

Abstract

Potapov O.O., Kmyta O.P.

*Sumy State University,
2 Rymaskogo-Korsakova St.,
Sumy, 40007, Ukraine*

**SECONDARY THROMBOHEMORRHAGIC COMPLICATIONS
IN PATIENTS WITH SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY
DEPENDING ON THE -675 4G/5G POLYMORPHISM IN THE
PAI-1 GENE**

Secondary changes in the brain that occur during the early posttraumatic period remain a major cause of death in patients with severe traumatic brain injury. The purpose of our study was to analyze brain changes over time in patients with severe traumatic brain injury by means of studying the association between the results of computed tomography examinations and the -675 4G/5G polymorphism in the PAI-1 gene with the prediction of the secondary thrombohemorrhagic complications.

119 patients with severe traumatic brain injury have been examined. Computed tomography changes of brain tissues in patients with severe traumatic brain injury have been investigated. Determination of the -675 4G/5G polymorphism in the PAI-1 gene performed. Statistically results processing have been done with using of programs SPSS-17.

We have found an association between posttraumatic computed tomography changes of brain tissues in patients with severe traumatic brain injury and the genotypes for the -675 4G/5G polymorphism in the PAI-1 gene, namely more pronounced and accelerated involution of lesions in patients with 5G/5G genotype; more rapid recovery in patients with 4G/4G genotype; confirmed predisposition to developing secondary complications, pathological lesions evolution in the brain, and secondary ischemic complications in patients with 4G/5G genotype for the investigated polymorphism.

Obtained results proved the availability of connection between genotypes -675 4G/5G polymorphism in the PAI-1 gene, secondary complications, pathological lesions evolution in the brain, and secondary ischemic complications in patient with severe traumatic brain injury.

Key words: severe traumatic brain injury, computed tomography of the brain, prediction of the secondary thrombohemorrhagic complications, the -675 4G/5G polymorphism in the PAI-1 gene.

Corresponding author: * alex_kmyta@ukr.net

Резюме

Потапов О.О., Кмита О.П.

*Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, Суми, 40007,
Україна*

**ВТОРИННІ ТРОМБОГЕМОРАГІЧНІ УСКЛАДНЕННЯ У
ХВОРИХ ІЗ ТЯЖКОЮ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВОЮ ТРАВМОЮ
ЗАЛЕЖНО ВІД -675 4G/5G ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ІНГІБІТОРУ
АКТИВАТОРА ПЛАЗМІНОГЕНУ 1 ТИПУ**

Вторинні тромбогеморагічні ускладнення, що виникають у ранньому посттравматичному періоді, залишаються однією з основних причин загибелі хворих із тяжкою черепно-мозковою травмою. Метою нашого дослідження був аналіз виникнення та прогнозування розвитку вторинних тромбогеморагічних уражень

головного мозку в динаміці лікування у 119 хворих із тяжкою черепно-мозковою травмою шляхом вивчення зв'язку між результатами комп'ютерно-томографічних досліджень та -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1. Встановлено зв'язок посттравматичних комп'ютерно-томографічних змін головного мозку у хворих із генотипами за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1, а саме: підтверджена схильність до розвитку вторинних ішемічних ускладнень у хворих із 4G/5G генотипом за досліджуваним поліморфізмом, а також виявлено високий ризик розвитку тромбогеморагічних ускладнень у хворих, що мали в генотипі патологічний 4G алель.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, комп'ютерно-томографічне дослідження головного мозку, прогнозування розвитку вторинних тромбогеморагічних ускладнень, -675 4G/5G поліморфізм гена PAI-1.

