

© Е.А. Панков, К.А. Папаян, С.И. Капустин, Н.Д. Савенкова, 2020
УДК 616.63-008.6 : 616.12-008.331.1 + 616.151.514]-053.2 : 575.113.1

doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-3-90-94

Е.А. Панков^{1}, К.А. Папаян¹, С.И. Капустин², Н.Д. Савенкова¹*

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ТРОМБОФИЛИЕЙ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ У ДЕТЕЙ С ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

¹Кафедра факультетской педиатрии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, Санкт-Петербург, Россия; ²Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. В основе гемолитико-уремического синдрома (ГУС) лежит патология гемостаза с развитием состояния, угрожающего жизни пациента. Нарушения со стороны системы гемостаза возможно во многом обусловлены наследственной предрасположенностью к тромбофилии. **ЦЕЛЬ.** Изучить особенности аллельного полиморфизма генов, ассоциированных с наследственной тромбофилией у 15 детей с гемолитико-уремическим синдромом. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Проведено исследование 15 детей с ГУС в возрасте от 1 года до 4 лет, находившихся на лечении в нефрологическом отделении клиники СПбГПМУ. Типичный ГУС диагностирован у 14 детей. У одного ребенка выявлен атипичный ГУС, подтвержденный лабораторно (повышение уровня антител к протеину H). В НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России методом ПЦР у всех 15 пациентов и двух родителей проведен анализ полиморфизма генов, ассоциированных с тромбофилией. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У всех обследуемых детей обнаружен полиморфизм генов, ассоциированных с различными звеньями гемостаза. У двух пациентов обнаружена мутация в гене фактора V (FV Leiden). У 7 пациентов из 15 исследуемых выявлено гомозиготное состояние ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 – 675 4G/5G). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Мутация FV Leiden, как основная причина резистентности активации протеина C (ингибитора образования тромбина), обнаружена у двоих детей, у одного – с атипичным ГУС, у одного – с типичным ГУС. У 7 детей из 15 обследуемых выявлено гомозиготное состояние ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 – 675 4G/5G), что может указывать на недостаточную фибринолитическую активность у этих детей, как важный фактор способствующий развитию ТМА.

Ключевые слова: гемолитико-уремический синдром, полиморфизм генов, тромбофилия, дети

Е.А. Pankov^{1}, К.А. Papayan¹, S.I. Kapustin², N.D. Savenkova¹*

FEATURE OF DISTRIBUTION OF POLYMORPHIC OPTIONS OF GENES ASSOCIATED WITH THROMBOPHILIA AND ARTERIAL HYPERTENSION IN CHILDREN WITH HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME

¹Department of Faculty Pediatrics, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia; ²The Blood Coagulation laboratory, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

INTRODUCTION. The basis of hemolytic-uremic syndrome (HUS) is the pathology of hemostasis with the development of a condition that threatens the patient's life. Violations of the hemostatic system are probably largely due to a hereditary predisposition to thrombophilia. **THE AIM.** To study the characteristics of allelic polymorphism of genes associated with hereditary thrombophilia in 15 children with hemolytic-uremic syndrome. **PATIENTS AND METHODS.** A study was conducted of 15 children with HUS from the age of 1 to 4 years who were treated in the nephrology department of the clinic of St. Petersburg State Medical University. A typical HUS was diagnosed in 14 children. One child was diagnosed with atypical HUS confirmed by laboratory tests (increased levels of antibodies to protein H). At the Research Institute of Hematology and Transfusiology of the FMBA of Russia, PCR for all 15 patients and two parents analyzed the polymorphism of genes associated with thrombophilia. **RESULTS.** In all examined children, polymorphism of genes associated with various links of hemostasis was found. Two patients showed a mutation in the factor V gene (FV Leiden). In 7 patients out of 15 subjects, the homozygous state of the plasminogen activator inhibitor (PAI-1 - 675 4G / 5G) was revealed. **CONCLUSION.** The FV Leiden mutation, as the main reason for the resistance of activation of protein C (an inhibitor of the formation of thrombin), was found in two children, one with a typi-

*Панков Е.А. 194100, Россия, Санкт-Петербург, Литовская д. 2. Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, кафедра факультетской педиатрии. Тел.: +7(812)416-52-66; E-mail: pankov.md@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0498-5252

*E.A. Pankov.194100, Russia, St. Petersburg, Litovskaya st. 2. Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Department of Faculty Pediatrics. Phone: +7(812)416-52-66; E-mail: pankov.md@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0498-5252

cal HUS, and one with an atypical HUS. In 7 children out of 15 subjects, a homozygous state of plasminogen activator inhibitor (PAI-1 - 675 4G / 5G) was revealed, which may indicate insufficient fibrinolytic activity in these children, as an important factor contributing to the development of TMA.

