз модифицированного Блелок-Тауссинг шунта (МБТШ) диагностирован после хирургической коррекции порока у двух пациентов. Тромбоз легочной артерии произошел у двух пациентов с ФЕЖС (рисунок 4).

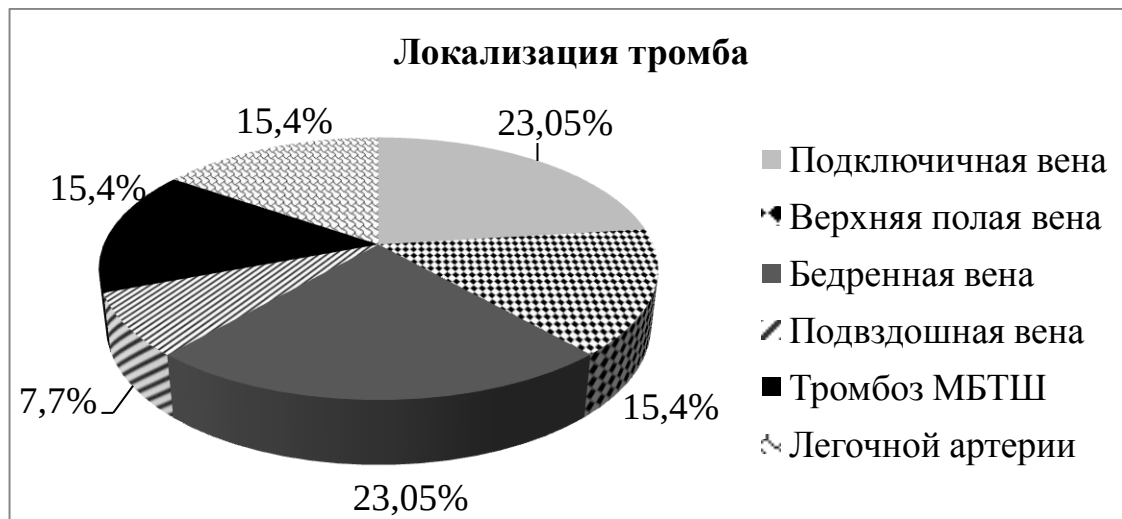


Рисунок 4 – Распределение пациентов с ФЕЖС в зависимости от локализации тромбоза

В нашей работе большая часть тромбозов (61,5 %) диагностирована в группе пациентов с ФЕЖС на этапе проведения операции ДКПС. В связи с этим мы ретроспективно по историям болезни пациентов с ФЕЖС проанализировали результаты исследования функционального состояния системы гемостаза и гематологических показателей до проведения второго этапа - ДКПС и третьего – ТКПС коррекции ВПС.

При сравнительном анализе показателей системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС мы установили, что у пациентов до проведения ДКПС и ТКПС хирургической коррекции порока медиана значений МНО, АЧТВ, РФМК и общего фибриногена были сопоставимы (таблица 29).

Результаты исследования показателей антикоагулянтной системы гемостаза у детей с ФЕЖС до проведения хирургической коррекции представлены в таблице 30.

Таблица 29 – Основные показатели системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС

Показатель	Пациенты с ФЕЖС		р
	до ДКПС(n=13)	до ТКПС(n=35)	
МНО, у.е.	1,09(1,08 – 1,18)	1,05(0,95–1,12)	0,085
АЧТВ, сек	33,0(29,7 – 40,7)	30,0(28,6–33,2)	0,458
РФМК, мг%	3,5(3,5 – 4,2)	3,5(3,2–4,5)	0,661
Общий фибриноген, г/л	2,9(2,4 – 3,3)	3,0(2,3–3,3)	0,572
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), n - количество обследованных пациентов, р – статистическая значимость			

Содержание антитромбин III в группе пациентов с ФЕЖС до проведения ДКПС было ниже, чем до ТКПС, но статистически значимо не различалось и находилось в пределах 62,0 – 105,1% и 93,3–106,3%, соответственно (таблица 30).

Таблица 30 – Основные показатели антикоагулянтной системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС

Показатель	Пациенты с ФЕЖС		р
	до ДКПС(n=6)	до ТКПС(n=27)	
Антитромбин III, %	75,3(62,0 – 105,1)	98,5(93,3–106,3)	0,191
Протеин С, %	64,9(41,2 – 117,2)	70,6(61,6–79,3)	0,722
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), n - количество обследованных пациентов, р – статистическая значимость			

Содержание протеина С в группе пациентов с ФЕЖС до ДКПС находилось в интервале от 41,2 до 117,2% и снижено по сравнению с группой детей с ФЕЖС до проведения ТКПС 61,6 - 79,3%, хотя и не имело статистически значимых различий (таблица 30).

В группе пациентов с ФЕЖС перед проведением ДКПС и ТКПС мы проанализировали ряд гематологических показателей (таблица 31). Достоверных

различий в количестве эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, а также уровне гемоглобина и величины гематокрита у пациентов с ФЕЖС до ДКПС и ТКПС не отмечалось. Однако нами определено, что у пациентов с ФЕЖС показатель СОЭ значительно различался в рассматриваемых группах ($p=0,021$) (таблица 31). При этом картина периферической крови характеризовалась увеличением количества эритроцитов по сравнению с возрастной нормой, что можно рассматривать как проявление вторичной полицитемии на фоне уменьшения парциального давления кислорода в крови (гипоксии).

Таблица 31 – Гематологические показатели у пациентов с ФЕЖС

Показатель	Пациенты с ФЕЖС		p
	до ДКПС (n=17)	до ТКПС(n=36)	
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,3 (5,3 – 7,0)	5,95 (5,5 – 6,5)	0,861
Гемоглобин, г/л	154,0 (143,0 – 184,0)	169,0 (153,5 – 180,0)	0,105
Гематокрит, %	48,9 (43,9 – 54,3)	48,5 (46,0 – 52,3)	0,992
Лейкоциты, $10^9/л$	7,8 (6,1 – 9,9)	7,2 (5,92 – 9,5)	0,146
Тромбоциты, $10^9/л$	245,0 (187,0 – 335,0)	233 (191–299)	0,641
СОЭ, мм/час	2,0(1,25 – 2,00)	2,0(2,0 – 5,0)	0,021
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость			

В группах пациентов с ФЕЖС с тромбозом и без такового, были проанализированы гематологические показатели. Количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, СОЭ, а также уровня гемоглобина и величина гематокрита не отличалась в рассматриваемых группах (таблица 32).

Мы сделали вывод, что для пациентов с тромбозом и без такового картина периферической крови соответствовала вторичной полицитемии на фоне уменьшения парциального давления кислорода в крови (гипоксии). В нашей работе у пациентов с ФЕЖС с тромбозом (n=8) медиана SpO_2 в покое была

статистически значимо снижена и равна 67,5% (IQR 60,0 – 78,2), у пациентов без тромбоза (n=45) – 78,0% (IQR 71,0 – 81,0) (p=0,030).

Таблица 32 – Гематологические показатели у пациентов с ФЕЖС в группе с тромбозом и без него

Показатель	Группа пациентов с ФЕЖС		p
	с тромбозом (n=8)	без тромбоза (n=45)	
Эритроциты, $10^{12}/л$	5,8(5,2 – 6,4)	5,9 (5,3 – 6,8)	0,654
Гемоглобин, г/л	160,5(152,2 – 171,7)	165,0 (145,5 – 180,0)	0,945
Гематокрит, %	48,0(46,6 – 51,3)	48,9 (45,9 – 53,2)	0,888
Лейкоциты, $10^9/л$	9,4 (7,2 – 11,0)	7,3(5,92 – 8,95)	0,364
Тромбоциты, $10^9/л$	253,0(187,0 – 362,5)	204,0 (201,0 – 292,0)	0,731
СОЭ, мм/час	2,0(1,00 – 4,25)	2,0(2,0 – 4,0)	0,242
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), n - количество обследованных пациентов, p – статистическая значимость			

При сравнении показателей плазменного звена системы гемостаза, у пациентов с ФЕЖС с тромбозом и без такого отмечалось, что значения МНО, АЧТВ, и РФМК были сопоставимы в двух рассматриваемых группах (таблица 33).

Таблица 33 – Основные показатели системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС в группе с тромбозом и без него

Показатель	Пациенты с ФЕЖС		p
	с тромбозом (n=8)	без тромбоза (n=40)	
МНО, у.е.	1,09 (1,03 – 1,26)	1,08 (1,00 – 1,16)	0,199
АЧТВ, сек	30,7 (28,1 – 36,1)	32,2 (29,8 – 34,6)	0,503
РФМК, мг%	3,5 (3,0 – 9,0)	3,5(3,0 – 4,25)	0,385
Общий фибриноген, г/л	2,6 (1,9 – 8,5)	2,9 (2,5 – 3,3)	0,693
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й процентиль – 75-й процентиль), p – статистическая значимость			

Содержание общего фибриногена у пациентов с ФЕЖС было сопоставимо в группе с тромбозом и без него (таблица 33).

Активность протеина С в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом находилось в интервале от 46,4 до 121,8%, с медианой значения 75,0 %. У пациентов с ФЕЖС без тромбоза активность протеина С была сопоставима с группой пациентов с тромбозом (таблица 34).

Таблица 34 – Основные показатели антикоагулянтной системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС в группе с тромбозом и без него

Показатель	Пациенты с ФЕЖС		р
	с тромбозом (n=6)	без тромбоза (n=27)	
Антитромбин III, %	95,9 (82,0 – 105,8)	98,0 (81,3 – 106,2)	0,586
Протеин С, %	75,0 (46,4 – 121,8)	69,0 (61,9 – 80,1)	0,855
Примечание: Ме – медиана; IQR – интерквартильная широта (25-й перцентиль – 75-й перцентиль), n - количество обследованных пациентов, р – статистическая значимость			

Таким образом, показатели антикоагулянтного звена гемостаза: активность антитромбин III ($p=0,586$) и протеина С ($p=0,855$) в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом и без такового были сопоставимы. Представленный материал позволяет нам сделать вывод, что основные гематологические показатели и параметры системы гемостаза были сопоставимы у пациентов с ФЕЖС с тромбозом и без такового.

Для исследования взаимосвязи носительства генетических факторов с развитием тромбозов у пациентов с ФЕЖС проведен ретроспективный анализ историй болезни. Частоты генотипов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с ФЕЖС в группе с тромбозом и без такового представлены в таблице 35.

Частота встречаемости гетерозиготного генотипа GA гена фактора II у пациентов с тромбозом составила 15,4%, тогда как группе пациентов без тромбоза

GA генотип гена фактора II выявлен в 1,1% случаев ($p=0,042$). Носительство гомозиготного генотипа AA гена F II в исследуемых группах не установлено.

Таблица 35 – Распределение генотипов генов факторов плазменного звена и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с ФЕЖС с тромбозом и без него

Мутация/ полиморфизм	Генотип	Группа детей с ФЕЖС		p
		с тромбозом n=13 (%)	без тромбоза n=89 (%)	
<i>FII G 20210 A</i>	GG	11 (84,6)	88 (98,9)	0,042
	GA	2 (15,4)	1 (1,1)	0,042
	AA	(-)	(-)	(-)
<i>FV G 1691 A</i>	GG	12 (92,3)	84 (94,4)	0,767
	GA	1 (7,7)	5 (5,6)	0,767
	AA	(-)	(-)	(-)
<i>FVII G 10976 A</i>	GG	13 (100)	61 (68,5)	0,017
	GA	(-)	24 (27,0)	0,035
	AA	(-)	4 (4,5)	0,653
<i>FXIII G 163 T</i>	GG	6 (46,2)	46 (51,7)	0,773
	GT	7 (53,8)	37 (41,6)	0,551
	TT	(-)	6 (6,7)	0,599
<i>FGB G - 455 A</i>	GG	8 (61,5)	45 (50,6)	0,459
	GA	5 (38,5)	35 (39,3)	0,952
	AA	(-)	9 (10,1)	0,364
<i>PAI-15G- 675 4G</i>	5G5G	2 (15,4)	13 (14,6)	0,941
	5G4G	6 (46,2)	44 (49,4)	0,825
	4G4G	5 (38,5)	32 (36,0)	0,861
<i>ITGA2 C 807 T</i>	CC	5 (38,5)	40 (44,9)	0,770
	CT	7 (53,8)	34 (38,2)	0,367
	TT	1 (7,7)	15 (16,9)	0,474
<i>ITGB3 T 1565 C</i>	TT	9 (69,2)	68 (76,4)	0,730
	TC	4 (30,8)	18 (20,2)	0,470
	CC	(-)	3 (3,4)	0,502
Примечание: n - количество обследованных пациентов, p - статистическая значимость				

В нашем исследовании у пациентов с ФЕЖС с тромбозом в анамнезе было выявлено в 100% случаев гомозиготное носительство GG генотипа гена фактора VII. В группе пациентов без тромбоза 68,5% обследованных являлись носителями

GG генотипа ($p=0,017$). Среди пациентов с ФЕЖС без тромбоза 27,0 % являлись носителями гетерозиготного *GA* генотипа ($p=0,035$) и 4,5% пациентов имели гомозиготное носительство *AA* генотипа гена фактора *VII* ($p=0,653$).

При анализе генотипов исследуемых генов факторов плазменного звена: *FV*, *FXIII*, *FGB*, *PAI-1* и тромбоцитарных рецепторов: *ITGA2*, *ITGB3* между группами с тромбозом и без него статистических различий не выявлено (таблица 35).

В исследовании проанализирована взаимосвязь носительства протромботических полиморфных вариантов генов плазменного и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза с риском развития тромбоза у пациентов с ФЕЖС (таблица 36).

Расчет относительного риска (RR) показал, что в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом частота гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* была статистически значимо выше, чем у пациентов без тромбоза. Так, RR гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* составил ($RR = 6,0$; 95% CI: 2,26-15,90; $p=0,003$).

При расчете отношения шансов (OR) установлено, что носительство гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом увеличивало риск развития тромботических осложнений в 16 раз по сравнению с группой пациентов без такового (15,4% против 1,1% соответственно; $OR = 16,0$; 95% CI: 1,34-191,24; $p=0,028$) (таблица 36).

Расчет относительного риска (RR) показал, что в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом гетерозиготный генотипа *GA* гена фактора *V* не влиял на риск развития тромбоза. Так, RR гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *V* составил ($RR = 1,33$; 95% CI: 0,21-8,61; $p=0,762$).

При расчете отношения шансов (OR) у гетерозигот *GA* гена фактора *V* в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом риск развития тромботических осложнений составлял 1,40 ($OR = 1,40$; 95% CI: 0,15-13,03; $p=0,767$) (таблица 36).

При анализе связи генотипов генов плазменного: *FV G 1691 A*, *FXIII G 163 T*, *FGB G - 455 A*, *PAI-1 5G - 675 4G* и тромбоцитарного: *ITGA2 C 807 T*, *ITGB3 T 1565 C* звеньев системы гемостаза в рассматриваемых группах у пациентов с

ФЕЖС мы установили, что носительство данных протромботических полиморфизмов не оказывало значимого влияния на риск развития тромбоза (таблица 36).

