

И.Б. Комарова<sup>1</sup>, В.П. Зыков<sup>1</sup>, Л.В. Ушакова<sup>2</sup>**ЗНАЧИМОСТЬ ФАКТОРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ТРОМБОЗОМ, ДЛЯ РАЗВИТИЯ И ПРОГНОЗА АРТЕРИАЛЬНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У ДЕТЕЙ**<sup>1</sup>Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования,<sup>2</sup>Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, Москва, РФ

**Цель исследования:** оценить значимость факторов, ассоциированных с тромбозом, в развитии артериального ишемического инсульта (АИИ) и их влияние на исход заболевания. **Материалы и методы исследования:** включены больные с АИИ,  $n=58$  (40 мальчиков), средний возраст  $4,99 \pm 4,1$  лет – основная группа, и здоровые дети,  $n=31$  (19 мальчиков), средний возраст  $5,6 \pm 3,7$  лет – группа контроля. В основной группе изучали частоту встречаемости носительства мутаций фактора V G1691 (Лейден), гена протромбина G20210A, полиморфизмов генов  $\beta$ -цепи фибриногена 455G>A, ингибитора активатора плазминогена 675 4G/5G, тромбоцитарных рецепторов (GPIIa C1565T, GPIb -5T>C, GPIIc807T, SELPLGM621 G>A), генов цикла обмена гомоцистеина (ГЦ) (MTHFR C667T, MTR A2756G, MTRR A66G); активность в крови протеинов С, S и антитромбина III (АТIII); концентрацию в крови Д-димера, фибриногена, ГЦ, витамина B<sub>12</sub> и фолиевой кислоты (ФК). В группе контроля проводили только генотипирование. **Результаты:** встречаемость мутаций и полиморфизмов генов, ассоциированных с тромбозом, в сравниваемых группах достоверно не различалась. Средние значения остальных показателей у больных с АИИ соответствовали референсным границам. Снижение активности протеина С выявлено у 5 (8,6%), протеина S – у 6 (10,3%), АТIII – у 6 (10,3%) пациентов. Распределение содержания Д-димера отличалось широким разбросом, повышение его уровня отмечено в 12 (22,4%) случаях. Уровень фибриногена был повышен у 7 (12,1%) больных. Гипергомоцистеинемия выявлялась в 14 (24,1%) случаях. На уровень ГЦ (в сторону повышения) влияло носительство полиморфных аллелей MTHFR и низкая концентрация ФК в плазме. Дефицит ФК выявлен у 21 (36,2%) больного. Изучаемые показатели не были значимы для течения и исхода АИИ. **Заключение:** больные АИИ характеризовались частой встречаемостью гипергомоцистеинемии, дефицита фолата и повышенного уровня Д-димера. Ни один из факторов, ассоциированных с тромбозом, не продемонстрировал связи с развитием АИИ, его клинико-нейровизуализационными особенностями и исходом заболевания.

**Ключевые слова:** факторы, ассоциированные с тромбозом, артериальный ишемический инсульт, дети.

**Цит.:** И.Б. Комарова, В.П. Зыков, Л.В. Ушакова. Значимость факторов, ассоциированных с тромбозом, для развития и прогноза артериального ишемического инсульта у детей. Педиатрия. 2018; 97 (4): 100–109.

I.B. Komarova<sup>1</sup>, V.P. Zykov<sup>1</sup>, L.V. Ushakova<sup>2</sup>**THE SIGNIFICANCE OF THROMBOSIS-ASSOCIATED FACTORS FOR THE DEVELOPMENT AND PROGNOSIS OF ARTERIAL ISCHEMIC STROKE IN CHILDREN**<sup>1</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; <sup>2</sup>National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov, Moscow, Russia**Контактная информация:**

**Комарова Ирина Борисовна** – к.м.н., доц.  
каф. неврологии детского возраста Российской  
медицинской академии непрерывного  
профессионального образования  
Адрес: Россия, 123995, г. Москва,  
ул. Баррикадная, 2/1  
Тел.: (495) 496-62-12, E-mail: childneuro@yandex.ru  
Статья поступила 14.06.17,  
принята к печати 18.04.18.

**Contact Information:**

**Komarova Irina Borisovna** – Ph.D., associate prof.  
of Pediatric Neurology Department, Russian Medical  
Academy of Continuous Professional Education  
Address: Russia, 123995, Moscow,  
Barrikadnaya str., 2/1  
Tel.: (495) 496-62-12, E-mail: childneuro@yandex.ru  
Received on Jun. 14, 2017,  
submitted for publication on Apr. 18, 2018.

**Objective:** to evaluate the significance of factors associated with thrombosis in the development of arterial ischemic stroke (AIS) and their effect on the disease outcome. **Material and methods:** the study included patients with AIS, n=58 (40 boys), mean age 4,99±4,1 years – main group, and healthy children, n=31 (19 boys), mean age 5,6±3,7 years – control group. In the main group researchers studied: the incidence of carriage of mutations *V G1691 (Leiden)*, prothrombin *G20210A* gene, fibrinogen *455G>A*  $\beta$ -chain genes polymorphisms, inhibitor of plasminogen activator *675 4G/5G*, platelet receptors (*GPIIIa C1565T*, *GPIB 5T>C*, *GPIAC807T*, *SELPLGM621 G>A*), homocysteine exchange cycle genes (*MTHFR C667T*, *MTRA2756G*, *MTRRA66G*); activity of proteins C, S and antithrombin III (ATIII) in blood; concentration of D-dimer fibrinogen, homocysteine (HC), vitamin B<sub>12</sub> and folic acid (FA) in blood. In the control group, only genotyping was performed. **Results:** the occurrence of mutations and polymorphisms of genes associated with thrombosis in the compared groups did not differ significantly. The mean values of the remaining indices in patients with AIS corresponded to reference borders. A decrease in protein C activity was detected in 5 (8,6%), protein S in 6 (10,3%), and ATIII in 6 (10,3%) patients. D-dimer concentration distribution was wide spread, an increase in its level was noted in 12 (22,4%) cases. Fibrinogen level was increased in 7 (12,1%) patients. Hyperhomocysteinemia was detected in 14 (24,1%) cases. HC level (increased) was influenced by the carriage of *MTHFR* polymorphic alleles and low concentration of FA in plasma. 21 (36,2%) patients had FA deficiency. The studied indicators were not significant for the course and outcome of AIS. **Conclusion:** patients with AIS often had hyperhomocysteinemia, folate deficiency and elevated D-dimer level. None of the factors associated with thrombosis had any connection with AIS development, its clinical and neuroimaging peculiarities and disease outcome.

**Keywords:** thrombosis-associated factors, arterial ischemic stroke, children.

**Quote:** : I.B. Komarova, V.P. Zykov, L.V. Ushakova. The significance of thrombosis-associated factors for the development and prognosis of arterial ischemic stroke in children. *Pediatrics*. 2018; 97 (4): 100–109.

Артериальный ишемический инсульт (АИИ) у детей – относительно редкое заболевание, встречающееся с частотой 1,6/100 000/год [1]. Ведущими предрасполагающими факторами АИИ признаются тяжелые болезни сердца с риском тромбоэмболии, а также травма головы/шеи, инфекция (в т.ч. банальная), аутоиммунные болезни, вызывающие травматическую или воспалительную церебральную артериопатию [2, 3]. Вместе с тем далеко не у всех детей на фоне тяжелой кардиологической патологии и тем более инфекции и травмы развивается инсульт. Предполагается, что в реализации указанных причин может играть роль врожденная или приобретенная склонность к тромбообразованию (тромбофилия). Классическими генетическими факторами риска тромбозов считаются мутации фактора *V G1691* (Лейден) и промоторной части гена протромбина (*G20210A*). Каждая из них встречается с частотой от 1–2 до 12–13% в зависимости от региона и обследуемой популяции. Умеренное повышение риска тромботических событий имеет место прежде всего у гомозигот или при сочетании двух гетерозигот [4]. Помимо мутаций Лейдена и гена протромбина, описано значительное число полиморфизмов генов, кодирующих те или иные компоненты системы гемостаза. У детей, перенесших инсульт, они довольно часто в клинической практике рекомендуются для исследования. Однако их связь с тромбозами не выяснена окончательно и целесообразность обязательного изучения в рутинной практике не установлена.

