

Л.В. Жганова, М.Ю. Щербакова, Т.М. Решетняк

## АНТИТЕЛА К ФОСФОЛИПИДАМ И НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ТРОМБОФИЛИИ У ДЕТЕЙ БЕЗ СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, ГУ Институт ревматологии РАМН, Москва

В статье представлены результаты исследования антител к фосфолипидам (аФЛ) и генетических тромбофилий у 133 детей без системного заболевания соединительной ткани. Установлено, что аФЛ и генетические тромбофилии чаще встречаются у детей с тромбозами и гематологическими заболеваниями. Выраженное и стойкое увеличение аФЛ и их комбинация с генетическими тромбофилиями являются факторами риска развития тромбозов у детей.

---

Authors studied anti-phospholipid antibodies (aPL) and hereditary thrombophilia in 133 children without systemic connective tissue diseases. The study showed that aPL and hereditary thrombophilia are more common in children with history of thrombosis and with hematological diseases. Significant persistent aPL increasing and its association with hereditary thrombophilia are risk factor of pediatric thrombosis development.

Антифосфолипидный синдром (АФС) является сложной и многообразной проблемой в педиатрии, затрагивающей многие смежные медицинские специальности. Изучение АФС как первичного, так и наряду с сопутствующей аутоиммунной патологией у взрослых занимает одно из ведущих мест, в то время как в педиатрии данная проблема в большинстве случаев рассматривается в сочетании с другими заболеваниями соединительной ткани [1–3].

АФС в детском возрасте встречается редко, только 2,8% пациентов из большой когорты боль-

ных АФС составляют дети, у которых имеются клинические особенности АФС. У детей чаще встречаются проявления, ассоциированные с гиперпродукцией антител к фосфолипидам (аФЛ), такие как сетчатое ливедо, хорей, тромбоцитопения, которые в последующем могут приводить к развитию основного клинического проявления — тромбозу [4].

В последние годы большое внимание уделяется наследуемым дефектам белков в системе гемостаза, которые обуславливают предрасположенность к тромбообразованию и являются самостоятельным

фактором риска сосудистых осложнений. Наиболее часто в европейской и американской популяциях выявляются три точковые мутации: мутация V фактора свертывания крови (Leiden), мутация G20210A гена протромбина и C677T в гене 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), приводящая к развитию умеренной гипергомоцистеинемии [5, 6]. Изменение в системе фибринолиза из-за полиморфизма в гене 4G/5G ингибитора активатора плазминогена I (ИАП-I) также связывают с риском развития сосудистых осложнений [7, 8]. Частота основных наследуемых тромбофилий существенно варьирует внутри здоровой популяции и среди пациентов с тромбозами. В педиатрической практике у детей с соматическими заболеваниями эти данные мало известны.

Целью нашего исследования было изучение встречаемости аФЛ и генетических тромбофилий (мутация V фактора свертывания крови (Leiden), мутация G20210A гена протромбина и C677T в гене МТГФР, полиморфизм 4G/5G в гене ИАП-I) у детей с заболеваниями, при которых возможна гиперпродукция аФЛ: тромбозы сосудов различного калибра и локализаций, эпилептиформные судороги, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) и аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА), но без указания на наличие системного заболевания соединительной ткани и инфекционной патологии.

### Материалы и методы исследования

В основу работу положены результаты клинико-лабораторного исследования 133 детей в возрасте от 3 мес до 18 лет.

В зависимости от первичного диагноза были сформированы 5 групп: 1-я группа — дети с тромбозами сосудов любого калибра и локализаций (25 пациентов), исключая сосуды головного мозга; 2-я группа — дети с нарушениями мозгового кровообращения (НМК) (25 пациентов); 3-я группа — дети с эпилептиформными судорогами (20 пациентов); 4-я группа — дети с ИТП (23 пациента); 5-я группа — дети с АИГА (20 пациентов). Группу сравнения составили 20 детей с синдромом вегетативной дисфункции (СВД).