Таблица 36 – Взаимосвязь носительства протромботических полиморфных вариантов генов плазменного и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза с риском развития тромбоза у пациентов с ФЕЖС

Мутация/ полиморфизм	Генотип	Относительный риск (RR)	р	Отношение шансов (OR)	р
<i>FII</i> <i>G20210A</i>	<i>GG</i>	0,16 (0,06-0,44)	0,003	0,06 (0,05-0,74)	0,028
	<i>GA</i>	6,0 (2,26-15,90)	0,003	16,0 (1,34-191,24)	0,028
<i>FV</i> <i>G1691A</i>	<i>GG</i>	0,75 (0,1-4,84)	0,762	0,71 (0,07-6,65)	0,767
	<i>GA</i>	1,33 (0,21-8,61)	0,762	1,40 (0,15-13,03)	0,767
<i>FVII</i> <i>G10976A</i>	<i>GG</i>	10,4 (0,64-169,9)	0,099	12,51 (0,71-217,9)	0,083
	<i>GA</i>	0,12 (0,007-1,89)	0,131	0,09 (0,005-1,73)	0,113
	<i>AA</i>	0,73 (0,05-10,65)	0,821	0,82 (0,04-16,36)	0,901
<i>FXIII</i> <i>G163T</i>	<i>GG</i>	0,82 (0,29-2,28)	0,709	0,81 (0,25-2,57)	0,709
	<i>GT</i>	1,54 (0,56-4,25)	0,407	1,64 (0,51-5,28)	0,407
	<i>TT</i>	0,51 (0,04-7,76)	0,631	0,47 (0,02-8,94)	0,619
<i>FGB</i> <i>G - 455A</i>	<i>GG</i>	1,48 (0,52-4,28)	0,463	1,56 (0,47-5,15)	0,462
	<i>GA</i>	0,97 (0,34-2,75)	0,952	0,96 (0,29-3,19)	0,952
	<i>AA</i>	0,35 (0,02-5,43)	0,451	0,31 (0,01-5,71)	0,434
<i>PAI-1</i> <i>5G-675 4G</i>	<i>5G5G</i>	1,05 (0,26-4,29)	0,941	1,06 (0,21-5,36)	0,941
	<i>5G4G</i>	0,89 (0,32-2,47)	0,825	0,87 (0,27-2,81)	0,825
	<i>4G4G</i>	1,09 (0,39-3,11)	0,860	1,11 (0,34-3,69)	0,861
<i>ITGA2</i> <i>C 807 T</i>	<i>CC</i>	0,79 (0,28-2,25)	0,661	0,76 (0,23-2,52)	0,661
	<i>CT</i>	1,73 (0,62-4,79)	0,287	1,89 (0,59-6,09)	0,287
	<i>TT</i>	0,44 (0,06-3,21)	0,424	0,41 (0,05-3,41)	0,824
<i>ITGB3</i> <i>T1565C</i>	<i>TT</i>	0,73 (0,25-2,17)	0,572	0,69 (0,19-2,49)	0,575
	<i>TC</i>	1,61 (0,55-4,75)	0,383	1,75 (0,48-6,34)	0,392
	<i>CC</i>	0,92 (0,06-12,97)	0,954	0,91 (0,04-18,72)	0,954
Примечание: р - статистическая значимость. В скобках (95% CI) – 95% доверительный интервал.					

Результаты проведенного молекулярно-генетического исследования генотипов генов ферментов фолатного цикла *MTHFR*: 677 *C>T* (метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTHFR*: 1298 *A>C*

(метилентетрагидрофолатредуктазы), *MTR*: 2756 A>G (B_{12} -зависимой метионинсинтазы), *MTRR*: 66 A>G (метионинсинтазаредуктазы) у пациентов с функционально единственным желудочком сердца в группе с тромбозом и без такового представлены в таблице 37.

Таблица 37 – Распределение генотипов генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС с тромбозом и без него

Полиморфизм	Генотип	Группа детей с ФЕЖС		p
		с тромбозом n=13 (%)	без тромбоза n=89 (%)	
<i>MTHFR</i> <i>C677T</i>	<i>CC</i>	10 (76,9)	48 (53,9)	0,143
	<i>CT</i>	2 (15,4)	35 (39,3)	0,126
	<i>TT</i>	1 (7,7)	6 (6,7)	0,899
<i>MTHFR</i> <i>A1298C</i>	<i>AA</i>	4 (30,8)	41 (46,1)	0,378
	<i>AC</i>	8 (61,5)	45 (50,6)	0,559
	<i>CC</i>	1 (7,7)	3 (3,4)	0,460
<i>MTR</i> <i>A2756G</i>	<i>AA</i>	12 (92,3)	46 (51,7)	0,006
	<i>AG</i>	1 (7,7)	39 (43,8)	0,014
	<i>GG</i>	(-)	4 (4,5)	0,653
<i>MTRR</i> <i>A66G</i>	<i>AA</i>	2 (15,4)	17 (19,1)	0,748
	<i>AG</i>	8 (61,5)	50 (56,2)	0,773
	<i>GG</i>	3 (23,1)	22 (24,7)	0,898
Примечание: n - количество обследованных пациентов, p - статистическая значимость				

В группе пациентов с тромбозом носителями *AA* генотипа гена фермента *MTR A2756G* являлись 92,3% ребенка, в группе без тромбоза носителями *AA* генотипа - 51,7% детей ($p=0,006$). Среди пациентов с тромбозом гетерозиготный *AG* генотип обнаружен у 7,7%, в группе без тромбоза – 43,8% ($p=0,014$). Носительство гомозиготного *GG* генотипа гена фермента *MTR A2756G* в группе пациентов с тромбозом не обнаружено, в группе без тромбоза установлено в 4,5% случаев ($p=0,653$) (таблица 37).

При анализе частот встречаемости генотипов между пациентами в рассматриваемых группах, исследуемых генов ферментов фолатного цикла

MTHFR C677T, *MTHFR A1298C*, *MTRR A66G* статистических различий не выявлено.

Далее, мы проанализировали взаимосвязь носительства полиморфных вариантов генов фолатного цикла с риском развития тромбоза у пациентов с ФЕЖС (таблица 38).

Расчет относительного риска (RR) показал, что в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом частота полиморфного варианта *2756AA* генотипа гена фермента *MTR* была статистически значимо выше, чем у пациентов без тромбоза. Так, относительный риск развития тромбоза при носительстве *2756AA* генотипа гена фермента *MTR* составил (RR = 9,10; 95% CI: 1,23-67,4; p=0,030).

Таблица 38 – Связь носительства полиморфных вариантов генов фолатного цикла с риском развития тромбоза у пациентов с ФЕЖС

Полиморфизм	Генотип	Относительный риск (RR)	р	Отношение шансов (OR)	р
<i>MTHFR C677T</i>	<i>CC</i>	2,52 (0,74-8,64)	0,139	2,84 (0,73-11,05)	0,130
	<i>CT</i>	0,32 (0,07-1,36)	0,123	0,28 (0,06-1,34)	0,111
	<i>TT</i>	1,13 (0,17-7,48)	0,898	1,15 (0,13-10,42)	0,899
<i>MTHFR A1298C</i>	<i>AA</i>	0,56 (0,18-1,71)	0,310	0,52 (0,15-1,81)	0,305
	<i>AC</i>	1,48 (0,52-4,22)	0,464	1,56 (0,47-5,15)	0,462
	<i>CC</i>	2,04 (0,34-12,1)	0,431	2,38 (0,23-24,85)	0,466
<i>MTR A2756G</i>	<i>AA</i>	9,10 (1,23-67,4)	0,030	11,21 (1,39-89,96)	0,023
	<i>AG</i>	0,13 (0,01-0,95)	0,040	0,11 (0,01-0,85)	0,035
	<i>GG</i>	0,73 (0,05-10,65)	0,820	0,70 (0,03-13,82)	0,817
<i>MTRR A66G</i>	<i>AA</i>	0,79 (0,19-3,29)	0,751	0,77 (0,16-3,80)	0,748
	<i>AG</i>	1,21 (0,42-3,46)	0,716	1,25 (0,38-4,12)	0,716
	<i>GG</i>	0,92 (0,27-3,09)	0,898	0,91 (0,23-3,62)	0,898
Примечание: р - статистическая значимость. В скобках (95% CI) – 95% доверительный интервал.					

В нашей работе при расчете отношения шансов (OR) мы получили следующие результаты: носительство гомозиготного генотипа *677TT* гена фермента *MTHFR* не влияло на риск развития тромбоза у пациентов с ФЕЖС (OR = 1,15; 95% CI: 0,13-10,42; p=0,899) (таблица 38).

Риск развития тромбоза ассоциирован с носительством *AA* генотипа гена фермента *MTR A2756G* (OR = 11,21; 95% CI: 1,39-89,96; p=0,023) (таблица 38).

Носительство полиморфных вариантов генов ферментов *MTHFR A1298C*, *MTRR A66G* в группе пациентов с ФЕЖС в рассматриваемых группах не ассоциировано с риском развития тромбоза.

Подводя итог вышеизложенным результатам, можно заключить, что в нашем исследовании показатели плазменного звена гемостаза характеризовались сбалансированностью гемостатических реакций у пациентов с ФЕЖС, как в группе детей с тромбозом, так и без такового.

Таким образом, анализ результата молекулярно-генетического исследования показал, что носительство гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом увеличивало риск развития тромботических осложнений в 16 раз по сравнению с группой пациентов без такового (15,4% против 1,1% соответственно; OR = 16,0; 95% CI: 1,34-191,24; p=0,028).

В группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца с тромбозом статистически значимо преобладал *GG* генотип гена фактора *VII* (p=0,017).

Риск развития тромбоза ассоциирован с носительством *AA* генотипа гена фермента *MTR A2756G* (OR = 11,21; 95% CI: 1,39-89,96; p=0,023) у пациентов с ФЕЖС с тромботическими осложнениями в анамнезе.

Клинический пример № 1

Мальчик 2002 года рождения, поступил в клинику НИИ кардиологии в 2012 г. с диагнозом: Врождённый порок сердца. Функционально единственный желудочек сердца (атрезия трикуспидального клапана). Атретизия легочной артерии II типа. ФК III-IV.

Перенесённые операции:

- модифицированный Блелок-Тауссиг шунт справа (2002 г.);
- модифицированный Блелок-Тауссиг шунт слева (2004 г.);
- тромбоз правого и левого подключично-легочного шунта, наложение центрального аорто-легочного шунта 2010 г.

Жалобы при поступлении: одышка в покое, сухой кашель после физической нагрузки, повышенную, утомляемость, слабость, потливость.

Анамнез заболевания: Врожденный порок сердца диагностирован с рождения. В возрасте 44 дней пациент был 2002 году госпитализирован в кардиохирургическую клинику, где было выполнено наложение модифицированного Блелок-Тауссиг шунта справа. В 2004 году в той же клинике был наложен модифицированный Блелок-Тауссиг шунт слева. В 2010 г. проведена аортография. В ходе процедуры диагностирован полный тромбоз модифицированного Блелок-Тауссиг шунта справа и частичный тромбоз модифицированного Блелок-Тауссиг шунта слева. Выполнено наложение центрального аорто-легочный шунта.

Объективный статус при поступлении. Общее состояние средней степени тяжести. Физическое развитие недостаточное (рост 134 см, масса тела 33 кг). Кожные покровы цианотичные, чистые, умеренной влажности. Выраженный акроцианоз. Ногтевые пластинки в форме часовых стекол. Фаланги пальцев в форме барабанных палочек. Тонус мышц удовлетворительный. При перкуссии легких звук легочной. При аускультации легких дыхание везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет. Частота дыхания в покое 30 в минуту, смешанная одышка. Границы сердца расширены влево. Тоны громкие, ритмичные. ЧСС стоя 87 в минуту. Выслушивается систолический шум 2-3/6 по

левому краю грудины во II-III м/р слева. АД на правой руке 91/47 мм рт. ст. АД на левой руке 101/57 мм рт. ст. SpO₂ в покое - 72%, SpO₂ при нагрузке - 43%. Пульс на лучевых артериях асимметричный - на левой лучевой артерии удовлетворительного наполнения, на правой лучевой артерии ослаблен. Пульс на бедренных артериях симметричный, удовлетворительного наполнения. Живот мягкий, безболезненный при пальпации во всех отделах. Край печени выступает из-под реберной дуги на 2 см, ровный, плотноэластической консистенции. Стул регулярный, оформленный, один раз в сутки.

Проведено обследование:

Общий анализ крови: эритроциты – $6,52 \times 10^{12}$ /л; гемоглобин - 194 г/л; тромбоциты – 173×10^9 /л; лейкоциты – $7,8 \times 10^9$ /л; базофилы - 1%; эозинофилы - 5%; палочкоядерные - 1%; сегментоядерные - 31.4%; лимфоциты – 56,7%; моноциты – 4,9%; СОЭ - 1 мм/ч; гематокрит – 55,5%. Группа крови - I(0), Rh(+).

Биохимический анализ крови: АСТ - 39 ЕД/л; мочевины - 4.8 ммоль/л; креатинин - 43 мкмоль/л; глюкоза - 5.1 ммоль/л; общий белок - 69 г/л; натрий - 138 ммоль/л; калий - 4.7 ммоль/л; кальций - 2.66 ммоль/л;

Коагулограмма: МНО - 1.16 у.е.; общий фибриноген - 2.4 г/л; АЧТВ – 33 сек.; РФМК - 3 мг%.

Молекулярно-генетическое исследование маркеров наследственной тромбофилии: выявлена гетерозиготная мутация гена фактора F II - GA, гетерозигота фактора F XIII - GT, PAI-I – 5G4G. При анализе генов фолатного цикла: гомозигота гена фермента MTHFR 1298 – CC, гетерозигота MTRR 66 –AG. Заключение: у ребенка имеется повышенный риск развития венозного тромбоза, что в сочетании с данными анамнеза (тромбоз шунтов) и предполагаемым выполнением этапной коррекции определяет необходимость назначения антикоагулянтной терапии и фолиевой кислоты.

При проведении ангиопульмонографии легочное русло заполняется не равномерно. Верхушка правого легкого не контрастируется, верхушка левого легкого заполняется через стенозированную верхнедолевую легочную артерию. Правая и левая легочная артерии не конфлюэнтны. Правая легочная артерии

заполняется через центральный шунт диаметром 5 мм. Левая легочная артерия заполняется через открытый артериальный проток. Правый и левый, модифицированные Блелок-Тауссиг шунты не визуализируются (тромбоз).

Учитывая жалобы, анамнез, состояние ребенка, данные проведенного обследования, показано выполнение этапа хирургической паллиативной коррекции врожденного порока сердца - протезирование легочной артерии и выполнение двунаправленного каваппульмонального анастомоза.

Выполнена операция: Пластика легочной артерии заплатой из ксеноперикарда, перевязка и пересечение открытого артериального протока, перевязка центрального шунта, наложение двунаправленного каваппульмонального анастомоза в условиях искусственного кровообращения и фармакохолодовой кардиopleгии. Имплантация противоспаечной заплаты «Preclude».

На 4-е сутки после операции отмечено снижение SpO₂ до 47%. Принято решение о проведении ангиопульмонографии. Выполнена ангиопульмонография через двунаправленный каваппульмональный анастомоз. Выявлен стеноз левой легочной артерии 75%. Выполнена баллонная дилатация баллоном 10x20, установлен стент EUCATECH 8x38 мм. После стентирования левой легочной артерии давление 11/5 (6) мм рт. ст. SpO₂ 75 %.

Рекомендации по медикаментозной терапии при выписке пациента:

- варфарин 3 мг 1 раз в сутки (за 1 час до еды) – постоянно при целевом уровне МНО 2,0-3,0 ед;
- фолиевая кислота 600 мкг 1 раз в день в течение 1 месяца курсами 3 раза/год.

Клинический пример № 2

Мальчик в возрасте 5 лет, поступил в клинику НИИ кардиологии в 2011 г. с диагнозом: Врождённый порок сердца. Функционально единственный желудочек сердца (гипоплазия правого желудочка). Дефект межпредсердной перегородки. ФК II.

Перенесённые операции:

-подключично-легочный шунт слева (2006 год);

-двунаправленный кавапульмональный анастомоз, пересечение подключично-легочного шунта слева (2007 год);

-тотальное кавапульмональное соединение экстракардиальным кондуитом (операция Фонтена), иссечение межпредсердной перегородки, формирование фенестрации между кондуитом и правым предсердием (2010 г.)

Жалобы при поступлении: одышка при нагрузке, цианоз кожи.

