

Л.В. Жданова^{1,2}, Л.И. Патрушев³, В.В. Долгих¹, А.Б.-Ж. Бимбаев¹, О.Ч. Хойкова¹

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Российская Федерация

² Бурятский государственный университет, Улан-Удэ, Российская Федерация

³ Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Российская Федерация

Вклад полиморфизма генов тромбофилий в клиническое многообразие геморрагического васкулита

Цель исследования: изучить клинико-лабораторные особенности течения геморрагического васкулита у детей в Республике Бурятия. **Пациенты и методы:** в исследовании участвовали 27 пациентов в возрасте $7,6 \pm 4,02$ года, которым были проведены клинико-лабораторные обследования, в т.ч. иммунологическое исследование содержания антител к фосфолипидам, генетическое исследование маркеров кандидатных генов тромбофилий. **Результаты:** показано, что геморрагическим васкулитом чаще болеют дети бурятской национальности. В 96% случаев встречаются смешанные клинические формы заболевания. У 63% детей геморрагическому васкулиту предшествуют различные факторы, в большем проценте случаев — инфекционные заболевания. Первым клиническим симптомом у 63% больных является типичная пурпурозная геморрагическая сыпь. Результаты клинико-лабораторных анализов крови не выявили значимых отклонений. Циркуляция волчаночного антикоагулянта определена у 37% исследуемых. Обнаружены антитела к кардиолипину класса М у 3 детей, антитела β_2 к гликопротеину-I класса А — у 4, класса М — у 1 пациента. Носителями полиморфизмов генов тромбофилий были 95% обследованных. Отмечено, что гомозиготные варианты полиморфизмов генов метилентетрагидрофолатредуктазы и ингибитора активатора плазминогена-1 коррелируют с наличием мочевого синдрома и рецидивированием сыпи. **Выводы:** результаты исследования демонстрируют риск развития рецидивирующего течения геморрагического васкулита и нефрита Шенлейна–Геноха у детей-носителей полиморфизма генов тромбофилий.

Ключевые слова: дети, геморрагический васкулит, пурпура Шенлейна–Геноха, тромбофилии, антифосфолипидные антитела. (Вестник РАМН. 2014; 3–4: 61–64)

61

Введение

Геморрагический васкулит (ГВ, или пурпура Шенлейна–Геноха) по классификации системных васкулитов относится к васкулитам с поражением мелких сосудов. Особенностью этого заболевания является то, что ему подвержены преимущественно дети. Распространен-

ность ГВ в детском возрасте составляет 10–20 случаев на 100 тыс. детского населения [1]. Патогенетическая основа заболевания хорошо известна и характеризуется отложением циркулирующих иммунных комплексов на базальной мембране сосудов с вторичным запуском тромбогенеза [2]. Клинические симптомы ГВ (кожная пурпура, артриты, абдоминальные боли, мочевого синдром) также

L.V. Zhdanova^{1,2}, L.I. Patrushev³, V.V. Dolgich¹, A.B.-G. Bimbaev¹, O.C. Choicova¹

¹ Scientific Centre for Problems of Family Health And Human Reproduction, Irkutsk, Russian Federation

² Buryat State University, Ulan-Ude, Russian Federation

³ Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russian Federation

The Contribution of Genes Polymorphism of Thrombophilia in Clinical Variability of Hemorrhagic Vasculitis

Background: The article is devoted to the study of clinical and laboratory characteristics of the current of hemorrhagic vasculitis in children in the Republic of Buryatia. **Patients and methods:** The study included 27 patients aged $7,6 \pm 4,02$ years, who conducted clinical and laboratory tests, immunological study of antiphospholipids of antibodies, genetic testing for thrombophilia markers of candidate genes. **Results:** The results showed that hemorrhagic vasculitis often affects children of Buryat nationality. In 96% of cases there are mixed clinical forms of the disease. 63% of children of hemorrhagic vasculitis preceded by various factors, a higher percentage of infectious diseases. The first clinical symptom in 63% of patients is a typical purpura hemorrhagic rash. Results of clinical laboratory blood tests revealed no significant deviations. Circulation of lupus anticoagulant was detected in 37% of subjects. The aCL IgM detected in 3 children, $\alpha\beta_2$ -GP-I IgA — in 4, $\alpha\beta_2$ -GP-I IgM — in 1 patient. Carriers of thrombophilia polymorphisms were in 95% of children. Noted that homozygous variants of genes polymorphisms of methylenetetrahydrofolatereductase and plasminogen activator inhibitor-1 correlate with the presence of urinary symptoms and recurrence of the rash. **Conclusion:** The study shows the risk of recurrent flow of hemorrhagic vasculitis and nephritis of Henoch–Schonlein in children with thrombophilia gene polymorphism.