Кроме вышеозначенных мутаций, неблагоприятным признается также врожденный дефицит естественных антикоагулянтов (антитромбина III – АТIII, протеинов С и S). Частота встречаемости каждого из них в популяции существен-

но ниже, что обусловлено заведомо более тяжелым влиянием на прогноз. Обычно врожденная недостаточность естественных антикоагулянтов реализуется развитием венозных тромбозов, возникающих на 2–3-й декаде жизни и заканчивающихся без лечения фатально [5]. Применительно к детскому АИИ их значимость изучена мало [6–8]. В отличие от мутаций Лейдена и гена протромбина данные нарушения системы протромбинирования, как правило, определяются с помощью функциональных коагуляционных тестов. Вместе с тем при функциональных коагуляционных тестах может выявляться не только врожденная, но и приобретенная недостаточность антикоагулянтов, связанная, например, с нарушением функции печени.

Помимо врожденных или приобретенных нарушений системы гемостаза в развитии тромботических событий, в т.ч. АИИ, определенную роль может играть повышенный уровень гомоцистеина (ГЦ) в крови. Значимость гипергомоцистеинемии для цереброваскулярных заболеваний обсуждается с 1969 г., когда McCully описал патологические изменения сосудистой стенки у больных с повышенным уровнем ГЦ [9]. Известно, что данная аминокислота увеличивает риск тромбообразования за счет эндотелиального повреждения [10]. Нарушение обмена ГЦ также может быть наследственно обусловленным (за счет носительства полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла, в первую очередь – гомозиготного генотипа *MTHFR* в позиции 677), так и приобретенным – за счет дефицита (обычно алиментарного) кофакторов данных ферментов, каковыми являются фолиевая кислота (ФК) и витамин B<sub>12</sub>.

Еще одним коагуляционным фактором риска является фибриноген, повышенное содержание которого в крови ассоциируется с повышенным

риском инфаркта, инсульта и сосудистой смерти у взрослых [11–14]. Повышенный уровень фибриногена может быть генетически предопределен, но может возникать и в ответ на острую фазу воспаления.

Важным коагуляционным показателем, ассоциированным с развитием тромбозов, является Д-димер. Повышение его уровня во многих исследованиях, включающих пациентов с различной сосудистой патологией, а также исходно здоровых лиц в общей популяции, показало себя значимым предиктором тромбозов, как артериальных, так и венозных [15–17]. Строго говоря, Д-димер нельзя рассматривать в качестве самостоятельного фактора риска тромботических событий. В то же время, являясь продуктом деградации фибрина, Д-димер выступает высокочувствительным маркером внутрисосудистого тромбообразования, активация которого может иметь место в течение многих месяцев до или после клинического эпизода тромбоза.

Таким образом, на сегодняшний день описано значительное число врожденных и приобретенных нарушений системы гемостаза, так или иначе ассоциированных с тромботическими событиями, в т.ч. с АИИ. При этом ни один из факторов не рекомендован для обязательного исследования в рутинной практике применительно к инсульту. Это связано с их относительно редкой встречаемостью и/или невысокой прогностической ценностью в сравнении с «традиционными» этиологическими факторами. Соответственно, роль тромбофилии в развитии АИИ и ее значимость для прогноза заболевания до сих пор изучены недостаточно, что обуславливает актуальность исследования данных вопросов.

Цель исследования: оценить значимость факторов, ассоциированных с тромбозом, в развитии АИИ и их влияние на исход заболевания.

### Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на кафедре неврологии детского возраста Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО) на базе неврологических отделений ДГКБ им. З.А. Башляевой и ДГКБ им. Г.Н. Сперанского. Работа одобрена этическим комитетом РМАНПО. Из 106 больных в возрасте от 1 месяца до 15 лет, перенесших АИИ, от родителей которых было получено информированное согласие на участие в исследовании, были отобраны 58 пациентов, составивших основную группу.

Критерием отбора было наличие у больных следующих данных:

1) носительство мутаций фактора V *G1691* (Лейден), гена протромбина *G20210A* и 9 генетических полиморфизмов, ассоциированных с тромбозом –  $\beta$ -цепи фибриногена 455G>A, ингибитора активатора плазминогена 675 4G/5G, тромбоцитарных рецепторов (GPIIb C1565T, GPIb -5T>C, GPIIc807T, SELPLGM621 G>A), генов цикла обмена ГЦ (*MTHFR*C667T, *MTR*A2756G, *MTR*RA66G);

2) активность естественных антикоагулянтов – протеина С, протеина S, АТIII;

3) уровень Д-димера;

4) уровень фибриногена;

5) уровень ГЦ и уровень витаминов – кофакторов, участвующих в обмене ГЦ (витамина B<sub>12</sub> и ФК).

Генетическое исследование проводили методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в препаратах ДНК, полученных из цельной венозной крови, с определением результатов в формате «реального времени» и анализом продуктов амплификации.

Уровень ГЦ крови измеряли методом поляризационного флюоресцентного иммуноанализа с использованием коммерческого набора реактивов AxSYM Homocysteine на приборе «AxSYM System», Abbott. Для оценки концентрации ГЦ мы использовали два варианта нормативов: принятый в России и международный. В нашей стране в качестве верхней границы нормы принят уровень ГЦ 5 мкмоль/л для детей до 10 лет и 7 мкмоль/л для детей старше 10 лет [18]. В европейских странах и США верхняя граница нормы (97,5-й перцентиль) составляет 8,3 мкмоль/л для детей до 10 лет и 10,3 мкмоль/л для детей 10–15 лет [19].

Концентрацию ФК определяли методом захвата ионов с использованием коммерческого набора реактивов AxSYM Folate на приборе «AxSYM System», Abbott. Референсные значения концентрации ФК 7,2–20 нг/мл.

Уровень витамина B<sub>12</sub> определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора реактивов AxSYM B<sub>12</sub> на приборе «AxSYM System», Abbott. Референсные значения концентрации кобаламина 200–1000 пг/мл.

Д-димер определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора реактивов Diagnostica Stago, Франция. Референсные значения концентрации Д-димера – менее 500 нг/мл.

Фибриноген определяли с использованием коммерческого набора реактивов Diagnostica Stago, Франция. Референсные значения концентрации 2,0–4,0 г/л.

Активность протеина С определяли с использованием коммерческого набора реактивов Diagnostica Stago, Франция. Референсные значения 70–130%.

Активность протеина S определяли с использованием коммерческого набора реактивов Diagnostica Stago, Франция. Референсные значения 60–140%.

Активность АТIII определяли с использованием коммерческого набора реактивов Diagnostica Stago, Франция. Референсные значения 80–120%.

Срок генотипирования не зависел от периода инсульта. Остальные лабораторные исследования проводили в пределах 3 месяцев после дебюта, начиная со 2-й недели заболевания, что соответствовало подострому периоду детского АИИ [20].

Помимо лабораторных показателей, у больных инсультом оценивали демографические данные, изучали анамнез, клиническую симптоматику и данные нейровизуализации в дебюте АИИ и в катамнезе.

Тяжесть симптомов в дебюте оценивали при помощи педиатрической шкалы инсульта института национального здоровья США, PedNIHSS [21]. Интерпретацию результатов PedNIHSS осуществля-

ли по следующим критериям: 1–4 балла – легкий инсульт, 5–15 баллов – инсульт средней тяжести, 16–20 баллов – умеренно-тяжелый инсульт, 21–42 балла – тяжелый инсульт [22].

Для нейровизуализации использовали компьютерную томографию (КТ), магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга и магнитно-резонансную ангиографию.