Объективный статус при поступлении. Общее состояние удовлетворительное. Физическое и нервно-психическое развитие соответствуют возрасту. Рост 113 см, масса тела 21 кг. Кожные покровы чистые, умеренной влажности. Отмечается лёгкий цианоз губ и лица. Тонус мышц нормальный. При перкуссии легких звук легочной. При аускультации легких дыхание везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет. Частота дыхания в покое 26 в минуту. Границы сердца не изменены. Тоны сердца громкие, ритмичные. Отчётливых шумов в области сердца не выслушивается. Частота сердечных сокращений 112 в мин. Артериальное давление на правой руке 102/64 мм рт. ст. SpO₂ в покое - 91%, SpO₂ при нагрузке - 84%. Пульс на лучевой артерии справа и бедренных артериях удовлетворительного качества. Живот обычной формы, мягкий, безболезненный при пальпации во всех отделах. Печень по краю рёберной дуги. Стул регулярный, оформленный, один раз в сутки.

Проведено обследование:

Эхокардиография: Общее предсердие. Системный желудочек анатомический левый, функция его нормальная. Кровоток в верхней и нижней полых венах - норма, связь с дыханием четкая. учитывая результаты проведенного обследования, показано эндоваскулярное закрытие фенестрации.

Общий анализ крови: эритроциты - $5.26 \times 10^{12}/л$; гемоглобин - 147 г/л; тромбоциты - $254 \times 10^9/л$; лейкоциты - $5.4 \times 10^9/л$; сегментоядерные - 55,4%; лимфоциты - 36,4%; моноциты - 8,2%; гематокрит - 43,7%; СОЭ - 2 мм/ч. Группа крови - I(0), Rh (+).

Биохимический анализ крови: АСТ - 23 ЕД/л; мочевины - 5.2 ммоль/л; креатинин - 34 мкмоль/л; глюкоза - 5.6 ммоль/л; общий белок - 56 г/л; альбумин - 38.1 г/л; натрий - 142 ммоль/л; калий - 4 ммоль/л; гомоцистеин – 9,2 ммоль/л;

Коагулограмма: МНО - 1.24 у.е.;

Молекулярно-генетическое исследование: гомозигота гена рецептора тромбоцитов для коллагена ITGA2 807 – TT, гетерозигота PAI-I – 5G4G. При анализе генов фолатного цикла: гомозигота гена фермента MTHFR 677 – TT, гетерозигота MTR 2756 – AG, гетерозигота MTRR 66 –AG. Заключение: у ребенка имеется носительство патологической гомозиготы гена фермента MTHFR 677TT и гетерозигот ферментов MTR 2756AG, MTRR 66AG фолатного цикла, что сопровождается повышением уровня гомоцистеина в плазме крови. Результат исследования определяет необходимость назначения фолиевой кислоты для профилактики повреждения сосудистой стенки и развития тромбофилических осложнений.

Пациенту в ходе госпитализации выполнено эндоваскулярное закрытие фенестрации.

Рекомендации по медикаментозной терапии при выписке пациента:

- варфарин 2,5 мг (за 1 час до еды) – постоянно при целевом уровне МНО 2,0-3,0 ед.;

-фолиевая кислота 600 мкг 1 раз в день в течение 1 месяца курсами 3 раза/год.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Генетическая вариабельность составляет основу фенотипической изменчивости человека и имеет огромное значение для объяснения индивидуальных различий в формировании многофакторных заболеваний и реализации метаболических путей, вовлеченных в развитие патологических процессов. Наиболее распространенным типом вариабельности генома являются однонуклеотидные замены (англ. single-nucleotide polymorphism, SNP) [180]. К настоящему времени описано большое количество генетических вариантов, ассоциированных с развитием протромботических сдвигов в системе гемостаза [25; 26; 30; 50]. Наиболее значимые SNP кодируют компоненты плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза и могут быть связаны с нарушениями активности ферментов фолатного цикла.

Одной из сложных проблем лечения у пациентов с ФЕЖС является развитие венозных тромбозов различной локализации на этапах гемодинамической коррекции порока. Венозные тромбозы и тромбоэмболии в 25% случаев становятся причиной летального исхода у пациентов с ФЕЖС [83; 199]. Исследование SNP генов, участвующих в системе свертывания крови, является актуальным с точки зрения оценки риска развития фатальных сердечно-сосудистых событий у детей с врожденными и приобретенными заболеваниями сердца [121; 177; 195].

В ходе нашей работы было проведено исследование полиморфных вариантов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов у пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей.

В результате проведенного анализа GG генотип гена *F II* у пациентов с ФЕЖС встречался в 97,1%, в группе практически здоровых детей – 97,8%. Частота гетерозиготного генотипа GA гена *F II* в рассматриваемых группах составила 2,9% и 2,2% соответственно, и не различалась в обследуемых группах ($p=0,564$). Наши результаты исследования согласуются с литературными данными по частоте встречаемости мутации гена *F II G20210A* в европейской популяции.

Частота гетерозиготного носительства полиморфной замены *G20210A* варьирует от 1,7% в северных регионах Европы до 3% - южных [178]. В Великобритании ее частота – 5,5% [189], в США – 2 – 5% у европеоидов и 0,03% у афроамериканцев [186]. В странах Азии и Африки гетерозиготное носительство *G20210A* выявляется очень редко [178].

При сравнении частоты встречаемости *GG* генотипа гена *F V* у пациентов с ФЕЖС (94,1%) с группой практически здоровых детей (98,9%) и гетерозиготного генотипа *1691GA* гена фактора *V* (5,9%) и (1,1%) в рассматриваемых группах статистически значимых различий не выявлено ($p=0,084$). Результаты нашего исследования аналогичны данным по частоте встречаемости полиморфной замены гена *F V G1691A* в европейской популяции в рассматриваемых группах. Лейденская мутация варьирует по всему миру и различия наблюдаются между географическими точками и этническими группами населения [167]. По литературным данным, распространенность лейденской мутации у практически здоровых в Европе и США встречается от 3 до 7%, а иногда может достигать 15% [178; 168].

При проведении молекулярно-генетического исследования гомозиготный генотип *20210AA* гена фактора *II* и гомозиготный генотип *1691AA* гена фактора *V* у пациентов с ФЕЖС и в группе практически здоровых детей не встречался. В работах ряда авторов показано, что в популяции здоровых людей гомозиготные генотипы генов фактора *II* и фактора *V* не обнаруживались [42; 50; 95].

По данным интернет ресурса e!Ensembl (www.ensembl.org) распространенность гомозиготного генотипа гена *F II 20210AA* в странах Америки составляла 0,003%, а в странах Африки, Европы и Азии данный генотип не встречался. Гомозиготный генотип гена *F V 1691AA* по данным интернет ресурса e!Ensembl (www.ensembl.org) в популяции Европы встречался с частотой 0,002%, а среди жителей Америки, Африки, Азии не обнаруживался [92; 97].

В исследовании, помимо общепризнанных детерминант наследственной тромбофилии – мутаций гена фактора *F V G1691A* и гена фактора *F II G20210A*, мы проанализировали у пациентов в группе с ФЕЖС и группе практически

здоровых детей носительство полиморфных вариантов генов системы гемостаза *F VII*, *F XIII* и *F GB* и системы фибринолиза *PAI-1*. Встречаемость полиморфной замены гена *F VII G10976A* в рассматриваемых группах согласуется с данными по европейской популяции, варьируя от 4 до 40% [148; 165]. Частота *10976GA* генотипа гена *F VII* варьирует от 13 до 29%, *10976AA* от 1 до 5 % в европейской популяции [84]. Полученные нами результаты по частоте встречаемости генотипов гена *F VII* в рассматриваемых группах аналогичны данным приводимым для европейской популяции.

Частота встречаемости генотипов *GT*, *TT* фактора *F XIII* в обследуемых группах близка к результатам исследований ряда авторов. Гетерозиготный генотип *GT* и гомозиготный *TT* гена *F XIII* встречается в популяции в 34-48% и 5-8 %, соответственно [42; 50]. Частота встречаемости в европейской популяции генотипов *GT* составляет от 32 до 37%, *TT* - от 4 до 9% гена *F XIII* [85].

Близкими к нашим рассматриваемым группам по распределению генотипов гена *F GB* оказались российские и европейские выборки [21; 42; 50; 75]. Частота встречаемости генотипов *GA* гена *F GB* среди европейской популяции варьирует от 25 до 37%, *AA* генотипа от 4 до 10% [91].

Распространенность в российской популяции носительства генотипа *5G4G* гена *PAI-1* составляет от 50 до 59%, *4G4G* от 21 до 30% по данным разных авторов [17; 35; 158]. Наши результаты по частоте встречаемости генотипов гена *PAI-1* схожи с результатами исследования данного полиморфизма среди подростков Алтайского края [40].

В обследуемых группах мы оценили также частоту генотипов генов, кодирующих рецепторы тромбоцитов. Частота *CT* генотипа гена рецептора тромбоцитов для коллагена *ITGA2* в рассматриваемых группах встречалась несколько ниже, чем в европейской популяции. Частота встречаемости в европейской популяции генотипа *CT* составляет от 44 до 63%, генотипа *TT* от 11 до 17% [126]. При исследовании распределения генотипов в гене рецептора тромбоцитов для фибриногена *ITGB3* получены аналогичные данные с европейской популяцией, где гетерозиготными носителями данного

полиморфизма являются от 18 до 25 %, гомозиготными от 1 до 4 % [63; 79; 125]. Аналогичные результаты по частоте полиморфизма были представлены в работе И. А. Гончаровой и соавт. (2013): гетерозиготный *ТС* генотип определялся в 25,7% случаях, а гомозиготный *СС* генотип – в 1,9% [38].

В группе пациентов с ФЕЖС распределение генотипов генов системы гемостаза и тромбоцитарных рецепторов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. Однако в группе практически здоровых детей отмечалось отклонение для частот генотипов гена *FVII* ($p=0,030$). Аналогичное распределение генотипов гена *FVII* было получено в популяции подростков г. Барнаула Алтайского края [42]. Выявленные отклонения по распределению гена *FVII* свертывания крови в группе практически здоровых детей можно рассматривать как возникшие в силу случайных причин. Между тем достоверное отклонение распределения от ожидаемого может быть вызвано смещением выборки по каким-либо показателям важным для реализации функциональной значимости данного полиморфизма [41].

Частота встречаемости генотипов генов системы гемостаза *F2: 20210 G>A*, *F5: 1691 G>A*, *F7: 10976 G>A*, *F13: 163 G>T*, *FGB: -455 G>A*, *PAI-1: - 675 5G>4G* и тромбоцитарных рецепторов *ITGA2: 807 C>T* и *ITGB3: 1565T>C* в группах пациентов с ФЕЖС не зависела от гендерных различий.

Таким образом, в нашей работе мы выявили, что частота встречаемости полиморфных вариантов генов плазменного и тромбоцитарного звена системы гемостаза в группе пациентов с ФЕЖС сопоставима с таковой в группе практически здоровых детей.

Одной из задач нашей работы было исследование распределения полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла в группах пациентов с ФЕЖС и практически здоровых детей. Результаты исследования SNP гена фермента *MTHFR* в рассматриваемых группах аналогичны данным по частоте встречаемости в европейской популяции. В зависимости от этнической принадлежности частота встречаемости полиморфизма гена фермента *MTHFR* может быть различна. В исследовании В. Wilcken и соавт. (2013) изучали

географическое и этническое распределение *C677T* полиморфизма в гене *MTHFR* у 7000 новорожденных детей. *TT* генотип был особенно распространен в Мексике (32%), Южной Италии (26%), Северном Китае (20%) и редко встречался в Африке (1%) [103]. Генотип *677TT MTHFR* обнаруживается у 5-15% европейцев [149]. В исследовании Е.А. Калашниковой и соавт. (2006) у 576 здоровых людей, постоянно проживающих на территории Московского региона, частота генотипов составляла 225 (39,06%) случаев гетерозиготного и 49 (8,51%) случаев гомозиготного носительства полиморфизма *C677T* в гене *MTHFR* [49].

Распределение трех из четырёх исследуемых полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла в группе пациентов с ФЕЖС соответствует соотношению Харди-Вайнберга. Отклонение было зафиксировано для частот генотипа *A1298C* гена фермента *MTHFR* ($p=0,015$).

Полиморфизм гена фермента *MTHFR A1298C* менее изучен, частота встречаемости генотипов *AC* варьирует от 40 до 45%, *CC* - от 5 до 13% среди европейской популяции [150]. В группе с ФЕЖС частота встречаемости генотипов *AC* гена фермента *MTHFR A1298C* незначительно повышена по сравнению с данными по частоте встречаемости в европейской популяции. В работе Е.А. Трифоновой и соавт. (2012) о генетическом разнообразии и структуре неравновесия по сцеплению гена *MTHFR* среди населения Северной Евразии получены аналогичные данные. По результатам исследования гетерозиготный генотип *AC* диагностирован в 48,0% случаев, гомозиготный *CC* - 12%. Автор связывает увеличение количества гетерозигот с небольшим объемом выборки, а также спецификой популяционно-генетических процессов в популяции, которая может быть результатом как характерных особенностей генетико-демографической структуры популяции, так и со сцеплением с функционально значимым локусом [2].

Частота генотипов гена фермента *MTR A2756G* в рассматриваемых группах не отличается от европейской популяции, в которой частота встречаемости генотипов *AG* гена фермента *MTR* составляет от 23 до 43%, *GG* 2 до 4%, [151].

Полученные данные по частоте встречаемости полиморфизма гена фермента *MTRR A66G* в рассматриваемых группах сопоставимы с европейской популяцией, где частота генотипов *AG* гена фермента *MTRR* составляет от 38 до 52%, *GG* от 18 до 42 % [152]. В литературе мы нашли данные по распределению гена фермента *MTRR A66G*, отличающиеся от полученных нами результатов. Частота полиморфного варианта *66GG* гена *MTRR* в украинской популяции составляла 35,5% [13], среди подростков Алтайского края – 41,8% [42].

Проанализировав частоту генотипов генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR: 677 C>T*, *MTHFR: 1298 A>C*, *MTR: 2756 A>G*, *MTRR: 66 A>G* в группе пациентов с ФЕЖС мы установили, что рассматриваемые группы не различались по гендерному признаку. При сравнении генотипов гена фермента фолатного цикла *MTR: 2756 A>G* в группе практически здоровых детей гетерозиготный *AG* генотип у девочек, достоверно чаще встречается, чем у мальчиков ($p=0,026$). Статистически значимых различий в распределении полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла: *MTHFR: 677 C>T*, *MTHFR: 1298 A>C*, *MTRR: 66 A>G* в группе практически здоровых детей в зависимости от гендерных особенностей выявлено не было.

Таким образом, в результате проведенного исследования мы показали, что частота встречаемости полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла в группе пациентов с ФЕЖС сопоставима с таковой в группе практически здоровых детей. Наши данные согласуются с результатами работы В. Н. Максимова и соавт. (2014) по анализу частот генотипов гена фермента *MTHFR C677T* и *MTRR A66G* у пациентов с тремя видами ВПС: дефектом межпредсердной перегородки, дефектом межжелудочковой перегородки, тетрадой Фалло. При сравнении с популяционной выборкой изучаемые частоты были сопоставимы. Однако по частотам генотипов полиморфизма *A2756G* гена фермента *MTR* в группе детей с ВПС авторы получили значимые отличия от группы контроля ($p=0,04$) [37]. В нашем исследовании группа пациентов с ФЕЖС по частоте генотипов гена фермента *MTR* сопоставима с группой практически здоровых детей.

На сегодняшний день изучается большое количество SNP генов, носительство которых может приводить к изменению концентрации или активности белков, являющихся продуктом экспрессии гена.

В литературе описана ассоциация мутации *FII G 20210 A* с увеличением уровня протромбина в плазме крови в 1,5–2,0 раза выше по сравнению с нормой [178]. Мы в нашей работе такой закономерности не выявили. Концентрация фактора II у пациентов с ФЕЖС как носителей *20210GG* генотипа не отличалась от таковой у носителей *20210GA* генотипом ($p=0,696$).

