

ПЕДИАТРИЯ

УДК 61

А. А. Скоромец, З. Г. Тадтаева, Т. Е. Пак, А. П. Скоромец

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ТРОМБОФИЛИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ ПРИ ИНСУЛЬТЕ

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад.
И. П. Павлова»;

ГУЗ «Детская больница № 19 им. К. А. Раухфуса»;

ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования»

Сосудистые заболевания нервной системы в детском возрасте являются актуальной проблемой современной неврологии, что определяется нередко тяжелой инвалидизацией, социальной дезадаптацией и смертностью [1, 2]. По данным эпидемиологических исследований ряда европейских стран ежегодно регистрируется от 2,6 до 7,8 случаев на 100 000 детей в год [3, 4], при этом частота развития стойких неврологических симптомов достигает 76% случаев. Ежегодно смертность от инсульта в детском возрасте составляет 0,6 на 100 тыс. [1].

Основными этиологическими факторами артериального инсульта в детском возрасте являются болезни системы крови и коагулопатии: гемоглобинопатии, тромбоцитоз, полицитемия, лейкопения, диссеминированное внутрисосудистое свертывание, протромботические состояния при злокачественных новообразованиях, антифосфолипидный синдром [5]. Общим механизмом ишемического инсульта при этих заболеваниях является нарушение микроциркуляции крови в артериолах, гиперкоагуляция и диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС).

Факторами риска геморрагического инсульта принято считать аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, гемофилию, врожденную и приобретенную гипо- и афибриногению, дефицит витамина К, активацию фибринолиза при диссеминированном внутрисосудистом свертывании (ДВС). По лабораторным тестам при этих заболеваниях выявляется гипокоагуляция.

В большинстве случаев развитие инсульта в детском возрасте связывают с приобретенными факторами риска, которые одновременно признаются участниками патогенеза: цереброваскулярные мальформации, болезни сердца, васкулиты [5, 6], приводящие к гиперкоагуляции вследствие возникающего дисбаланса в системе гемостаза. Современная концепция этиопатогенеза инсульта включает в себя положение о мультифакторности и полигенности заболевания, а также о сложном взаимодей-

ствии генетических и средовых факторов, необходимых для реализации заболевания [7]. В последнее десятилетие особое внимание уделяют изучению наследственно обусловленных нарушений в системе гемостаза — тромбофилии (тромбофилических состояний) [8]. В основе тромбофилии лежит нарушение механизмов саморегуляции системы гемостаза, нарушение взаимодействия клеточных и плазменных, прокоагулянтных, антикоагулянтных и фибринолитических ее компонентов, компенсаторных возможностей организма, затруднение микроциркуляции крови в капиллярах, связанное с внутрисосудистой активацией гемокоагуляционных факторов, агрегационных и выделительных реакций клеток крови, приводящих к возникновению в экстренных для организма ситуациях ДВС синдрома и соответственно тромбгеморрагических осложнений в виде нарушений мозгового кровообращения [3, 7]. Важно отметить, что наличие тромбофилии не является абсолютно фатальным, а является фактором, повышающим риск развития тромботических заболеваний на протяжении жизни. Провоцирующая роль принадлежит инфекции, травме, хирургическим вмешательствам, длительной иммобилизации и т. д.