В основных группах больных в совокупности было 66 девочек и 47 мальчиков. Средний возраст на момент исследования составлял  $9,4 \pm 0,5$  лет. Группу сравнения составили 20 детей — 10 мальчиков и 10 девочек, средний возраст на момент исследования был  $14,1 \pm 0,5$  лет.

Обследование детей было комплексным. Кроме общепринятых лабораторных методов обследования для исследования системы гемостаза, использовали коагулограмму. Большое внимание уделяли определению активного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) как скрининговому тесту обнаружения волчаночного антикоагулянта (ВА).

В инструментальные методы исследования в обязательном порядке включали ЭКГ и УЗИ органов брюшной полости во всех группах больных. Детям с неврологической симптоматикой проводили КТ и/или МРТ исследование головного мозга, детям с эпилептиформными судорогами — ЭЭГ. Все тромботические случаи были подтверждены УЗДГ сосудов или хирургической ревизией пораженных сосудов.

У пациентов собирали сведения о наличии традиционных факторов риска тромбозов: курение, ожирение, артериальная гипертензия, сахарный диабет, прием гормональных препаратов, проведение хирургических вмешательств и травм.

Серологическими маркерами АФС считали выявление в крови ВА, антител к кардиолипину (аКЛ), антител к  $\beta_2$ -гликопротеину I ( $\alpha$ - $\beta_2$ ГП-I).

Для диагностики мутационных изменений использовали метод полимеразной цепной реакции и рестриктивный анализ.

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 6,0.

Наибольший процент возникновения тромботического случая у пациентов 1-й и 2-й групп приходился на подростковый период (табл. 1).

Эпилептиформные судороги у 75% детей 3-й группы были генерализованными и возникали не чаще 4 раз в год. Дебют судорог чаще приходился на младший школьный возраст.

В 4-ю группу пациентов с ИТП включены дети как с острым (11 детей), так и хроническим течением (12 детей). Возраст, пол и начало заболевания были сопоставимы. Тромбоцитопения в 65% случаев характеризовалась тяжелым течением (снижение тромбоцитов в периферической крови менее  $50 \cdot 10^9$ /л).

В 5-й группе пациентов с АИГА 15 детей обследованы в период гемолитического криза, 5 детей — в отдаленном периоде (более 12 месяцев). У 5 больных имелось сочетание АИГА с иммунной

Таблица 1

### Локализация тромбозов у наблюдаемых пациентов

Локализация тромбозов	Абс. число
Поверхностные сосуды конечностей, в т. ч.:	7
сетчатое ливедо нижних и верхних конечностей	6
хронические язвы голеней	1
Венозные тромбозы, в т. ч.:	15
глубокие вены нижних конечностей	11
верхняя полая вена	2
печеночная вена	1
воротная вена	1
Артериальный тромбоз периферических артерий нижних конечностей	1
Сочетанный тип тромбозов	2
Церебральные артерии	25

тромбоцитопенией. До 30% детей имели высокую активность заболевания.

В группе сравнения СВД характеризовался в большинстве случаев головными болями, головокружениями и кардиалгиями. До 90% пациентов имели ваготонический тип СВД.

### Результаты и их обсуждение

Результаты проведенного исследования выявили, что встречаемость аФЛ среди пациентов с тромбозами сосудов различного калибра и локализаций составляет 72%, с НМК — 40%, с ИТП — 57% и с АИГА — 45%, что достоверно выше, чем у детей с СВД, при которой аФЛ выявлены в 10% случаев ( $p < 0,05$ ). При эпилептиформных судорогах частота встречаемости аФЛ была 20% и не отличалась от данных у детей с СВД ( $p > 0,05$ ).

Положительные уровни аФЛ коррелировали с тромбозами ( $r=0,25$ ;  $p=0,003$ ) и с ИТП ( $r=0,20$ ;  $p=0,02$ ).