Полиморфизм *FVII G 10976 A* представляет особый интерес в связи с тем, что описана его роль как протективного фактора на фоне повышенной тромбофилической готовности организма. У лиц, являющимися носителями гетерозиготного генотипа *GA* и гомозиготного *AA* установлено снижение концентрации фактора VII в плазме крови [112, 165]. В нашем исследовании мы получили результаты, свидетельствующие о связи носительства SNP гена FVII с его уровнем в плазме крови. У пациентов с ФЕЖС, являющихся носителями *10976 GA/AA* генотипов, наблюдалась статистически значимое снижение концентрации фактора по сравнению с пациентами - носителями *GG* генотипа ($p=0,020$). Физиологическая роль FVII заключается в инициации процесса свертывания крови в зоне повреждения сосудистой стенки. В комплексе с ТФ/FVIIa активирует FX и FIX, участвующие в генерации тромбина. Основное проявление полиморфизма *FVII G 10976 A* связано с геморрагическим синдромом. Нарушение в системе гемостаза может быть объяснено ослаблением процесса активации тромбоцитов в зоне повреждения сосудистой стенки из-за недостаточного образования малых порций тромбина под действием комплекса ТФ/FVIIa на стадии инициации свертывания крови.

Результаты исследования Arins R.A и соавт. (2000) показали, что полиморфная замена *FXIII Val34Leu* приводит к изменению аминокислотной последовательности А-субъединицы фактора XIII тромбином. В результате этого изменяется скорость активации FXIII, что приводит к модификации кинетики сшивания фибриновых нитей и влиянию на стабильность фибринового сгустка.

При наличии данного полиморфизма концентрация фибринстабилизирующего фактора не изменяется, однако его активность повышена в 2-3 раза [187]. В нашем исследовании концентрация фактора *XIII* в плазме крови не зависела от носительства генотипа гена фактора *XIII* у пациентов с ФЕЖС ($p=0,776$).

Полиморфная замена $-455G/A$ β -цепи фибриногена связана с повышением экспрессии данного гена и увеличением уровня фибриногена в плазме крови до 30 % по разным источникам [62, 101]. Повышение уровня фибриногена в плазме крови считается значимым предиктором артериальных тромбозов [62]. В нашей работе взаимосвязь уровня фибриногена с носительством полиморфизма гена *FGB* не установлена ($p=0,766$).

В настоящее время в литературе приводятся данные о том, что носительство аллеля *4G PAI-1 5G-6754G* приводит к повышенной экспрессии гена и проявляется увеличением уровня PAI-1 в плазме крови [35; 102]. Увеличение уровня PAI-1 в плазме крови сопровождается сниженной скоростью превращения плазминогена в плазмин, что способствует снижению активности фибринолитической системы. Замедленный фибринолиз – фактор, повышающий риск тромботических осложнений. В исследовании выявлено, что у пациентов с ФЕЖС носителей *675 5G5G* генотипа концентрация PAI-1 в плазме крови составила 58,0 нг/мл, у детей с генотипами – *675 5G4G/4G4G* статистически значимо выше – 97,2 нг/мл ($p=0,021$).

В связи с особенностями венозного кровотока и изменениями реологических свойств крови у пациентов с ФЕЖС одним из послеоперационных осложнений является развитие тромбоза различной локализации [100]. В ряде исследований системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС в периоде между ДКПС и операцией Фонтена описано снижение VII фактора свертывания, протеина C и S, что ведет к дисбалансу между прокоагулянтной и антикоагулянтной активностью факторов гемостаза [82; 196].

Многочисленные нарушения в циркуляции факторов свертывания крови присутствуют в различные сроки между этапами гемодинамической коррекции и не могут быть непосредственно связаны с физиологией Фонтена [68].

В нашем исследовании показатели плазменного звена системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС перед проведением ТКПС в целом характеризовались сбалансированностью гемостатических реакций. Однако обращало на себя внимание снижение активности протеина С у пациентов с ФЕЖС ($p=0,041$), что может быть связано с усиленным его потреблением на фоне умеренно повышенного уровня тромбина. Содержание тромбина в плазме крови у 20 пациентов с ФЕЖС превышало референсные значения (1-10 нг/мл). Медиана концентрации тромбина составила 19,8 нг/мл, с диапазоном значений от 7,2 до 25 нг/мл.

В литературе нет сведений о содержании протеина С у пациентов с ФЕЖС после операции ДКПС. Но в исследовании V. Chaloupecky и соавт. (2005) показано, что почти у половины пациентов после выполнения ТПКС отмечается снижение концентрации антитромбина III, протеина С и плазминогена [69].

Снижение активности протеина С у пациентов с ФЕЖС мы связываем с нарушением функции печени, возникающей, как правило, у этих пациентов в результате проводимой гемодинамической коррекции врожденного порока сердца. В ряде проведенных исследований системы гемостаза у пациентов с ФЕЖС после операции ТКПС показано, что снижение протеина С ведет к дисбалансу между прокоагулянтной и антикоагулянтной активностью факторов гемостаза [82; 196]. Возникающий дефицит протеина С является фактором, увеличивающим риск развития тромбоза [130].

Обобщенная схема, демонстрирующая роль действия прокоагулянтных и антикоагулянтных факторов, в том числе, с использованием наших собственных данных у пациентов с ФЕЖС, представлены на рисунке 5.

В послеоперационном периоде лечение пациентов проводилось по индивидуально подобранной схеме с учетом анамнестических данных. Пациенты получали антиагрегантную терапию кардиомагнилом после наложения МБТШ и/или операции ТКПС [55]. В этой группе пациентов с ФЕЖС проведено исследование агрегации тромбоцитов с различными видами индукторов на фоне приема кардиомагнила.

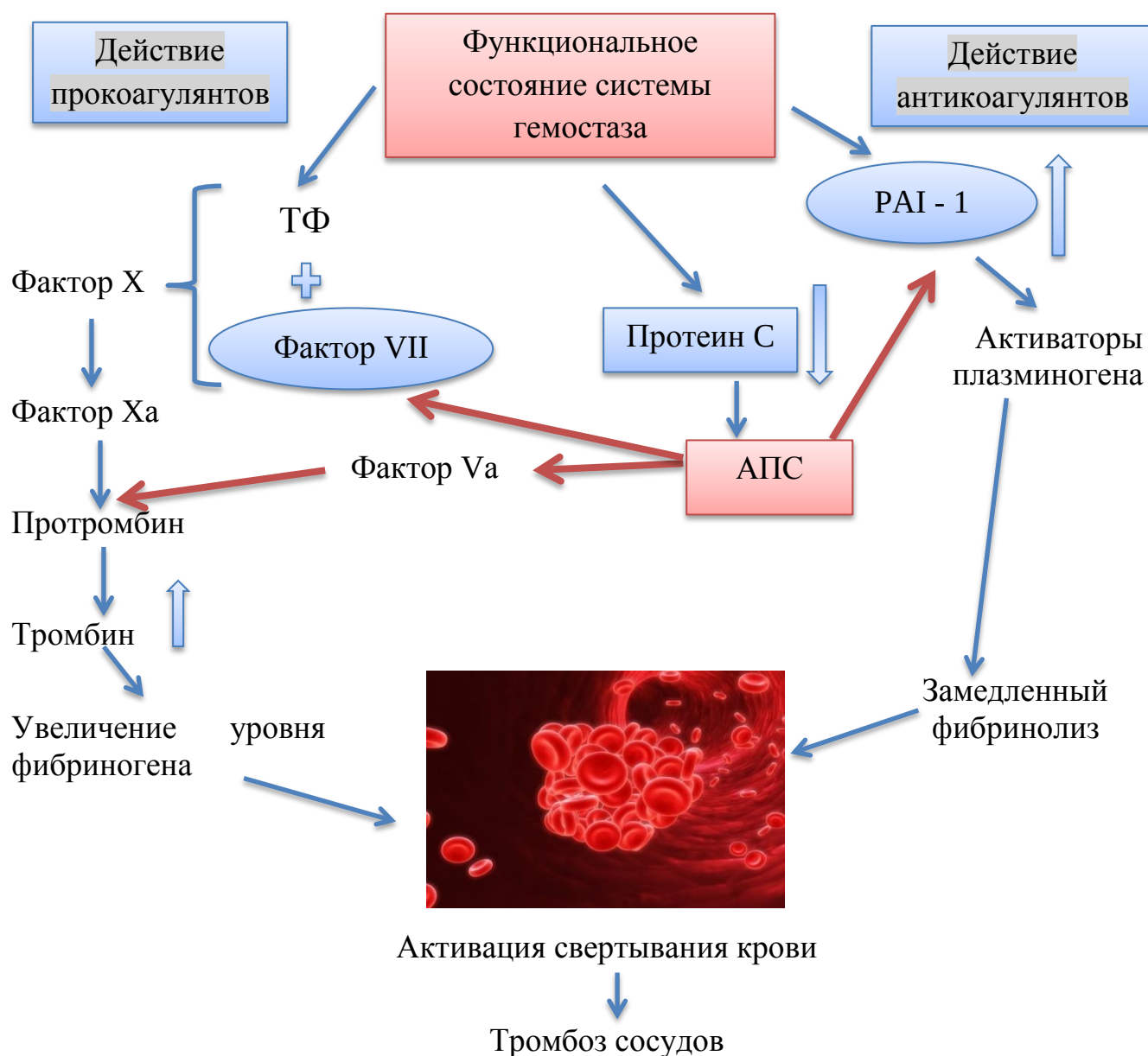


Рисунок 5 – Схема, показывающая действие прокоагулянтных и антикоагулянтных факторов у пациентов с ФЕЖС.

Установлено, что величина максимальной агрегации тромбоцитов, индуцированная эпинефрином, АДФ и коллагеном статистически значимо снижена в группе пациентов с ФЕЖС, принимающих дезагреганты. Количество тромбоцитов у обследованных детей находилось в пределах референсных значений ($p=0,922$). Значения величины агрегационной активности тромбоцитов анализировали в зависимости от результатов генетического тестирования генов рецепторов тромбоцитов для коллагена и фибриногена.

По данным N. Beckerath и соавт. (2000), уровень экспрессии рецепторов GPIa/IIa зависит от генотипа и коррелирует с интенсивностью коллаген-индуцированной агрегацией тромбоцитов [105]. В нашем исследовании связи агрегационной активности тромбоцитов с носительством генотипов рецептора тромбоцитов для коллагена *ITGA2 C807T* не отмечалось ($p=0,952$).

Наличие полиморфизма гена *ITGB3 T1565C* обуславливает усиление сигнальных функций гликопротеинового комплекса и перестройку цитоскелета тромбоцитов после активации. Полиморфизмы генов, кодирующих α - и β -цепи фибриногенового рецептора тромбоцитов, могут приводить к повышению чувствительности рецептора к специфическим лигандам, что сопровождается повышенной агрегацией тромбоцитов и, как следствие, увеличением риска тромбообразования [79]. В отечественной литературе описана взаимосвязь полиморфизма гена *ITGB3 T1565C* у детей с ишемическим инсультом [45]. По данным литературы носительство генотипов тромбоцитарных рецептора для фибриногена *ITGB3:1565 TC/CC* может обуславливать отсутствие или недостаточное снижение величины агрегационной активности тромбоцитов на фоне применения кардиомагнила [107]. В нашей работе в группе пациентов с ФЕЖС связи агрегационной активности тромбоцитов с носительством генотипов рецептора тромбоцитов для фибриногена *ITGB3 T1565C* не установлено ($p=0,961$).

В литературе активно обсуждается роль метаболического фактора риска развития сосудистых осложнений – повышенного уровня гомоцистеина [51]. Основной точкой его повреждающего действия становится внутренняя поверхность сосудов – эндотелий.

В формировании тромбофилических состояний самостоятельное значение имеют нарушения в системе метионин-гомоцистеинового обмена, приводящие к ГГЦ, причинами развития которого являются генетические дефекты, приводящие к неполноценности ферментов: *MTHFR*, *MTR*, *MTRR*.

Полиморфный вариант гена *C677T MTHFR* наследуется по аутосомно - рецессивному типу и изменения активности метилентетрагидрофолатредуктазы наиболее выражены у пациентов с гомозиготным генотипом *TT*. Активность

фермента снижена на 70% у носителей *677TT* генотипа гена фермента *MTHFR*, а у носителей *CT* на - 35% [53]. Уменьшение активности фермента *MTHFR* приводит к легкой или умеренной ГГЦ, которая обуславливает нарушения в свертывающей системе крови. В результате проведенного молекулярно-генетического исследования и определение концентрации гомоцистеина в плазме крови у пациентов с ФЕЖС в нашем исследовании установлено, что средний уровень гомоцистеина у носителей *677TT* генотипа гена фермента *MTHFR* был значимо выше по сравнению с детьми носителями *677CC* генотипа ($p=0,020$).

Существует мнение, что полиморфизм гена фермента фолатного цикла *A1298C MTHFR* снижает его активность, хотя и не так значительно, как при полиморфном варианте *C677T MTHFR*. Носители, являющиеся компаунд-гетерозиготами по данным аллелям (генотипы *677CT/1298AC*), характеризуются снижением активности фермента на 40-50%, что аналогично изменениям при гомозиготном состоянии аллеля *677T* [54]. В нашем исследовании данное сочетание полиморфизмов среди группы пациентов с ФЕЖС выявлено в 15,2% случаев. Так, уровень гомоцистеина у носителей данных полиморфных вариантов у пациентов с ФЕЖС составил 7,0 мкмоль/л.

По литературным источникам риск ишемического инсульта в молодом и детском возрасте увеличивается в 3,39 раза [122; 191]. В нашей работе содержание гомоцистеина у носителей *TT* генотипа фермента *MTHFR* было выше в плазме крови в 1,28 раза, чем у носителей генотипов *677CT/1298AC* ферментов *MTHFR*.

Уровень гомоцистеина у пациентов с ФЕЖС, являющихся носителями гомозиготного генотипа гена фермента *MTR 2756AA* и полиморфного варианта гена фермента *MTHFR C677T* у пациентов с ФЕЖС составил 8,2 мкмоль/л. Данное носительство является протромботическим у больных с ишемическим инсультом в корейской популяции [116].

Наряду с наследственными факторами развития гипергомоцистеинемии у детей причиной повышения гомоцистеина являются недостаток поступления с

пищей витаминов-кофакторов ферментов, необходимых для метаболизма гомоцистеина - В₆, В₁₂ и фолиевой кислоты [39].

Таким образом, полиморфная замена *C677T* гена фермента *MTHFR*, а именно генотип *677TT* ассоциирован с повышенным уровнем гомоцистеина в плазме крови у пациентов с ФЕЖС. При изучении полиморфизма *A1298C* гена фермента *MTHFR*, *A2756G* гена фермента *MTR* и полиморфизма *A66G* гена фермента *MTRR* у пациентов с ФЕЖС мы не выявили взаимосвязи генотипа с уровнем гомоцистеина в плазме крови.

Принимая во внимание многоэтапность и сложность хирургической коррекции ВПС с ФЕЖС, пациенты имеют риск тромботических осложнений, как на любом из этапов хирургической коррекции, так и при проведении инвазивных диагностических процедур, сопровождающихся катетеризацией сосудов. В исследование проведен ретроспективный анализ историй болезни пациентов с ФЕЖС с целью выявления эпизодов тромбозов. В результате проведенной работы было выявлено, что частота развития тромботических осложнений на разных этапах ГК у обследованных пациентов с ФЕЖС составила 12,7 % (13 из 102 детей). Большая часть (61,5%) случаев тромбозов произошло на втором этапе хирургического лечения - проведения ДКПС. Сравнительная оценка показателей системы гемостаза и периферической крови до проведения ДКПС и ТКПС показала, что все исследуемые параметры не различались в рассматриваемых группах (табл. 29, 30, 31). При сравнении параметров системы гемостаза и гематологических показателей в группах пациентов с тромбозом и без тромбоза значимых различий не выявлено (табл.32, 33, 34).

