

УДК 616.053

М.В. КРАСНОВ, Г.П. ПАВЛОВА, Н.С. СМЕТАНИНА, В.М. КРАСНОВ

**ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ЭТНО-ТЕРРИТОРИАЛЬНЫЕ,
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
СЕМЕЙНОГО НАСЛЕДСТВЕННОГО ЭРИТРОЦИТОЗА
У ДЕТЕЙ ЧУВАШСКОЙ РЕСПУБЛИКИ***

Ключевые слова: наследственные болезни, эритроцитоз наследственный, эпидемиология, мутация, этно-территориальные особенности.

Представлены данные эпидемиологии, этно-территориальных, генетических, клинико-гематологических особенностей семейного наследственного эритроцитоза у детей Чувашской Республики, а также данные апробации эналаприла и циннаразина. Проведены комплексное обследование и лечение 39 детей. Выявлено сцепление локуса аутосомно-рецессивного эритроцитоза с хромосомой 11q23. Показана зависимая сегрегация хромосомного локуса 3p25, несущего ген VHL, и локуса 11q23 в семьях со случаями заболевания. Определен возраст мутации гена у чувашей, установлена популяционная частота носительства мутации среди чувашей.

**M.V. KRASNOV, G.P. PAVLOVA, N.S. SMETANINA, V.M. KRASNOV
EPIDEMIOLOGY, ETHNO-TERRITORIAL, GENETIC FEATURES
OF FAMILY HEREDITARY ERYTHROCYTOSIS O
F THE CHILDREN OF THE CHUVASH REPUBLIC**

Key words: hereditary diseases, hereditary erythrocytosis, epidemiology, mutation, ethno-territorial features.

There are the data of epidemiology, ethno-territorial, genetic, clinical-haematological features of family hereditary erythrocytosis of the Chuvash Republic children, as well as the data of approbation of enalapril and that of cinnarazine. Totally, 39 children have been examined and treated. Cohesion of the locus of the autosomic-recessive erythrocytosis with the 11q23 chromosome was shown. Dependent segregation of 3p25 chromosome locuses, bearing VHL gene and 11q23 was shown in the families with the cases of the disease. The age of mutation among the Chuvashes was determined, the population frequency of mutation carrier among the Chuvashes was settled.

Эритроцитозы характеризуются увеличенным количеством эритроцитов в единице объема крови. В литературе описано несколько клинически отличающихся форм эритроцитоза. Выделяют наследственные и приобретенные; абсолютные и относительные; первичные и вторичные эритроцитозы. При относительных эритроцитозах уменьшен объем циркулирующей плазмы [6, 7].

При первичных абсолютных эритроцитозах отмечается увеличение абсолютного количества эритроцитов, что может быть связано с дефектом эритроидных клеток-предшественниц или мутацией в гене рецептора эритропоэтина [1-4, 6, 10]. При вторичных эритроцитозах отмечается увеличение циркулирующего сывороточного фактора эритропоэтина. Вторичные эритроцитозы – это ненаследственные эритроцитозы, о них следует знать в дифференциально-диагностическом плане [4-6, 10, 11].

Наследственные эритроцитозы – это гетерогенная группа врожденных состояний, связанных с нарушением объема эритроцитарной массы (увеличением) крови. Семейный наследственный эритроцитоз (СНЭ) относится к редкой группе наследственных заболеваний. Он регистрируется с различной частотой в различных странах (Финляндия, США, Россия). Наследственные эритроцитозы представляют собой различную по патогенезу группу [1, 6, 9-11, 13, 15-17].

* Исследование выполнено по госконтракту № П1292 ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

Впервые эритроцитоз описан у членов одной семьи в 1908 г. S. Nichman [12]. В последующем заболевание было обнаружено у детей и взрослых в отдельных семьях у лиц разной национальности и в разных странах. Оно выявляется преимущественно в детском и юношеском возрасте. В мировой литературе описано небольшое число случаев этого заболевания [12, 18, 20]. Выделяют эритроцитоз с аутосомно-доминантным и аутосомно-рецессивным типом передачи [5]. Наиболее часто регистрируется семейный наследственный эритроцитоз (СНЭ) с аутосомно-доминантным типом передачи [20].

Другим вариантом эритроцитоза с аутосомно-доминантным типом передачи является эритроцитоз, развивающийся в результате нарушенного метаболизма 2,3-дифосфоглицерата из-за наследственного дефицита бифосфоглицеромутазы [2-4, 19].