Особую актуальность представляет анализ роли наследственной тромбофилии при неустановленной причине ишемического инсульта у детей, которая составляет по различным данным от 20% до 65–70% случаев [1], а также при отсутствии таких облигатных для взрослых факторов риска, как атеросклероз сосудов, артериальная гипертензия, дислипидемия, сахарный диабет и т. д. Установлено, что наследственные нарушения коагуляции составляют 20–50% всех возможных причин ишемического инсульта у детей [2, 6]. Имеющиеся публикации о наличии ассоциации тромбофилии и ишемического инсульта связаны с определением активности естественных антикоагулянтов: антитромбина III, протеинов C и S [4]. В настоящее время в связи с развитием молекулярно-генетических исследований выявляются наследственные формы, связанные с мутациями в генах факторов свертывания — плазменных белков коагуляционного каскада, белков системы фибринолиза и естественных коагулянтов, приводящих к возникновению тромбозов интрацеребральных артерий и вен. Наиболее частая форма генетически обусловленной тромбофилии — гетерозиготная лейденская мутация в гене V фактора свертывания, признанная значимым фактором риска тромбозов, приводит к появлению резистентности данного фактора к активированному протеину C. Гетерозиготное носительство лейденской мутации, встречающееся у 2–15% в педиатрической популяции, увеличивает риск развития инсульта в 3–7 раз, а достаточно редкое гомозиготное в 80 (!) раз [9]. Врожденная недостаточность или дефектность естественных антикоагулянтов, таких как протеин C и S, антитромбин III, является причиной повторных тромбозов у детей [2]. Учитывая существенную роль сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза в развитии ишемических инсультов в последние годы наиболее широко изучается роль полиморфизма тромбоцитарных гликопротеиновых комплексов. Установлено, что тромбоцитарный гликопротеин GrIIb/IIIa является мембранным рецептором для фибриногена и фактора Виллебранда, что индуцирует агрегацию тромбоцитов. Таким образом, наличие полиморфизма гена тромбоцитарного гликопротеина GrIIIa 1565C предрасполагает к усилению адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке, одновременно индуцируя высвобождение содержимого плотных и α-гранул. Синдром липких тромбоцитов, наследуемый по аутосомно-доминантному типу, ассоциируется с повышением агрегации тромбоцитов и сопровождается артериальными и венозными тромбозами [10]. Особого внимания заслуживает

тромбофилическое состояние, связанное с повышением уровня гомоцистеина в крови — гипергомоцистеинемия (ГГЦ). Гомозиготное носительство мутации С677Т в гене МТГФР ведет к появлению термолabileного фермента со сниженной ферментативной активностью на 50% от нормального уровня и является одной из причин развития умеренной гипергомоцистеинемии (ГГЦ) [11, 12]. Проведенный мета-анализ 6 исследований показал, что ГГЦ, обусловленная мутацией в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), связана с повышенным риском развития ишемического инсульта не только у взрослых [11, 13, 14, 15], но и у детей [2, 16]. Однако, по данным Н. Marcus с соавт., связи с риском развития инсульта при мутации в гене метилентетрагидрофолатредуктазы не обнаружено [17]. Таким образом, роль наследственной тромбофилии в развитии сосудисто-мозговой патологии у детей изучена недостаточно, а опубликованные данные противоречивы. В России до настоящего времени не существует работ, касающихся изучения роли наследственной тромбофилии при инсульте у детей. Ранее нами установлена высокая частота носительства отдельных полиморфных вариантов генов тромбофилических состояний у детей с инсультом [18], а также носительство нескольких тромбофилических факторов при болезни мойя-мойя — цереброваскулярной мальформации, протекающей в виде медленно прогрессирующей двусторонней окклюзии внутрисонных артерий, которая начинается в области каротидного сифона [19]. Целью нашего исследования является анализ частоты распространенности 5 полиморфных генов факторов свертывания крови и МТГФР при инсультах у детей и подростков.

Материалы и методы исследования. Нами обследовано 18 детей в возрасте от 6 месяцев до 17 лет (средний возраст $9,6 \pm 5,8$ лет), находившихся на лечении в отделении детской неврологии детской городской больницы № 22 Санкт-Петербурга. Среди них 8 мальчиков и 10 девочек. Из них с ишемическим инсультом (ИИ) было 10 пациентов, с геморрагическим (ГИ) — 7, в одном случае имело место преходящее нарушение мозгового кровообращения (ПНМК). Диагноз ишемического инсульта и преходящего нарушения мозгового кровообращения основывался на клинико-неврологическом синдроме, включавшем наличие очаговой и/или общемозговой симптоматики вследствие острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), сохраняющийся более 24 ч при ИИ и менее 24 ч при ПНМК. Во всех случаях заболевание верифицировали данными компьютерной томографии (КТ) и/или магнитно-резонансной томографии (МРТ) головного мозга. Обследование больных с НМК проводили в различные периоды реабилитации, от 2 месяцев до 5 лет. Этиологическими факторами ишемического инсульта у детей были цереброваскулярные мальформации — болезнь мойя-мойя у 4 больных, врожденный порок сердца (ВПС) наблюдался у 1 пациента. Этиологическими факторами геморрагического инсульта были артерио-венозные мальформации у 2 больных, болезнь Штурге—Вебера (энцефалотригеминальный ангиоматоз) и артериальная гипертензия почечной этиологии — по 1 наблюдению, еще у одного пациента обнаружена гипоплазия вертебральной, основной, правой заднемозговой (ЗМА) и левой среднемозговой (СМА) артерий. У 8 из 18 пациентов (44,4%) причину инсульта выяснить не удалось.