Резюме

Потапов А.А., Кмыта А.П.
Сумський державний університет,
ул. Римського-Корсакова, 2,
Сумы, 40007, Україна

ВТОРИЧНЫЕ ТРОМБОГЕМОРАГИЧЕСКИЕ ОСЛОЖНЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ -675 4G/5G ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PAI-1

Вторичные тромбогеморагические осложнения, возникающие в раннем посттравматическом периоде, остаются одной из основных причин гибели больных с тяжелой черепно-мозговой травмой. Цель нашего исследования – анализ возникновения и прогнозирование развития вторичных тромбогеморагических поражений головного мозга в динамике лечения у 119 больных с тяжелой черепно-мозговой травмой путем изучения связи результатов компьютерно-томографических исследований с -675 4G/5G полиморфизмом гена PAI-1. Установлена связь посттравматических компьютерно-томографических изменений головного мозга у больных с генотипами по -675 4G/5G полиморфизму гена PAI-1, а именно: подтверждена предрасположенность к развитию вторичных ишемических осложнений у больных с 4G/5G генотипом по исследуемому полиморфизму, а также установлен высокий риск развития тромбогеморагических осложнений у больных, которые имели в генотипе патологический 4G алель.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, компьютерно-томографическое исследование головного мозга, прогнозирование развития вторичных тромбогеморагических осложнений, -675 4G/5G полиморфизм гена PAI-1.

Автор, відповідальний за листування: *alex_kmyta@ukr.net

Вступ. Актуальність дослідження перебігу черепно-мозкової травма (ЧМТ) обумовлена тим, що за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, щорічно в світі ЧМТ отримують біля 10 млн. осіб, з яких 1,5 млн. гинуть. В Україні частота ЧМТ щорічно становить у середньому 4-4,2 випадки на 1000 населення. Щорічно в Україні від ЧМТ помирає 10-11 тис. громадян, тобто смертність становить 2,4

випадки на 10 тис. населення [1; 2; 3].

Встановлення клінічних і комп'ютерно-томографічних (КТ) особливостей ЧМТ та окремих її нозологічних форм має важливе значення для обрання оптимальної лікувальної тактики та визначення критеріїв перебігу травми, можливого прогнозу [4].

Вторинні порушення в системі гемостазу, особливо в гострому періоді перебігу тяжкої

ЧМТ, асоціюються з високим рівнем летальності, а відповідно залишаються проблемою, яка потребує більш глибокого дослідження та вивчення із розробкою індивідуальних алгоритмів ведення пацієнта, які спрямовані на контроль і нормалізацію показників гемостазу [5; 6].

Треба відмітити, що у сучасних публікаціях недостатньо уваги приділено зв'язку порушень фібринолітичної системи з вторинними тромбогеморагічними ушкодженнями ГМ у хворих із ЧМТ.

На сьогодні доведено вплив на систему гемостазу генетичних мутацій, що обумовлюють дисфункцію факторів гемостазу, антикоагуляції і фібринолізу [6; 7; 8].

Відомо, що вміст інгібітора активатора плазміногену 1 типу (PAI-1), як основного регулятора фібринолітичної системи крові [8; 9], залежить від поліморфізму гена PAI-1. Найбільш вивченим є -675 4G/5G поліморфізм гену PAI-1 [5; 7; 8].

Поліморфний варіант 4G зачіпає промоторну ділянку і супроводжується підвищеною експресією гена і підвищенням рівня PAI-1 в крові [10]. У результаті знижується активність тромболітичної системи.

На відміну від попередніх висновків, ряд досліджень зв'язку -675 4G/5G поліморфізму гена PAI-1 із ризиком виникнення цереброваскулярних порушень вказали на захисну роль алелю 4G незважаючи на рівні активації PAI-1 [10].

Таким чином, на нашу думку, роль -675 4G/5G поліморфізму гена PAI-1 у хворих із тяжкою ЧМТ вивчена недостатньо, а результати досліджень часто різняться.

Мета нашого дослідження – аналіз виникнення та прогнозування розвитку вторинних тромбогеморагічних ушкоджень головного мозку в динаміці лікування у 119 хворих із тяжкою ЧМТ шляхом вивчення зв'язку між результатами комп'ютерно-томографічних досліджень та -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1.