С целью выявления генетических факторов тромботического риска был проведен анализ проведенных результатов молекулярно-генетического тестирования генов системы гемостаза в группах с тромбозом и без такового у пациентов с ФЕЖС.

Мы установили, что носительство гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом увеличивало риск развития тромботических осложнений в 16 раз по сравнению с группой пациентов без

такового (15,4% против 1,1% соответственно; OR = 16,0; 95% CI: 1,34-191,24; $p=0,028$). Гомозиготный генотип AA гена фактора II в исследуемых группах не встречался. Полученные в нашем исследовании результаты согласуются с работами авторов по отсутствию гомозиготного генотипа AA гена фактора II среди обследованных детей с венозными тромбозами [5; 8, 16; 154; 204].

По данным различных исследований гетерозиготный генотип 20210 GA гена фактора II у детей с венозными тромбозами встречается в 2–9% случаев [71; 87]. Риск возникновения тромбоза увеличивается в 3 раза. В исследовании M. Bonduel и соавт. (2003) показано, что распространенность гетерозиготного генотипа гена протромбина G20210A выявлена у 4–5% детей с церебральными венозными тромбозами по сравнению с 1–2% в контрольной группе [87]. В работе R. Laugesaa и соавт. (2010) авторы показали, что риск развития церебральных венозных тромбозов повышен в 11,9 раз у детей, являющимися носителями гетерозиготного генотипа 20210GA гена фактора II (OR = 11,9; 95% CI: 2,1-67,2) [86]. В исследовании S. Barreirinho и соавт. (2003) у детей полиморфная замена G20210A гена фактора II увеличивала риск развития ишемического инсульта в 11,8 раз (OR = 11,8; 95% CI: 1,0-136,5) [117].

В нашем исследовании у пациентов с ФЕЖС с тромбозом в анамнезе было выявлено в 100% случаев гомозиготное носительство GG гена фактора VII ($p=0,017$). В исследовании О. А. Львовой и соавт. (2011) в результате проведенного молекулярно-генетического исследования в группе пациентов с ишемическим инсультом не выявлялось носительство генотипа AA гена фактора VII [22]. В литературе представлены противоречивые данные о влиянии полиморфизма гена фактора VII на состояние системы гемостаза [33]. По мнению М. Ogawa и соавт. (2004) наличие варианта 10976A гена фактора VII приводит к снижению экспрессии гена фактора VII и предупреждает развитие тромбозов [173].

Носительство полиморфных вариантов генов системы гемостаза *FV*, *FXIII*, *FGB*, *PAI-1*, *ITGA2*, *ITGB3* не ассоциировано с риском развития тромбоза в обследуемой группе детей с ФЕЖС.

Для оценки риска развития тромбофилических состояний было проведено сравнения генотипов генов ферментов фолатного цикла у пациентов с ФЕЖС с тромбозами в анамнезе и без него. Многими авторами описана взаимосвязь полиморфизма *MTHFR C667T* с риском развития венозных и артериальных тромбозов при гомозиготном носительстве по минорному аллелю [10; 11; 120].

В исследовании U. Nowak-Gottl и соавт. (1999) показано, что при носительстве гомозиготного генотипа *677TT* гена фермента *MTHFR* риск развития ишемического инсульта у детей возрастает в 2,6 раз (OR = 2,6; 95% CI: 1,5-4,5) [121]. В исследованиях авторов у детей носительство генотипа *677TT* гена фермента *MTHFR* не увеличивало риск развития церебральных венозных тромбозов (OR = 1,2; 95% CI: 0,2-6,9) [115] и (OR = 1,0; 95% CI: 0,3-3,6) [65]. Результаты нашей работы свидетельствуют о том, что носительство гомозиготного генотипа *TT* гена фермента *MTHFR* не ассоциировано с риском развития тромбоза у пациентов с ФЕЖС (OR = 1,15; 95% CI: 0,13-10,42; $p=0,899$).

Носительство полиморфных вариантов генов ферментов *MTHFR A1298C*, *MTRR A66G* в группе пациентов с ФЕЖС не связано с риском развития тромбоза. В нашем исследовании риск развития тромбоза ассоциирован с носительством *2756AA* генотипа гена фермента *MTR* (OR = 11,21; 95% CI: 1,39-89,96; $p=0,023$). В литературе мы не нашли данных подтверждающих ассоциацию генотипа *2756AA* гена фермента *MTR* с риском развития тромбоза.

Таким образом, в нашей работе мы установили, что гетерозиготный генотип *GA* гена фактора *II* в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом обнаруживался чаще, чем в группе детей без тромбоза. У пациентов с ФЕЖС с тромбозом в анамнезе в 100% случаев было выявлено гомозиготное носительство *GG* гена фактора *VII*. Статистически значимые различия между группой пациентов с тромбозом и без него были выявлены при анализе полиморфизмов гена фермента *MTR A2756G*.

Мы показали, что носительство гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* в группе пациентов с ФЕЖС с тромбозом увеличивало риск развития

тромботических осложнений в 16 раз по сравнению с группой пациентов без такового.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам выполненного молекулярно-генетического исследования, оценки показателей коагулограммы, определения концентрации факторов коагуляционного гемостаза и фибринолиза, активности антикоагулянтного звена, а также уровня гомоцистеина в плазме крови мы пришли к выводу о многокомпонентной модели развития тромбоза.

Установлено, что частоты генотипов генов факторов плазменного и тромбоцитарного звена системы гемостаза, а также генов ферментов фолатного цикла в группе пациентов с ФЕЖС сопоставимы с группой практически здоровых детей.

В нашем исследовании показатели плазменного звена гемостаза характеризовались сбалансированностью гемостатических реакций у пациентов с ФЕЖС до проведения ТКПС, но со стороны антикоагулянтного звена системы гемостаза наблюдалось снижение концентрации протеина С в плазме крови ($p=0,041$).

При анализе агрегационной активности тромбоцитов и результатов молекулярно-генетического исследования генов рецепторов тромбоцитов мы не выявили зависимости величины агрегации тромбоцитов от носительства генотипа гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов для коллагена *ITGA2:807C>T* и для фибриногена *ITGB3:1565T>C* с величиной агрегационной активности.

В нашей работе мы установили, что у пациентов с ФЕЖС носителей 10976 *GA/AA* генотипов гена FVII концентрация фактора VII в плазме крови значимо снижена по сравнению с пациентами носителями *GG* генотипа ($p=0,020$). Концентрация PAI-1 в плазме крови была выше у пациентов с ФЕЖС с генотипами – 675 *5G4G/4G4G*, по сравнению с пациентами являющимися носителями – 675 *5G5G* генотипа ($p=0,021$).

По результатам проведенного молекулярно-генетического исследования у пациентов с ФЕЖС генов ферментов фолатного цикла и концентрации

гомоцистеина мы установили взаимосвязь 677TT генотипа гена фермента *MTHFR* с повышением уровня гомоцистеина в плазме крови ($p=0,020$).

Ретроспективно нами проведен анализ историй болезни пациентов с ФЕЖС для выявления тромботических осложнений. Тромбозы различной локализации диагностированы в 61,5% случаев у пациентов с ФЕЖС на втором этапе ГК - ДКПС.

Мы установили в нашем исследовании, что показатели плазменного звена гемостаза характеризовались сбалансированностью гемостатических реакций у пациентов с ФЕЖС, как в группе детей с тромбозом, так и без такового. Функциональное состояние системы гемостаза, антикоагулянтной системы, показатели периферической крови были сопоставимы в группе пациентов с ФЕЖС в рассматриваемых группах.

Мы установили, что носительство гетерозиготного генотипа GA гена фактора II в группе пациентов с ФЕЖС ассоциировано риском развития тромбоза ($OR = 16,0$; 95% CI: 1,34-191,24; $p=0,028$). В группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца с тромбозом статистически значимо преобладал GG генотип гена фактора VII ($p=0,017$).

Таким образом, исследование полиморфизмов генов, кодирующих факторы системы гемостаза *FII*: 20210 G>A, *FV*: 1691 G>A, *FVII*: 10976 G>A, а также гена фермента фолатного цикла *MTHFR*: 677 C>T необходимо проводить у пациентов с ФЕЖС. Полученные результаты должны рассматриваться как факторы риска развития тромбоза на этапах гемодинамической коррекции врожденного порока.

Обобщая результаты проведенного исследования, мы поддерживаем гипотезу о том, что в реализации тромбоза на этапах хирургической коррекции врожденного порока сердца ключевую роль играет сочетание факторов тромбогенного риска, состояние тромботической готовности и особенности гемодинамики у пациентов с ФЕЖС (рисунок 6).

Пусковым фактором для развития тромбозов в группе пациентов с ФЕЖС становится носительство тромбогенной мутации, хирургическое вмешательство и катетерные процедуры.

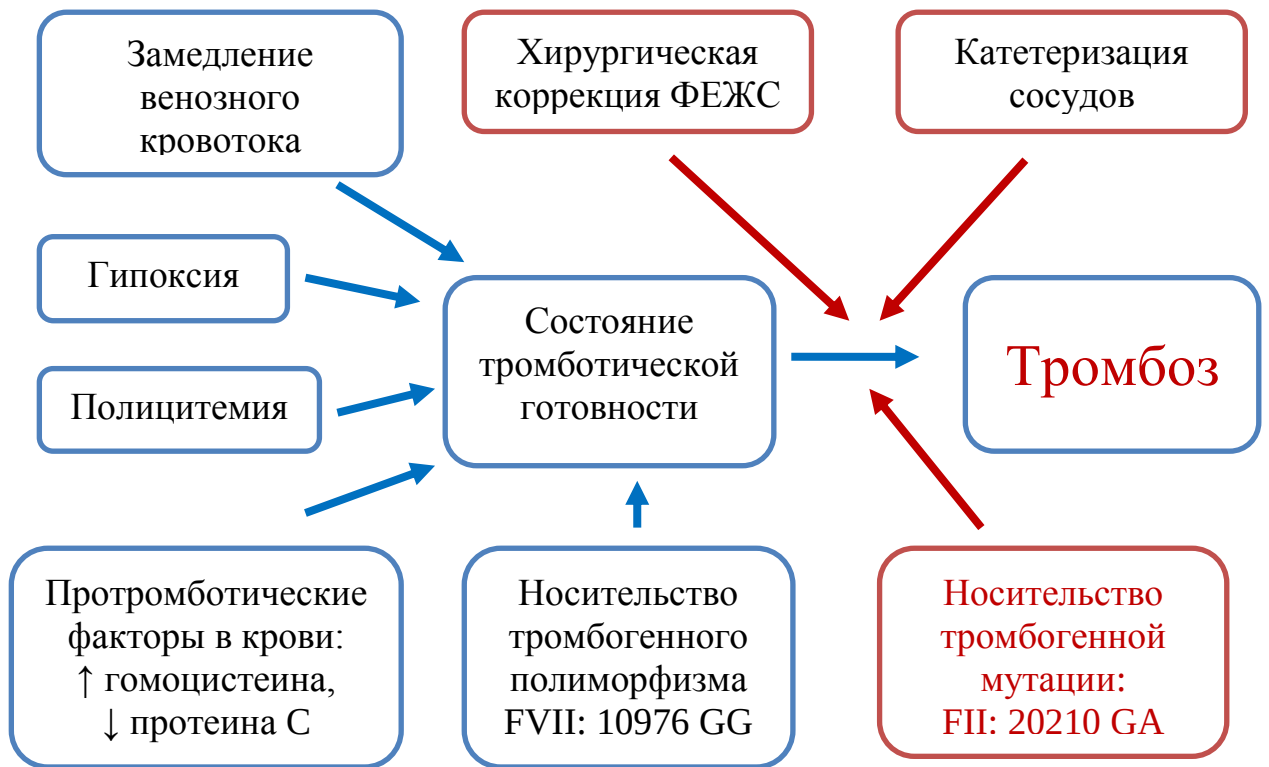


Рисунок 6 – Связь факторов тромбогенного риска, тромботической готовности и носительство тромбогенных мутации/полиморфизма у пациентов с ФЕЖС

Таким образом, сочетание врожденных факторов риска (носительство тромбогенных мутаций и полиморфизмов, а именно носительство гетерозиготной мутации гена фактора *II*, гомозиготного генотипа *GG* гена фактора *VII*) и дополнительных факторов риска (оперативное вмешательство, катетеризация сосудов) проявляется тромботическими осложнениями.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность протромботических полиморфизмов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла у пациентов с функционально единственным желудочком сердца сопоставима с группой практически здоровых детей.
2. У пациентов с функционально единственным желудочком сердца, являющимися носителями *10976 GA/AA* генотипов гена фактора *FVII*, концентрация в плазме фактора VII значимо снижена по сравнению с пациентами носителями *10976 GG* генотипа ($p=0,020$). Концентрация PAI-1 в плазме крови выше у пациентов с функционально единственным желудочком сердца с генотипами – *675 5G4G/4G4G*, по сравнению с пациентами являющимися носителями – *675 5G5G* генотипа ($p=0,021$).
3. В группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца у 75% обследованных наблюдался повышенный уровень гомоцистеина. При носительстве генотипа *677TT* гена фермента *MTHFR* содержание гомоцистеина в плазме крови повышено 1,7 раза относительно референсных величин.
4. На этапе подготовки к операции тотального кавопульмонального соединения у пациентов с функционально единственным желудочком сердца выявлено изменения в антикоагулянтном звене системе гемостаза характеризующиеся снижением концентрации протеина C ($p=0,041$).
5. Частота развития тромбозов на этапах хирургического лечения пациентов с функционально единственным желудочком сердца составила 12,7 %. Тромботические осложнения были ассоциированы с носительством гетерозиготного генотипа *GA* гена фактора *II* ($OR = 16,0$; 95% CI: 1,34-191,24; $p=0,028$).
6. В группе пациентов с функционально единственным желудочком сердца с тромбозом статистически значимо преобладал *GG* генотип гена фактора *VII* ($p=0,017$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенты с функционально единственным желудочком сердца с выявленным полиморфизмом генов, кодирующих факторы системы гемостаза: *FII*: 20210 G>A (фактор II), *FV*: 1691 G>A (фактор V, Лейденская мутация), *FVII*: 10976 G>A (фактор VII), а также фермента фолатного цикла: *MTHFR*: 677 C>T (метилентетрагидрофолатредуктазы) должны рассматриваться как группа высокого тромбогенного риска на этапах гемодинамической коррекции порока.
2. Учитывая, что тромбозы в 61,5% случаев произошли у пациентов с функционально единственным желудочком сердца на этапе выполнения двунаправленного кавопульмонального соединения, молекулярно-генетические исследования для оценки тромбогенного риска следует проводить до выполнения гемодинамической коррекции врожденного порока сердца.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ полиморфизмов генов гемостаза и фибринолиза у детей с ишемическим инсультом / О. Е. Громыко, Е. Н. Арсеньева, Н. Л. Нечаева и др. // Российский педиатрический журнал. — 2014. — № 6. — С. 4 – 9.
2. Анализ структуры неравновесия по сцеплению и ассоциации полиморфных вариантов гене MTHFR с коронарным атеросклерозом / Е. А. Трифонова, М. Г. Спиридонова, Т. В. Габидулина и др. // Генетика. – 2012. – Т. 48, №10. – С .1207 – 1220.
3. Анализ частот аллельных вариантов генов среди жителей Ростова-на-Дону / А. В. Миктадова, К. А. Коваленко, Е. С. Баронян и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 5. – Режим доступа: URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=6999> (дата обращения: 30.03.2017).
4. Баркаган, Л. З. Нарушение гемостаза у детей / Л. З. Баркаган. – М. : 1993. – 171 с.
5. Белоусова, Т. В. Асептический церебральный венозный тромбоз у новорожденного с наследственной тромбофилией / Т. В. Белоусова, С. Я. Анмут, В. А. Плюшкин // Сибирское медицинское обозрение. – 2014. – Т. 87, №3. – С .85 – 87.
6. Бокерия, Л. А. Сердечно-сосудистая хирургия – 2015. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения / Л. А. Бокерия, Р. Г. Гудкова. – М.: НЦССХ им. А.Н. Бакулева, 2016. – 208 с.
7. Власов, Ю. А. Онтогенез кровообращения человека / Ю. А. Власов. – Новосибирск : Наука, 1985. – 266 с.
8. Влияние носительства протромботических полиморфизмов на риск развития венозного тромбоза у детей / П. А. Жарков, Е. В. Ройтман, П. В. Свириин и др. // Гематология и трансфузиология. – 2012. – Т. 57, №4. – С .27 – 32.