АФС по своей непредсказуемости течения, иногда молниеносному развитию, а также вовлечению лиц молодого возраста, приближается к генетическим тромбофилиям.

Результаты анализа генеалогического древа обследованных больных выявили, что у детей с отягощенной наследственностью чаще выявлялись положительные уровни аФЛ (37 из 56 аФЛ-положительных детей — 66%), чем у детей, родственники которых не имели каких-либо заболеваний (37 из 77 аФЛ-негативных детей — 48% ( $\chi^2=4,27$ ;  $p=0,03$  ОШ=2,11; ДИ 95%;  $0,98 < \text{ОШ} < 4,57$ ). В большинстве случаев (20%) родственники аФЛ-положительных детей имели артериальную гипертензию, которая в 44% случаев осложнилась инфарктами миокарда и в 22% инсультом.

Изучение акушерского анамнеза матерей обследованных детей выявило, что положительные уровни аФЛ чаще встречались у детей, матери которых имели в акушерском анамнезе выкидыши. Так, выкидыши в анамнезе были у 18 матерей, 12 их детей (67%) имели положительные аФЛ, по сравнению с 44 детьми, рожденными от 115 матерей, не имевших потерей беременностей (38%) ( $\chi^2=5,15$ ;  $p=0,02$ ; ОШ=3,23; ДИ 95%;  $1,03 < \text{ОШ} < 10,51$ ).

Частота выявления различных типов аФЛ была сопоставима. Так, ВА и IgG-а- $\beta_2$ ГП-I обнаружены у 24 пациентов соответственно, что составило 43% от всех аФЛ-положительных детей. Положительные уровни IgG-аКЛ встречались у 18 из 56 (32%) аФЛ-положительных детей ( $p > 0,05$ ) (табл. 2).

Антитела изотипов IgM выявлялись значительно реже (6/11% для IgM-аКЛ и 7/13% для IgM-а- $\beta_2$ ГП-I), чем IgG ( $p < 0,001$ ) и в 75% случаев в сочетании с изотипами IgG. По результатам нашего исследования обнаружение антител IgM-аКЛ и IgM-а- $\beta_2$ ГП-I совпадало с высокой активностью заболевания, а изолированное их обнаружение было

Таблица 2

### Частота различных типов антител к фосфолипидам в исследуемых группах

Группы	аКЛ		а- $\beta_2$ ГП-I		ВА
	IgG	IgM	IgG	IgM	
1-я (n=18)	9	3	8	2	8
2-я (n=10)	1	0	5	1	4
3-я (n=4)	0	0	1	0	3
4-я (n=13)	2	0	5	0	7
5-я (n=9)	6	2	4	2	2
Сравнения (n=20)	0	1	1	0	0
Итого (n=56)	18	6	24	5	24

однократным и в низком уровне, что может отражать повышение выработки антител этого класса на фоне воспаления.

Медиана концентрации IgG-аКЛ и IgG-а- $\beta_2$ ГП-I в группе детей с тромбозами была достоверно выше, чем в других группах наблюдения ( $p < 0,001$ ) и составила 42,2 [34,6–88] GPL и 19,9 (9,4–44,9) ед. ОП соответственно.

Положительный ВА определялся только у детей с удлинением АЧТВ — Ме 49,4 (47–57,1) с, что было достоверно выше, чем у детей без ВА — Ме 32 (29–34,5) с ( $p < 0,001$ ), при этом АЧТВ коррелировало с определением ВА ( $r=0,65$ ;  $p < 0,001$ ).

Для диагноза достоверного АФС учитываются только средние и высокие уровни IgG-аКЛ [9]. Результаты нашего исследования показали, что у половины детей с соматическими заболеваниями определялись низкопозитивные уровни IgG-аКЛ (Ме=27,8 [26,4–32,4] GPL), у 28% — средние (Ме=48,2 [44,1–55,9] GPL) и у 22% — высокие (Ме=102,9 [88,8–120,3]) ( $p > 0,05$ ).