Наиболее полно описана аутосомно-доминантная первичная семейно-врожденная полицитемия, которая регистрировалась в одной семье в Финляндии в пяти поколениях. У всех больных в финской семье была выявлена точечная замена G на A в нуклеотиде 6002 в одном аллеле гена EPOR [19].

Другая форма семейного наследственного эритроцитоза – это с аутосомно-рецессивным типом передачи. В мировой литературе описано небольшое число случаев этого заболевания [3, 4, 8, 9, 13, 17, 21-23, 25].

В экспедиционных исследованиях, проведенных Л.И. Поляковой в 1974 г., в последующем Г.П. Павловой, М.В. Красновым, В.М. Красновым и др. в северо-восточных районах Чувашии, были обнаружены случаи эритроцитоза, носившие семейный характер [8, 11, 13, 15-17]. Эритроцитоз в чувашских семьях является эндемической формой семейно-наследственных эритроцитозов. Мутация, приводящая к развитию эритроцитоза у чувашей, выявлена в гене VHL, который является геном-супрессором опухолевого роста. Клиника этих случаев не совпадала ни с одной из известных нозологических форм, для которых были известны мутации в генах, приводящие к заболеванию. Выявлена данная патология у чувашей, марийцев, мордвин. У лиц других национальностей такой формы не выявлено. У лиц чувашской национальности семейный наследственный эритроцитоз имеет свои особенности. Описана данная форма и среди детей в США, генетические корни которых имеют отношение к чувашской национальности (приезжие из Чувашии) [8, 10, 11, 15, 16, 18, 23, 25].

В связи с этим были предприняты клинические и генетические исследования.

Цель исследования – изучить эпидемиологию СНЭ, выявить этно-территориальные, клинико-гематологические, генетические особенности семейного наследственного эритроцитоза у детей Чувашии и лиц чувашской популяции, определить популяционную частоту мутации гена, разработать новые подходы к терапии СНЭ у детей с эритроцитозом, апробировать эналаприл, лозартан и их аналоги, препараты, улучшающие реологические свойства крови для лечения наследственного эритроцитоза.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находились дети с семейным наследственным эритроцитозом (39 больных).

Первичную выборку делали при экспедиционных обследованиях, далее приглашали больных, подозрительных на СНЭ, в поликлинику ГУЗ «РКДБ» МЗ СР ЧР и там проводили обследование. При уточнении диагноза госпитализировали детей и проводили полное клинико-лабораторное обследование с исследованием всех параметров красной крови, уровня лейкоцитов и тромбоцитов. Всем больным проводили стерильную пункцию и трепанобиопсию, определяли гематокрит, свертываемость, длительность кровотечения, вязкость крови на вискозиметре VK1, капилляроскопию – для уточнения гемодинамики.

При тщательном обследовании ни у одного больного мы не выявили врожденных пороков, легочных и почечных заболеваний. При анализе клиники заболевания мы учитывали наличие симптомов, обусловленных повышенной вязкостью крови: упорные головные боли, утомляемость, снижение концентрации внимания, усвоения, одышка, кардиалгия, боли в животе, носовые кровотечения, боли в ногах при физической нагрузке, нарушение зрения, парестезии и др.

Для выделения геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови использовали готовый набор реактивов *DIAtomTM DNA Prep100* (Isogene Lab.ltd., Россия) по протоколу производителя. Оценку сцепления локуса заболевания с полиморфными ДНК-маркерами проводили на основании статистического анализа сегрегации заболевания в семье с аллелями маркеров, используя метод максимального правдоподобия (Ott, 1991). Двухлокусный анализ сцепления осуществлялся с помощью программы *MLINK*, входящей в пакет программ «*LINKAGE*», версия 5.1. Для определения возраста мутации *Arg200Trp* в гене *VHL* использовался подход, основанный на понятии «генетических часов» (Labuda et al, 1997) и оценивающий количество поколений *g* с момента появления мутации в популяции до настоящего времени, исходя из изменения неравновесия по сцеплению полиморфных маркеров с локусом заболевания за этот период времени [3, 4].

Нами определены также популяционные частоты мутации *Arg200Trp* в гене *VHL*, приводящей к развитию аутосомно-рецессивного эритроцитоза среди чувашей (выполнена на образцах ДНК людей лабораторией генетической эпидемиологии ГУ МГНЦ РАМН).

Результаты исследования и их обсуждение. Нами при клинико-эпидемиологическом обследовании выявлено в Чувашской Республике 39 больных детей с семейным наследственным эритроцитозом. Все 39 детей находились под нашим наблюдением.