Матеріали і методи. Дослідження ґрунтується на вивченні 119 спостережень хворих із тяжкою ЧМТ (ТЧМТ): забій ГМ тяжкого ступеня та стиснення ГМ. Пацієнти перебували на лікуванні в нейрохірургічному відділенні комунального закладу Сумської обласної ради «Сумська обласна клінічна лікарня» в 2010-2014 роках. Серед хворих чоловіків було 92 (77,3%), жінок – 27 (22,7%). Більшість хворих (90 спостережень – 75,6%) були в молодому і зрілому віці (21-44 роки), 29 (24,4%) пацієнтів – у се-

редньому віці (45-59 років).

24 (12%) хворих – були прооперовані протягом першої доби перебування в стаціонарі, повторних хірургічних втручань не було. Троє з прооперованих пацієнтів померли в ранньому післяопераційному періоді. Всього померло 17 хворих (14,3%). У 102 (85,7%) хворих відзначили поліпшення загального стану.

Венозну кров у хворих набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвої сіллю етилендіамінтетрацтової кислоти (11,7 ммоль) як антикоагулянту («Sarstedt», Німеччина). ДНК виділяли з лейкоцитів цільної крові з використанням наборів DIAtom DNA Prep 100 («Isogene», Росія). Визначення алельного поліморфізму -675 4G/5G гена PAI-1 (rs1799768) проводили методом полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів.

КТ дослідження проводилось на початку лікування – протягом перших 3-х діб після отримання ЧМТ і госпіталізації (I дослідження), протягом другого тижня перебування в клініці (II дослідження) та після 14-ї доби до моменту виписки (III дослідження).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми SPSS-17.

Результати. При вивченні розподілу алельних варіантів гена PAI-1 за досліджуваним поліморфізмом у хворих із ТЧМТ були отримані наступні результати: 29 (24,4%) пацієнтів мали генотип 4G/4G, 55 (46,2%) – 4G/5G, 35 (29,4%) – 5G/5G.

Відповідно до завдань нашої науково-дослідницької роботи нами було проаналізовано КТ зміни у пацієнтів із ТЧМТ і досліджено наявність зв'язку генотипів за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1 із розвитком вторинних тромбогеморагічних ускладнень у хворих із ЧМТ у динаміці лікування.

Результати аналізу КТ досліджень хворих із ТЧМТ у динаміці лікування не виявили вторинних геморагічних ускладнень, а розвиток вторинних ішемічних ускладнень спостерігали у 37 хворих. Найчастіше прояви ішемічного ураження спостерігали у пацієнтів із генотипом 4G/5G – 24 (64,9% від усіх хворих із ішемією) – за поліморфізмом, що досліджувався, порівняно з 8 – із 4G/4G (21,6%) і 5 – із 5G/5G (13,5%) генотипами, розподіл останніх статистично значимо відрізнявся ($p = 0,012$) в досліджуваних групах (табл. 1).

Таблиця 1.

Розподіл різних генотипів за -675 4G/5G поліморфізмом гена інгібітора активатора плазміногену 1 типу у хворих із тяжкою черепно-мозковою травмою залежно від результатів комп'ютерно-томографічного дослідження

генотип	КТ ознаки вторинної ішемії			
	так		ні	
	n	%	n	%
4G/4G	8	6,7	21	17,6
4G/5G	24	20,2	31	26,1
5G/5G	5	4,2	30	25,2

$\chi^2 = 8,82; p = 0,012$

Примітка: 1) χ^2 і p визначені за критерієм Пірсона

Таким чином, було встановлено зв'язок розвитку вторинних ішемічних уражень головного мозку, за даними комп'ютерно-томографічного дослідження, у хворих із тяжкою ЧМТ і 4G/5G генотипом за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1, що відповідало більшій кількості хворих із даним генотипом та ішемією тканин головного мозку порівняно із меншою кількістю хворих із 4G/4G і 5G/5G генотипами.

