

УДК 616.8-005

А.В. Минин, К.И. Пшеничная, А.Б. Пальчик

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕМОСТАЗА У ДЕТЕЙ С АРТЕРИАЛЬНЫМИ ИШЕМИЧЕСКИМИ ИНСУЛЬТАМИ

В условиях нейрохирургического отделения детской городской больницы (г. Санкт-Петербург) обследованы дети (мальчики и девочки) в возрасте от 6 месяцев до 17 лет, перенесшие артериальный ишемический инсульт (АИИ). У 3 детей и 17 родителей диагностированы различные нарушения гемостаза: медленное угасание синяков, носовые кровотечения, кровоизлияние в склеры, кровоточивость десен и др. Исследование генов-маркеров тромбофилии у обследованных детей показало, что редко встречаемые в популяции (1–4%) генотипы G/g и G/A протромбина G20210A выявлены у 50% обследованных больных.

Ключевые слова: дети, артериальный ишемический инсульт, тромбофилия, генетические маркеры.

Children (male and female) from 6 months to 17 years old with acute arterial ischaemic stroke (AAIS) were observed at Neurosurgical Department of Child Hospital. Three children and seventeen parents had disorders of blood clotting background: inadequate development and slow disappearance of bruises, prolonged nasal, sclerotic, gum and teeth haemorrhages and others. The comparison of thrombophilia genes' mutation frequency demonstrated that children with AAIS had significantly more often gene Prt (G20210A)(12.5:1), than patients in European population.

Keywords: children, arterial ischemic stroke, thrombophilia, gene markers.

Введение. В современных работах, посвященных инсультам у детей, в особенности артериальным ишемическим инсультам (АИИ), подчеркивают множественность факторов риска, напрямую или опосредованно влияющих на возникновение цереброваскулярных нарушений [8,2,13]. Помимо врожденных пороков развития сосудов, а также заболеваний, проявляющихся специфическими изменениями сосудистой стенки, включающих различного рода соединительно-тканые дисплазии, нарушения гемостаза описывают как одну из наиболее частых причин тромботического поражения церебральных сосудов у детей [16,21]. В остром и восстановительном периодах инсульта у детей неоспоримой является необходимость выявления болезней крови и патологических состояний, приводящих к повторному тромбозу мозговых сосудов в 7–20% случаев [5,11,15]. До 30% АИИ у детей считаются идиопатическими (криптогенными) [10,19], что побуждает к продолжению исследований по выявлению этиологических факторов, лежащих в основе этого заболевания.

Цель исследования – выявление генетических факторов, оказывающих влияние на процессы тромбообразования у детей с АИИ.

Материалы и методы исследования. В условиях нейрохирургического

отделения ДГКБ №5 им. Н.Ф. Филатова в г. Санкт-Петербурге было обследовано 33 ребенка с АИИ (20 мальчиков и 13 девочек) в возрасте от 6 месяцев до 17 лет. Большинству детей было менее 3 лет (21 из 33 – 63%), лишь один ребенок находился в возрастной группе от 7 до 12 лет (табл.1). Среди обследованных детей преобладали мальчики (20 из 33).

Диагноз был установлен на основании картины остро развившейся очаговой неврологической симптоматики, сохранявшейся в течение более 24 ч, а также наличия изменений, соответствующих АИИ [4,18] по данным нейровизуализации (КТ, МРТ).

Все обследованные дети прошли рутинный соматоневрологический осмотр в динамике, были изучены анамнез жизни и болезни с детализацией оценки факторов риска беременности, родов и неонатального периода. При сборе анамнеза выявлялись признаки нарушения гемостаза у ребенка и его ближайших родственников.