9. Генетические признаки тромбофилии при инсульте у детей и подростков / А. А. Скоромец, З. Г. Тадтаева, Т. Е. Пак и др. // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2011. – С.11, №4. – С. 62–68.
10. Гипергомоцистеинемия – значимый фактор риска развития артериальных и венозных тромбозов / В. М. Шмелева, С. И. Капустин, М. Н. Блинов, Л. П. Папаян // Медицинский академический журнал. - 2003. –Т.3, № 4, – С.28-34.
11. Гипергомоцистеинемия как фактор риска инсульта / А. И. Федин, В. С. Ефимов, А. З. Кашежева и др. // Журнал неврологии. и психиатрии им. С. С. Корсакова: Приложение «Инсульт». – 2002. –№ 6. – С. 24 – 28.
12. Горбатов Ю. Н. Частичный и полный обход правого сердца в хирургии врождённых пороков с унивентрикулярной гемодинамикой : дис. ... д-ра мед. наук / Горбатов Юрий Николаевич. – Н., 2002. – 357с.
13. Гречанина, Е. Я. Распространенность полиморфизмов C677T MTHFR и A66G MTRR генов системы фолатного цикла в популяции Восточной Украины / Е. Я. Гречанина, В. А. Гусар // Актуальные проблемы акушерства и гинекологии, клинической иммунологии и медицинской генетики. — 2010. — № 2. — С. 91 – 97.
14. Детский ишемический инсульт: вклад полиморфизма генов фолатного цикла и гипергомоцистеинемии / О. А. Львова, В. В. Гусев, О. П. Ковтун и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – Т. 28, №3. – С .34 – 40.
15. Долгов, В. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свиринов. – М. : Триада, 2005. – 227 с.
16. Жданова, Л. В. Полиморфизм генов, ответственных за тромбофилию и их влияние на развитие тромбозов в детском возрасте / Л. В. Жданова, Л. И. Патрушев, В. В. Долгих // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т. 92, № 4. – С. 115 – 118.
17. Зотова, И. В. Предикторы образования тромба в левом предсердии у больных с персистирующей формой мерцательной аритмии : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.06 / Зотова Ирина Вячеславовна. – М., 2008. – 24 с.

18. Зубаиров Д. М. Современные доказательства концепции непрерывного свертывания крови в организме / Д. М. Зубаиров // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. – №1. – С.17 – 21.
19. Исаева, А. М. Причины и характер нарушений тромбоцитарного звена гемостаза у больных оперированных на сердце в условиях искусственного кровообращения : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.00.29 / Исаева Анастасия Михайловна. – М., 2006. – 31 с.
20. Исмаилбаев, А. М. Отдаленные результаты операции Фонтена в модификации экстракардиального кондуита / А. М. Исмаилбаев, Т. О. Астраханцева // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. БАКУЛЕВА РАМН сердечно-сосудистые заболевания. – 2014. – Т. 15, № 6. – С. 19 – 29.
21. Лемаева, И. В. Тромбоэмболия легочной артерии и флеботромбозы у пациентов с тромбофилическими состояниями. Факторы риска, диагностика, лечение : автореф. дис. ...канд. мед. наук : 14.01.05 / Лемаева Ирина Викторовна. – М., 2010. – 124 с.
22. Львова, О. А. Генетически детерминированные нарушения гемокоагуляции как причина ишемических инсультов у детей / О. А. Львова, О. П. Ковтун, Д. А. Чегодаев // Журнал неврологии и психиатрии. Инсульт. – 2011. – Т. 111, № 12(2) – С.3 – 9.
23. Макацария, А. Д. Тромбозы и тромбоэмболии в акушерско-гинекологической клинике: Молекулярно-генетические механизмы и стратегия профилактики тромбоэмболических осложнений / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе, С. В. Акинышина. - Рук. для врачей. – М.: ООО «МИА», 2007. – 1064 с.
24. Момот, А. П. Проблема тромбофилии в клинической практике / А.П. Момот // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2015. – № 1. – С. 36 – 48.
25. Момот, А. П. Состояние тромботической готовности – возможности современной диагностики и перспективы / А. П. Момот, И. А. Тарапенко, Л. П. Цывкина // Медицинский алфавит. – 2013. – Т.1, № 3. – С. 20 – 23.

26. Новые генетические факторы риска венозного тромбоэмболизма у лиц молодого возраста / С. И. Капустин, А. В. Демьяненко, Ю. С. Дрижун и др. // Материалы 6-ой Всероссийской конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии», Москва. – 2013. – С. 125 – 126.
27. О कोरोков, А. Н. Диагностика болезней внутренних органов / А. Н. О कोरोков. – М.: Медицинская литература, Т. 5. – 2002. – 489 с.
28. Оптимизация хирургических подходов, диагностики и профилактики осложнений на этапах гемодинамической коррекции врождённых пороков сердца с функционально единственным желудочком : отчет о НИР / Ковалёв И. А. – Томск : Научно-исследовательский институт кардиологии, 2015. – 160 с.
29. Патрушев, Л. И. Генетические механизмы наследственных нарушений гемостаза / Л. И. Патрушев // Биохимия. – 2002. – Т. 67, №1. – С. 40 – 55.
30. Петриков, А. С. Оценка риска распространения рецидива тромбозов вен нижних конечностей и тромбоэмболии легочной артерии на основе анализа генетических факторов, маркеров воспаления, гемостаза и эндотелиальной дисфункции : автореф. дис. ...д-ра мед. наук : 14.01.17 / Петриков Алексей Сергеевич. – Б., 2013. – 43 с.
31. Пизова, Н. В. Тромбофилии: генетические полиморфизмы и сосудистые катастрофы: монография / Н. В. Пизова. - Москва : ИМА-Пресс, 2013. – 247 с.
32. Подзолкова, Н. М. Гипергомоцистеинемия: миф или скрытая угроза? / Н. М. Подзолкова, М. Ю. Скворцова // Доктор.РУ. – 2014. – № 1(89). – С. 7 – 14.
33. Подчерняева, К. С. Тромбоз в педиатрической практике / К. С. Подчерняева // Врач. – 2006. – № 9. – С. 20 – 23.
34. Полиморфизм Val34Leu А-субъединицы фактора XIII и риск венозного тромбоэмболизма у пациентов молодого возраста / А. В. Демьяненко, С. И. Капустин, В. В. Сорока и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т. 16, №2. – С. 21 - 25.

35. Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена в оценке риска развития тромбозов различной локализации (пилотное исследование) / А. И. Субботовская, Г. А. Цветовская, А. А. Слепухина, Г. И. Лифшиц // Российский кардиологический журнал. – 2015. – № 10 (126). – С. 50 – 54.
36. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / И. Н. Фетисова, А. С. Добролюбов, М. А. Липин и др. // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. 10, № 1. – С. 91 – 96.
37. Полиморфизм генов фолатного обмена и врожденные пороки сердца / В. Н. Максимов, И. В. Полякова, Ю. В. Максимова и др. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2014. – Т. 34, №2. – С. 78 - 84.
38. Распространенность аллелей полиморфных вариантов Leu33Pro и Leu66Arg гена ITGB3 у жителей Сибирского региона / И. А. Гончарова, Н. П. Бабушкина, Л. И. Минайчева и др. // Генетика. – 2013. – № 8. – С. 877 – 880.
39. Самойлова, Ю. Г. Клиническое значение уровня гомоцистеина как фактора риска развития сосудистых осложнений сахарного диабета 1-го типа у детей и подростков / Ю. Г. Самойлова, Е. Б. Кравец, А. В. Энерт // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 5. – С. 6 – 9.
40. Строзенко, Л. А. Полиморфные варианты сочетаний генов системы гемостаза и фолатного цикла в популяции подростков Алтайского края / Л. А. Строзенко, В. В. Гордеев, Ю. Ф. Лобанов // Рос. педиатр. журн. — 2015. — № 4. — С. 26–31.
41. Строзенко, Л. А. Гендерные особенности качества жизни и состояния здоровья подростков / Л. А. Строзенко // Российский педиатрический журнал. – 2013. – № 3. – С. 51–54.
42. Строзенко, Л. А. Первичная тромбопрофилактика у подростков на основе выявления и модификации постоянных и временных факторов тромбогенного риска : ...дис. д-ра мед. наук: 14.01.08, 14.01.21 / Строзенко Людмила Анатольевна. – Барнаул, 2014. – 269с.
43. Третьякова, О. С. Особенности системы гемостаза в неонатальном периоде / О. С. Третьякова // Детский доктор. – 2011. - №1. – С. 26 - 33.

44. Физиология системы гемостаза / В. П. Балуда, М. В. Балуда, И. И. Деянов, И. К. Тлепшуков. – М : Медицина, 1995. – 244 с.
45. Функциональное состояние почек и почечной гемодинамики у детей с наследственной тромбофилией / О. Л. Чугунова, М. В. Шумихина, Н. Л. Козловская, А. И. Гуревич // Нефрология и диализ. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 224 – 235
46. Характеристика системы гемостаза и геморрагического синдрома у новорожденных с врожденными пороками сердца при операциях с искусственным кровообращением / Н. П. Леонов, А. М. Караськов, О. В. Струнин и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 79 – 90.
47. Цветовская, Г. А. Значение молекулярно-генетических методов диагностики в профилактике ишемических инсультов / Г. А. Цветовская, Е. Д. Чикова, Н. В. Кох // Фундаментальные исследования. — 2014. — № 7-5. — С. 1039 – 1043.
48. Чарная, М. А. Патогенез нарушений системы гемостаза при кардиохирургических операциях : автореф. дис. ...д-ра биол. наук : 14.00.16 / Чарная Марина Александровна. – М., 2007. – 42 с.
49. Частоты мутаций в генах фактора V (FV Leiden), протромбина (G20210A) и 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (C677T) у русских / Е. А. Калашникова, С. Н. Кокаровцева, Т. Ф. Коваленко и др. // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 7. – С. 27 – 29.
50. Чечулова, А. В. Прогностическая значимость наследственных и приобретенных факторов риска венозного тромбоэмболизма у пациентов молодого возраста : автореф. дис. ...кан. мед. наук : 14.01.21, 14.01.26 / Чечулова Анна Васильевна. – СПб., 2016. – 22 с.
51. Шевченко, О. П. Гомоцистеин / О. П. Шевченко, Г. А. Олефиренко, Н. В. Червякова. – М., 2002. – 48 с.

52. A case series of 72 neonates with renal vein thrombosis. Data from the 1-800-NO-CLOTS Registry / S. Kuhle, P. Massicotte, A. Chan et al. // *Thromb Haemost.* – 2004. – Vol. 92, № 4. – P. 729 – 733.
53. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity / I. Weisberg, P. Tran, B. Christensen et al. // *Mol Genet Metab.* – 1998. – Vol. 64. – № 3. – P. 169 – 172.
54. A1298C methylenetetrahydrofolate reductase mutation and coronary artery disease: relationships with C677T polymorphism and homocysteine/folate metabolism / S. Friso, D. Girelli, E. Trabetti et al. // *Clin. Exp. Med.* – 2002. – Vol. 2. - P.7 – 12.
55. Angiographic anatomy of hearts with one ventricular chamber: the true single ventricle // W. R. Thies, B. Soto, E. Diethelm et al. // *Am J Cardiol.* – 1985. – Vol. 55. – P.1363 – 1366.
56. Antithrombotic Therapy in Children: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy / P. Monagle, A. Chan, P. Massicotte et al. // *CHEST.* – 2004. – Vol. 126. – P. 645S – 687S.
57. Association of impaired linear growth and worse neurodevelopmental outcome in infants with single ventricle physiology: a report from the Pediatric Heart Network Infant Single Ventricle Trial / C. Ravishankar, V. Zak, I. A. Williams et al. // *J Pediatr.* – 2013. – Vol. 162, № 2. – P. 250 – 256.
58. Association of the GPIa C807T and GPIIIa PLA1/A2 polymorphisms with premature myocardial infarction in men / G. Benze, J. Heinrich, H. Schulte et al. // *Eur Heart J.* – 2002. – Vol. 23, № 4. – P. 325 – 330.
59. Association of the platelet GPIIb/IIIa polymorphism with atherosclerotic plaque morphology: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study / A. M. Kucharska, K. L. Newton Monda, S. Campbell et al. // *Atherosclerosis.* – 2011. – Vol.126, № 1. – P. 151 – 156.
60. Associations of the beta-fibrinogen Hae III and factor XIII Val34Leu gene variants with venous thrombosis / M. Cushman, A. Cornell, A. R. Folsom et al. // *Thromb Res.* – 2007. – Vol. 121, №3. – P. 339 - 345.

61. Balta, G. PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs / G. Balta, C. Altay, A. Gurgey // *Am J Hematol.* – 2002. – Vol. 71, № 2. – P. 89 – 93.
62. Beta-fibrinogen gene promoter A-455 allele associated with poor long term survival among 55–71 years old Caucasian women in Finnish stroke cohort / M. Martiskainen, N. Oksala, T. Pohjasvaara et al // *BMC Neurology* 2014, 14:137.
Режим доступа:
https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/164210/art_3A10.1186_2F1471_2377_14_137.pdf?sequence=1 (дата обращения: 14.04.2017).
63. Bojesen, S. E. Integrin $\beta 3$ Leu33Pro Homozygosity and Risk of Cancer / S. E. Bojesen, A. Tybjaerg-Hansen, B. G. Nordestgaard // *J Natl Cancer Inst.* – 2003. – Vol. 95, № 15. – P. 1150 – 1157.
64. Brown, D. W. Imaging complex congenital heart disease-functional single ventricle, the Glenn circulation and the Fontan circulation: A multimodality approach / D. W. Brown, A. J. Powell, Tal Geva // *Progress in Pediatric Cardiology.* – 2010. – Vol.28. – P. 45 – 58.
65. Candidate gene polymorphisms do not differ between newborns with stroke and normal controls / S. P. Miller Y. W. Wu, J. Lee et al. // *Stroke.* – 2006. – Vol.37, № 11. – P. 2678 – 2683.
66. Changes in pulmonary artery size before and after total cavopulmonary connection / G. Buheitel, M. Hofbeck, U. Tenbrink et al. // *Heart.* – 1997. – Vol. 78, № 5. – P. 488 – 492.
67. Clinical significance of thrombosis in an intracardiac blind pouch after a Fontan operation / S. Y. Lee, J. S. Baek, G. B. Kim et al. // *Pediatr Cardiol.* – 2012. – Vol. 33, № 1. – P.42 – 48.
68. Coagulation factor abnormalities in patients with single-ventricle physiology immediately prior to the fontan procedure / K. C. Odegard, F. X. Jr McGowan, D. Zurakowski et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2002. – Vol. 73. – P. 1770 – 1777.