Средне- и высокопозитивные уровни IgG-аКЛ определялись только у детей с тромбозами и при АИГА.

Результаты исследования показали, что у 23% детей выявлялось сочетание различных типов аФЛ. Они обнаружены у 8/44% аФЛ-положительных детей с тромбозами, у 1/8% — с ИТП и у 4/44% — с АИГА. У 2 детей с ИТП и АИГА с комбинацией аФЛ был постинъекционный тромбоз подключичных вен.

Таким образом, комбинация аФЛ, обнаруженная у 10 из 20 (50%) аФЛ-положительных пациентов с тромбозами и у 3 из 20 аФЛ-положительных детей с ИТП и АИГА ведет к увеличению риска тромбоза в 5 раз ( $\chi^2=4,10$ ;  $p=0,04$ ; ОШ=5,67; ДИ 95%;  $1,05 < \text{ОШ} < 34,42$ ).

Анализ взаимосвязи между комбинацией аФЛ и клиническими проявлениями показал, что наличие любых комбинаций аФЛ коррелирует с тромбозами ( $r=0,35$ ;  $p=0,008$ ).

В процессе исследования было проведено повторное обследование аФЛ-положительных пациентов

через 12 недель для выявления персистирующей выработки аФЛ. Данные обследования показали, что половина детей сохраняли аФЛ-позитивность через 3 месяца. При повторном исследовании сохраняли аФЛ-позитивность 56% детей с тромбозами, 50% детей с НМК, 38% детей с ИТП. Наибольший процент (78%) персистирующих аФЛ был в 5-й группе детей с АИГА, а наименьший (25%) — в 3-й группе пациентов с эпилептиформными судорогами. У детей с СВД не обнаружено персистирующих аФЛ.

Была выявлена корреляция между персистирующими IgG- $\alpha\beta_2$ ГП-I и АИГА ( $r=0,34$ ;  $p=0,02$ ) и IgG-аКЛ и тромбозами глубоких вен ( $r=0,42$ ;  $p=0,01$ ).

Наиболее частой локализацией венозного тромбоза у детей с положительными уровнями аФЛ были глубокие вены нижних конечностей и в 86% случаев они носили персистирующий характер. Однократно положительные аФЛ были у детей с тромбозом подключичной вены и тромбозом печеночных вен.

Положительные уровни аФЛ у 3 детей с сетчатым ливедо были только при его сочетании с НМК, что позволило диагностировать синдром Снеддона.

У детей с НМК (2-я группа) не было выявлено каких-либо особенностей локализаций, размеров очагов инфаркта мозга. Положительные аФЛ встречались как у детей с острым НМК (ОНМК) (5 из 14 детей с ОНМК на момент исследования) (даже если ОНМК были в анамнезе — 3 из 3 детей), так и у детей с преходящими НМК (ПНМК) (2 из 8 детей).

Данные обследования детей с эпилептиформными судорогами (3-я группа) показали, что аФЛ выявлялись только у детей с малыми и парциальными судорогами без признаков повышения судорожного порога по результатам ЭЭГ (3 детей). Интеллектуально-мнестические расстройства достоверно чаще были у детей с положительными уровнями аФЛ ( $\chi^2=3,75$ ;  $p>0,05$ ).

У детей с ИТП (4-я группа) аФЛ определялись как при остром (6 из 11 пациентов), так и при хроническом течении ИТП (7 из 12 больных). Не было обнаружено особенностей клинической картины ИТП в зависимости от позитивности аФЛ, но в процессе 12-месячного клинического наблюдения у 3 аФЛ-позитивных детей с острым течением ИТП были рецидивы эпизодов снижения числа тромбоцитов в периферической крови, которые не отмечались у детей без аФЛ. У одной больной с хроническим течением ИТП и персистирующими аФЛ развился постинъекционный тромбоз подключичных вен.