Для выявления признаков нарушений в системе гемостаза как тромботического, так и геморрагического характера у детей с АИИ и их родителей при сборе анамнеза использовали анкетирование. Определяли наличие в анамнезе спонтанных кровоизлияний различной локализации, возникающих при определенных обстоятельствах (например, кровоизлияния в склеры при рвоте, кровоточивость десен при

чистке зубов), длительных кровотечениях после оперативного лечения (в том числе после удаления зубов). Также отмечали появление нетравматических подкожных гематом, возникновение подкожных гематом вследствие минимального травмирующего воздействия, несоответствие их размеров характеру и силе травмы. Уделяли внимание длительности регресса подкожных гематом. Выявляли все эпизоды тромбозов у родственников в возрасте до 50 лет. У матери ребенка уточняли наличие длительных, обильных месячных, кровотечений после абортов, а также в послеродовом периоде. Помимо этого принимали во внимание длительное заживление ран у детей с АИИ и их родителей.

Характер и объем инсульта оценивали по методам визуализации. Компьютерная томография была проведена у 30 детей на аппарате Siemens Somatom Emotion. Магнитно-резонансная томография головного мозга выполнена у 5 детей на аппарате Toshiba excelart vantage 1,5T, у 12 детей на аппарате Hitachi «Aperto» 0,4T в режиме T1, T2, DWI. 7 детям проведена фазово-контрастная МР-ангиография, 4 – МР-ангиография в режиме 3D TOF.

18 детей прошли молекулярно-генетическое исследование 10 генов-маркеров тромбофилии.

Обработку материалов проводили пакетом прикладных программ Statistica 10.0 for Windows с использо-

Таблица 1

Распределение обследованных детей по возрасту и полу, чел.

Пол	От 6 месяцев до 1 года	От 1 года до 3 лет	От 3 до 7 лет	От 7 до 12 лет	От 12 до 18 лет
Мужской	5	8	4	1	2
Женский	4	4	3	0	2

Санкт-Петербургский гос. педиатрический университет: **МИНИН Алексей Владимирович** – ассистент кафедры психоневрологии, aleksey_minin@mail.ru, **ПШЕНИЧНАЯ Ксения Ивановна** – д.м.н., проф., kpshenichnaya@yandex.ru, **ПАЛЬЧИК Александр Бейнусович** – д.м.н., проф., xander57@mail.ru.

Таблица 2

Клинические признаки нарушения гемостаза у детей с АИИ

Клинический признак	Число детей
Легкое появление синяков, неадекватность полученной травме	3
Длительное угасание синяков	3
Кровоизлияния в склеры	2
Носовые кровотечения	1
Длительные кровотечения после удаления зубов	1
Длительные кровотечения после травм, операций	1

ванием непараметрических методов статистики (критерия χ^2 и корреляционного анализа по Spearman).

Результаты и обсуждение. У 2 детей из 33 отмечались повторные АИИ, через 6 месяцев и 1 год 2 месяца после перенесенного АИИ. У всех остальных детей до развития ишемического инсульта тромбоцитарных нарушений не отмечалось.

В клинической картине у детей с АИИ преимущественно отмечались двигательные нарушения в виде гемипареза (31 ребенок из 33), в 2 случаях атаксия, зрительные расстройства были ведущими симптомами заболевания. Легкая черепно-мозговая травма предшествовала развитию симптомов инсульта у 23 детей в течение различного периода времени, от нескольких минут до 1 сут. По данным нейровизуализации в основном определяли лакунарные инфаркты в базальных ганглиях, таламусе и внутренней капсуле (28 случаев из 33), в остальных 5 случаях – в коре и подлежащем белом веществе лобной, теменной и затылочной долей, мозжечке и стволе головного мозга. У 10 детей в ходе динамического обследования выявлено вторичное геморрагическое пропитывание ишемического очага.

Данные анамнеза, указывающие на проявления нарушений гемостаза в виде геморрагий у детей с АИИ, были выявлены в 3 случаях (табл.2).

У родителей детей с АИИ инсультов не было, но их близкие родственники в 6 случаях по материнской линии и в 8 – по отцовской переносили инсульты различного типа. В ходе сбора анамнеза установлено, что у 17 родителей отмечены нарушения гемостаза геморрагического характера (табл.3).

Молекулярно-генетическое исследование 10 генов-маркеров тромбофилии проведено у 18 из 33 детей (табл.4).