Молекулярно-генетическое тестирование ДНК полиморфных вариантов генов фактора I фибриногена (–455 G/A), фактора V (G1691A), метилентетрагидрофолатредуктазы — МТГФР (С677Т), протромбина (G20210A), гликопротеина IIIa (T1565C), ингибитора активатора плазминогена I типа — PAI-1 (–675 4G/5G), проведено всем боль-

ным (18 детей) в лаборатории биохимии РосНИИГиТ (руководитель проф. М. Н. Блинов) методом ПЦР. При анализе частоты встречаемости отдельных полиморфизмов генов компонентов системы гемостаза при ОНМК использовали данные К. А. Папаян, 2000 г., о распространенности мутаций/полиморфизмов генов факторов системы гемостаза среди 338 здоровых детей в возрасте от 6 до 17 лет в Северо-Западном регионе России [20] (табл. 1). Материал обработан с использованием статистической системы Statistica for Windows (серия 5.5).

Таблица 1. Распределение частоты генотипов у больных с НМК и здоровых детей в популяции Северо-Запада России (контроль)

Полиморфизм	Генотип	Частота генотипа		
		ОНМК, <i>n</i> = 18	Контроль, (<i>n</i>)	
Фактор I –455 G/A	–455 (G/G)	9 (50%)	81 (56,6%)	<i>n</i> = 143
	–455 (G/A)	7 (38,8%)	58 (40,6%)	
	–455 (A/A)	2 (11,1%)**	4 (2,8%)	
Фактор II 20210G/A	20210 (G/G)	17 (94,4%)	115 (95,8%)	<i>n</i> = 120
	20210 (G/A)	2 (11,1%)	5 (4,2%)	
	20210 (A/A)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Фактор V 1691G/A	1691 (G/G)	0 (0,0%)	383 (96,7%)	<i>n</i> = 396
	1691 (G/A)	0 (0,0%)	13 (3,3%)	
	1691 (A/A)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
РАI-1 –675 4G/5G	–675 4G/4G	5 (27,7%)	77 (28,7%)	<i>n</i> = 268
	–675 4G/5G	12 (66,6%)	116 (43,3%)	
	–675 5G/5G	1 (5,5%)	75 (28%)	
МТГФР 677C/T	677 (C/C)	4(22,2%)	197 (58,3%)	<i>n</i> = 338
	677 (C/T)	9 (50%)	115 (34%)	
	677 (T/T)	5 (27,7%)*	26 (7,7%)	
Гликопротеин GrIIIa 1565T/C	1565 (T/T)	13 (72,2%)	208 (77,6%)	<i>n</i> = 268
	1565 (T/C)	4 (22,2%)	54 (20,2%)	
	1565 (C/C)	1 (5,5%)	6 (2,2%)	

Примечание: жирным шрифтом выделены нормальные генотипы; **p* < 0,01, ***p* = 0,08 (сравнение с контрольной группой).

Результаты исследования. Молекулярно-генетическое тестирование, проведенное у 18 больных с НМК, выявило наличие различных полиморфизмов генов практически у всех больных (100%). Статистически достоверное различие получено при анализе частот генотипов МТГФР. Полиморфизм С677Т гена МТГФР выявлен у 14 (77,7%) больных против 141 (41,7%) в контрольной группе (*p* < 0,01), что соответствовало двукратному увеличению риска инсульта (ОШ = 2,95% ДИ: 1,2–3,5; *p* = 0,01). Гомозиготное (ТТ) носительство МТГФР достоверно преобладало при НМК по сравнению с контрольной группой: 27,7% и 7,7% соответственно (*p* < 0,01). У 9 больных (49,9%) и 43,3% в контрольной группе выявлен полиморфизм фактора I (фибриногена), однако встречаемость гомозиготы гена фактора FI (–455 A/A) была у больных выше — 11,1%, по сравнению с группой здоровых детей — 2,8% (*p* = 0,08). У 5 (27,7%) пациентов

обнаружен полиморфизм гена тромбоцитарного гликопротеина GpIIIa, ответственный за повышенную активацию тромбоцитов (в контроле у 20,2%, $p > 0,05$). Еще у 5 (27,7%) больных наблюдался гомозиготный генотип — 4G/4G PAI-1, против 28,7% у здоровых. Среди обследованных нами больных не обнаружена мутация гена V фактора свертывания FVLeiden. Лишь у 2 обнаружен гетерозиготный генотип 20210 G/A протромбина — 2 (11,1%), против 5 (4,2%) в контрольной группе ($p > 0,05$).