Keywords: hemolytic uremic syndrome, gene polymorphism, thrombophilia, children

Для цитирования: Панков Е.А., Папаян К.А., Капустин С.И., Савенкова Н.Д. Особенности распределения полиморфных вариантов генов, ассоциированных с тромбофилией и артериальной гипертензией у детей с гемолитико-уремическим синдромом. *Нефрология* 2020;24(3):90-94. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-3-90-94

For citation: Pankov E.A., Papayan K.A., Kapustin S.I., Savenkova N.D. Features of distribution of polymorphic variants of genes associated with thrombophilia and arterial hypertension in children with hemolytic-uremic syndrome. *Nephrology* (Saint-Petersburg) 2020;24(3)90-94. (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-3-90-94

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы гемолитико-уремического синдрома (ГУС) обусловлена особенностью данного заболевания, в основе которого лежит патология гемостаза с развитием состояния, угрожающего жизни пациента в острый период, а также неблагоприятным исходом в отдаленном периоде [1–4]. Тяжесть обусловлена тромботической микроангиопатией (ТМА) и острым повреждением почек класса «Недостаточность». Нарушения со стороны системы гемостаза, возможно, во многом обусловлены наследственной предрасположенностью к тромбофилии [5].

Цель – изучить особенности аллельного полиморфизма генов, ассоциированных с наследственной тромбофилией у 15 детей с ГУС.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено исследование 15 детей с ГУС в возрасте от 1 года до 4 лет, из них 13 мальчиков и 2 девочки, находившихся на лечении в нефрологическом отделении клиники СПбГПМУ. У всех пациентов с ГУС отмечалась триада признаков, характерных для тромботической микроангиопатии (ТМА): 1) микроангиопатическая гемолитическая анемия тяжелой степени (эритроциты $2,5 \pm 0,5 \times 10^{12}/л$, гемоглобин 65 ± 15 г/л, с повышением ЛДГ от 600 до 2500 ЕД/л, снижение уровня гаптоглобина в сыворотке крови $< 0,08$ г/л, повышение уровня билирубина $24,5 \pm 5,0$ мкмоль/л за счет повышения фракции непрямого билирубина); 2) тромбоцитопения потребления тяжелой степени $66,0 \pm 17 \times 10^9/л$, характерная для диссеминированного внутрисосудистого свертывания; 3) у детей в возрасте от 1 года до 4 лет острое повреждение почек (ОПП) класса «Недостаточность» диагностировано в соответствии с классификацией rRIFLE (2007) [6]. У всех детей установлены повышение сывороточного креатинина, снижение скорости клубочковой фильтрации на 75% ниже нормы, нарушение электролитного состава, метаболический ацидоз, повышение артериального давления.

Типичный ГУС постдиарейный диагностирован у 14 детей. У одного ребенка выявлен атипичный ГУС, подтвержденный лабораторно (повышение уровня антител к протеину Н). В ФМБА НИИ гематологии и трансфузиологии методом ПЦР у всех 15 пациентов и двух родителей проведен анализ полиморфизма генов, ассоциированных с тромбофилией. Исследованы аллельные варианты генов фактора V (G1691A, FV Leiden), фактора II (протромбин G20210G→A), метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR C677T), фактора I (фибриноген, 455G→A), ингибитора активатора плазминогена (PAI-I – 675 4G/5G) и гликопротеина IIIa (GpIIIa, T1565C); генетические факторы риска артериальной гипертензии: полиморфизм 704T→C (Met235Thr) в гене ангиотензиногена (AGT), I/D 287 п.н. в гене ангиотензин-превращающего фермента (ACE), 1166A→C в гене рецептора ангиотензина II 1-го типа (AT1R), 786T→C в гене эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех исследуемых детей ГУС проявлялся классической триадой тромботической микроангиопатии в виде: микроангиопатической гемолитической анемии (МАГА), тромбоцитопении потребления и острого повреждения почек класса «Недостаточность». По данным клинического анализа крови, МАГА у исследуемых детей была тяжелой степени тяжести, нормохромная, гиперрегенераторная, с высоким содержанием шизоцитов. Интенсивность гемолиза определялась уровнем лактатдегидрогеназы в сыворотке крови, который достигал 600–2000 ЕД/л, показатели гаптоглобина в сыворотке крови $< 0,08$ г/л. У 14 детей продромальный период типичного ГУС протекал с кишечной инфекцией с развитием острого повреждения почек (ОПП) с последующим восстановлением функции почек. У одного ребенка отмечалось ОПП с исходом в хроническую болезнь почек. Атипичный ГУС диагностирован у 4-летней девочки на основании: тяжелого ацикли-