В зависимости от данных клинико-анамнестического и нейровизуализационного обследования больные были систематизированы по типам АИИ соответственно критериям CASCADE [23].

Конечными точками при оценке исхода были повторные инсульты и тяжесть остаточной неврологической симптоматики, измеряемой по шкале Paediatric Stroke Outcome Measure (PSOM) [24]. При оценке PSOM 0 баллов исход интерпретировали как благоприятный; <2 баллов – как относительно благоприятный; ≥2 баллов – как неблагоприятный. В случаях рецидивов исход расценивали как крайне неблагоприятный. Под рецидивом мы понимали выявляемый нейровизуализационно в катамнезе новый инсульт независимо от его клинических проявлений.

Для оценки встречаемости протромботических мутаций и полиморфизмов в здоровой популяции была сформирована группа контроля, в которую вошли дети без цереброваскулярной патологии, средний возраст  $5,6 \pm 3,7$  лет,  $n=31$  (19 мальчиков). От родителей детей контрольной группы также было получено информированное согласие на участие в исследовании. В данной группе проводили только генотипирование.

Для статистической обработки данных использовали программу Statistica (версия 10). Для получения описательных характеристик изучаемых переменных применяли процедуру Descriptive statistics. Статистическую значимость ( $p$ ) различий между категоризованными данными вычисляли при помощи точного теста Фишера, между некатегоризованными данными – методом Вилкоксона (Манна–Уитни). Для определения связи между признаками использовали регрессионный анализ.

## Результаты

Средний возраст пациентов в отобранной группе больных АИИ составил  $4,99 \pm 4,1$  лет. Отмечено двукратное преобладание мужского пола над женским (40 мальчиков/18 девочек). У 55 (94,8%) пациентов имело место поражение каротидного бассейна. При систематизации больных по классификации CASCADE в 28 (48,3%) случаях регистрировался 2-й тип (унилатеральная церебральная артериопатия), в 13 (22,4%) случаях – 6В тип (инсульт вследствие малой травмы головы у детей раннего возраста), в 6 (10,3%) случаях – 5-й тип (кардиоэмболический инсульт), в 5 (8,6%) случаях – 6А тип (инсульт неустановленной этиологии), в 4 (6,9%) случаях – 4А тип (инсульт вследствие цервикальной диссекции), в одном (1,7%) случае – 1D тип (инсульт вследствие вероятной артериопатии мелких церебральных артерий) и в одном (1,7%) случае – 3-й тип (инсульт вследствие билатеральной церебральной артериопатии).

Средняя оценка по шкале *pedNIHSS* составила  $12,6 \pm 5,8$  баллов, по шкале *PSOM* –  $1,04 \pm 0,18$  баллов. Благоприятный исход отмечен у 12 (20,7%) больных, относительно благоприятный – у 26 (44,8%), неблагоприятный – у 10 (17,2%) и крайне неблагоприятный – у 10 (17,2%). Повторные инсульты зафиксированы у 9 (15,5%) пациентов, смерть в восстановительном периоде от прогрессирования основного заболевания (кардиомиопатия) – у одной пациентки.

При генотипировании мутации Лейден и гена протромбина встречались у больных инсультом только в гетерозиготном варианте с частотой 5,2 и 3,4% соответственно. В контрольной группе данных мутаций не было. Однако, учитывая низкую частоту встречаемости их у больных АИИ, достоверной разницы в сравнении с контролем мы не обнаружили. Не было выявлено различий между больными и здоровыми и в частоте встречаемости полиморфизмов генов, кодирующих фибриноген, ингибитор активатора плазминогена, гликопротеины тромбоцитарных рецепторов и ферменты фолатного цикла. Результаты генотипирования представлены в таблице.

Существует мнение, что для развития инсульта может иметь значение не только и не столько наличие протромботических мутаций/полиморфизмов, сколько их большое количество и сочетание. Мы, вслед за другими авторами [25, 26], проанализировали встречаемость 3 и более полиморфных генотипов, ответственных за факторы гемостаза, в сочетании с любым из полиморфизмов генов, кодирующих ферменты обмена ГЦ в двух сравниваемых группах. Вопреки ожиданиям, этот показатель при инсульте был ниже, хотя и недостоверно: 32,8% в группе больных и 54,8% в группе здоровых,  $p=0,23$  (см. таблицу). В литературе [26] имеются данные о возможной значимости сочетания полиморфизмов гена ингибитора активатора плазминогена с полиморфизмами гена *MTHFR*. Мы сопоставили частоту обнаружения такого сочетания у больных и у здоровых. При инсульте она составила 22,4% случаев, в контроле – 35,5% ( $p=0,35$ ) (см. таблицу).

Кажется странным, но полиморфизм гена *MTHFR677*, традиционно рассматриваемый как важный в отношении детского АИИ, в нашем исследовании оказался незначимым. В связи с этим мы сочли необходимым изучить факторы, влияющие на обмен ГЦ, более подробно.

Средняя концентрация ГЦ в крови у больных АИИ составила  $7,96 \pm 3,9$  мкмоль/л, медиана – 7,28 мкмоль/л. Превышение принятого в России уровня верхней границы нормы отмечено у подавляющего большинства больных (91,5% случаев у детей до 10 лет и 63,6% случаев у детей старше 10 лет). При сопоставлении с международными нормативами гипергомоцистеинемия выявлялась в 24,1% случаев.

Средний уровень витамина  $B_{12}$  составил  $602,6 \pm 220,8$  пг/мл, медиана – 631,5 пг/мл. У всех больных концентрация его находилась в пределах референсных значений.

Частота встречаемости изученных генетических мутаций/полиморфизмов, ассоциированных с тромбозом, у больных АИИ и у здоровых

Мутации/полиморфизмы	Частота встречаемости у больных АИИ, n=58		Частота встречаемости в группе контроля, n=31		Достоверность различий между общей частотой встречаемости, p
	всего	гетеро/гомозиготы	всего	гетеро/гомозиготы	
<b>Факторы свертывания крови</b>					
Фактор V Лейден ( <i>G 1691A</i> )	3 (5,2%)	3 (5,2%)/-	-	-	0,54
Ген протромбина ( <i>G20210A</i> )	2 (3,4%)	2 (3,4%)/-	-	-	0,54
Ген β-цепи фибриногена ( <i>455 G&gt;A</i> )	30 (51,7%)	24 (41,4%)/6 (10,3%)	17 (54,8%)	14 (45,2%)/3 (9,7%)	1
Ген ингибитора активатора плазминогена ( <i>675 4G/5G</i> )	31 (53,4%)	23 (39,7%)/8 (13,7%)	25 (80,6%)	17 (54,8%)/8 (25,8%)	0,29
<b>Тромбоцитарные рецепторы</b>					
GPIIa (C1565T)	11 (18,9%)	10 (17,2%)/1 (1,7%)	7 (22,6%)	7 (22,6%)/-	0,79
GP1b (-5 T >C)	13 (22,4%)	13 (22,4%)/-	12 (38,7%)	9 (29%)/3 (9,7%)	0,25
GP 1a (C807T)	24 (41,4%)	18 (31,1%)/6 (10,3%)	13 (41,9%)	8 (25,8%)/5 (16,1%)	1
SELPLG (M621 G >A)	5 (8,6%)	5 (8,6%)/-	4 (12,9%)	4 (12,9%)/-	0,71
<b>Ферменты, участвующие в обмене ГЦ</b>					
MTHFR (C667T)	27 (46,6%)	22 (38%)/5 (8,6%)	13 (41,9%)	12 (38,7%)/1 (3,2%)	0,84
MTR (A2756G)	19 (32,8%)	12 (20,7%)/7 (12,1%)	22 (70,9%)	18 (58%)/4 (12,9%)	0,05
MTRR (A66G)	38 (65,5%)	25 (43,1%)/13 (22,4%)	16 (51,6%)	11 (%)/5 (16,1%)	0,58
<b>Изученные варианты сочетаний полиморфных генотипов</b>					
Не менее 3 полиморфных генотипов, ответственных за факторы гемостаза + как минимум один полиморфизм генов, кодирующих ферменты обмена ГЦ	19 (32,8%)	-	18 (58%)	-	0,23
Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена + полиморфизм гена <i>MTHFR</i>	13 (22,4%)	-	11 (35,5%)	-	0,35

Средний уровень ФК у больных АИИ составил  $11,8 \pm 9,8$  нг/мл, медиана – 10,77 нг/мл, что соответствовало норме. Однако при детальном анализе выяснено, что у 21 (36,2%) пациента отмечался дефицит этого витамина.