При оценке данных полиморфизма генов тромбофилии у детей учитывали

частоту встречаемости мутантного аллеля в европейской популяции. Если произвести измерение коэффициента, который отражает во сколько раз в группе исследования частота мутации гена (р%) превышает среднее значение в общей популяции (Р%), можно предположить степень значимости данного полиморфизма в течение заболевания у представителей группы исследования. Согласно данному соотношению (р/Р) результаты молекулярно-генетического исследования представлены в порядке убывания в табл.5.

Редко встречающаяся в европейской популяции мутация гена V фактора свертывания крови (Лейдена), во многих публикациях занимающая одно из первых мест среди факторов риска развития АИИ [6,18], у обследованных

Таблица 3

Клинические проявления нарушения гемостаза у родственников детей с АИИ по отцовской и материнской линии

Признак	Мать	Отец
Легкое появление синяков	15	1
Длительное угасание синяков	4	1
Кровоточивость десен	8	2
Кровоизлияния в склеры	6	0

детей не выявлялась. Несмотря на еще более редкую встречаемость в популяции (1-4%), генотипы G/g и G/A протромбина G20210A определяли у 50% обследованных пациентов. У всех детей был диагностирован полиморфизм

Таблица 4

Исследование крови на полиморфизм генов-маркеров тромбофилии (n=18)

Ген	Генотип	Количество обследованных детей (% от общего числа обследованных)	Частота встречаемости мутантного гена в европейской популяции, %
Ген тканевого активатора плазминогена	Ins/Del	18 (100)	54
Ген протромбина Prt (G20210A), генотип G/A	G/G (N)	9 (50)	1-4
	G/g	6 (33,3)	
	G/A	3 (16,7)	
Ген фактора V (Лейдена)	Arg/Arg (N)	18 (100)	2-7
Ген фибриногена FGB (G-455A)	G/G (N)	7 (38,9)	20
	G/A	9 (50)	
	A/A	2 (11,1)	
Ген интегрин альфа-2 GPIa	C/C (N)	6 (33,3)	35-44
	C/T	12 (66,7)	
Ген ингибитора активатора плазминогена (PAI-1)	5G/5G (N)	8 (44,4)	26-50
	4G/5G	5 (27,8)	
	4G/4G	5 (27,8)	
Ген тромбоцитарного рецептора GP IIIa (HPA-1a/1b)	1a/1a (N)	11 (61,1)	8-15
	1a/1b	7 (38,9)	
Ген тромбоцитарного рецептора GP Ib (HPA-A1/A2)	A1/A1 (N)	10 (55,6)	13-16
	A1/A2	8 (44,4)	
Ген MTHFR A1298C	A/A (N)	9 (50)	10
	A/C	6 (33,3)	
	C/C	3 (16,7)	
Ген MTHFR C677 T	C/C (N)	8 (44,4)	32-40
	C/T	8 (44,4)	
	T/T	2 (11,1)	

Таблица 5

Предполагаемая значимость полиморфизмов генов тромбофилии у детей с АИИ в зависимости от отношения р/Р

Ген	р/Р
Ген протромбина Prt (G20210A), генотип G/A	12,5
Ген MTHFR A1298C	5
Ген фибриногена FGB (G-455A)	3,05
Ген тромбоцитарного рецептора GP Ib (HPA-A1/A2)	2,78
Ген тромбоцитарного рецептора GP IIIa (HPA-1a/1b)	2,59
Ген тканевого активатора плазминогена	1,85
Ген интегрин альфа-2 GPIa	1,51
Ген MTHFR C677 T	1,39
Ген ингибитора активатора плазминогена (PAI-1)	1,11
Ген фактора V (Лейдена)	0

гена тканевого активатора плазминогена Ins\Del. Более 60% детей являлись обладателями генотипов G/A и A/A гена фибриногена G-455A. Приблизительно половина обследованных детей имели полиморфизм генов MTHFR A1298C и MTHFR C677T, при этом в общей сложности 5 детей были гомозиготные по мутантному аллелю. Уровень гомоцистеина у этих детей был в пределах нормы. Широко распространенная в европейской популяции мутация гена ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) имела наибольшее количество гомозиготных генотипов. Гетерозиготные варианты генов тромбоцитарных рецепторов с патологическими аллелями 1b и A2 также превышали общие статистические данные для европейской популяции.