Враховуючи зв'язок наявності ожиріння із підвищенням рівнів PAI-1 плазми крові нами також було досліджено зв'язок індексу маси тіла (ІМТ), вторинних ішемічних змін ГМ, за даними КТ у хворих із ТЧМТ, із генотипами за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1. Результати дослідження наведені в табл. 2.

Таким чином відповідно до результатів дослідження можна зробити висновок, що не було виявлено зв'язку генотипів за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1, масою тіла у пацієнтів із ТЧМТ і виникненням вторинних тромбоеморагічних ускладнень.

Важливо підкреслити зв'язок підвищених рівнів PAI-1 плазми крові у 37 хворих із ТЧМТ і вторинними ішемічними ускладненнями із генотипами 4G/4G ($\chi^2 = 15,859; p = 0,0001$) і 4G/5G ($\chi^2 = 7,104; p = 0,008$) за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1.

Також нами було проведено дослідження ризику розвитку вторинних тромбоеморагічних ускладнень у хворих із тяжкою ЧМТ залежно від генотипу за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1.

Ми використовували генотип 5G/5G як референтний і встановили, що наявність гетерози-

готного типу 4G/5G гена PAI-1 у хворих незалежно від статі статистично вірогідно збільшує ризик розвитку вторинних тромбоеморагічних ускладнень у пацієнтів із ТЧМТ у більше ніж 4 рази (ВШ = 4,645, ДІ – 95% (1,567 – 13,767), $p < 0,05$), а наявність 4G алелю – більше ніж у 3 рази (ВШ = 3,692, ДІ – 95% (1,299 – 10,49), $p < 0,05$).

Результати нашого дослідження наведено у табл. 3.

Таким чином, нами було встановлено, що у хворих із тяжкою ЧМТ гетерозигот 4G/5G ризик розвитку тромбоеморагічних ускладнень майже у 5 разів вищий, ніж у гомозигот за алелем 5G. Наявність же в генотипі патологічного 4G алелю підвищує ризик виникнення досліджуваних ускладнень більше ніж у 3 рази.

Обговорення. Встановлення клінічних і комп'ютерно-томографічних особливостей ЧМТ має важливе значення для обрання оптимальної лікувальної тактики, визначення критеріїв перебігу та корекції лікування і можливого прогнозу [11, 12]. Метою нашого дослідження був аналіз виникнення та прогнозування розвитку вторинних тромбоеморагічних ушкоджень головного мозку в динаміці лікування хворих із тяжкою ЧМТ шляхом вивчення зв'язку між результатами комп'ютерно-томографічних досліджень та -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1.

Дослідження Per-Gunnar Wiklund (2005) виявило зв'язок підвищеного рівня PAI-1 плазми крові зі збільшенням ризику тромбозів [10], а

van Goor M.L.(2005), Eriksson P. (1995) та Айсіна Р.Б. (2011) у своїх роботах встановили зв'язок -675 4G/5G поліморфізма гена PAI-1 з тромбогеморагічними ускладненнями, що також було співзвучно з результатами нашого дослідження [7].

Отримані результати показують, що існує зв'язок між розвитком вторинних ішемічних ушкоджень головного мозку, за даними комп'ютерно-томографічного дослідження, у хворих із тяжкою ЧМТ і 4G/5G генотипом за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1. Отримані нами результати показали, що у хворих із тяжкою ЧМТ і генотипом 4G/5G ризик розвитку тромбогеморагічних ускладнень майже у 5 разів вищий, ніж у гомозигот за алелем 5G, наявність же в генотипі патологічного 4G алелю підвищує ризик виникнення досліджуваних ускладнень більше ніж у 3 рази, що узгоджується з даними, отриманими в дослідженнях популяцій США і Європи [9, 10].