ческого течения, характерного для атипичного течения, с персистирующей МАГА (сохраняющийся высокий уровень ЛДГ в сыворотке крови более 1000 ЕД/л и низкими показателями гаптоглобина в сыворотке крови < 0,08 г/л), тромбоцитопенией потребления, без положительного эффекта от заместительной терапии 21 сеанса гемодиализа, а также обнаружения антител в сыворотке крови к фактору H (856,8%, норма < 350%). В результате терапии экулизумабом отмечалась положительная динамика течения ТМА с восстановлением функции почек.

Из 14 детей с типичным ГУС в возрасте от 1 года до 4 лет установлен полиморфизм G/A-455 в гене фактора I у 5 (35,7%) детей; полиморфизм 4G/5G в гене PAI-1 ингибитора плазминогена у 6 (42,9%) детей; полиморфизм в гене GrIIIa, T1565C-1565T у 3 (21,4%) детей.

У мальчика (4 лет 9 мес) с типичным поствакцинальным ГУС без диареи, ассоциированный с нефротическим синдромом и гематурией, выявлены маркеры наследственной предрасположенности к тромбофилии за счет дисфункции плазменного звена гемостаза в виде мутации в гене фактора V (FV Leiden) в гомозиготном состоянии, полиморфизм 675 4G/4G в гомозиготном состоянии в гене ингибитора плазминогена PAI-1. Генетические факторы риска дисфункции тромбоцитарного звена гемостаза, связанные со склонностью к тромбофилии, не выявлены. У данного ребенка выявлены генетические факторы риска развития атеросклероза в виде полиморфизма 677C→T в гене метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR). Также у данного ребенка обнаружены генетические факторы риска артериальной гипертензии в виде повышенной активности ренин-ангиотензиновой системы в виде – полиморфизма 704T→C (Met235Thr) в гене ангиотензиногена (AGT) C/C в гомозиготном состоянии, полиморфизма I/D 287 п.н. в гене ангиотензин-превращающего фермента (ACE) I/D в гетерозиготном состоянии. Интересно, что при исследовании обоих родителей этого мальчика обнаружены мутации в гене фактора V (FV Leiden) в гетерозиготном состоянии, факторы риска развития атеросклероза в виде полиморфизма 677C→T в гене метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR) в виде гомозиготы обнаружены только у отца. Генетические факторы риска артериальной гипертензии у родителей не обнаружены.

У девочки в возрасте 4 лет с атипичным ГУС с характерным тяжелым ациклическим течением с повышением уровня антител к протеину H выявле-

ны мутации в гене фактора V (G1691A, FV Leiden) в гетерозиготном состоянии, полиморфизм 675 4G→5G в гене ингибитора плазминогена PAI-1, полиморфизм 455G→A в гене фактора I (фибриноген, G-455A), полиморфизм 1565T→C (A1/A2) в гене гликопротеина IIIa (GrIIIa, T1565C).

Обращает на себя внимание, что у 7 детей из 15 исследуемых (у 6 с типичным ГУС и одного с аГУС) выявлено гомозиготное состояние ингибитора активатора плазминогена (PAI-1 – 675 4G/5G).

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние годы наши представления о патогенезе тромботической микроангиопатии существенно расширились. Это касается такой фундаментальной составляющей риска заболевания, как генетическая предрасположенность. Полигенный характер наследственной тромбофилии может являться причиной гетерогенности клинических проявлений тромботического процесса [5]. Термин «тромбофилия» объединяет все наследственные (генетически обусловленные) и приобретенные нарушения гемостаза, которые обуславливают повышенную склонность к развитию тромбозов кровеносных сосудов различного калибра и локализации [5]. Высокая частота выявления полиморфизма генов гемостаза у пациентов с ГУС демонстрирует значимость наследственной тромбофилии, как фактора риска тяжелого течения этого синдрома [2–9]. В нашем исследовании из 14 детей с типичным ГУС в возрасте от 1 года до 4 лет установлен полиморфизм G/A-455 в гене фактора I у 5 (35,7%) детей; полиморфизм 4G/5G в гене PAI-1 ингибитора плазминогена у 6 (42,9%) детей; полиморфизм в гене GrIIIa, T1565C-1565T у 3 (21,4%) детей.