По результатам наших исследований частота встречаемости СНЭ составила 11,8 на 100 000 детского населения, у девочек заболевание регистрируется в 1,6 раза чаще. При анализе среднегодового показателя распространенности показатели были следующие: 1991 г. – 7,0; 1992 г. – 4,3; 1993 г. – 6,2; 1994 г. – 8,9; 1995 г. – 11,6; 1996 г. – 12,3; 1997 г. – 11,4; 1998 г. – 11,4; 1999 г. – 12,2; 2000 г. – 13,7; 2001 г. – 18,7; 2002 г. – 18,0; 2004 г. – 19,6; 2005 г. – 18,6 на 100 000 детского населения. Распространенность СНЭ среди чувашей составила 1:4450 человек. Из 39 больных детей 24 ребенка находились под постоянным контролем врачей гематологов ГУЗ «РКДБ» МЗ СР ЧР.

По степени тяжести выделялись следующие формы заболеваний: тяжелая – 20; среднетяжелая – 15; легкая – 4. У 24 из 39 детей заболевание выявлено в возрасте 7-9 лет. Это связано, возможно, с увеличением физических и

эмоциональных нагрузок детей, а также с их тщательным обследованием в школах. К тяжелой форме мы относили случаи заболевания детей в возрасте до 8 лет, при $RBC > 6,0 \times 10^{12}/л$, $Hb > 200$ г/л, $Ht > 55\%$, резко выраженном малиновом цианозе, наличии геморрагии, тромбозов. К среднетяжелой форме относили случаи заболевания детей в возрасте после 8 лет, выявленные при медосмотре, при наличии нерезко выраженного малинового цианоза, отсутствии геморрагии и тромбозов, $H < 55\%$, $Hb - 170-200$ г/л.

Детям регулярно проводили реабилитационную терапию, 15 детей получали лечение эпизодически. Больные регулярно лечатся в гематологическом отделении РДКБ МЗ СР ЧР. При лабораторном исследовании у 90% детей имели место симптомы сгущения крови, клинические признаки плеторы: интенсивный красный цианоз кожи по периферическому типу, у всех детей была артериальная гипотония, инъекция склер за счет кровенаполнения, снижение сократительной способности сердца, снижение зубцов на ЭКГ.

В картине крови эритроцитов было более $6,8 \pm 0,6$ ($6 \times 10^{12}/л - 9,5 \times 10^{12}/л$). Гематокрит составил 60-92%, вязкость крови по вискозиметру – от 6 до 26. Свертываемость крови – по типу гиперкоагуляции. У детей с тяжелой формой семейного наследственного эритроцитоза состояние гемостаза мы рассматривали как хронический ДВС-синдром. При изучении коагуляционной системы нами выявлены высокий тромбопластический потенциал, повышение адгезивно-агрегационной способности тромбоцитов, депрессия фибринолитической активности крови, наличие фибриногена Б. На фоне проведенного лечения отмечена нормализация клинико-лабораторных данных.

Определен возраст этой мутации у чувашей. Установлена популяционная частота носительства мутации среди чувашей.

Показано сцепление локуса аутосомно-рецессивного эритроцитоза с хромосомой 11q23. Показана зависимая сегрегация хромосомного локуса 3p25, несущего ген *VHL*, и локуса 11q23 в семьях со случаями заболевания. В районе 11q23 вероятны наличие модифицирующего фактора, ответственного за разное течение заболевания, и отсутствие опухолей у носителей мутации.

В выборке чувашских семей, отягощенных аутосомно-рецессивным эритроцитозом, обнаружено сцепление заболевания с локусами 11q23 и 3p25. Для локуса 3p25 максимальный $Lod = 12,4$ при $q = 0$ для маркера D3S1263. Лocus, возможно содержащий модифицирующий фактор, картирован в области 4,8 сМ между маркерами D11S4111 и D11S1356, максимальный $Lod = 4,23$ при $q = 0,05$ для маркера AP757/98. Определена популяционная частота носительства мутации Arg200Gp в гене *VHL* среди чувашей.

Аллельная частота мутации равна 1,84%, расчетная частота эритроцитоза – 1:3000 человек, что выше распространенности заболевания, определенной в ходе клинико-эпидемиологических исследований (1:4450 человек).

В настоящее время патогенетически обоснованных методов лечения СНЭ не существует. Больным проводится симптоматическая терапия, направленная на удаление избыточной массы эритроцитов, снижение гематокрита и вязкости крови – кровопускания с возмещением ОЦК глюкозо-солевыми растворами из расчета 10-15 мл на кг, реополиглюкином, реамбирином, гепарином из расчета 100 ЕД на кг за час. Параллельно назначается ксантинол никотинат. Данная

терапия приводит к стимуляции выработки эритропоэтина и прогрессированию заболевания, что нами отмечено при наблюдении за этими больными.