Особо следует отметить наличие у одних и тех же больных сочетаний ассоциаций нескольких полиморфизмов генов тромбофильных факторов, которые выявлены у 11 (61,1%) пациентов: 2-х генов у 7 и 3-х — у 4 больных (табл. 2).

Таблица 2. Частота обнаружения ассоциаций полиморфизмов при инсульте у детей

Ассоциации	Число больных (абс.)
Из двух полиморфизмов	
Фактор I -455G/A / МТГФР 677СТ	2
Фактор II 20210G/A / МТГФР 677СТ	1
МТГФР 677СТ / PAI-1 -675 4G/5G	2
МТГФР 677СТ / GpIIIa 1565T/C	2
Из трех полиморфизмов	
Фактор I -455G/A / МТГФР 677СТ / PAI-1 -675 4G/5G	2
Фактор I -455G/A / МТГФР 677СТ / GpIIIa 1565T/C	1
МТГФР 677СТ / GpIIIa 1565TC / PAI-1 -675 4G/5G	1

Постоянным в комбинациях является полиморфизм С677Т в гене МТГФР. Наиболее часто имеются сочетания из полиморфизмов генов: МТГФР С677Т + FI -455G/A — у 5 (27,7%), МТГФР С677Т + PAI -675 4G/4G — у 5 (27,7%) и МТГФР С677Т + тромбоцитарный гликопротеин GpIIIa 1565 T/C — у 4 (22,2%) пациентов.

Ассоциации 3-х дефектных генов были обнаружены у 5 больных, из которых у 3 ишемический инсульт развился на фоне болезни мойя-мойя, еще у двоих — с геморрагическим инсультом на фоне почечной артериальной гипертензии и гипоплазии сосудов в вертебро-базилярном и каротидном бассейнах. Важно отметить, что у этих больных отмечались повторные нарушения мозгового кровообращения, что послужило основанием для оперативного вмешательства для одного из них.

Обсуждение. По результатам исследований последних лет встречаемость генетически обусловленных тромбофилических состояний составляет 20–50% всех возможных причин ишемического инсульта у детей [2, 6]. Наши исследования свидетельствуют о высокой частоте носительства отдельных полиморфизмов генов компонентов системы гемостаза, характерных для тромбофилии, у 100% больных с НМК. Сочетание нескольких факторов тромбофилии у одного и того же больного значительно повышает риск развития тромботического эпизода [21]. Нами впервые в 61,1% случаев у каждого больного выявлено несколько сочетаний дефектных полиморфных генов. Чаще других наблюдаются ассоциации полиморфизмов генов: тромбоцитарного гликопротеина, фибриногена и МТГФР, что объясняет их клиническую значимость в развитии

заболевания. Роль гликопротеина GpIIb/IIIa 1565 T/C связывают с активацией рецепторной функции тромбоцитов и агрегацией клеток, а фибриноген является основным плазменным кофактором этого процесса, усиливающим его. Несмотря на малочисленность наших наблюдений, их анализ позволяет заключить, что носительство ассоциаций генов усиливает риск развития тромботического эпизода в церебральных сосудах. Отдельно следует отметить высокую частоту встречаемости в нашем исследовании полиморфизма и гомозиготного генотипа C677T гена МТГФР. Частота носительства гомозиготного (ТТ) генотипа в гене МТГФР составила 27,7%, что значительно превосходит аналогичные показатели в популяции (5–14%). Возможно, это связано с межпопуляционными генетическими различиями [2, 16], а также с тем, что нами обследована группа больных детей, у которых не было таких факторов риска тромбоза, характерных для взрослых, как артериальная гипертензия, гиперлипидемия, сахарный диабет и т. д.

Таким образом, выявление генетических признаков тромбофилии практически у каждого больного (в 100%) доказывает их значимость в предрасположенности к инсульту у детей. Анализ полученных данных позволяет утверждать, что носительство нескольких полиморфных тромбофильных факторов усиливает риск развития нарушений мозгового кровообращения у детей. Необходимы дальнейшие исследования для улучшения диагностики генетических факторов риска и разработки терапевтических мероприятий, направленных на коррекцию тромбофилии, протромботических сдвигов и уровня гомоцистеина в крови.