69. Coagulation profile and liver function in 102 patients after total cavopulmonary / V. Chaloupecky, I. Svobodova, I. Hadacova et al. // Heart.– 2005. –Vol. 91, № 1. – P. 73 – 81.
70. Comprehensive Surgical Management of Congenital Heart Disease / R. A. Jonas, J. DiNardo, P. C. Laussen et al. – 2004. – 222p.
71. Congenital prothrombotic disorders in children with peripheral venous and arterial thromboses / M. Albisetti, A. Moeller, K. Waldevodel et al. // Acta Haematol. - 2007. – Vol. 117, № 3. – P. 149 – 155.
72. Congenital talipes equinovarus: an epidemiological study in Sicily / V. Pavone, S. Bianca, G. Grosso et al. // Acta Orthop. – 2012. – Vol. 83, № 3. – P.294 – 298.
73. Contemporary Fontan Operation: association between early outcome and type of cavopulmonary connection / R. D. Stewart, S. K. Pasquali, J. P. Jacobs et al. // Ann Thorac Surg. – 2012. – Vol. 93, № 4. – P. 1254 – 1261.
74. Could we still improve early and interim outcome after prosthetic systemic-pulmonary shunt? A risk factors analysis / S. Mohammadi, O. Benhameid, A. Campbell et al. // Eur J Cardiothorac Surg. – 2008. – Vol.34, № 3. – P.545 – 549.
75. Couturaud, F. Predictors of thrombosis in relatives of patients with venous thromboembolism / F. Couturaud, C. Kearon // Curr Opin Pulm Med. – 2010. – Vol.16, № 5. – P.453 – 458.
76. Dahlback, B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders / B. Dahlback // Blood. – 2008. – Vol. 112, №1. – P. 19 - 27.
77. De Leval, M.R. Four decades of Fontan palliation / M. R de Leval, J. E. Deanfield // Nature Reviews Cardiology. – 2010. – Vol. 7, №9. – P. 520 – 752.
78. Early developmental outcome in children with hypoplastic left heart syndrome and related anomalies: the single ventricle reconstruction trial / J. W. Newburger, L. A. Sleeper, D. C. Bellinger et al. // Circulation. – 2012. – Vol.125, № 17. – P. 2081 – 2091.
79. Effect of the PLA2 alloantigen on the function of β 3-integrins in platelets / J. S. Bennett, F. Catella-Lawson, A. R. Rut et al. // Blood. - 2001. – Vol. 97, № 10. – P. 3093 – 3099.

80. Elevated risk of thrombosis in neonates undergoing initial palliative cardiac surgery / J. M. Cholette, J. J. Gangemi, N. B. Lerner et al. // *Ann Thorac Surg.* - 2007. – Vol.84, № 4. – P.1320 – 1325.
81. Evaluation of a diagnostic algorithm for heart disease in neonates / R. C. Franklin, D. J. Spiegelhalter, F. J. Macartney et al. // *BMJ.* – 1991. – Vol. 302. – P. 935 – 939.
82. Evaluation of hemostatic and coagulation factor abnormalities in patients undergoing the Fontan operation / M. Jahangiri, J. Kreutzer, D. Zurakowski et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2000. – Vol.120, № 4. – P.778 – 782.
83. Extracardiac versus lateral tunnel cavopulmonary connections at a single institution: impact on outcomes / A. Azakie., B. W. McCrindle, G. V. Arsdell et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2000. – Vol.122. – P.1219 – 1228.
84. F VII 10976 G>A, rs6046 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=13:113118345-113119345;v=rs6046;vdb=variation;vf=5783 (дата обращения: 04.04.2017).
85. F XIII G>T, rs5985 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=6:6318062-6319062;v=rs5985;vdb=variation;vf=5722 (дата обращения: 04.04.2017).
86. Factor V Leiden and prothrombin 20210G.A [corrected] mutation and paediatric ischaemic stroke: a case-control study and two meta-analyses / R. Laugesaar, T. Kahre, A. Kolk et al. // *Acta Paediatr.* – 2010. – Vol. 99, № 8. – P. 1168 – 1174.
87. Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A mutation in children with cerebral thromboembolism / M. Bonduel, G. Sciuccati, M. Hepner et al. // *Am J Hematol.* – 2003. – Vol. 73, № 2. – P. 81 – 86.
88. Factor XIII Val34Leu polymorphism and recurrent myocardial infarction in patients with coronary artery disease / R. P. Kreutz, A. Bitar, J. Owans et al. // *J Thromb Thrombolysis.* – 2014. – Vol. 38, № 3. – P. 380 – 387.

89. Factor XIII, clot structure, thrombosis / Z. Bagoly, Z. Koncz, J. Harsfalvi, L. Muszbek // *Thromb Res.* – 2012. – Vol. 129, № 3. – P. 382 – 387.
90. Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism is associated with the risk of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies and high fibrinogen levels / G. Red, D. Tassies, G. Espinosa et al. // *Thromb Haemost.* – 2009. – Vol. 101, № 2. – P. 312 – 316.
91. FGB -455 G>A, rs1800790 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=4:154562056-154563056;v=rs1800790;vdb=variation;vf=1244839 (дата обращения: 04.04.2017).
92. FII 20210 G>A, rs1799963 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=11:46739005-46740005;v=rs1799963;vdb=variation;vf=1244089 (дата обращения: 04.04.2017).
93. First-stage palliation of complex univentricular cardiac anomalies in older infants / B. W. Duncan, G. L. Rosenthal, T. K. Jones, F. M. Lupinetti // *Ann Thorac Surg.* – 2001. – Vol. 72, № 6. – P. 2077 – 2080.
94. Fontan, F. Surgical repair of tricuspid atresia / F. Fontan, E. Baudet // *Thorax.* – 1971. – Vol. 26. – P. 240 – 248.
95. Frequency of factor II G20210A, factor V Leiden, MTHFR C677T and PAI-1 5G/4G polymorphism in patients with venous thromboembolism: Croatian case-control study / Z. Alfirovic, A. M. Simundic, N. Nikolac et al. // *Biochemia Medica.* – 2010. – Vol. 20, № 2. – P. 229 – 235.
96. Functional status, heart rate, and rhythm abnormalities in 521 Fontan patients 6-18 years of age / A. D. Blaufox, L. A. Sleeper, D. J. Bradley et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2008. – Vol. 136, № 1. – P. 100 – 107.
97. FV 1691 G>A, rs6025 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа:

- http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=1:16954931-1-169550311;v=rs6025;vdb=variation;vf=5762 (дата обращения: 04.04.2017).
98. FXIII-A Leu34 genetic variant in premature coronary artery disease: a genotype-phenotype case control study / J. Silvain, A. Pena, J. B. Vignalou et al. // *Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 106, № 3. – P. 511 – 520.
 99. Gando, S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome / S. Gando // *Crit. Care Med.* – 2010. – Vol. 38, № 2. – P. 35 – 42.
 100. Ganeshakrishnan, K. T. Are bilateral superior vena cavae a risk factor for single ventricle palliation? / K. T. Ganeshakrishnan // *Ann Thorac Surg.* – 2000. – Vol.70. – P.711 – 716.
 101. Gene-environment interaction in the determination of levels of plasma fibrinogen / S. E. Humphries, L. A. Luong, H. E. Montgomery et al. // *Thromb Haemost.* – 1999. – Vol. 82, № 2. – P. 818 – 825.
 102. Genome-wide association study for circulating levels of PAI-1 provides novel insights into its regulation / J. Huang, M. Sabater-Lleal, F. W. Asselbergs et al. // *Blood.* – 2012. – Vol. 120, №24. – P. 4873 – 4881.
 103. Geographical and ethnic variation of the 677C-T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide / B. Wilcken, F. Bamforth, Z. Li et al. // *J. Med. Genet.* 40: 619-625, 2003. Note: Erratum: *J. Med. Genet.* 41: 400 only, 2004. [PubMed: 12920077, related citations] Режим доступа: <http://www.omim.org/entry/607093?search=rs1801133&highlight=rs1801133#108> (дата обращения: 30.03.2017).
 104. Ghanayem, N. S. Medical management of the failing Fontan / N. S. Ghanayem, S. Berger, J. S. Tweddell // *Pediatr Cardiol.* – 2007. – Vol.28, № 6. – P.465 – 471.
 105. Glycoprotein Ia gene C807T polymorphism and risk for major adverse cardiac events within the first 30 days after coronary artery stenting / N. Von Beckerath, W. Koch, J. Mehilli et al. // *Blood.* – 2000. – Vol. 95, № 11. – P.3297 – 3301.

106. Gohil, R. The genetics of venous thromboembolism. A meta-analysis involving approximately 120,000 cases and 180,000 controls / R. Gohil, G. Peck, P. Sharma // *Thromb Haemost.* – 2009. – Vol. 102, № 2. – P.360 – 370.
107. Goodman, T. Pharmacogenetics of aspirin resistance: a comprehensive systematic review / T. Goodman, A. Ferro, P. Sharma // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2008. – Vol.66, №2. – P. 222 – 232.
108. Guay, J. Minimizing perioperative blood loss and transfusions in children / J. Guay, P. de Moerloose, D. Lasne // *Can. J. Anesth.* – 2006. – Vol. 53, № 6. – P. 59–67.
109. Gurgey, A. Outcome of non- catheter-related thrombosis in children: influence of underlying or coexisting factors / A. Gurgey, D. Ashan // *J Pediatr Haematol Oncol.* – 2001. – Vol. 23, № 3. – P.159 – 164.
110. Guzzetta, N. A. Principles of hemostasis in children: models and maturation / N. A. Guzzetta, B. E. Miller // *Pediatric Anesthesia.* – 2011. – Vol. 21. – P.3 – 9.
111. Hancock Friesen C. L. Surgical management of the single ventricle / C. L. Hancock Friesen // *Progress in Pediatric Cardiology.* – 2002. – Vol. 16. – P. 47 – 68.
112. Haplotype and genotype effects of the F7 gene on circulating factor VII, coagulation activation markers and incident coronary heart disease in UK men / G. Ken-Dror, F. Drenos, S. E. Humphries et al. // *J. thromb. haemost.* – 2010. – Vol. 8, №11. – P. 2394 – 2403.
113. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance) / F. R. Rosendaal, T. Koster, J. P. Vandenbroucke et al. // *Blood.* – 1995. – Vol. 85, № 6. – P. 1504 – 1508.
114. Impact of 3-mm Blalock-Taussig shunt in neonates and infants with a functionally single ventricle / N. Kajihara, T. Asou, Y. Takeda et al. // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* – 2009. – Vol. 8, № 2. – P.211 – 215.
115. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of

- observational studies / G. Kenet, L. K. Lutkhoff, M. Albisetti et al. // *Circulation*. – 2010. – Vol.121, № 16. – P.1838 – 1847.
116. Influence of combined methionine synthase (MTR 2756A>G) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR 677 C>T) polymorphisms to plasma homocysteine levels in Korean patients with ischemic stroke / O. J. Kim, S. P. Hong, J. Y. Ahn et al. // *Yonsei Med. J.* – 2007. – Vol. 48. – №2. – P.201 – 209.
 117. Inherited and acquired risk factors and their combined effects in pediatric stroke / S. Barreirinho, A. Ferro, M. Santos et al. // *Pediatric Neurology*. – 2003. – Vol. 28, № 2. – P.134 – 138.
 118. Inherited prothrombotic defects in Budd- Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a study from North India / M. Bhattacharyya, G. Makharia, M. Kannan et al. // *Am J Clin Pathol*. – 2004. – Vol. 121, № 6. – P. 844 – 847.
 119. Inherited thrombophilia is associated with deep vein thrombosis in a Colombian population / J. D. Torres, H. Cardona, L. Alvares et al. // *Am J Haematol*. – 2006. – Vol. 81, № 12. – P. 933 – 937.
 120. Interaction between hyperhomocysteinemia, mutated methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and inherited thrombophilic factors in recurrent venous thrombosis / M. B. Keijzer, M. den Heijer, H. J. Blom et al. // *Thromb Haemost*. – 2002. – Vol. 88. – № 5 – P.723 – 728.
 121. Interaction of fibrinolysis and prothrombotic risk factors in neonates, infants and children with and without thromboembolism and underlying cardiac disease: a prospective study / U. Nowak-Gottl, S. Kotthoff, E. Hagemeyer et al. // *Thromb Res*. – 2001. – Vol. 103, № 2. – P. 93 – 101.
 122. Interactions between the MTHFR C677T and MTHFR A1298C mutations in ischaemic stroke / Z. Szolnoki, F. Somogyvari, M. Szabo et al. // *Ideggyogy Sz.* – 2006. – Vol. 59, № 3-4. – P. 107 – 112.
 123. Interstage mortality after the Norwood procedure: Results of the multicenter single ventricle reconstruction trial / N. S. Ghanayem, K. R. Allen, S. Tabbutt et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg*. – 2012. – Vol.144, № 4. – P. 896 – 906.

124. Intrapartum antibiotic exposure and early neonatal morbidity and mortality in Africa / G. Kafulafula, A. Mwatha, Y. Q. Chen et al. // *Pediatrics*. – 2009. – Vol. 124. – № 1. – P.137 – 144.
125. ITGB3 1565 T>C, rs5918 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=17:47282864-47283864;v=rs5918;vdb=variation;vf=5655 (дата обращения: 04.04.2017).
126. ITGA2 807 C>T, rs1126643 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=5:53051039-53052039;v=rs1126643;vdb=variation;vf=805394 (дата обращения: 04.04.2017).
127. Jacobs, M. L. Thromboembolism and the role of anticoagulation in the Fontan patient / M. L. Jacobs, K. K. Pourmoghadam // *Pediatr Cardiol*. – 2007. – Vol.28. – № 6. – P. 457 – 464.
128. Kaulitz, R. Current treatment and prognosis in children with functionally univentricular hearts / R. Kaulitz, M. Hofbeck // *Arch Dis Child*. – 2005. – Vol.90. – № 7. – P.757 – 762.
129. Klaassen, I. L. Manifestations and clinical impact of pediatric inherited thrombophilia Irene / I. L. Klaassen, C. H. van Ommen, S. Middeldorp // *Blood*. – 2015. – Vol. 125, № 7. – P.1073 – 1077.
130. Konstantinov, I. E. Thrombosis of intracardiac or extracardiac conduits after modified Fontan operation in patients with azygous continuation of the inferior vena cava / I. E. Konstantinov, J. P. Francisco, V. V. Alexi-Meskishvili // *Ann Thorac Surg*. – 2001. – Vol.72. – P.1641 – 1644.
131. Kujovich, J. L. Factor V Leiden thrombophilia / J. L. Kujovich // *Genet Med*. – 2011. – Vol.13, № 1. – P. 1 – 16.
132. Lancellotti, S. Congenital prothrombin deficiency / S. Lancellotti, R. De Cristofaro // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2009. – Vol.35, № 4. – P. 367 – 381.

133. Linking the congenital heart surgery databases of the society of thoracic surgeons and the congenital heart Surgeons' Society: Part 1—Rationale and Methodology / J. P. Jacobs, S. K. Pasquali, E. Austin et al. // *World J Pediatr Congenit Heart Surg.* – 2014. – Vol. 5, № 2. – P. 256 – 271.
134. Long-term anticoagulation therapy and thromboembolic complications after the Fontan procedure / Y. F. Cheung, G. W. Chay, C. S. Chiu, L. C. Cheng // *Int J Cardiol.* – 2005. – Vol. 102, № 3. –P. 509 – 513.
135. Long-term results of the lateral tunnel Fontan operation/ C. J. Stamm, I. Friehs, J. E. Mayer et al. // *Thorac Cardiovasc Surg.* – 2001. – Vol.121, № 1. – P.28 – 41.
136. Long-term survival, modes of death, and predictors of mortality in patients with Fontan surgery / P. Khairy, S. M. Fernandes, J. E. Mayer et al. // *Circulation.* – 2008. – Vol.117, № 1. – P. 85 – 92.
137. Marshall, J. L. Congenital Heart Surgery Nomenclature and Database Project: Single Ventricle / J. L. Marshall, J. E. Mayer // *Ann Thorac Surg.* – 2000. – Vol. 9. – P 197 – 204.
138. Mavroudis C. Pediatric cardiac surgery / C. Mavroudis, C. L. Backer. – 3rd Ed. Mosby. – 2003. – 875p.
139. McCrindle, B. W. Presentation, management and outcomes of thrombosis for children with cardiomyopathy / B. W. McCrindle, T. Karamlou, H. Wong // *Can J Cardiol.* – 2006. – Vol. 22, № 8. – P. 685 - 690.
140. Medina, M. F. Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions / M. F. Medina, J. I. Urdiales, M. I. Amores-Sanchez // *Eur J Biochem.* – 2001. – Vol. 268, № 14. – P. 3871 – 3882.
141. Miyamoto, T. Staged repair for aortic arch reconstruction and intracardiac repair following bilateral pulmonary artery banding in 3 critical patients / T. Miyamoto, Y. A. Inui, S. Ozaki // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* – 2013. – Vol.16, № 6. – P. 892 – 894.
142. Moat, S. J. Plasma total homocysteine: instigator or indicator of cardiovascular disease? / S. J. Moat // *Ann Clin Biochem.* – 2008. – Vol. 45, №4. – P. 345 – 348.