Мы проверили зависимость уровня ГЦ от концентрации ФК и носительства полиморфных аллелей изученных генов цикла обмена ГЦ. При однофакторном корреляционном анализе отмечена тенденция к отрицательной корреляции уровня ГЦ в плазме с уровнем ФК (коэффициент Спирмена – 0,18;  $p=0,18$ ). Из всех изученных полиморфизмов влияние на уровень ГЦ обнаружено только для гена *MTHFR C677T*. У гомозиготных носителей полиморфного аллеля содержание ГЦ в крови было достоверно выше, чем у гомозигот дикого (CC) типа ( $12,4 \pm 11,5$  мкмоль/л против  $7,76 \pm 2,2$  мкмоль/л,  $p=0,037$ ) или носителей аллелей «дикого» и одного из полиморфных (CC+CT) генотипов ( $12,4 \pm 11,5$  мкмоль/л против  $7,7 \pm 2,1$  мкмоль/л,  $p=0,0094$ ). Таким образом, на уровень ГЦ оказывали влияние концентрация ФК в плазме (недостоверно) и носительство

полиморфных аллелей *MTHFR C677T* в гомозиготном (TT) состоянии (достоверно).

Учитывая полученные результаты, мы предположили, что дефицит ФК, обнаруживаемый более чем у  $1/3$  больных АИИ, может являться фактором, способствующим реализации эффектов полиморфизма *MTHFR* и приводящим к увеличению концентрации ГЦ в крови.

Действительно, на фоне низкого уровня ФК содержание ГЦ у носителей полиморфных генотипов *MTHFR* имело тенденцию к повышению по сравнению с носителями «дикого» генотипа ( $11,53 \pm 8,8$  мкмоль/л против  $7,97 \pm 2,1$  мкмоль/л,  $p=0,17$ ). В условиях нормального содержания фолата такой тенденции не отмечено. Таким образом, влияние полиморфного генотипа *MTHFR C677T* на концентрацию ГЦ проявляется только в условиях дефицита ФК (рис. 1). Больных с полиморфным генотипом *MTHFR* и низким уровнем фолата в нашем исследовании было всего 8 человек. Вполне возможно, что отсутствие влияния носительства полиморфных аллелей *MTHFR* на развитие инсульта объясня-

ется относительной малочисленностью данной уязвимой группы.

По результатам коагуляционных тестов активность протеина С (прС) составила в среднем  $85,5 \pm 16,8\%$ , медиана – 84%, значимое снижение данного показателя (<70%) отмечено у 5 (8,6%) пациентов (минимальное значение 48%). Активность протеина S (прS) составила в среднем  $84,6 \pm 16,1\%$ , медиана – 85,5%, значимое снижение (<60%) отмечено у 6 (10,3%) пациентов (минимальное значение 32%). Активность АТIII составила в среднем  $95,5 \pm 15,2\%$ , медиана – 97%, снижение (<80%) отмечено у 6 (10,3%) пациентов (минимальное значение 51%). Как известно, врожденный дефицит естественных антикоагулянтов встречается достаточно редко. В связи с этим логично было предположить, что выявленные отклонения от нормы у наших больных могли быть вторичными, связанными, например, с нарушением функции печени. В таком случае, с большой долей вероятности, дефициты данных показателей обнаруживались бы совместно и сопровождалась бы снижением уровня фибриногена (белка, синтезируемого в печени). Сочетанное снижение активности прС и прS отмечено у одного пациента, сочетание низкой активности АТIII с низким уровнем фибриногена – у 2 больных, низкой активности АТIII и прS – у одного больного. У остальных пациентов сочетаний дефицитов антикоагулянтов и уровня фибриногена не было, что позволяет предположить врожденный характер выявленных у них отклонений.

Средний уровень фибриногена составил  $2,88 \pm 0,8$  г/л, медиана – 2,74 г/л, повышение фибриногена выявлялось в 7 (12,1%) случаях (максимальное значение 4,9 г/л).

Средний уровень Д-димера составил  $388,4 \pm 483,5$  нг/мл, медиана – 241,5 нг/мл. Превышение принятой границы нормы выявлялось в 12 (22,4%) случаях (максимальное значение 2124 нг/мл). Распределение Д-димера характеризовалось очень большим разбросом данных, при этом 4 пациента имели существенное повышение его уровня: 1680–2124 нг/мл (рис. 2). Мы попытались определить клинико-нейровизуализационные, генетические и коагуляционные показатели, которые могли быть связаны с высоким значением Д-димера (в частности, тип инсульта, объем очага, сочетание дебюта инсульта с текущей или предшествующей инфекцией, мутация Лейден, мутация гена протромбина, любые изученные полиморфизмы генов, ассоциированные с тромбозами, дефицит естественных антикоагулянтов). Таких маркеров мы не нашли. Также мы не обнаружили взаимосвязи высокого уровня Д-димера с рецидивами инсульта и тяжелым неврологическим исходом.

Таким образом, у больных АИИ не менее чем в  $1/5$  случаев выявляются повышенный уровень ГЦ, Д-димера и дефицит фолата. Другие изученные нами факторы, потенциально ассоциированные с тромбозом, встречаются относительно редко. Данные факторы, по-видимому, само-

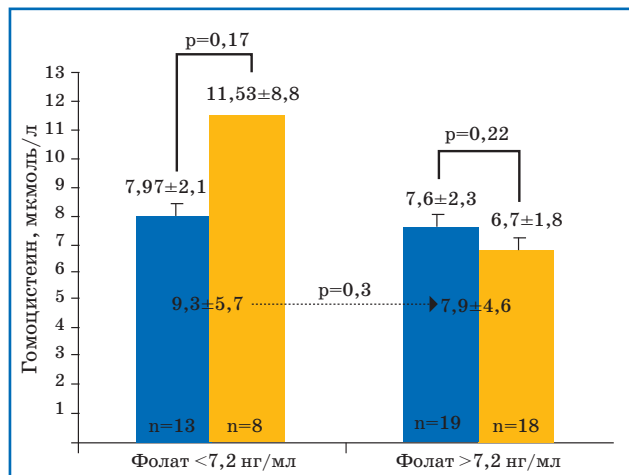


Рис. 1. Влияние носительства вариантных аллелей *MTHFR C667T* на уровень ГЦ в зависимости от концентрации ФК.

1 – генотип по локусу, 2 – *MTHFR*; ■ – CC, ■ – CT/TT.

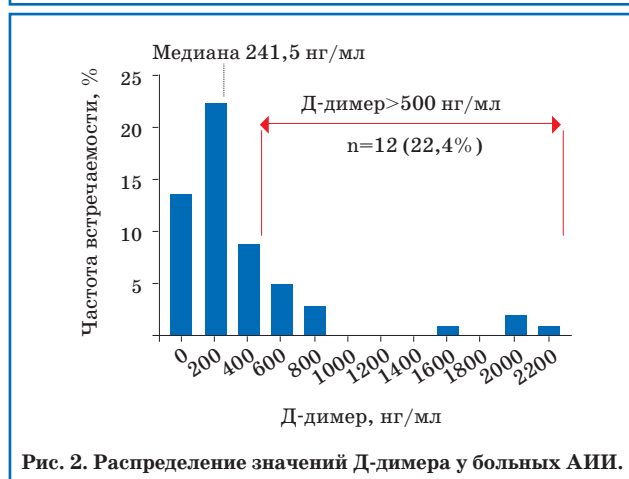


Рис. 2. Распределение значений Д-димера у больных АИИ.

