

**СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА  
И ХАРАКТЕР АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ,  
АССОЦИИРОВАННЫХ С ДИСФУНКЦИЕЙ ГЕМОСТАЗА,  
У ДЕТЕЙ С ПЕРВИЧНЫМ И ВТОРИЧНЫМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ**

Папаян К.А.\* , Капустин С.И.\*\* , Савенкова Н.Д.\* , Головина О.Г.\*\* , Тарковская Л.Р.\*\* ,  
Папаян Л.П.\*\* , Качанова Т.Л.\*\*\*

\* Кафедра факультетской педиатрии ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава» России; e-mail: *papayan@inbox.ru*;

\*\* Лаборатория свертывания крови, лаборатория биохимии ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» России; Санкт-Петербург

\*\*\* Кафедра автоматики и процессов управления Государственного электротехнического университета «ЛЭТИ», Санкт-Петербург

**Резюме**

У 151 больного ребенка: 31 с гормоночувствительным нефротическим синдромом (НС); 95 – хроническим гломерулонефритом (ГН) и 25 – с вторичным ГН при системных васкулитах исследованы показатели коагуляционного гемостаза и характер аллельного полиморфизма генов, ассоциированных с дисфункцией гемостаза.

В результате проведенного исследования у пациентов первичным и вторичным гломерулонефритом установлены определенные различия в коагуляционном статусе и характере аллельного полиморфизма генов, ассоциированных с дисфункцией гемостаза. Признаки гиперкоагуляции выявлены у лиц 1-й и 3-й группы. Большая выраженность гиперкоагуляции характеризовала пациентов 1-й группы с гормоночувствительным НС, у которых в отличие от больных 3-й группы с вторичным ГН, ассоциированным с системным васкулитом, активность антитромбина была достоверно снижена. У больных 2-й группы с хроническим ГН показатели гемокоагуляции статистически значимо не отличались от аналогичных показателей группы сравнения и были соответственно ниже, чем у больных двух других групп. Отличительной особенностью больных с хроническим ГН являлось увеличение активности антитромбина по сравнению с контрольной группой. Наибольшая выраженность гиперкоагуляции наряду с высокой частотой встречаемости

мутации FV Leiden – 12,9% (OR=3,2; p=0,07) характеризовала только пациентов с НС, что свидетельствует о роли тромбофилического статуса в развитии наиболее тяжелых проявлений гломерулонефрита.

**Ключевые слова:** дети, гломерулонефрит, гемостаз, тромбофилия, полиморфизм генов

**THE STATE OF HEMOSTASIS AND THE CHARACTER OF ALLELIC  
POLYMORPHISM OF GENES ASSOCIATED WITH DYSFUNCTION OF  
HEMOSTASIS IN CHILDREN WITH PRIMARY AND SECONDARY  
GLOMERULONEPHRITIS**

Papayan K. \*, Kapustin S. \*\*, Savenkova N. \*, Golovina O. \*\*, Tarkovskaya L. \*\*,  
Papayan L. \*\*, Kachanova T. \*\*\*

\* The Department of faculty Pediatric, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, e-mail: *papayan@inbox.ru*;

\*\* Laboratory of blood coagulation, laboratory of biochemistry, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology; Saint-Petersburg

\*\*\* Department of automation and control processes, St. Petersburg state Electrotechnical University «LETI»

**Summary**

In 151 patients: 31 with hormone-sensitive nephrotic syndrome (NS); 95 with primary chronic glomerulonephritis (GN) and 25 patients with secondary GN in systemic vasculitis investigated indicators of coagulation hemostasis and the nature of allelic polymorphism of genes associated with dysfunction of hemostasis.

As a result of the study, the patients with primary and secondary glomerulonephritis defined some differences in coagulation status and nature of allelic polymorphism of genes associated with dysfunction of hemostasis. Signs of hypercoagulability identified in persons of the 1st and 3rd groups. A large degree of hypercoagulability characterized patients of the 1st group with hormone-sensitive nephrotic syndrome, which is in contrast to the patients of the 3rd group with secondary GN, associated with systemic vasculitis, the activity of antithrombin was significantly

reduced. In patients of the 2nd group with chronic GN blood coagulation statistically not significantly different from those of the normal group and were correspondingly lower than in patients with other two groups. A distinctive feature of patients with chronic GN was the increased activity of antithrombin compared with the control group. The greatest intensity of hypercoagulation along with high frequency of occurrence of mutation FV Leiden – 12, 9% (OR=3,2; p=0.07) characterized only patients with NS, which indicates the role of thrombophilic status in the development of the most severe forms of glomerulonephritis.