Результаты и обсуждение. Изменения гемостаза, играющие значительную роль в патогенезе ишемических инсультов у детей, имеют множество вариантов клинических проявлений, оценка которых возможна только после тщательного изучения анамнеза, динамики показателей гемостаза, выявления симптомокомплексов заболеваний, влияющих на тромбообразование.

Во многих случаях описываемые в современной литературе факторы развития АИИ у детей связаны с нарушением свертывающей системы и часто носят наследственный характер [7, 14], что делает необходимым выявление признаков тромбофилии как у детей, так и у родителей, sibсов. В многочисленных исследованиях показано, что наличие геморрагических симптомов не только не исключает наличие тромбофилии, но в ряде случаев является характерным в анамнезе пациентов с тромбофобическими проявлениями [1, 3, 20]. Подобные данные показывают необходимость выявления в анамнезе у детей с АИИ и их родителей наряду с эпизодами тромбозов проявления нарушения гемостаза по геморрагическому типу.

Полученные результаты сбора анамнеза демонстрируют, что лишь у небольшой части обследованных детей имелись признаки нарушения свертывающей системы в виде геморрагий по сравнению со значительно большей частотой таковых у их родителей. Данное различие, скорее всего, связано с тем, что большая продолжительность жизни родителей позволила им пережить и больше воздействий экзогенных и эндогенных факторов, влияющих на взаимоотношения между разными компонентами системы гемостаза. При этом непосредственно у родителей отмечались геморраги-

ческие проявления, а у прочих родственников, более старшего возраста, инсульты до 50 лет – в 8 случаях из 33. Это позволяет предполагать наличие сложных, комплексных, многокомпонентных нарушений в системе гемостаза, обуславливающих в различных ситуациях преимущественно геморрагические или тромботические гемостазопатии.

Полиморфизм генов-маркеров тромбофилии был отмечен у всех обследованных детей с АИИ, с большой частотой выявлялись полиморфизмы генов, имеющих невысокую распространенность в европейской популяции: мутации гена протромбина G20210A, MTHFR A1298C, фибриногена G-455A. Известно, что именно эти мутации имеют наибольшее патогенетическое значение в развитии тромбофилии [9, 12].

Заключение. С учетом полученных результатов можно сделать выводы о необходимости сбора анамнеза не только на наличие тромбозов у детей с АИИ и их родителей, но и проявления геморрагических нарушений, имеющих большую частоту клинических проявлений у этих детей. Дети с подтвержденным диагнозом АИИ требуют дальнейшего молекулярно-генетического исследования генов-маркеров тромбофилии, так как у всех обследованных детей присутствовали гетеро- и гомозиготные варианты мутантных генов. Это указывает на большое значение наследственных факторов в развитии АИИ у детей, открывает возможности не только этиотропной терапии, но и профилактики тромботических осложнений.

Литература

1. Алексеев Н.А. Геморрагические диатезы и тромбофилии / Н.А. Алексеев. – СПб.: Гиппократ, 2005. – С. 516–556.
2. Зыков В.П. Диагностика и лечение артериального ишемического инсульта у детей в остром периоде / В.П. Зыков, И.Б. Комарова, Л.В. Ушакова // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – №4. – С. 70–77.
3. Зыков В.П. Diagnostics and treatment of an arterial ischemic stroke in children in acute period / V.P. Zykov, I.B. Komarova, L.B. Ushakova // Questions of modern pediatrics. – 2011. – №4. – С. 70–77.
4. Пшеничная К.И. Геморрагический синдром у детей и подростков с маркерами наследственной тромбофилии / К.И. Пшеничная, Т.А. Мельникова, Е.В. Люгаев // Педиатрия. – 2009. – №4. – С. 64–68.
5. Пшеничная К.И. Hemorrhagic syndrome in children and teenagers with markers of a hereditary thrombophilia / K.I. Pshenichnaya, T.A. Melnikova, E.V. Lugaev // Pediatrics. – 2009. – №4. – С. 64–68.