В отечественной литературе в работе А.В. Попа и соавт. (2015) [7] у 47 детей в возрасте $19,3 \pm 2,1$ мес с типичной формой ГУС исследован полиморфизм генов тромбофилии и сделано заключение, что выраженность клинических проявлений и тяжесть ГУС определяются «протромбиновым генотипом» генов метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), тромбоцитарного рецептора фибриногена (ITGB3), фибриногена (FGB) и ингибитора активатора плазминогена (PAI-1).

В исследовании Х.М. Эмировой и соавт. (2018) [8] у 23 детей с аГУС выявлен полиморфизм генов тромбофилии. Мультигенная форма тромбофилии у детей с ГУС характеризовалась сочетанием полиморфизма двух, трех генов и более (95,2%). По мнению авторов, высокая частота выявления по-

лиморфизма генов гемостаза при аГУС дает основание рассматривать наследственную тромбофилию как фактор риска развития заболевания.

Результаты, полученные нами, соответствуют данным авторов [7–9]. В нашем исследовании установлены различия в распределении генотипов ряда генов, ассоциированных с дисфункцией гемостаза в 40% у пациентов с типичным ГУС. У 7 (46,7%) из 15 детей (у 6 типичный ГУС и одного аГУС), выявлено гомозиготное состояние ингибитора активатора плазминогена (РАI-1 – 675 4G/5G).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании у 15 детей с ГУС выявлен аллельный полиморфизм генов, характерный для дисфункции различных звеньев гемостаза. Из 14 детей с типичным ГУС в возрасте от 1 года до 4 лет у 5 детей установлен полиморфизм G/A-455 в гене фактора I; у 6 детей установлен полиморфизм 4G/5G в гене РАI-1 ингибитора плазминогена; у 3 детей – полиморфизм в гене GpIIIa, T1565C-1565T. У одного ребенка с атипичным ГУС выявлены мутация в гене фактора V (G1691A, FV Leiden) в гетерозиготном состоянии, полиморфизм 675 4G→5G в гене ингибитора плазминогена РАI-1, полиморфизм 455G→A в гене фактора I (фибриноген, G-455A), полиморфизм 1565T→C (A1/A2) в гене гликопротеина IIIa (GpIIIa, T1565C).

Мутация FV Leiden, как основная причина резистентности активации протеина C (ингибитора образования тромбина), обнаружена у двоих детей, у одного – с типичным ГУС, у одной – с атипичным ГУС. Обращает на себя внимание тот факт, что у 46,7% детей с ГУС выявлено гомозиготное состояние ингибитора активатора плазминогена (РАI-1 – 675 4G/5G), что может указывать на недостаточную фибринолитическую активность у этих детей, как важный фактор, способствующий развитию ТМА.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК REFERENCES