**Key words:** children, glomerulonephritis, hemostasis, thrombophilia, the polymorphism of genes.

### **Введение**

Актуальность проблемы изучения состояния гемостаза и аллельного полиморфизма генов, ассоциированных с усилением гемостатического потенциала крови, обусловлена их вкладом в развитие почечной недостаточности при нефротическом синдроме (НС) и гломерулонефритах у детей [1–8]. При этом выраженность изменений в системе гемостаза и характер аллельного полиморфизма тромбофилических генов у больных с различными формами гломерулонефрита исследованы недостаточно.

### **Цель исследования**

Изучить особенности состояния гемостаза и характер аллельного полиморфизма генов, ассоциированных с дисфункцией гемостаза, у больных детей с первичным и вторичным гломерулонефритом (ГН).

### **Материалы и методы**

В исследование включен 151 пациент в возрасте от 1 г 4 мес. до 18 лет с гломерулонефритом (ГН) и нефротическим синдромом (НС), из которых были сформированы 3 группы. В 1-ю группу вошел 31 больной с гормоночувствительным НС (22 мальчика и 9 девочек); во 2-ю – 95 больных (30 девочек и 65 мальчиков) с хроническим ГН (IgA нефропатия, мезангио-пролиферативный, мембранозно-пролиферативный, фокально-сегментарный гломерулосклероз), в 3-ю - 25 детей (18 девочек и 7 мальчиков) с вторичным ГН при системных васкулитах (ANCA-ассоциированном, системной красной волчанке, пурпуре Шенлейна-Геноха). У всех больных исследовали показатели гемостаза: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновый показатель по Квику, тромбиновое время, концентрацию фибриногена, активность фактора VIII свертывания крови,

активность фактора Виллебранда, активность антитромбина, время лизиса эуглобулиновой фракции плазмы (Хагеман-зависимый лизис). Оценка состояния системы гемостаза проводилась в сравнении с результатами, полученными в группе здоровых лиц без тромботических осложнений в анамнезе. Детекцию аллельных вариантов генов метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR C677T), фактора II (протромбин, G20210A), фактора V (G1691A, FV Leiden), фактора I (фибриноген, G-455A), ингибитора активатора плазминогена (PAI-I -675 4G/5G) и гликопротеина IIIa (GpIIIa, T1565C) осуществляли с помощью метода ПЦР. Контрольную группу составили 228 здоровых лиц, не имевших в анамнезе тромботических осложнений. Для проверки соответствия закона распределения значений показателей в группах использованы критерии согласия Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Для выявления значимых различий между выборками применены критерий Стьюдента, двухсторонний и односторонний критерии Манна-Уитни, точный критерий Фишера. Во всех случаях статистическая значимость различий принималась при значении  $p < 0,05$ .

### Результаты

Исследование системы гемостаза выявило наличие признаков гиперкоагуляции у пациентов 1-й группы с гормоночувствительным НС. Подтверждением сказанному служили изменения показателей общих скрининговых тестов: уменьшение индекса АПТВ ( $p < 0,01$ ), повышение протромбинового показателя ( $p < 0,05$ ), концентрации фибриногена ( $p < 0,005$ ), а также увеличение активности факторов VIII ( $p < 0,05$ ) и Виллебранда ( $p < 0,05$ ). Увеличение времени лизиса эуглобулиновой фракции плазмы ( $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой) свидетельствовало об угнетении фибринолитической активности крови у больных с НС (таблица 1).

У больных 2-й группы с хроническим ГН показатели гемокоагуляции статистически значимо не отличались от аналогичных показателей группы сравнения. Отличительной особенностью данной группы пациентов было увеличение активности антитромбина по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), установленное с помощью одностороннего критерия Манна-Уитни (таблица 1).