стоятельного значения для развития и прогноза АИИ не имеют.

### Обсуждение

Мы провели генотипирование у 58 больных АИИ по ключевым мутациям и полиморфизмам, традиционно ассоциируемым с тромбозами. Как было указано выше, достоверного отклонения частоты их встречаемости по сравнению с группой контроля не выявлено. Следует отметить, что, по нашим данным, мутации Лейден и гена протромбина у здоровых не встречались совсем, в то время как в группе АИИ их частота составила 5,2 и 3,4% соответственно. В то же время известно, что в здоровой европейской популяции указанные мутации встречаются примерно в 5% случаев [4, 5]. Таким образом, обнаруженные нами различия между больными АИИ и здоровыми лицами нельзя считать существенными. Известно, однако, что имеются популяции, в которых обсуждаемые мутации встречаются относительно часто (страны Ближнего Востока, ряд агломераций Европы). В этих условиях роль мутаций Лейден и гена протромбина в отношении развития АИИ является более значимой [27–33].

Что же касается других изученных полиморфизмов, ассоциированных с тромбозами, то их встречаемость оказалась сопоставима у больных

АИИ и у здоровых детей. Не было обнаружено каких-либо ассоциаций с инсультом и для сочетания нескольких полиморфизмов. Полученные нами данные отличаются от результатов О.А. Львовой и соавт. (2013), в соответствии с которыми сочетание 3 и более полиморфизмов генов системы гемостаза с полиморфизмами в генах ферментов фолатного цикла повышало риск ишемического инсульта как минимум в 4 раза [25]. О.Е. Громько и соавт. (2014) также обнаружили, что среди детей с инсультом было в 2,8 раза больше носителей сочетания 3 и более полиморфизмов генов, ассоциированных с тромбозами [26]. Также отмечена более высокая представленность сочетания полиморфных аллелей генов *MTHFR* и ингибитора активатора плазминогена у больных инсультом в сравнении с контролем (53,3% случаев против 22% случаев,  $p < 0,05$ ). По нашим данным, этот показатель составил 22,4% случаев у больных и 35,5% случаев у здоровых, различие не было достоверным. Эти расхождения могут быть объяснены прежде всего малым размером выборок как больных, так и контролей ( $n < 100$ ) во всех обсуждаемых работах.

Таким образом, в соответствии с нашими данными, нет оснований расценивать какие-либо мутации и полиморфизмы, ассоциированные с тромбозом, как имеющие существенное значение для развития АИИ. Их роль остается неопределенной по крайней мере для когорты, отобранной в московской популяции детей.

Следующим аспектом нашей работы было изучение содержания ГЦ в крови больных. По данным литературы, частота гипергомоцистеинемии у детей с теми или иными тромботическими событиями варьирует очень широко: от 2,4 до 90,2% [25, 34–37]. Это может быть объяснено двумя факторами: различием содержания в продуктах питания кофакторов ферментов цикла обмена ГЦ (ФК и цианкобаламина), а также неодинаковыми границами нормы для данной аминокислоты в тех или иных странах. В частности, в США с 1996 г. действует программа насыщения пищевых продуктов фолатом и цианкобаламином. В этой стране распространенность гипергомоцистеинемии среди больных тромбозами минимальная: 2,4–11% случаев [34, 35]. В Германии и Италии такая программа не принята и встречаемость гипергомоцистеинемии у больных с тромботическими событиями составляет около 30% случаев [36, 37]. Что же до разных нормативных данных, то максимальная встречаемость гипергомоцистеинемии среди больных АИИ отмечена в России – до 90% случаев [25], что соответствовало и нашим результатам. Но при сравнении наших данных с референсными значениями, принятыми в странах Европы [19], оказалось, что гипергомоцистеинемия встречалась у 24,1% больных, т.е. примерно соответствовала распространенности в странах, где не принято обогащение продуктов ФК.

Мы показали, что максимально высокий уровень ГЦ регистрируется у больных-носителей

гомозиготного генотипа *MTHFR 677TT*, имеющих сопутствующий дефицит фолата. В здоровой популяции показана такая же зависимость концентрации ГЦ от концентрации ФК и наличия гомозиготного полиморфизма *MTHFR* [38]. Вообще в странах, где не проводится фортификация пищи фолатом и цианкобаламином, встречаемость гипергомоцистеинемии в общей популяции составляет около 15% [39, 40]. Таким образом, ориентируясь на подобные непрямые сопоставления, можно заключить, что при детских тромбозах гипергомоцистеинемия выявляется примерно в 2 раза чаще, чем в здоровой популяции, если не проводить обогащение продуктов указанными витаминами. В США, где действует программа фортификации, распространенность гипергомоцистеинемии среди детей с тромбозами сопоставима с таковой у здоровых [34].

Что касается значимости гипергомоцистеинемии у носителей полиморфных аллелей *MTHFR* с низким уровнем фолата при уже развившемся инсульте, то мы не обнаружили влияния ее ни на развитие какого-либо определенного типа инсульта, ни на прогноз. Похожие результаты были получены в исследовании Joachime et al. (2013) [34]. Впрочем, таких носителей было немного. Возможно, отсутствие связи гипергомоцистеинемии у них с клинико-нейровизуализационными данными и исходами объясняется низкой статистической мощностью исследования.

У относительно небольшого числа больных АИИ обнаружено снижение активности естественных антикоагулянтов – прС, прS и АТIII. Каждое из этих отклонений встречалось относительно редко (в 8,6% случаев – для дефицита прС, в 10,3% случаев – для дефицитов прS и АТIII). К сожалению, у нас не было возможности коагуляционного тестирования в группе контроля. Но следует отметить, что в популяции частота таких отклонений все же существенно ниже: для прС и прS менее 0,5%, а для АТIII менее 0,05% [4, 5].

Активированный прС необходим для прерывания каскада коагуляции: он расщепляет Va и VIIIa факторы [41], являющиеся ключевыми для ускорения свертывания крови. Роль прS заключается в обеспечении связывания прС с мембранами и фактором V. Снижение активности указанных белков может быть связано с наследственным их дефицитом, с вторичной их недостаточностью при нефротическом синдроме, приеме оральных контрацептивов и непрямых антикоагулянтов, заболеваний печени, ДВС-синдроме, гипергомоцистеинемии, а также быть обусловленным сочетанием генетических и экзогенных факторов [42]. Дефицит прС не рассматривается как фактор риска АИИ у взрослых [8]. В детском возрасте, напротив, он показал себя фактором, повышающим риск заболевания в 7–18,5 раз. Частота выявления дефицита прС при АИИ у детей составляет от 6 до 19% случаев [43–47]. Роль недостаточности прS в развитии АИИ непонятна. У взрослых показана слабая корреляция одного с другим [48–50], у детей

взаимосвязь не найдена. Дефицит прS у детей с инсультом встречается с частотой от 0,46% случаев [51] до 12,8% случаев [47]. Таким образом, встречаемость дефицита протеинов С и S в нашей когорте была сопоставима с таковой в других исследованиях. Мы не нашли информации о влиянии этих показателей на прогноз инсульта. По нашим данным, самостоятельно они не увеличивали риск тяжелого неврологического дефицита и рецидивов.

АТIII ингибирует все протеазы свертывания (за исключением фактора VII). Снижение активности АТIII, так же как и снижение активности протеинов С и S, может быть наследственно обусловленным, вторичным и сочетанным. Наиболее частым следствием недостаточности АТIII являются венозные тромбозы. Значимость дефицита АТIII для артериальных тромбозов менее существенная. Влияние низкого уровня АТIII на развитие АИИ у взрослых не очень понятно. Единственный мета-анализ, выполненный в 1999 г., продемонстрировал слабую ассоциацию (ОШ 1,07; 95% ДИ 0,9–1,2) [52]. В «детских» исследованиях «случай–контроль» никакой взаимосвязи между дефицитом АТIII и АИИ не выявлено [44, 51, 53, 54]. Частота встречаемости недостатка этого антикоагулянта у больных составляет от 0,46% [51] до 6,4% случаев [55]. Мы получили чуть более высокое значение – 10,3%. Наши результаты не позволяют оценить взаимосвязь между дефицитом АТIII и развитием инсульта ввиду отсутствия контрольной группы. Самостоятельного влияния данного показателя на прогноз АИИ мы не обнаружили.