Key words: children, hemorrhagic vasculitis, Henoch–Schonlein purpura, thrombophilia, antiphospholipid antibodies.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 3–4: 61–64)

хорошо изучены и являются основными диагностическими критериями. Анализ литературных данных показал, что были предприняты попытки изучения зависимости тех или иных клинических проявлений от возраста [3], этнической принадлежности [4, 5], полиморфизма генов тромбофилий [6]. Результаты исследований противоречивы и позволяют судить о том, что на развитие различных клинических форм влияют множество факторов.

Цель исследования: изучить клинико-лабораторные особенности течения ГВ и определить распространенность полиморфизма генов, ответственных за тромбофилию, у детей, проживающих в Республике Бурятия.

Задачи исследования:

- изучить клинические и лабораторные особенности течения ГВ у детей Республики Бурятия;
- оценить частоту циркуляции антифосфолипидных антител (аФЛ) у детей с ГВ;
- определить частоту распространенности полиморфизма генов, участвующих в повышении риска тромбообразования у детей с ГВ;
- определить зависимость клинических проявлений ГВ от различных вариантов полиморфизма генов тромбофилий.

62

Пациенты и методы

Участники исследования

Проспективно обследовано 27 пациентов в возрасте 0–17 лет, госпитализированных по поводу ГВ в ДРКБ г. Улан-Удэ. ДРКБ является многопрофильным лечебным учреждением, где централизованно получают лечение дети с различной хронической патологией, в т.ч. с ауто-воспалительными заболеваниями, чем и объясняется 100% концентрация в ней детей с ГВ.

Методы исследования

Проведено лабораторное и инструментальное обследование, принятое в ДРКБ, в т.ч. исследование системы гемостаза, иммунологическое определение антифосфолипидных антител (антител к кардиолипину, антител к β_2 -гликопротеину-I, $a\beta_2$ -ГП-1) и ПЦР-диагностика ДНК генов-маркеров тромбофилий (Лейден-мутация, мутация протромбина, полиморфизм C677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы, полиморфизм 4G/5G гена ингибитора плазминогена-1).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США). Применяли методы описательной статистики, непараметрические статистические критерии. Взаимосвязь между признаками оценивали методом ранговой корреляции по Спирмену. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Таблица 1. Клинические формы геморрагического васкулита

Клиническая форма	Число детей
Кожная	1
Кожно-суставная	10
Кожно-почечная	3
Кожно-суставно-почечная	2
Кожно-суставно-абдоминальная	6
Кожно-абдоминальная	4
Кожно-суставно-абдоминально-почечная	1
Всего:	27

Результаты

Средний возраст пациентов, вошедших в исследование, составил $7,6 \pm 4,02$ года, возраст на момент начала заболевания — $7,3 \pm 4,05$ года. Из числа заболевших было 15 девочек и 12 мальчиков. По национальной принадлежности достоверно преобладали лица бурятской национальности: 23 против 4 русских ($p < 0,05$). У 26 (96%) детей диагностированы смешанные клинические формы ГВ, лишь у 1 — изолированная кожная форма (табл. 1). Как видно из табл. 1, в большинстве случаев в клинической картине преобладали кожная и суставная форма.

У 17 (63%) детей обнаружены предшествующие заболеванию факторы: острые респираторные инфекции — у 8 (47%), ангина — у 3 (18%), диарея — у 1 (6%), триггерные продукты питания — у 2 (12%), укусы насекомых — у 1 (6%). У большинства больных первым симптомом заболевания была геморрагическая пурпурозная сыпь с типичной локализацией — 17 (63%), вторым по частоте симптомом была абдоминальная боль — 8 (30%); в 2 (7%) случаях заболевание началось с появления ангионевротического отека вокруг суставов.

Исследование клинического анализа крови не продемонстрировало существенных изменений (табл. 2).

По результатам биохимического анализа крови, у 7 (26%) пациентов выявлены положительные титры антистрептолизина-О (АСЛ-О), при этом они коррелировали с высокой концентрацией С-реактивного белка ($r = 0,45$; $p = 0,02$), что свидетельствует об остром воспалительном процессе, связанном со стрептококковой инфекцией.