У пациентов 3-й группы, страдающих вторичным ГН, ассоциированным с системным васкулитом, как и у больных 1-й группы, установлены признаки гиперкоагуляции при сравнении с контрольной группой. Об этом свидетельствовали уменьшение индекса АПТВ ( $p < 0,005$ ), повышение концентрации фибриногена ( $p < 0,005$ ), увеличение активности факторов VIII ( $p < 0,001$ ) и Виллебранда ( $p < 0,005$ ). На фоне

выявленных признаков гиперкоагуляции показатели, отражающие состояние противосвертывающей системы крови, у пациентов 3-й группы или сохранялись в норме (Хагеман-зависимый лизис) или превышали значения в контрольной группе (активность антитромбина,  $p < 0,05$ ). Аналогичная картина со стороны показателей противосвертывающей системы характеризовала и пациентов 2-й группы.

Таблица. 1.

**Показатели плазменного звена гемостаза у пациентов с различными вариантами хронического гломерулонефрита**

| Показатели                            | Контрольная группа<br>n=228 | 1-я группа<br>n=31               | 2-я группа<br>n=95     | 3-я группа<br>n=25            |
|---------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Индекс АПТВ                           | 1,06 (1,0; 1,095)           | 0,94 (0,84; 1,08)***, ++         | 1,03 (0,93; 1,11)      | 0,96 (0,8; 1,05)***, +++      |
| Фактор VIII, %                        | 100 (82; 122)               | 162,0 (83,5; 277)**, ++          | 113,0 (81; 153)*       | 202,5 (146,25; 280,75)**, +++ |
| Фактор Виллебранда, %                 | 97 (84,5; 110)              | 112,5 (73,5; 146,25)*            | 103,5 (80; 138)*       | 120,0 (98; 184)**, +++        |
| Протромбиновый показатель по Квику, % | 93 (90; 105,4)              | 102,0 (91,25; 108,5)*, ++        | 92,5 (88; 101,5)       | 96,0 (87; 108)                |
| Фибриноген, г/л                       | 2,73 (2,54; 2,93)           | 3,84 (2,48; 5,01)***             | 2,88 (2,3; 4,0)        | 3,42 (2,9; 3,88)***           |
| Тромбиновое время, с                  |                             | 16,95 (14,73; 19,55)             | 16,8 (14,25; 19,68)    | 16,8 (13,4; 21,8)             |
| Активность антитромбина, %            | 94 (81,0; 106,0)            | 96,5 (83,75; 105,0) <sup>+</sup> | 100,0 (89,5; 108)*     | 103,0 (99,5; 115,75)**        |
| Хагеман-зависимый лизис, с            | 335 (270; 435)              | 410 (328,75; 693,75)*            | 357,5 (298,75; 488,75) | 370,0 (272,5; 390,0)          |

**Примечание:** данные представлены в виде Me (25; 75%)

\* – изменения статистически значимы по сравнению со здоровыми лицами (односторонний критерий Манна-Уитни);

\*\* – изменения статистически значимы по сравнению со здоровыми лицами (двухсторонний критерий Манна-Уитни)

\*\*\* – изменения статистически значимы по сравнению со здоровыми лицами (двухсторонний критерий Стьюдента).

+ – изменения статистически значимы между 1-й и 3-й группой

++ – изменения статистически значимы между 1-й и 2-й группой

+++ – изменения статистически значимы между 3-й и 2-й группой

Для определения степени выраженности гемокоагуляционных изменений в зависимости от варианта хронического ГН провели сравнительный анализ результатов исследования между отдельными группами, который подтвердил наличие характерных признаков гиперкоагуляции для лиц 1-й и 3-й группы. В то же время большая выраженность гиперкоагуляции характеризовала пациентов 1-й группы с гормоночувствительным НС, у которых в отличие от больных 3-й группы с вторичным ГН, ассоциированным с системным васкулитом, активность антитромбина была достоверно ниже ( $p < 0,005$ ) (таблица 1). Сравнение результатов исследования в 1-й и 3-й группах с данными, полученными во 2-й группе, подтвердило меньшую выраженность изменений в системе гемостаза у лиц с первичным хроническим ГН (2-я группа), по сравнению с пациентами, страдающими гормоночувствительным НС и вторичным ГН, ассоциированным с системным васкулитом.