Единственным показателем коагулограммы, уровень которого отклонялся от нормы у каждого 5-го пациента, был D-димер. Известно, что D-димер может выступать предиктором неблагоприятного неврологического исхода, правда, не самостоятельно, а в присутствии сопутствующих церебральной артериопатии [20]. В работах T.J. Bernard et al. (2010, 2011) показано, что в остром периоде детского АИИ уровень D-димера повышен [56, 57]. По данным N.A. Goldenberg et al. (2013), частота обнаружения высоких значений данного показателя в 1-ю неделю инсульта составляет 31% [20]. С течением времени уровень D-димера снижается, что хорошо продемонстрировано и для тромбозов другой локализации [58]. По нашим данным, повышенный уровень D-димера выявлялся несколько реже, чем в исследовании N.A. Goldenberg et al. (2013). Отличие наших результатов можно объяснить более поздним выполнением обследования. Возможно, по этой же причине мы не обнаружили никакой связи уровня D-димера с прогнозом болезни. Таким образом, вероятно, имеет смысл оценивать его в максимально ранние сроки после инсульта. Следует также иметь в виду низкую специфичность D-димера, повышающегося при всевозможных состояниях, связанных с отложением фибрина (например, при воспалении любого генеза). Сам по себе высокий уровень D-димера не предусматривает какой-либо модификации

терапии. Тем не менее, исходя из патогенеза детского АИИ, он является основанием для того, чтобы задуматься о возможной кардиоэмболии или воспалительной церебральной артериопатии в качестве возможных причин заболевания, что в свою очередь может повлиять на выбор препарата вторичной профилактики.

Фибриноген является предшественником фибрина. В историческом аспекте установление значимости фибриногена в отношении развития тромботических событий в исследовании Northwick Park Heart Study (1986) послужило основанием для развития концепции коагуляционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [59]. Повышение уровня фибриногена как белка острой фазы отмечается при активном воспалении и разрушении тканей. Гиперфибриногенемия отмечается у 25,2% взрослых больных в первый день АИИ [60]. Считается, что фибриноген – важный фактор риска АИИ [61–64], повышающий вероятность заболевания у детей в 2,16 раза [61]. При этом прогностическое значение для повторных случаев инсульта не установлено. По нашим данным, гиперфибриногенемия выявлялась у 12,1% больных, самостоятельного негативного ее влияния на прогноз мы не нашли.

Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что как минимум у каждого 5-го больного с АИИ можно обнаружить гипергомоцистеинемия и дефицит фолата. В международных рекомендациях по лечению инсульта у детей «Management of Stroke in Infants and Children» (MSIC) (2008) указывается на целесообразность измерения ГЦ у всех больных с данной патологией, а при высоком уровне ГЦ в крови – его снижения с помощью ФК, витаминов B<sub>6</sub> и B<sub>12</sub> [65]. В этой связи мы, с учетом собственных данных и действующих рекомендаций, имеем все основания говорить об уместности подобного обследования и, при необходимости, назначения гомоцистеинснижающей терапии у больных АИИ. При этом, однако, следует заметить, что ни в одном крупном хорошо организованном исследовании, правда у взрослых, терапия, направленная на снижение уровня ГЦ, не оказывала какого-либо профилактического действия [66–68].

Специальных предписаний относительно D-димера в существующих рекомендациях нет. Тем не менее, учитывая частую встречаемость повышенного его уровня в нашем исследовании и относительно высокую прогностическую ценность соответственно результатам N.A. Goldenberg et al., данный показатель имеет смысл определять, вероятно, как можно раньше (оптимально – в 1-ю неделю инсульта).

Согласно нашим результатам мутации Лейден, гена протромбина и дефицит естественных антикоагулянтов у больных АИИ встречались относительно редко. Тем не менее в соответствии с имеющимися рекомендациями, обнаружение данных отклонений может являться основанием для модификации вторичной профилактики инсульта в сторону предпочтения



антикоагулянтов. Соответственно, оценка их у каждого пациента является обоснованной.

### Заключение

Таким образом, больные АИИ характеризовались относительно высоким уровнем ГЦ, достаточно высокой встречаемостью дефицита фолата (36,2% случаев) и повышенного уровня Д-димера (22,4% случаев). Другие изученные

нами признаки, потенциально ассоциированные с тромбозом, встречались относительно редко. Ни один из анализированных показателей не продемонстрировал связи с клинико-нейровизуализационными особенностями инсульта и не влиял на прогноз заболевания.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии финансовых или каких-либо других конфликтов интересов при написании данной статьи.