4. Arterial ischemic stroke in children / J.J. Gemmete, I. Davagnanam, A.K. Toma [et al.] // *Neuroimaging Clin N Am.* – 2013. – Vol. 23, №4. – P. 781–98.
5. Clinical and radiological recurrence after childhood arterial ischemic stroke / V. Ganesan, M. Prengler, A. Wade [et al.] // *Circulation.* 2006. – Vol. 114, №20. – P. 2170–2177.
6. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies / G.L. Kenet, L.K. Litkoff, M. Albisetti [et al.] // *Circulation.* – 2010. – Vol. 121, №16. – P. 1838–47.
7. Inherited and acquired risk factors for arterial ischemic stroke in childhood / G. Lippi, M. Franchini, M. Montagnana [et al.] // *J Thromb Thrombolysis.* – 2009. – Vol. 27, №2. – P. 239–248.
8. Jordan L. C. Challenges in the diagnosis and treatment of pediatric stroke / L. C. Jordan, A. E. Hillis // *Nat Rev Neurol.* – 2011. – Vol. 7, №4. – P. 199–208.
9. Khan S. Hereditary thrombophilia / S. Khan, J.D. Dickerman // *Thromb J.* – 2006. – №4. – P. 15.
10. Lack of progressive arteriopathy and stroke recurrence among children with cryptogenic stroke / S. Darteyre, S. Chabrier, E. Presles [et al.] // *Neurology.* – 2012. – Vol. 79, №24. – P. 2342–2348.
11. Lyle C.A. Childhood arterial ischemic stroke: a review of etiologies, antithrombotic treatments, prognostic factors, and priorities for future research / C.A. Lyle, T.J. Bernard, N.A. Goldenberg // *Semin Thromb Hemost.* – 2011. – Vol. 37, №7. – P. 786–793.
12. 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 / E. S. Roach, M. R. Golomb, R. Adams [et al.] // *Stroke.* – 2008. – Vol. 39. – P. 2644–2691.
13. Predictors of cerebral arteriopathy in children with arterial ischemic stroke: results of the International Pediatric Stroke Study / C. Amie-Lefond, T.J. Bernard, G. Sibire [et al.] // *Circulation.* – 2009. – Vol. 119. – P. 1417–1423.
14. Prothrombotic genetic risk factors in stroke: a possible different role in pediatric and adult patients / V. Djordjevic, M. Stankovic, V. Brankovic-Sreckovic [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2012. – Vol. 18, №6. – P. 658–661.
15. Risk of recurrent childhood arterial ischemic stroke in a population-based cohort: the importance of cerebrovascular imaging / H.J. Fullerton, Y.W. Wu, S. Sidney [et al.] // *Pediatrics.* – 2007. – Vol. 119, №3. – P. 495–501.
16. The roles of anatomic factors, thrombophilia, and antithrombotic therapies in childhood-onset arterial ischemic stroke / J. B. Timothy, J. Marilyn [et al.] // *Thromb Res.* – 2011. – Vol. 127, №1. – P. 6–12.
17. The role of imaging in acute ischemic stroke / E. Tong, Q. Hou, J.B. Fiebach [et al.] // *Neurosurg Focus.* – 2014. – Vol. 36, №1. – P. 3.
18. Thrombophilia and first arterial ischaemic stroke: a systematic review / S. Haywood, R. Liesner, S. Pindora [et al.] // *Arch Dis Child.* – 2005. – Vol. 90, №4. – P. 402–405.
19. Thrombophilic screening in young patients (<40 years) with idiopathic ischemic stroke: a controlled study / F. Dragoni, F. Chiarotti, G. Rosa-no [et al.] // *Thromb Res.* – Vol. 127, № 2. – P. 85–90.
20. Yang J.Y. Pediatric thrombophilia / J.Y. Yang, A.K. Chan // *Pediatr Clin North Am.* – 2013. – Vol. 60, №6. – P. 1443–1462.
21. Zadro R. Inherited prothrombotic risk factors in children with first ischemic stroke / R. Zadro, D.C. Herak // *Biochem Med (Zagreb).* – 2012. – Vol. 3. – P. 298–310.