Исследование полиморфизма генов, ассоциированных с дисфункцией гемостаза у детей первичным и вторичным гломерулонефритом выявило следующие особенности. Мутация FV Leiden среди всей группы обследованных больных обнаружена у 9 (6,0%) пациентов, что несколько выше, чем у здоровых. Высокая частота мутации FV Leiden выявлена среди пациентов с НС 12,9% ( $OR=3,2$ ;  $p=0,07$ , при сравнении с группой контроля). Мутация в гене протромбина обнаружена у двух пациентов общей группы (1,3%) по сравнению с 2,2% в контроле. Низкая доля гомозигот по аллелю 677Т гена MTHFR зарегистрировано в общей группе больных – 6 (4,0%) по сравнению с 10,1% в контрольной группе ( $OR=0,4$ ;  $p=0,03$ ). Больных с НС с таким генотипом не выявлено. Анализ аллельного полиморфизма обнаружил увеличение доли лиц с гомозиготным генотипом GrIIa 1565CC в общей группе больных (4,0% против 0,9% в группе здоровых,  $OR=4,7$ ;  $p=0,063$ ). Наиболее высокая частота этого генотипа обнаружена у пациентов с вторичным ГН при системных васкулитах (12,0%,  $OR=15,4$ ;  $p < 0,01$ , при сравнении с контролем), в отличие от больных с НС, у которых такой генотип не встречался. Доля гетерозигот по гену GrIIa оказалась наиболее высокой у пациентов с НС – 38,7%, а самой низкой у пациентов с гломерулонефритом при системных васкулитах (12% по сравнению с 32% в контроле,  $OR=0,3$ ;  $p=0,04$ ).

### **Обсуждение**

Наличие наследственной предрасположенности к тромботическим осложнениям при хроническом гломерулонефрите в последнее время обсуждается как значимый фактор усиления гемостатического потенциала крови, приводящего к тромботическим эпизодам и

процессам склерозирования гломерул [9, 10]. Тромботические осложнения различной локализации описаны у 2–5% больных с нефротическим синдромом, при этом более высокий риск тромботических осложнений отмечают у стероид-резистентных пациентов [11]. Повышение риска тромбоэмболических осложнений при гломерулонефритах связывают с наличием в анамнезе до данного заболевания тромботических событий, а также врождённого нефротического синдрома и мембранозной нефропатии. В качестве других причин тромбоэмболических событий приводят возраст пациентов старше 12 лет, когда им впервые был установлен диагноз нефротического синдрома, снижение объема циркулирующей крови, повышение в плазме крови высокомолекулярных прокоагулянтов, таких как острофазные белки, фибриноген и фактор VIII, снижение антикоагулянтной фракции в результате потери с мочой антитромбина и протеина S, дислипидемию [12, 13]. В свете этих данных пациентам, имеющим выраженные признаки гиперкоагуляции, и в особенности носителям тромбофилических генов, рекомендуют антикоагулянтную терапию [12]. При первом эпизоде венозного тромбоэмболизма назначают начальный 3-месячный курс антикоагулянтов, затем тромбопрофилактика антикоагулянтами пролонгируется, пока хроническое заболевание не перейдёт в стадию ремиссии. Активно дискутируется необходимость профилактической антикоагулянтной терапии адекватными дозами низкомолекулярного гепарина, либо назначение этого препарата только тем пациентам, у которых присутствует высокий риск тромбоэмболизма, связанный, например, с присутствием дополнительных факторов риска, таких как операции, малигнизация, наличие в анамнезе тромбоза [14, 15].

### **Выводы**

Таким образом, в результате проведённого исследования у пациентов первичным и вторичным гломерулонефритом установлены определенные различия в коагуляционном статусе и характере аллельного полиморфизма генов, ассоциированных с дисфункцией гемостаза. Признаки гиперкоагуляции выявлены у лиц 1-й и 3-й группы. Большая выраженность гиперкоагуляции характеризовала пациентов 1-й группы с гормоночувствительным НС, у которых в отличие от больных 3-й группы с вторичным ГН, ассоциированным с системным васкулитом, активность антитромбина была достоверно снижена. У пациентов 2-й группы с хроническим ГН показатели гемокоагуляции не отличались от нормы и соответственно были ниже, чем у больных 1-й и 3-й группы. Отличительной особенностью больных с хроническим ГН было увеличение активности антитромбина по сравнению с контрольной группой.