143. Modified Damus-Kaye-Stansel-Dor Procedure for a newborn with severe left ventricular aneurysm / D. M. Seo, H. S. Won, J. Kon, W.K. Jhang // Korean Circ J. – 2011. – Vol. 41, № 8. – P. 494 – 496.
144. Modified superior approach for repair of supracardiac and mixed total anomalous pulmonary venous drainage / A. Serraf, E. Belli, D. Roux et al. // Ann Thorac Surg. – 1998.- Vol.65. – P.1391 – 1393.
145. Molecular pathophysiology of thrombotic states and their impact to laboratory diagnostics / L. Slavik, V. Krcova, A. Hlusi et al. // Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. – 2009. – Vol. 153, № 1. – P. 19 – 25.
146. Monagle, P. Thromboembolic problems after the Fontan operation / P. Monagle, T. R. Karl // Semin Thorac Cardiovasc Surg Pediatr Card Surg Annu. – 2002. – Vol.5. – P.36 – 47.
147. Mortality risk prediction by application of pediatric risk of mortality scoring system in pediatric intensive care unit / A. Khajeh, N. M. Noori, M. Reisi et al. // Iran J Pediatr. – 2013. – Vol. 23, № 5. – P. 546 – 550.
148. Msp I Polymorphism of the Coagulation Factor VII Gene in Patients with Ischemic Cerebrovascular Disease in Han Population of Henan, China / Yu. Haidong, Q. Hua, L. Jianhua et al. // Life Science Journal. – 2006. – Vol.3, № 4. – P.54 – 56.
149. MTHFR C677T, rs 1801133 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=1:11795821-11796821;v=rs1801133;vdb=variation;vf=1245113 (дата обращения: 30.03.2017).
150. MTHFR A1298C, rs 1801131 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=1:11793919-11794919;v=rs1801131;vdb=variation;vf=1245111 (дата обращения: 30.03.2017).
151. MTR A2756G, rs1805087 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа:

- http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?db=core;r=5:7870360-7871360;v=rs1801394;vdb=variation;vf=1245306 (дата обращения: 30.03.2017).
152. MTRR A66G, rs 1801394 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=5:7870360-7871360;v=rs1801394;vdb=variation;vf=1245306 (дата обращения: 30.03.2017).
 153. Norwood, W. I. Fontan's procedure in two stages / W. I. Norwood, M. L. Jacobs // *Am J Surg.* - 1993. - Vol. 166. - P.548 - 551.
 154. Numis, A.L. Arterial ischemic stroke in children: risk factors and etiologies / A.L. Numis, C.K. Fox // *Curr. Neurol. Neurosci.* – 2014. – Vol. 14, № 1. – P. 422.
 155. Outcome of extremely low birth weight infants with congenital heart defects in the Eunice Kennedy Shriver NICHD Neonatal Research Network / A. Pappas, S. Shankaran, N. I. Hansen et al. // *Pediatr Cardiol.* – 2012. – Vol. 33, № 8. –P. 1415 – 1426.
 156. Outcomes of the bidirectional Glenn procedure in patients less than 3 months of age / O. Petrucci, P. R. Khoury, P. B. Manning et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2010. – Vol. 139, № 3. – P.562 – 568.
 157. PAI-1 4G/5G polymorphism and coronary artery disease risk: a meta-analysis / Z. Liang, W. Jiang, M. Ouyang et al. // *Int J Clin Exp Med.* – 2015. – Vol. 8, №2. – P. 2097 – 2107.
 158. PAI-1 -675 5G>4G, rs1799889 [Электронный ресурс]. – WTSI / EBI, Ensembl. – 2017. – Режим доступа: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:101125930-101126930;v=rs1799889;vdb=variation;vf=1244023 (дата обращения: 04.04.2017).
 159. Palliative surgical treatment of congenital heart defects associated with unilateral absence of the pulmonary artery / L. A. Bockeria, V. P. Podzolkov, O. A. Makhachev et al. // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* – 2013. – Vol. 16, № 3. – P. 286 – 292.

160. Pediatric venous thromboembolic disease in one single center: congenital prothrombotic disorders and the clinical outcome / C. H. van Ommen, H. Heijboer, E. J. van den Dool et al. // *J Thromb Haemost.* – 2003. – Vol. 1, № 12. – P. 2516 – 2522.
161. Perioperative management of infants undergoing fundoplication and gastrostomy after stage I palliation of hypoplastic left heart syndrome / S. Watkins, S. E. Morrow, B. S. McNew, B. S. Donahue // *Pediatr Cardiol.* – 2012. – Vol. 33. – № 5. – P. 697 – 704.
162. Perioperative methylprednisolone and outcome in neonates undergoing heart surgery / S. K. Pasquali, J. S. Li, X. He et al. // *Pediatrics.* – 2012. – Vol. 129, № 2. – P.385 – 391.
163. Petit, C. J. Staged single-ventricle palliation in 2011: outcomes and expectations / C. J. Petit // *Congenit Heart Dis.* – 2011. – Vol. 6. – P. 406 – 416.
164. PLA1A2 platelet polymorphism predicts mortality in prediabetic subjects of the population based KORA S4-Cohort / B. Stratmann, T. Xu, C. Meisinger et al. // *Cardiovascular Diabetology.* – 2014. – № 13. – P. 90.
165. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease / D. Girelli, C. Russo, P. Ferraresi et al. // *N Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 343, № 11. – P.774 – 780.
166. Prenatal diagnosis and risk factors for preoperative death in neonates with single right ventricle and systemic outflow obstruction: screening data from the pediatric heart network single ventricle reconstruction trial / A. M. Atz, T. G. Travison, I. A. Williams et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2010. – Vol. 140, № 6. – P. 1245 – 1250.
167. Prevalence of 1691G>A FV mutation in Poland compared with that in other Central, Eastern and South-Eastern European countries / G. Adler, J. S. Clark, B. Łoniewska et al.// *Bosn J Basic Med Sci.* – 2012. – Vol. 12, № 2. – P. 82 – 87.
168. Prevalence of genetic prothrombotic risk factors: 1691G>A FV, 20210 G>A PT and 677 C>T MTHFR mutations in the Bosnian population / G. Adler, G.

- Agnieszka, A. Valjevac, E. Czerska // *Annals of human biology*. – 2014. – Vol. 41, № 1. – P. 1 – 5.
169. Price, D. T. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical perspective / D. T. Price, P. M. Ridker // *Ann Int Med*. – 1997. – Vol. 127, № 10. – P. 895 – 903.
 170. Prothrombotic state and elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 in mitral stenosis with and without atrial fibrillation / F. Marin, V. Roldan, J. Monmeneu et al. // *Am J Cardiol*. – 1999. – Vol.84, № 7. – P.862 – 864.
 171. Quantification of risk factors for venous thromboembolism: a preliminary study for the development of a risk assessment tool / M. M. Samama, O. E. Dahl, D. J. Quinlan et al. // *Haematologica*. – 2003. – Vol. 88, № 12. – P. 1410 – 1421.
 172. Quinn, M. J. Common variations in platelet glycoproteins: pharmacogenomic implications / M. J. Quinn, E. J. Topol // *Pharmacogenomics*. – 2001. – Vol. 2, № 4. – P. 341 – 352.
 173. R353Q Polymorphism, Activated Factor VII, and Risk of Premature Myocardial Infarction in Japanese Men / M. Ogawa, S. Abe, S. Biro et al. // *Circulation*. – 2004. – Vol. 68, № 6. – P. 520 – 525.
 174. Reporting adverse events in a surgical trial for complex congenital heart disease: The Pediatric Heart Network experience / L. Virzi, V. Pemberton, R. G. Ohye et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg*. – 2011. – Vol.142, №3. – P.531 – 537.
 175. Risk factors for preoperative periventricular leukomalacia in term neonates with hypoplastic left heart syndrome are patient related / D. A. Goff, D. M. Shera, S. Tang et al. // *J Thorac Cardiovasc Surg*. – 2014. – Vol. 147, № 4. – P.1312 – 1318.
 176. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review / W. K. Ho, G. J. Hankey, D. J. Quinlan et al. // *Arch Int Med*. – 2006. – Vol.166, № 7. – P.729 – 736.
 177. Role of Thrombophilic Mutations in Childhood Cardiac and Great Vessel Thrombosis / B. Malbora, N. Özbek, Z. Avci et al. // *Journal of Pediatric Sciences*. – 2014. – № 6:e218. – P. 1 – 9.

178. Rosendaal, F. R. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant / F. R. Rosendaal, C. J. Doggen, A. Zivelin et al. // *Thromb Haemost.* – 1998. – Vol. 79, № 4. – P. 706 – 708.
179. Rosenthal, A. B. Cardiovascular status after repair by Fontan procedure/ A. B. Rosenthal // *Ann Thorac Surg.* – 1980. – Vol.29. – P.322 – 330.
180. SCAN: SNP and copy number annotation / E. R. Gamazon, W. Zhang, A. Konkashbaev et al.:// *Bioinformatics.* – 2010. – Vol. 26. – P.259 – 262.
181. Significance of factor V, prothrombin, MTHFR, and PAI-1 genotypes in childhood cerebral thrombosis / E. Ozyurek, G. Balta, A. Degerliyurt et al. // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2007. – Vol. 13, № 2. – P. 154 – 160.
182. Singh, P. Folate Gene Polymorphisms MTR A2756G, MTRR A66G, and BHMT G742A and Risk for Coronary Artery Disease: A Meta-Analysis / P. Singh, S. Lele // *Genet. Test. Mol. Biomarkers.* – 2012. – Vol.16, № 6. – P. 471 – 475.
183. Symptomatic upper-extremity deep venous thrombosis after pacemaker placement in a pediatric patient: how to treat? / D. S. Spar, J. B. Anderson, J. S. Palumbo et al. // *Pediatr Cardiol.* – 2013. – Vol. 34, № 5. – P. 1275 – 1279.
184. The 677T genotype of the common MTHFR thermolabile variant and fasting homocysteine in childhood venous thrombosis / H. G. Koch, P. Nabel, R. Junker et al. // *Eur J Pediatr.* – 1999. – Vol. 158, № 3. – P.113 – 116.
185. The Clinical Outcomes of Damus-Kaye-Stansel procedure according to surgical technique / C. K. Yang, W. S. Jang, E. S. Choi et al. // *Korean J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2014. – Vol. 47. – № 4. – P. 344–349.
186. The epidemiology of venous thromboembolism in Caucasians and African-Americans: the GATE Study / N. F. Dowling, H. Austin, A. Dilley et al. // *Thromb Haemost.* – 2003. – Vol. 1, №1. – P. 80 – 87.
187. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects crosslinked fibrin structure / R. A. Arins, H. Philippou, C. Nagaswami et al. // *Blood.* – 2000. – Vol. 96, №3. – P. 988 – 995.

188. The PAI-1 4G/5G gene polymorphism and ischemic stroke: an association study and meta-analysis / J. Attia, A. Thakkestian, Y. Wang et al. // *Stroke Cerebrovasc Dis.* – 2007. – Vol. 16, №14. – P. 173 – 179.
189. The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population / A. M. Cumming, S. Keeney, A. Salden et al. // *Br J Haematol.* – 1997. – Vol. 98, № 2. – P. 353 – 355.
190. The role of fibrinogen plasma levels, the -455G>A fibrinogen and the factor XIII A subunit (FXIII-A) Val34Leu polymorphism in cancer-associated venous thrombosis / V. Tiedje, D. Dunkler, C. Ay et al. // *Thromb Haemost.* – 2011. – Vol. 106, № 5. – P. 908 – 913.
191. The T allele of the 677C>T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with an increased risk of ischemic stroke in Polish children / I. Zak, B. Sarecka-Hujar, I. Kopyta et al. // *J. Child Neurol.* – 2009. – Vol. 24, №10. – P. 1262 – 1267.
192. Three hundred and thirty-three experiences with the bidirectional Glenn procedure in a single institute/ Y. Tanoue, H. Kado, N. Boku et al.// *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* – 2007. – Vol. 6. – P. 97 – 101.
193. Thromboembolic complications after Fontan procedures: comparison of different therapeutic approaches / R. G. Seipelt, A. Franke, J.F. Vazquez-Jimenez et al. // *Ann Thorac Surg.* – 2002. – Vol. 74, № 2. – P.556 – 562.
194. Thrombophilia: clinical and laboratory assessment and management / J. A. Heit, C. S. Kithens, C. M. Kessler, B. A. Konkle. // *Consultative Hemostasis and Thrombosis*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier. – 2013. – P. 205 – 239.
195. Thrombosis in children with cardiac pathology: analysis of acquired and inherited risk factors / B. Alioglu, Z. Avci, K. Tokel et al. // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2008. – Vol. 19, №4. – P. 294 – 304.
196. Thrombus formation after the Fontan operation / P. D. Coon, J. Rychik, R. T. Novello et al. // *Ann Thorac Surg.* - 2001. - Vol. 71, № 6. - P. 1990 – 1994.

197. Trimmer, E. E. Methylenetetrahydrofolate reductase: biochemical characterization and medical significance / E. E. Trimmer // *Curr Pharm Des.* – 2013. – Vol.19. – № 14. – P.2574 – 2593.
198. Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration / F. M. van't Hooft, S. J. von Bahr, A. Silveira et al. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 1999. - Vol. 19, № 12. - P. 3063 – 3070.
199. Univentricular repair: is routine fenestration justified? / B. Airan, R. Sharma, U. K. Chowdhury et al. // *Ann Thorac Surg* – 2000. – Vol.69. – P.1900 – 1906.
200. Utility of a clinical practice guideline in treatment of chylothorax in the postoperative congenital heart patient / J. Yeh, E. R. Brown, K. A. Kellogg et al. // *Ann Thorac Surg.* – 2013. – Vol.96, № 3. – P.930 – 936.
201. Variability of integrin alpha 2 beta 1 activity on human platelets / T. J. Kunicki, R. Orzechowski, D. Annis et al. // *Blood.* – 1993. – Vol. 82, № 9. – P. 2693 – 2703.
202. Varma, C. Prevalence of "silent" pulmonary emboli in adults after the Fontan operation / C. Varma, M. R. Warr, A. L. Hendler // *J Am Coll Cardiol.* – 2003. – Vol. 41, № 12. – P. 2252 – 2258.
203. Walker, H. A. Prophylactic anticoagulation following the Fontan operation / H. A. Walker, M. A. Gatzoulis // *Heart.* – 2005. – Vol. 91, № 7. – P. 854 – 856.
204. Yang, J. Y. Pediatric thrombophilia / J. Y. Yang, A. K. Chan // *Pediatr. Clin. N. Am.* – 2013. – Vol. 60, №6. – P. 1443 – 62.
205. Yuan S. M. The Blalock-Taussig shunt / S. M. Yuan, A. Shinfeld, E. Raanani // *J Card Surg.* – 2009. – Vol.24, № 2. – P.101 – 108.