### Литература

1. Mallick AA, Ganesan V, Kirkham FJ, Fallon P, Hedderly T, McShane T, Parker AP, Wassmer E, Wraige E, Amin S, Edwards HB, Tilling K, O'Callaghan FJ. Childhood arterial ischaemic stroke incidence, presenting features, and risk factors: a prospective population-based study. *Lancet Neurol.* 2014; 13: 35–43. 39–44.
2. Hills NK, Johnston SC, Sidney S, Zielinski BA, Fullerton HJ. Recent Trauma and Acute Infection as Risk Factors for Childhood Arterial Ischemic Stroke. *Ann. Neurol.* 2012; 72 (6): 850–858.
3. Dowling MM, Hyman LS, Lo W, Licht DJ, McClure C, Yager JY, Dlamini N, Kirkham FJ, Deveber G, Pavlakis S. International Paediatric Stroke Study: stroke associated with cardiac disorders. *Int. J. Stroke.* 2013; 8 (Suppl. A100): 39–44.
4. European Genetics Foundation; Cardiovascular Disease Educational and Research Trust; International Union of Angiology; Mediterranean League on Thromboembolism, Nicolaides AN, Breddin HK, Carpenter P, Coccheri S, Conard J, De Stefano V, Elkoofy N, Gerotziakas G, Guermazi S, Haas S, Hull R, Kalodiki E, Kristof V, Michiels JJ, Myers K, Pineo G, Prandoni P, Romeo G, Samama MM, Simonian S, Xenophonthos S. Thrombophilia and venous thromboembolism. International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence. *Int. Angiol.* 2005; 24 (1): 1–26.
5. Dahlbäck B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders. *Blood.* 2008; 112 (1): 19–27.
6. Zadro R, Herak DC. Inherited prothrombotic risk factors in children with first ischemic stroke. *Biochemia Medica.* 2012; 22 (3): 298–310.
7. Kenet G, Lütkehoff LK, Albisetti M, Bernard T, Bonduel M, Brandao L, Chabrier S, Chan A, deVeber G, Fiedler B, Fullerton HJ, Goldenberg NA, Grabowski E, Günther G, Heller C, Holzhauser S, Iorio A, Journeycake J, Junker R, Kirkham FJ, Kurnik K, Lynch JK, Male C, Manco-Johnson M, Mesters R, Monagle P, van Ommen CH, Raffini L, Rostásy K, Simioni P, Sträter RD, Young G, Nowak-Göttl U. Impact of thrombophilia on arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in children: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation.* 2010; 121: 1838–1847.
8. Kopyta I, Zimny M, Sarecka-Hujar B. The role of biochemical risk factors in the etiology of AIS in children and adults. *Int. J. Neurosci.* 2015; 125 (12): 875–884.
9. McCully K. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am. J. Pathol.* 1969; 56: 111–128.
10. Undas A, Brozek J, Szczeklik A. Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinical evidence. *Thromb. Haemost.* 2005; 94: 907–915.
11. Mannila MN, Lovely RS, Kazmierczak SC, Eriksson P, Samnegård A, Farrell DH, Hamsten A, Silveira A. Elevated plasma fibrinogen gamma' concentration is associated with myocardial infarction: effects of variation in fibrinogen genes and environmental factors. *J. Thromb. Haemost.* 2007; 5 (4): 766–773.
12. Leander K, Wiman B, Hallqvist J, Falk G, De Faire U. The G-455A polymorphism of the fibrinogen Bbeta-gene relates to plasma fibrinogen in male cases, but does not interact with environmental factors in causing myocardial infarction in either men or women. *J. Intern. Med.* 2002; 252 (4): 332–341.
13. Bots ML, Elwood PC, Salonen JT, Freire de Concalves A, Sivenius J, Di Carlo A, Nikitin Y, Benetou V, Tuomilehto J, Koudstaal PJ, Grobbee DE. Level of fibrinogen and risk of fatal and non-fatal stroke. EUROSTROKE: a collaborative study among research centres in Europe. *J. Epidemiol. Community Health.* 2002; 56 (1) (Suppl.): i14–8.
14. Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, Kestis JB, Wilson AC, Folsom AR, Wu K, Beuderly M, Goldbourt U, Willert J. Fibrinogen studies collaboration. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA.* 2005; 294 (14): 1799–1809.
15. Cate-Hoek AJ, Prins MH. Management studies using a combination of D-dimer test result and clinical probability to rule out venous thromboembolism: a systematic review. *Thromb. Haemost.* 2005; 3 (11): 2465–2470.
16. Righini M, Perrier A, De Moerloose P, Bounameaux H. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. *Thromb. Haemost.* 2008; 6 (7): 1059–1071.
17. Lip GY, Lowe GD. Fibrin D-dimer: a useful clinical marker of thrombogenesis? *Clin. Sci. (Lond).* 1995; 89 (3): 205–214.
18. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Червякова Н.В. Гомоцистеин. М.: издательство, 2002: 48.
19. Vilaseca MA, Moyano D, Ferrer I, Artuch R. Total homocysteine in pediatric patients. *Clin. Chem.* 1997; 43 (4): 690–692.
20. Goldenberg NA, Jenkins S, Jack J, Armstrong-Wells J, Fenton LZ, Stence NV, Oleszek J, Boada R, Wilkening GN, Wilkinson C, Soep JB, Miyamoto SD, Bajaj L, Mourani PM, Manco-Johnson MJ, Bernard TJ. Arteriopathy, D-dimer, and risk of poor neurologic outcome in childhood-onset arterial ischemic stroke. *J. Pediatr.* 2013; 162 (5): 1041–1046.
21. Ichord RN, Bastian R, Abraham L, Askalan R, Benedict S, Bernard TJ, Beslow L, Deveber G, Dowling M, Friedman N, Fullerton H, Jordan L, Kan L, Kirton A, Amlie-Lefond C, Licht D, Lo W, McClure C, Pavlakis S, Smith SE, Tan M, Kasner S, Jawad AF. Interrater reliability of the Pediatric National Institutes of Health Stroke Scale (PedNIHSS) in a multicenter study. *Stroke.* 2011; 42 (3): 613–617.
22. Ver Hage. The NIH stroke scale: a window into neurological status. *Nurse. Com. Nursing Spectrum (Greater Chicago)* [serial online]. 2011; 24 (15): 44–49.
23. Bernard TJ, Manco-Johnson MJ, Lo W, MacKay MT, Ganesan V, DeVeber G, Goldenberg NA, Armstrong-Wells J, Dowling MM, Roach ES, Tripputi M, Fullerton HJ, Furie KL, Benseler SM, Jordan LC, Kirton A, Ichord R. Towards a consensus-based classification of childhood arterial ischemic stroke. *Stroke.* 2012; 43 (2): 371–377.
24. Kitchen L, Westmacott R, Friefeld S, MacGregor D, Curtis R, Allen A, Yau I, Askalan R, Moharir M, Domi T, deVeber G. The pediatric stroke outcome measure: a validation and reliability study. *Stroke.* 2012; 43 (6): 1602–1608.
25. Львова О.А., Гусев В.В., Кузнецов Н.Н., Баранов Д.А., Ворошилина Е.С., Партылова Е.А. Наследственные прокоагулянтные и протромботические нарушения как ведущий этиологический фактор ишемических инсультов у детей раннего возраста. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2013; 9 (2): 13–20.
26. Громыко О.Е., Арсеньева Е.Н., Нечаева Н.Л., Глоба О.В., Кузенкова Л.М., Асанов А.Ю., Пинеллис В.Г. Анализ полиморфизмов генов гемостаза и фибринолиза у детей с ишемическим инсультом. *Российский педиатрический журнал.* 2014; 6: 4–9.
27. Akar N, Akar E, Deda G, Sipahi T, Orsal A. Factor V1691 G-A, prothrombin 20210 G-A, and methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-T variants in Turkish children with cerebral infarct. *J. Child Neurol.* 1999; 14: 749–751.
28. Nowak-Göttl U, Sträter R, Heinecke A, Junker R, Koch HG, Schuierer G, von Eckardstein A. Lipoprotein (a) and genetic polymorphisms of clotting factor V, prothrombin, and methylenetetrahydrofolate reductase are risk factors of spontaneous ischemic stroke in childhood. *Blood.* 1999; 94: 3678–3682.
29. Kenet G, Sadetzki S, Murad H, Martinowitz U, Rosenberg N, Gitel S, Rechavi G, Inbal A. Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies are significant risk factors for ischemic stroke in children. *Stroke.* 2000; 31: 1283–1288.
30. Akar N, Akar E, Ozel D, Deda G, Sipahi T. Common

mutations at the homocysteine metabolism pathway and pediatric stroke. *Thromb. Res.* 2001; 102: 115–120.

31. *Barreirinho S, Ferro A, Santos M, Costa El, Pinto-Basto J, Sousa A, Sequeiros J, Maciel P, Barbot C, Barbot J.* Inherited and acquired risk factors and their combined effects in pediatric stroke. *Pediatr. Neurol.* 2003; 28: 134–138.

32. *Duran R, Biner B, Demir M, Celtik C, Karasalihoglu S.* Factor V Leiden mutation and other thrombophilia markers in childhood ischemic stroke. *Clin. Appl. Thromb. Haemost.* 2005; 11: 83–88.

33. *Herak DC, Antolic MR, Krleza JL, Pavic M, Dodig S, Duranovic V, Brkic AB, Zadro R.* Inherited prothrombotic risk factors in children with stroke, transient ischemic attack and migraine. *Pediatrics.* 2009; 123: 653–660.

34. *Joachim E, Goldenberg NA, Bernard TJ, Armstrong-Wells J, Stabler S, Manco-Johnson MJ.* The methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (MTHFR c.677C>T) and elevated plasma homocysteine levels in a U.S. pediatric population with incident thromboembolism. *Thromb. Res.* 2013; 132 (2): 170–174.

35. *Nahar A, Sabo C, Chitlur M, Ravindranath Y, Lusher J, Rajpurkar M.* Plasma homocysteine levels, methylene tetrahydrofolate reductase polymorphisms, and the risk of thromboembolism in children. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2011; 33: 330–333.

36. *Kosch A, Koch HG, Heinecke A, Kurnik K, Heller C, Nowak-Gottl U.* for the Childhood Thrombophilia Study Group. Increased fasting total homocysteine plasma levels as a risk factor for thromboembolism in children. *Thromb. Haemost.* 2004; 91: 308–314.

37. *Falcon CR, Cattaneo M, Panzeri D, Martinelli I, Mannucci PM.* High prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with juvenile venous thrombosis. *Arterioscler. Thromb.* 1994; 14: 1080–1083.