Наибольшая выраженность гиперкоагуляции наряду с высокой частотой встречаемости мутации FV Leiden характеризовала только пациентов с НС, что свидетельствует о важной роли тромбофилического статуса в развитии наиболее тяжелых проявлений гломерулонефрита.

## Литература

1. Мовчан, Е.А. Дисфункция эндотелия и тромбоцитов при хронической болезни почек: новый взгляд на старую проблему нарушений в системе гемостаза у больных гломерулонефритом. / Е.А. Мовчан // Бюллетень сибирской медицины – 2008. – Приложение 2. – С. 88-96.
2. The nephrotic syndrome: pathogenesis and treatment of edema formation and secondary complications. / M.A. Cadnapaphornchai, O. Tkachenko, D. Shchekochikhin, R.W. Schrier // *Pediatr Nephrol.* – 2014. – Vol. 29, №7. – P. 1159-1167.
3. Sagripanti, A. Hypercoagulability Intraglomerular Coagulation, and Thromboembolism in Nephrotic Syndrome / A.Sagripanti, G.Barsotti // *Nefron.* – 1995. – Vol. 70. – P. 271-281.
4. Bauman, M. Disordered Hemostasis and Renal Disorders. / M. Bauman, M.P. Massicotte, V. Yiu // “Comprehensive pediatric nephrology” Chapter 26. Edited by Geary D.F., Schaefer F. – 1st ed. Mosby, 2008 – P. 385-394.
5. Детская нефрология: руководство для врачей. / под ред. Игнатовой М.С. 3-е изд., перераб. и доп. М. : ООО «Медицинское информационное агенство», 2011. – 696 с.
6. Алексеев, Н.А. Гематология и иммунология детского возраста. / Н.А. Алексеев СПб : Гиппократ, 2009. – 1044 с.
7. Панютина, Я.В. Нарушения гемостаза при нефротическом синдроме гломерулонефрита / Я.В. Панютина, К.А. Папаян, Н.Д. Савенкова // *Нефрология.* 2004. – Т. 8, № 4. – С. 32-40.
8. Панютина, Я.В. Нарушения гемокоагуляционного звена гемостаза у детей с нефротическим синдромом с минимальными изменениями : автореферат дис. ... канд. мед. наук. / Панютина Яна Викторовна – СПб, 2007.
9. Функциональное состояние почек и почечной гемодинамики у детей с наследственной тромбофилией / О.Л. Чугунова, М.В. Шумихина, Н.Л. Козловская, А.И. Гуревич. // *Нефрология и диализ.* – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 224-235.
10. Система самозащиты почки: современный взгляд на механизмы, определяющие течение и исход гломерулонефрита / И.Н. Бобкова, Н.В. Чеботарева, Л.В. Козловская [и др.] // *Нефрология и диализ.* – 2013. – №15(3). – С. 174-183.
11. Management of Childhood Onset Nephrotic Syndrome / Debbie S.Gipson, Susan F.Massengill, Lynne Yao, Shashi Nagaraj, William E.Smoyer, John D.Mahan, [et al.] // *Pediatrics.* – 2009. – Vol. 124. – P. 747-757.

12. Kerlin, B.A. Venous thromboembolism in pediatric nephritic syndrome. / B.A. Kerlin, K. Haworth, W.E. Smoyer // *Pediatr Nephrol.* – 2014. – Vol. 29. – P. 989-997.
13. The nephrotic syndrome: pathogenesis and treatment of edema formation and secondary complications. / M.A. Cadnapaphornchai, O. Tkachenko, D. Shchekochikhin, R.W. Schrier // *Pediatr. Nephrol.* – 2014. – Vol. 29., № 7. – P.1159-1167.
14. Панютина, Я.В. Нарушения в системе гемостаза у детей с нефротическим синдромом. / Я.В. Панютина, Н.Ю. Наточина, К.А. Папаян // *Клиническая нефрология детского возраста.* – СПб, Левша, 2008. – С. 502-508.
15. Чупрова, А.В. Антикоагулянтная терапия гломерулонефритов: обоснование, стратегия, тактика использования. / А.В. Чупрова, С.А. Лоскутова // *Материалы III Конгресса педиатров-нефрологов России.* – (Санкт-Петербург, декабрь 2003 г.). СПб : Издание СПбГПМА, 2003. – С. 49-52.