С учетом возможности роли нарушения кислородно-сенсорного сигнального пути в генезе СНЭ жителей Средней Волги, а также литературных данных о механизме действия эналаприла и циннаризина нами использован в лечении эналаприл в дозе 0,2 мг/кг ежедневно и лозартан в дозе 0,8 мг/кг ежедневно, а также циннаризин из расчета 1-1,5 мг/кг.

Лечение проводили курсами в течение 1,5 мес. по 2-3 курса. В трех основных группах было по 10 больных, в контрольной группе – 10 больных. Нами показана возможность использования эналаприла, а также лозартана и циннаризина с целью нормализации реологических свойств крови. Параллельно все дети во всех опытных и контрольных группах получали ксантинол никотинат. Проводился контроль за уровнем Нв, Эр, активностью 2,3-ДФГ, АлАТ, АсАТ, уровнем мочевины и креатинина а также за уровнем ангиотензина II, КОС. Параллельно нами изучались реологические свойства крови.

Использование указанных препаратов оказывало гематокрит снижающий эффект, гематокрит снижался с 65 ± 5 до $45,9 \pm 4,2$ л/л, вязкость крови приближалась к нормальным показателям.

При сравнительном анализе эналаприла, лозартана и циннаризина по клиническим, лабораторным параметрам эффективность была почти одинаковой ($p < 0,05$).

У детей дошкольного и школьного возрастов нами изучались интеллектуальные возможности. При этом до лечения выявлены достоверно более низкие (на $24 \pm 5\%$) показатели IQ ($p < 0,05$). Детям со сниженными показателями IQ назначали фезам, эссенциале, другие ноотропные препараты. После использования трех курсов лечения показатели IQ улучшились.

Нами также апробировано лечение больных в загородном детском санатории «Алый парус» МЗ СР ЧР. Дети находились на лечении 2 раза в год. Детям проводились электрофорез со спазмолитическими препаратами на шейный отдел позвоночника, поглаживающий массаж шейно-воротниковой зоны, прием эналаприла, фезама, музыкотерапия, лечение в сенсорной комнате, ЛФК, занятия физкультурой в специальной группе, лечебное плавание.

Результаты лечения в стационаре и детском санатории показали возможность реабилитации детей с семейным наследственным эритроцитозом (улучшилось самочувствие, уменьшилась плетора, улучшились гематологические показатели и уменьшилась кратность стационарного лечения).

Литература

1. Близнец Е.А., Вассерман Н.Н., Поляков А.В. Молекулярные методы диагностики распространенных наследственных «чувашских» болезней // Медицинская генетика. 2006. Т. 5. Прилож. 1. С. 10-13.
2. Вассерман Н.Н., Поляков А.В., Тверская С.М., Поляков А.В. Совместное наследование хромосом 3 и 11 у больных аутосомно-рецессивным эритроцитозом из Чувашии // Генетика. 2005. Т. 41, № 9. С. 1259-1264.
3. Вассерман Н.Н., Тверская С.М., Зинченко Р.А., Поляков А.В. Популяционная частота мутации C598T в гене *VHL*, приводящей к развитию аутосомно-рецессивного эритроцитоза // Медицинская генетика. 2005. Т. 4, № 4. С. 165.
4. Вассерман Н.Н., Тверская С.М., Поляков А.В. Совместное наследование хромосом 3 и 11 у больных аутосомно-рецессивным эритроцитозом из Чувашии // Генетика. 2005. Т. 41, № 9. С. 1259-1264.
5. Газенко Л.О. Патогенетические особенности наследственного эритроцитоза (по материалам исследования эндемического очага в Чувашии). М.: Медицина, 1992. 223 с.