38. *Huemer M, Vonblon K, Födinger M, Krumpholz R, Hubmann M, Ulmer H, Simma B.* Total homocysteine, folate, and cobalamin, and their relation to genetic polymorphisms, lifestyle and body mass index in healthy children and adolescents. *Pediatr. Res.* 2006; 60 (6): 764–769.

39. *Papandreou D, Mavromichalis I, Makedou A, Rouso I, Arvanitidou M.* Total serum homocysteine, folate and vitamin B<sub>12</sub> in a Greek school age population. *Clinical Nutrition.* 2006; 25: 797–802.

40. *De Laet C, Wautrecht JC, Bresseur D, Dramaix M, Boeynaems JM, Decuyper J, Kahn A.* Plasma homocysteine concentration in a Belgian school-age population. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 69 (5): 968–972.

41. *Kisiel W.* Human plasma protein C. Isolation, characterization and mechanism of activation by a-thrombin. *J. Clin. Invest.* 1979; 64: 761–769.

42. *Баркаган З.С., Момот А.П.* Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2001.

43. *Nowak-Gottl U, Sträter R, Heinecke A, Junker R, Koch HG, Schuierer G, von Eckardstein A.* Lipoprotein (a) and genetic polymorphisms of clotting factor V, prothrombin, and methylenetetrahydrofolate reductase are risk factors of spontaneous ischemic stroke in childhood. *Blood.* 1999; 94 (11): 3678–3682.

44. *Sträter R, Vielhaber H, Kassenböhrer R, von Kries R, Göbel U, Nowak-Gottl U.* Genetic risk factors of thrombophilia in ischaemic childhood stroke of cardiac origin. A prospective ESPED survey. *Eur. J. Pediatr.* 1999; 158 (3) (Suppl.): 122–125.

45. *Heller C, Becker S, Scharrer I, Kreuz W.* Prothrombotic risk factors in childhood stroke and venous thrombosis. *Eur. J. Pediatr.* 1999; 158 (3) (Suppl.): 117–121.

46. *Kenet G, Sadetzki S, Murad H, Martinowitz U, Rosenberg N, Gitel S, Rechavi G, Inbal A.* Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies are significant risk factors for ischemic stroke in children. *Stroke.* 2000; 31: 1283–1288.

47. *Simchen MJ, Goldstein G, Lubetsky A, Strauss T, Schiff E, Kenet G.* Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies in either mothers or infants increase the risk for perinatal arterial ischemic stroke. *Stroke.* 2009; 40 (1): 65–70.

48. *Mishra M, Kalra R, Rohatgi S.* Clinical profile, common thrombophilia markers and risk factors in 85 young Indian patients with arterial thrombosis. *Sao Paulo Med. J.* 2013; 131 (6): 384–388.

49. *Douay X, Lucas C, Caron C, Goudemand J, Leys D.* Antithrombin, protein C and protein S levels in 127 consecutive young adults with ischemic stroke. *Acta Neurol. Scand.* 1998; 98: 124–127.

50. *Chatterjee T, Gupta N, Choudhry VP, Behari M, Saxena R, Ashraf MZ.* Prediction of ischemic stroke in young Indians: is thrombophilia profiling a way out? *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2013; 24 (4): 449–453.

51. *Kurnik K, Kosch A, Sträter R, Schobess R, Heller C, Nowak-Gottl U;* Childhood Stroke Study Group. Recurrent thromboembolism in infants and children suffering from symptomatic neonatal arterial stroke: a prospective follow-up study. *Stroke.* 2003; 34: 2887–2892.

52. *Folsom AR, Rosamond WD, Shahar E, Cooper LS, Aleksic N, Nieto FJ, Rasmussen ML, Wu KK.* Prospective study of markers of hemostatic function with risk of ischemic stroke. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Circulation.* 1999; 100 (7): 736–742.

53. *Leniček Krleža J, Đuranović V, Bronić A, Coen Herak D, Mejaški-Bošnjak V, Zadro R.* Multiple presence of prothrombotic risk factors in Croatian children with arterial ischemic stroke and transient ischemic attack. *Croat. Med. J.* 2013; 54 (4): 346–354.

54. *Nowak-Gottl U, Langer C, Bergs S, Thedieck S, Sträter R, Stoll M.* Genetics of Hemostasis: Differential Effects of heritability and household components influencing lipid concentrations and clotting factor levels in 282 pediatric stroke families. *Environ Health Perspect.* 2008; 116 (6): 839–843.

55. *Duran R, Biner B, Demir M, Celtik C, Karasalihoglu S.* Factor V Leiden mutation and other thrombophilia markers in childhood ischemic stroke. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2005; 11 (1): 83–88.

56. *Bernard TJ, Fenton LZ, Apkon SD, Boada R, Wilkening GN, Wilkinson CC, Soep JB, Miyamoto SD, Tripputi M, Armstrong-Wells J, Benke TA, Manco-Johnson MJ, Goldenberg NA.* Biomarkers of hypercoagulability and inflammation in childhood-onset arterial ischemic stroke. *J. Pediatr.* 2010; 156 (4): 651–656.

57. *Bernard TJ, Manco-Johnson MJ, Goldenberg NA.* The roles of anatomic factors, thrombophilia, and antithrombotic therapies in childhood-onset arterial ischemic stroke. *Thromb. Res.* 2011; 127 (1): 6–12.

58. *Воробьева Н.М., Панченко Е.П., Добровольский А.Б., Тутаева Е.В., Ермолина О.В., Балахонova Т.В., Хасанова З.Б., Постнов А.Ю., Кириенко А.И.* Факторы, ассоциирующиеся с повышением Д-димера у больных венозными тромбозами. *Российский кардиологический журнал.* 2012; 4 (96): 18–24.

59. *Meade TW, Brozovic M, Chakrabarti RR, Haines AP, Imeson JD, Mellous S, Miller GJ, North WRS, Stirling Y, Thompson SG.* Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet.* 1986; 2: 533–537.

60. *Turaj W, Slowik A, Dziedzic T, Pulyk R, Adamski M, Strojny J, Szczudlik A.* Increased plasma fibrinogen predicts one-year mortality in patients with acute ischemic stroke. *J. Neurol. Sci.* 2006; 246 (1–2): 13–19.

61. *Kopyta I, Sarecka-Hujar B, Emich-Widera E, Marszal E, Zak I.* Association between lipids and fibrinogen levels and ischemic stroke in the population of the Polish children with arteriopathy and cardiac disorders. *Wiad. Lek.* 2010; 63 (1): 17–23.

62. *Beg M, Nizami A, Singhal KC, Mohammed J, Gupta A, Azfar SF.* Role of serum fibrinogen in patients of ischemic cerebrovascular disease. *Nepal Med. Coll. J.* 2007; 9 (2): 88–92.

63. *Jood K, Danielson J, Ladenvall C, Blomstrand C, Jern C.* Fibrinogen gene variation and ischemic stroke. *J. Thromb. Haemost.* 2008; 6 (6): 897–904.

64. *Kristensen B, Malm J, Nilsson TK, Hultdin J, Carlberg B, Olsson T.* Increased fibrinogen levels and acquired hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. *Stroke.* 1998; 29 (11): 2261–2267.

65. Writing Group of the American Heart Association Stroke Council and the Council on Cardiovascular Disease in the Young «Management of Stroke in Infants and Children. A Scientific Statement From a Special Writing Group of the American Heart Association Stroke Council and the Council on Cardiovascular Disease in the Young». *Stroke.* 2008; 39: 2644–2691.

66. *Bazzano LA, Reynolds K, Holder KN, He J.* Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: A meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA.* 2006; 296: 2720–2726.

67. *Wald DS, Wald NJ, Morris JK, Law M.* Folic acid, homocysteine and cardiovascular disease: Judging causality in the face of inconclusive trial evidence. *BMJ.* 2006; 333: 1114–1117.

68. *Wang X, Qin X, Demirtas H, Li J, Mao G, Huo Y, Sun N, Liu L, Xu X.* Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet.* 2007; 369: 1876–1882.