Литература

1. Зыков В. П., Черкасов В. Г., Степанищев и др. Популяционное исследование церебрально-го инсульта у детей в Москве // Альманах клинической медицины. Т. VIII. Ч. 3. М., 2005. С. 5–9.
2. Barnes C., Newall F., Chan F., Monagle P. MTHFR mutation in childhood stroke // *Blood*. 2001. Vol. 98, N 11. P. 95–97.
3. DeVeber G., Andrew M. Group CIPSS. Cerebral sinovenous thrombosis in children // *NEJM*. 2001. Vol. 345, N 6. P. 417–423.
4. Lynch J. K., Deborah G. Y. de Veber G. Report of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke Workshop on perinatal and Childhood Stroke // *Pediatrics*. 2002. Vol. 109. P. 116–123.
5. Евтушенко С. К. Инсульты у детей: научный обзор и клинические наблюдения // Современная педиатрия. 2010. Т. 3, № 31. С. 175–182.
6. Чучин М. Ю. Ишемический инсульт в детском возрасте // *Инсульт*. 2004. № 11. С. 27–38.
7. Суслина З. А., Танащян М. М., Ионова В. Г. Ишемический инсульт: кровь, сосудистая стенка, антитромботическая терапия. М.: Мед. книга, 2004. 306 с.
8. Зубаиров Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань, 2000. С. 90–92.
9. Rosendaal F. R. Venous thrombosis: prevalence and interaction of risk factors // *Haemostasis*. 1999. Vol. 29 (Suppl. S1). P. 1–9.
10. Mammen E. F. Sticky platelet syndrome // *Semin. Thromb.* 1999. Vol. 24, N 4. P. 361–365.
11. Kelly P. J., Rosand J., Kistler J. P. et al. Homocysteine, MTHFR 677C→T polymorphism, and risk of ischemic stroke. Results of a meta-analysis // *Neurology*. 2002. Vol. 59. P. 529–536.
12. Frosst P., Bloom H. J., Milos R. et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase // *Nat. Genet.* 1995. Vol. 10, N 1. P. 111–113.
13. Зорилова И. В., Суслина З. А., Иллариошкин С. Н. Генетическая предрасположенность к инсульту: анализ мутаций в генах тромбофильных факторов // *Мед. генетика*. 2005. № 4. С. 190–191.

14. Калашиникова Л. А., Добрынина Л. А., Устюжанина М. К. Гипергомоцистеинемия и поражение головного мозга // Неврологический журнал. 2004. № 3. С. 48–54.
15. Калашиникова Л. А., Патрушев Л. И., Коваленко Т. Ф. и др. Ишемический инсульт в молодом возрасте и мутации в генах фактора V (мутация Лейдена), протромбина и 5,10 метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР) // Журнал неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. 2003. Т. 103, № 9. Приложение «Инсульт». С. 116–118.
16. Bonduel M., Sciuccati G., Hepner M. et al. Prethrombotic disorders in children with arterial ischemic stroke and sinovenous thrombosis // Arch. Neurol. 1999. Vol. 56, N 8. P. 967–971.
17. Marcus H. S., Nadira A., Swaminathan et al. A common polymorphism in the methylentetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease // Stroke. 1997. Vol. 28. P. 1739–1743.
18. Кацадзе Ю. Л., Тадтаева З. Г. Клинический опыт применения сулодексида в комплексном лечении острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) у детей на фоне наследственной тромбофилии // Исследование эндотелия. Патогенетическое значение и методы коррекции / под ред. Н. Н. Петрищева. СПбГМУ, 2007. 295 с.
19. Тадтаева З. Г., Кацадзе Ю. Л. Комбинация дефектных генов: фибриногена, ингибитора активатора плазминогена, метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНФР) и гипергомоцистеинемии (ГГЦ) при болезни мойя-мойя (клиническое наблюдение) // Неврологический журнал. 2007. № 3. С. 56–57.
20. Папаян К. А. Патогенетические механизмы развития артериальных и венозных тромбозов у детей и лиц молодого возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2000.
21. Капустин С. И., Шмелева В. М., Панишина А. М. с соавт. Генетическая предрасположенность к венозному тромбозу: роль полиморфизмов компонентов плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза // Ученые записки. 2004. Т. XI, № 3. С. 10–15.

Статья поступила в редакцию 15 июля 2011 г.