6. Гинтер Е.К. Этнические особенности распространения наследственных болезней // Генетика человека. 1978. Т. 3. С. 122-159.
7. Дмитриева М.Г., Карпова И.В., Пивник А.В. Наследственные эритроцитозы // Проблемы гемат. 1996. № 3. С. 42-46.
8. Ельчинова Г.И. Методы обработки популяционно-генетических данных // Мед. генетика. 2004. № 4. С. 185-192.
9. Зинченко Р.А., Ельчинова Г.И., Козлова С.И. Эпидемиология наследственных болезней // Мед. генетика. 2002. Т. 1, № 1. С. 24-33.
10. Краснов М.В., Павлова Г.П., Краснов В.М. Современные принципы терапии СНЭ у детей и подростков // Материалы науч.-практ. конф. Чебоксары, 2007. С. 241-242.
11. Краснов М.В., Павлова Г.П. и др. Эпидемиология наследственного эритроцитоза // Материалы науч.-практ. конф. М., 2002. С. 324-325.
12. Краснов М.В., Павлова Г.П. Эналаприл в лечении врожденного эритроцитоза // Человек и лекарство. М., 2003. С. 1124.
13. Павлова Г.П., Ефимова Н.К., Сметанина Н.С., Тверская С.М., Вассерман Н.Н., Поляков А.В. Наследственный эритроцитоз // Генетическая структура и наследственные болезни чувашской популяции / под ред. Гинтера Е.К., Зинченко Р.А. Чебоксары: ИД «Пегас», 2006. С. 202-212.
14. Павлова Г.П., Краснов М.В., Сметанина Е.П. Диагностика, лечение наследственного эритроцитоза у детей: метод. рекомендации. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2004. 52 с.
15. Павлова Г.П., Краснов М.В., Сметанина Е.П. и др. Новое в лечении наследственного эритроцитоза // Гематология. 2002. № 3. С. 112-113.
16. Павлова Г.П., Сметанина Е.П., Краснов М.В. и др. Первый опыт применения эналаприла у детей с семейным наследственным эритроцитозом // Вопросы гематологии. 2002. № 4. С. 75.
17. Полякова Л.А. Семейный эритроцитоз у жителей Чувашской АССР // Пробл. гемат. и переед. крови. 1974. № 10. С. 30-33.
18. Ang S.O., Chen H., Gordeuk V.R. et al. Endemic polycythemia in Russia Blood Cells // Molecules and Disease. 2002. Vol. 28. P. 57-62.
19. Ang S.O., Chen H., Hirota K. Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia // Nature Genet. 2002. Vol. 32. P. 614-621.
20. Barichard F., Joulain V., Henry I. Chromosomal assignment of the human 2-3-biphosphoglycerate mutase gene to region 7q34-7q22 // Hum. Genet. 1987. Vol. 77. P. 283-285.
21. Juvonen E., Ikkala E., Fuchrquist F. et al. Autosomal dominant erythrocytosis caused by increased sensitivity to erythropoietin // Blood. 1991. Vol. 78. P. 3066-3069.
22. Prichal J.T., Crist W.M. et al. Autosomal dominant polycythemia // Blood. 1985. Vol. 6. P. 1208-1214.
23. Tverskaya S., Vasserman N., Karzakova L., Evgrafov O. Locus for autosomal recessive benign erythrocytosis maps to chromosome 11q. // Europ. J. Hum. Genet. 1998. Vol. 6, № 1. P. 35.
24. Tverskaya S., Vasserman N., Polyakov A., Evgrafov O. The investigation of candidate genes for autosomal recessive benign erythrocytosis // Human genome meeting. Shanghai, 2002. P. 364.
25. Vasserman N., Tverskaya S., Karzakova L., Evgrafov O. Exclusion of linkage between autosomal recessive erythrocytosis and erythropoietin receptor gene. ESHG conference, abstract // Medizinische Genetik. 1997. Vol. 9, № 2. P. 121.
26. Vasserman N.N., Karzakova L.M., Tverskaya S.M. et al. Localization of the gene responsible for familial benign polycythemia to chromosome 11q23 // Hum. Hered. 1999. Vol. 49, № 3. P. 129-132.
27. Vasserman N., Tverskaya S., Shagina I. et al. Refined mapping of 2-cM candidate region for autosomal recessive benign erythrocytosis // European Journal of Human Genetics. 2000. № 8. P. 584.

КРАСНОВ МИХАИЛ ВАСИЛЬЕВИЧ. См. с. 268.

ПАВЛОВА ГАЛИНА ПЕТРОВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры детских болезней, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (pavlovagp@rambler.ru).

PAVLOVA GALINA PETROVNA – candidate of medical sciences, docent of Childhood illness Department, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

СМЕТАНИНА НАТАЛЬЯ СЕРГЕЕВНА – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом, Научно-исследовательский институт детской гематологии, Россия, Москва.

SMETANINA NATALIA SERGEEVNA – doctor of medical sciences, associate professor, head of the department of the Scientific-Research Institute of Children Haematology, Russia, Moscow.

КРАСНОВ ВЛАДИМИР МИХАЙЛОВИЧ – доктор медицинских наук, профессор кафедры детских болезней, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (vmdoctor@rambler.ru).

KRASNOV VLADIMIR MIKHAILOVICH – doctor of medical sciences, professor of Childhood illness Department, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.