1. Панков ЕА, Савенкова НД, Папаян КА. *Гемолитико-уремический синдром у детей*. Учебное пособие. Савенкова НД, ред., СПбГПМ, СПб., 2017; 32
Pankov EA, Savenkova ND, Papayan KA. *Hemolytic uremic syndrome in children*. Textbook. Edited by Prof. Savenkova ND, SPbGPMU, SPb., 2017;32. (In Russ.)
2. Панков ЕА, Папаян КА, Савенкова НД и др. Атипичный гемолитико-уремический синдром у девочки 4 лет. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2017;62(4):187–188
Pankov EA, Papayan KA, Savenkova ND et al. Atypical hemolytic uremic syndrome in a 4-year-old girl. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)* 2017;62(4):187–188. (In Russ.)
3. Булатова ВП, Макарова ТП, Самойлова НВ, Эмирова ХМ. *Гемолитико-уремический синдром у детей*. Медицина, Казань, 2016;144
Bulatova VP, Makarova TP, Samoilova NV, Emirova HM. *Gemolitiko-uremicheskij sindrom u detej*. Medicine, Kazan, 2016;144. (In Russ.)
4. Байко СВ, Сукало АВ, Абросимова НН Артериальная гипертензия у детей, перенесших гемолитико-уремический синдром. *Нефрология и диализ* 2017;19(2):271–279
Baiko SV, Sukalo AV, Abrosimova NN Arterial hypertension in children after hemolytic uremic syndrome. *Nefrologia i dializ* 2017;19(2):271–279. (In Russ.)
5. Капустин СИ, Блинов МН, Папаян ЛП, Селиванов ЕА. Наследственная тромбофилия – актуальная проблема современной медицины. *Мед академ журн* 2006;6(1):183–191
Kapustin SI, Blinov MN, Papayan LP, Selivanov EA. Hereditary thrombophilia – an actual problem of modern medicine. *Meditsinskij akademičeskij žurnal* 2006;6(1):183–191. (In Russ.)
6. Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Washburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with Acute Kidney Injury. *Kidney Int* 2007; 71 (10):1028–1035
7. Попа АВ, Эмирова ХМ, Козловская НЛ и др. Влияние генетической тромбофилии на тяжесть течения гемолитико-уремического синдрома у детей. *Клиническая нефрология* 2015;2-3:33–40
Popa AV, Emirova HM, Kozlovskaya NL et al. The effect of genetic thrombophilia on the severity of hemolytic uremic syndrome in children. *Klinečeskaja nefrologija* 2015;2-3:33–40. (In Russ.)
8. Эмирова ХМ, Орлова ОМ, Абасеева ТЮ, Панкратенко ТЕ. Генетические маркеры тромбофилии при атипичном гемолитико-уремическом синдроме у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2018;63(4):227
Emirova HM, Orlova OM, Abaseeva TYu, Pankratenko TE. Genetic markers of thrombophilia in atypical hemolytic-uremic syndrome in children. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)* 2018;63(4):227. (In Russ.)
9. Панков ЕА, Папаян КА, Савенкова НД, Капустин СИ. Полиморфизм генов, ассоциированных с тромбофилией у 14 детей с гемолитико-уремическим синдромом. *Нефрология* 2019;23(23):146–147
Pankov EA, Papayan KA, Savenkova ND, Kapustin SI. Polymorphism of genes associated with thrombophilia in 14 children with haemolytic uremic syndrome. *Nefrologia* 2019;23(23):146–147. (In Russ.)

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.**

Сведения об авторах:

Доц. Панков Евгений Альбертович, канд. мед. наук
194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, доцент кафедры факультетской педиатрии. Тел.: +7(812)416-52-66; E-mail: pankov.md@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0498-5252

Доц. Папаян Карина Альбертовна, канд. мед. наук
194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, доцент кафедры факультетской педиатрии. Тел.: +7(812)416-52-66; E-mail: papayan@inbox.ru. ORCID: 0000-0001-8692-0315

Проф. Капустин Сергей Игоревич, д-р биол. наук
191024, Россия, Санкт-Петербург, ул. 2-Советская, д. 16. Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии. Тел.: +7(812)717-35-82; E-mail: kapustin.sergey@mail.ru. ORCID: 0000-0003-1842-2730

Проф. Савенкова Надежда Дмитриевна, д-р мед. наук
194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.
Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет, кафедра факультетской педиатрии,
заведующая кафедрой. Тел.: +7(812)416-52-86; E-mail:
Savenkova.n.spb@mail.ru ORCID: 0000-0002-9415-4785

About the authors:

Docent Evgene A. Pankov, MD, PhD

Affiliations: 194100, Russia, St. Petersburg, Litovskaya st. 2.
Saint-Petersburg State Pediatric Medical University 2, docent of
the Department of faculty Pediatrics. Phone: +7(812)416-52-66;
E-mail: pankov.md@mail.ru. ORCID: 0000-0002-0498-5252

Docent Karina A. Papayan, PhD

Affiliations: 194100, Russia, St. Petersburg, Litovskaya st. 2.
Saint-Petersburg State Pediatric Medical University 2, associate
professor of the faculty of pediatrics. Phone: +7(812)416-52-66;
E-mail: papayan@inbox.ru. ORCID: 0000-0001-8692-0315

Prof. Sergey I. Kapustin, Doctor of Biological Sciences
Affiliations: 191024, Russia, St. Petersburg, 2-Sovetskaya st. 16.
Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology.
Phone: +7(812)416-52-66; E-mail: papayan@inbox.ru. ORCID:
0000-0001-8692-0315

Prof. Nadezhda D. Savenkova, MD, PhD, DMedSci

Affiliations: 194100, Russia, St. Petersburg, Litovskaya st. 2.
Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Head of the
Department of Faculty Pediatrics. Phone: +7(812)416-52-86;
E-mail: Savenkova.n.spb@mail.ru ORCID: 0000-0002-9415-
4785

Поступила в редакцию: 20.12.2019

Принята в печать: 19.03.2020

Article received: 20.12.2019

Accepted for publication: 19.03.2020