У 4 из 9 (44%) аФЛ-позитивных детей из 5-й группы АИГА сочеталась с иммунной тромбоцитопенией. Положительные аФЛ преимущественно выявлялись при высокой активности заболевания (5 из 6 детей), а при умеренной активности они

были лишь у 4 из 14 детей ( $p=0,03$ ). Не определялись аФЛ у детей, которые перенесли АИГА в анамнезе.

У одной больной с синдромом Эванса–Фишера, с комбинацией различных типов аФЛ и их персистенцией в процессе клинического наблюдения развился тромбоз глубоких вен голени и отмечались эпизоды ПНМК.

Таким образом, в процессе проспективного исследования тромботические эпизоды были выявлены не только у детей с тромбозом (1-я и 2-я группы), но и у детей с другими соматическими заболеваниями. Тромбоз был зарегистрирован у 52 детей: у 25 детей — периферические тромбозы (1-я группа), у 25 детей — тромбозы церебральных сосудов (2-я группа), у одного пациента — тромбоз в подключичную вену (4-я группа) и у одного пациента — тромбоз глубоких вен голени (5-я группа).

Критерии достоверного АФС выявлены у 10 (8 девочек и 2 мальчиков) из 52 (19%) детей с тромбозами. Возраст детей составил  $13,9\pm 5,4$  лет. Локализация тромбоза у 10 детей с АФС была следующей: у 5 пациентов — тромбоз глубоких вен нижних конечностей, у 3 — тромбоз церебральных артерий и у 2 — сочетанный (артериальный и венозный) тромбоз. У 6 пациентов венозному тромбозу предшествовали другие аФЛ-ассоциированные проявления: у одного — сетчатое ливедо, у одного — синдром Снеддона, у одного — рецидивирующие хронические язвы голени, у 3 — гематологические заболевания (ИТП, АИГА и синдром Эванса–Фишера).

По результатам нашего исследования у детей с достоверным АФС IgG-аКЛ выявлены у 6/60% пациентов, ВА — у 6/60% и IgG- $\alpha\beta_2$ ГП-I — у 8/80%. У 3 пациентов совместно с изотипами IgG обнаруживались IgM и у 5 детей комбинация различных типов аФЛ.

Результаты генетического исследования показали, что мутации в генах-маркерах тромбофилий выявлены у 38 из 52 (73%) детей с тромбозами и у 36 из 59 (61%) детей без тромбоза ( $p>0,05$ ). Гетерозиготные мутации, выявленные у 77/69% обследуемых детей, встречались чаще, чем гомозиготные (38/34%) ( $p<0,001$ ).

Такие мутации, как мутация в факторе V (Leiden) и мутация G20210A в гене протромбина, определялись только у детей с тромбозами, и они коррелировали с развитием венозных тромбозов ( $r=0,17$ ;  $p=0,005$ ).

Мутации C677T в генах МТГФР и полиморфизм 4G/5G ИАП-I встречались как у детей с тромбозами, так и у детей без тромбозов.

Наибольший процент мутаций в кандидатных генах тромбофилий был у детей с НМК (21/84%) и ИТП (17/77%).

У половины пациентов (38/53%) одновременно выявлялись нескольких видов мутаций генов-маркеров тромбофилий. Наибольший процент (6 из 10 — 86% детей с мутациями) различных соче-

таний мутаций имели дети с венозными тромбозами, при этом наличие мутации фактора V (Leiden) и мутации G20210A в гене протромбина не было изолированным, и они во всех случаях сочетались между собой или с мутацией C677T в гене МТГФР. Процент одновременного выявления нескольких видов мутаций в кандидатных генах тромбофилий был сопоставим у детей с тромбозами (17/33%) и у детей без тромбозов (21/36%) ( $p > 0,05$ ).

Имеются различные мнения об увеличении риска развития тромбозов при сочетании генетических тромбофилий с аФЛ. Одни авторы предполагают, что мутации увеличивают риск развития тромбозов у детей с АФС [10], другие исследователи не смогли выявить данную взаимосвязь [11, 12].