Исследование системы гемостаза у детей с ГВ показало, что средний показатель активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) был равен $38,9 \pm 5,8$, т.е. отмечалась склонность к гипокоагуляции. Однако АЧТВ коррелировало с волчаночным антикоагулянтом ($r = 0,63$; $p = 0,03$). Этим можно объяснить тот факт, что у детей с ГВ увеличение АЧТВ обусловлено циркуляцией волчаночного антикоагулянта, наличие которого, несмотря на увеличение риска тромбообразования, со-

Таблица 2. Показатели клинического анализа крови

Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $\times 10^{12}$	Лейкоциты, $\times 10^9$	Тромбоциты, $\times 10^9$	СОЭ, мм/ч	Лейкоцитарная формула
$127,5 \pm 12,1$	4,47	$8,8 \pm 2,9$	$370,1 \pm 84,4$	$13,7 \pm 9,8$	Без особенностей: 12 (44%) Нейтрофилез: 7 (26%) Эозинофилия: 5 (19%) Лимфоцитоз: 3 (11%)

Таблица 3. Варианты полиморфизма генов тромбофилий

Исследуемая точка гена	Полиморфизм		Число образцов
	Гомозигота	Гетерозигота	
<i>C677T MTHFR</i>	5	7	22
<i>4G/5G PAI-1</i>	7	12	22
<i>T5C</i> тромбоцитарного гликопротеина 1В	—	2	4
<i>T145M</i> тромбоцитарного гликопротеина 1В	—	1	4
Тромбоцитарный рецептор фибриногена	—	1	4
Сочетание гомозиготных вариантов	3		22
Всего:	12	23	—

Таблица 4. Клинические особенности течения геморрагического васкулита у детей с гомозиготными вариантами полиморфизма генов тромбофилий

Симптом	<i>C677T MTHFR</i>	<i>4G/5G PAI-1</i>	Сочетание <i>C677T MTHFR</i> и <i>4G/5G PAI-1</i>
Мочевой, <i>n</i>	1	2	3
Рецидивирование сыпи, <i>n</i>	0	4	2
Всего:	1	6	5

проводяется увеличением АЧТВ в коагуляционно-зависимых тестах. Более значимых изменений по результатам коагулограммы обнаружено не было.

Проведены исследования антифосфолипидных антител. В коагуляционно-зависимых тестах выявлено, что у 10 (37%) пациентов имела место циркуляция волчаночного антикоагулянта. В низкопозитивных уровнях он обнаружен у 6 (60%), в среднепозитивных — у 3 (40%) детей; высокопозитивный уровень выявлен у девочки, у которой клинические признаки заболевания характеризовались наличием некротической сыпи и выраженным ангионевротическим отеком. Помимо циркуляции волчаночного антикоагулянта у нее определялись положительные титры антител к β_2 -гликопротеину I ($\alpha\beta_2$ -ГП-I) — кофактору связывания антифосфолипидных антител с фосфолипидами сосудистой стенки, обуславливающему повышенную склонность к тромбообразованию.

Мы не обнаружили антитела класса G к кардиолипину и $\alpha\beta_2$ -ГП-I, что исключило антифосфолипидный синдром как возможную причину ГВ. Однако у 3 (20%) из 15 исследуемых определялись антитела к кардиолипину класса M, у 4 (27%) — $\alpha\beta_2$ -ГП-I IgA, у 1 (7%) — $\alpha\beta_2$ -ГП-I IgM, что свидетельствует в пользу вторичной продукции антифосфолипидных антител на фоне воспалительного процесса.

22 пациентам проведено обследование на носительство полиморфизмов генов, ответственных за повышенное тромбообразование. Такие мутации, как Лейден и мутация гена протромбина, обнаружены не были. Иные варианты полиморфизмов генов тромбофилий определены у 21 (95%) исследуемого (табл. 3).

Анализ особенностей клинических проявлений ГВ показал, что наличие мочевого синдрома коррелировало с сочетанием гомозиготных вариантов полиморфизма генов *MTHFR* и *ИПА-1* ($r = 0,74$; $p = 0,003$), а также с гомозиготным вариантом полиморфизма *C677T* гена *MTHFR* ($r = 0,61$; $p = 0,05$). Отмечено, что у детей, имеющих сочетание гомозиготных вариантов полиморфизма генов *MTHFR* и *ИПА-1*, также имело место длительное рецидивирование сыпи (табл. 4).