Висновки:

1. Вивчено розподіл алельних варіантів за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1 у 119 хворих із тяжкою ЧМТ: 29 (24,4%) пацієнтів мали генотип 4G/4G, 55 (46,2%) – 4G/5G, 35 (29,4%) – 5G/5G.
2. Встановлено зв'язок розвитку вторинних ішемічних ушкоджень головного мозку, за даними комп'ютерно-томографічного дослідження, у хворих із тяжкою ЧМТ і 4G/5G генотипом за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1.
3. Не виявлено зв'язку генотипів за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1 із масою тіла у пацієнтів із ТЧМТ і виникненням вторинних тромбогеморагічних ускладнень.
4. Доведено зв'язок підвищених рівнів PAI-1 плазми крові у 37 хворих із ТЧМТ із вторинними ішемічними ускладненнями із генотипами 4G/4G і 4G/5G за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1.
5. Встановлено, що у хворих із тяжкою ЧМТ і генотипом 4G/5G ризик розвитку тромбогеморагічних ускладнень майже у 5 разів вищий, ніж у гомозигот за алелем 5G. Наявність же в генотипі патологічного 4G алелю підвищує ризик виникнення досліджуваних ускладнень більше ніж у 3 рази.

Перспективи подальшого дослідження.

Планується розробка алгоритмів лікування хворих із тяжкою ЧМТ залежно від генотипів за -675 4G/5G поліморфізмом гена PAI-1.

References (список літератури)

1. Bruns J. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia*. 2003;44 (1): 2–10.
2. Huk AP. [TBI epidemiology in Ukraine]. *Epidemiologia cherepno-mozkovoї travmy v Ukraini* [Materials of the V Congress of Ukrainian Neurosurgeons]. Uzhorod, 2013, p. 38. (In Ukrainian).
3. Lekhan VM, Huk AP. [Features of epidemiology of TBI in Ukraine]. *Ukrayina. Zdorovia natsii*. 2010;2:7–14.
4. Maas AI, Hukkelhoven CW, Marshall LF. Prediction of outcome in traumatic brain injury with computed tomographic characteristics: a comparison between the computed tomographic classification and computed tomographic predictors. *Neurosurgery*. 2005;57:1173–1182.
5. Huq MA, Takeyama N, Harada M. 4G/5G Polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with multiple organ dysfunction in critically ill patients. *Acta Haematol*. 2012;127(2):72–80.
6. Genét GF, Johansson PI, Meyer MA. Trauma-induced coagulopathy: standard coagulation tests, biomarkers of coagulopathy, and endothelial damage in patients with traumatic brain injury. *J. Neurotrauma*. 2013;30(4):301–306.
7. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb. Res*. 2008;122(6):736–742.
8. Asselbergs FW, Williams SM, Hebert PR. The gender-specific role of polymorphisms from the fibrinolytic, renin-angiotensin, and bradykinin systems in determining plasma t-PA and PAI-1 levels. *Thromb. Haemost*. 2006;96:471–477.
9. Dellas C, Loskutoff DJ. Historical analysis of PAI-1 from its discovery to its potential role in cell motility and disease. *Thromb. Haemost*. 2005;93(4):631–640.
10. Wiklund PG, Nilsson L, Ardnor SN. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of stroke: replicated findings in two nested case-control studies based on independent cohorts. *Stroke*. 2005;36(8):1661–1665.
11. Sirko AH. [Clinical and CT features of severe TBI]. *Patologia*. 2011;8(3):85–89.



12. Trufanov HE, Ramishvili TE. *Luchevaia di-ahnostika travm holovy i pozvonochnika: rukovodstvo dlia vrachei* [X-ray diagnostics of head and spinal cord injuries: manual for physicians]. SPb.: ELBI-SPb Publ., 2007. 196 p.

(received 22.09.2014, published online 23.12.2014)

(получено 22.09.2014, опубликовано 23.12.2014)