По нашим данным, позитивные уровни аФЛ выявлены у 14/37% из 38 детей с мутациями в генах-маркерах тромбофилий в группе пациентов с тромбозами и у 16/44% из 36 детей с мутациями в группе пациентов без тромбозов ( $p > 0,05$ ).

Была проанализирована частота генетических, иммунных и традиционных факторов риска развития тромбозов, а также их сочетаний. Результаты анализа показали, что у детей с тромбозами достоверно чаще встречается сочетание факторов риска тромбозов (32/62%), чем один из них (20/38%) ( $p = 0,01$ ).

Из 20 детей с одним фактором риска наличие положительных аФЛ было у 4/20% детей, мутаций — у 12/60%, а традиционных факторов риска

тромбоза — у 4/20%. Таким образом, среди факторов риска тромбоза достоверно чаще встречались генетические тромбофилии ( $p = 0,01$ ).

Из 32 детей с сочетанием различных факторов риска тромбоза были генетические тромбофилии с аФЛ — у 14/44% детей, генетические тромбофилии с традиционными факторами — у 6/19%, генетические тромбофилии в сочетании с аФЛ и традиционными факторами риска — у 6/19%, такой же процент был сочетания аФЛ с традиционными факторами риска. Таким образом, сочетание генетических тромбофилий и аФЛ встречалось достоверно чаще, чем другие комбинации факторов риска тромбозов ( $p = 0,03$ ).

### Выводы

1. Положительные аФЛ достоверно чаще встречались у детей с тромбозами и гематологическими заболеваниями.

2. Стойкое и выраженное увеличение уровней аФЛ и их комбинация между собой ассоциируются с риском развития тромбозов.

3. Одновременное сочетание иммунологических, наследственных, традиционных факторов риска ведет к увеличению вероятности развития тромбоза, чем если имеется только один фактор риска. Наиболее значимыми для развития тромбозов являются наследственные тромбофилии и их сочетание с аФЛ-позитивностью.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Шпитонкова О.В. Клинико-иммунологические особенности СКВ с АФС у детей. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 1997.
2. Меграбян М.Ф. Тромботические осложнения при системной красной волчанке у детей: клиника, лечение и профилактика. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2006.
3. Солнцева О.А. Роль иммунологических и генетических факторов в генезе тромботических осложнений у детей с СКВ и ювенильным дерматомиозитом. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2007.
4. Avcin T, Cimaz R, Silverman E. Pediatric antiphospholipid syndrome: clinical and immunological features of 121 patients in an international registry. Paediatrics. 2008; 122: 1100–1107.
5. Патрушев Л.И. Тромбофилические состояния и современные методы их диагностики. Рус. мед. журнал. 1998; 6: 181–185.
6. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2001.
7. Hoekstra T, Geleijnse JM, Kluijft C et al. 4G/5G genotype of PAI-I gene is associated with reduced risk of stroke in elderly

stroke. Stroke. 2003; 34: 2822–2828.

8. Binder A, Endler G, Miller M et al. 4G/5G genotype of the plasminogen activator inhibitor-1 promoter polymorphism associates with disseminated intravascular coagulation in children with systemic meningococemia. J. Thromb. Haemost. 2007; 5: 2049–2054.

9. Miyakis M, Lockshin D, Atsumi T et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J. Thromb. Haemost. 2006; 4: 295–306.

10. von Sheven E, Glidden DV, Elber ME. Anti $\beta_2$ -glycoprotein I Antibodies in Pediatric Systemic Lupus Erythematosus and Antiphospholipid Syndrome. Arthritis Rheum. 2002; 47: 414–420.

11. Bonduel M, Hepner M, Sciuccati D et al. Prothrombotic Abnormalities in children with venous thromboembolism. J. Ped. Hematol. Oncol. 2000; 22: 66–72.

12. Duran R, Biner B, Demir M et al. Factor V Leiden mutation and other thrombophilia markers in childhood ischemic stroke. Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2005; 11: 83–88.