Обсуждение

По нашим данным, среднее время дебюта ГВ приходится преимущественно на дошкольный и младший школьный возраст, по половому признаку в небольшом проценте преобладают девочки, что согласуется с литературными данными. Развитию ГВ чаще всего предшествуют инфекционные заболевания, что объясняет его иммунопатологический характер, который подтверждается выработкой АСЛ-О и антифосфолипидных антител. Следует отметить, что течение ГВ практически у всех больных имеет характер смешанной формы; нередко суставной и абдоминальный синдром предшествуют появлению характерной симметрично расположенной пурпурозной сыпи с преимущественной локализацией на нижних конечностях, которая в дальнейшем является основным критерием для диагностики заболевания. Однако носительство полиморфизма кандидатных генов тромбофилий также вносит определенный вклад в клиническую картину заболевания, и результаты данного исследования показывают, что ГВ у пациентов с наличием генетических маркеров тромбофилий приобретает характер рецидивирующего течения и нередко приводит к развитию нефрита Шенлейна–Геноха.

Заключение

Исследование показало, что достоверно чаще ГВ встречается у детей бурятской национальности. В большинстве случаев клиническая картина заболевания имеет смешанный характер и проявляется кожным, суставным и абдоминальным симптомами. У 1/3 детей обнаружена циркуляция волчаночного антикоагулянта, что служит доказательством повышенного тромбообразования вследствие иммунного повреждения сосудистой стенки. Носительство полиморфизма генов, ответственных за тромбофилию в гомозиготном варианте, сопровождается вовлечением в воспалительный процесс капилляров клубочков почек с развитием нефрита Шенлейна–Геноха и обуславливает рецидивирующее течение ГВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gardner-Medwin J.M., Dolezalova P., Cummins C., Southwood T.R. Incidence of Henoch–Schonlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins. *Lancet*. 2002; 360: 1197–1202.
2. Rotocer G. Shonlein–Henoch purpura in children and adults: diagnosis, pathophysiology and management. *Bio-Drugs*. 2001; 15 (2): 99–138.
3. Garcia-Porrúa C., Calvino M.C., Lloca J., Couselo J.M., Gonzales-Gay M.A. Henoch–Schonlein purpura in children and adults: clinical differences in defined population. *Sem. Arthritis & Rheum*. 2002; 32: 149–156.
4. Calvino M.C., Llorca J., Garcia-Porrúa C., Fernandez-Iglesias J.L., Rodriguez-Ledo P., Lin S.J., Huang J.L. Henoch–Schonlein purpura in children from northwestern Spain: a 20-year epidemiologic and clinical study. *Medicine*. 2001; 80: 279–290.
5. Lin S.J., Huang J.L. Henoch–Schonlein purpura in Chinese children and adults. *Asian Pacific J. Allergy & Immunol*. 1998; 16: 21–25.
6. Ширинбекова Н.В. Генетические аспекты тромбофилий у детей с пурпурой Шейляйн–Геноха. *Педиатр*. 2012; 3: 64–66.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Жданова Лариса Владимировна, кандидат медицинских наук, заместитель директора Бурятского филиала НЦ ПЗСиРЧ, старший преподаватель ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет»

Адрес: 670042, Улан-Удэ, пр-т Строителей, д. 2а, тел.: (3012) 45-19-13, (3012) 33-37-73, e-mail: l.zhdanova@mail.ru

Патрушев Лев Иванович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией генома человека ИБХ РАН

Адрес: 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16, тел.: (499) 429-86-10, e-mail: patrush@mx.ibch.ru

Долгих Владимир Валентинович, доктор медицинских наук, главный врач Клиники ПЗСиРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: (3952) 20-73-67, e-mail: iphr@sbamsr.ir.ru

Бимбаев Аюр Бато-Жаргалович, кандидат медицинских наук, директор Бурятского филиала НЦ ПЗСиРЧ

Адрес: 670042, Улан-Удэ, пр-т Строителей, д. 2а, тел.: (3012) 45-19-18, e-mail: drbol@buriatia.ru

Хойкова Ольга Чингисовна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией Бурятского филиала НЦ ПЗСиРЧ

Адрес: Улан-Удэ, пр-т Строителей, д. 2а, тел.: (3012) 45-19-13, e-mail: khoikova@mail.ru