

# Влияние генетической формы тромбофилии на клинико-морфологические проявления и характер течения хронического гломерулонефрита

Л.А. Боброва<sup>1</sup>, Н.Л. Козловская<sup>1</sup>, В.В. Шкарупо<sup>2</sup>, В.А. Варшавский<sup>3</sup>,  
Е.С. Столяревич<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Кафедра нефрологии и гемодиализа ФППОВ

<sup>2</sup> НИИ молекулярной медицины, лаборатория молекулярной генетики человека

<sup>3</sup> Кафедра патологической анатомии ММА им. И.М. Сеченова

<sup>4</sup> Кафедра нефрологии ФПДО МГМСУ г. Москвы

## Influence of hereditary thrombophilia on clinical features and pathology finding in chronic glomerulonephritis patients

L.A. Bobrova, N.L. Kozlovskaya, V.V. Shkarupo, V.A. Varshavsky, E.S. Stoliarevich

*Ключевые слова:* хронический гломерулонефрит, тромботическая микроангиопатия, тромбофилия, нефроангиосклероз.

Цель работы. Оценить влияние генетической формы тромбофилии на клинико-морфологические проявления и характер течения ХГН.

Материалы и методы. Были проанализированы клиническая картина и данные биопсии почки 25 больных (12 женщин, ср. возраст  $32 \pm 12$  лет и 13 мужчин, ср. возраст  $36 \pm 8,8$  года), госпитализированных в клинику с диагнозом «хронический гломерулонефрит». Средняя длительность почечного анамнеза к моменту проведения биопсии составила 42,1 мес. Критериями отбора пациентов для выполнения генетического исследования были: тромбозы различной локализации, у женщин – синдром потери плода или ранней преэклампсии (до 34-й недели беременности) с сохраняющимися более 6 месяцев после родов изменениями в анализах мочи и/или артериальной гипертензией; АГ, не соответствующая активности почечного процесса; изолированное или несопоставимое со степенью повышения уровня сывороточного креатинина (sCr) снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ); отрицательные серологические маркеры АФС. Оценивали основные клинико-лабораторные параметры на момент выполнения биопсии почки. Почечным исходом считали стабильное повышение уровня Scr  $>1,4$  мг/дл в течение 6 мес. Методом ПЦР определяли полиморфизмы генов MTHFR C677T; PTG G20210A; FV Leiden G1691A; FGB G455A; ITGB3 T176C L33P; PAI-1 4G/5G 675.

Результаты. Мутация в одном гене была выявлена у 24% больных, мультигенная форма тромбофилии – у 76% больных. У всех больных при морфологическом исследовании ткани почки были обнаружены признаки ТМА, у 8 из них – сочетание острой и хронической ТМА. У 3 (13%) пациентов ТМА была единственным гистологическим признаком нефропатии, у остальных сочеталась с различными морфологическими вариантами ХГН. Наибольшая выраженность склеротических изменений отмечалась при одновременном носительстве аллелей 4G PAI-1 и T MTHFR. «Почечный исход» коррелировал с количеством мутантных аллелей ( $r = 0,6$ ;  $p > 0,05$ ), наличием аллеля 4G ( $r = 0,46$ ;  $p = 0,05$ ) и склероза интерстиция ( $r = 0,5$ ;  $p = 0,05$ ).

Заключение. Наследственная тромбофилия способствует индукции нефросклероза, по-видимому, приводя к активации внутривенного свертывания крови, что может вносить вклад в прогрессирование ХГН. У больных с генетической формой тромбофилии возможно развитие острой ТМА как единственного варианта поражения почек.

Aim. To characterize clinical features and pathology of chronic glomerulonephritis (CGN) in patients with genetic thrombophilia.

Material and methods. Morphological data of 25 pts (12 F, 13 M,  $34,0 \pm 10,6$  years) with HT diagnosed with CGN were analyzed. Average duration of nephropathy at biopsy time was 41,2 months. Criteria of patients' selection for genetic analysis were: clinical manifestation of thromboses of various localization; syndrome of fetus loss, especially with early preeclampsia (earlier than 34 weeks of pregnancy), arterial hypertension which is inappropriate to the activity of renal disease; negative serological markers of APS. Polymorphisms of genes MTHFR C677T; PTG G20210A; FV Leiden G1691A; FGB G455A; ITGB3 T176C L33P; PAI-1 4G/5G 675 were determined with PCR. For each biopsy glomerulosclerosis,

arterio/arteriosclerosis and the degree of interstitial fibrosis were analyzed semiquantitatively.

Results. Mutation in one of the genes was detected in 24% patients, a multigenic form of thrombophilia – in 76% patients. All 25 patients had biopsy proven TMA, 3 of them had a combination of acute and chronic TMA features. TMA was the only morphological sign of nephropathy in 3 (13%) pts. TMA was combined with various morphological variants of CGN in all other pts: mesangioproliferative CGN – in 39% pts including 2 with IgA – nephropathy, membranous CGN – in 8% and membranoproliferative CGN I type in 4%, 16% pts had FSGS, 5 (20%) – nephrosclerosis. Sclerotic alterations were more severe in combined carriage of the alleles 4G PAI-1 and T MTHFR. A correlation was found between the renal end point and number of mutant alleles ( $r = 0,6$ ;  $p < 0,05$ ), the presence of allele 4G ( $r = 0,46$ ;  $p = 0,05$ ) and interstitial sclerosis ( $r = 0,5$ ;  $p = 0,05$ ).

Conclusion. Hereditary thrombophilia promotes induction of nephrosclerosis, leads to activation of intraglomerular blood clotting which contributes to the CGN progression. Patients with genetic thrombophilia may develop acute TMA without any other kinds of renal damage.

Key words: chronic glomerulonephritis, thrombotic microangiopathy, thrombophilia, nephroangiosclerosis.

## Введение

По современным представлениям тромбофилия – это повышенная склонность организма к развитию периферических и микроциркуляторных тромбозов с развитием ишемии внутренних органов, в том числе и почек. Предрасположенность к развитию тромботического повреждения может иметь как приобретенные, так и наследственные причины [3, 26]. Наиболее полно изучено поражение почек при приобретенной аутоиммунной тромбофилии (антифосфолипидный синдром – АФС). Развивающееся при АФС тромботическое поражение микроциркуляторного русла почек, так называемая АФС-ассоциированная нефропатия (АФСН), является самым частым проявлением сосудистой патологии почек при АФС. Морфологически АФСН характеризуется сочетанием острых и хронических изменений в капиллярах клубочков и внегломерулярных сосудах (тромбозы, утолщение и дву-контурность базальных мембран, фиброзная гиперплазия интимы артерий, очаговая атрофия коры, артериолосклероз, интерстициальный фиброз и др.), причем последние преобладают [31], что отражает волнообразное течение почечного тромботического процесса с рецидивами острых тромбозов, наслаивающихся на хроническое вазоокклюзивное поражение. Клинически АФСН проявляется трудно контролируемой артериальной гипертензией, нарушением функции почек, протеинурией без изменения мочевого осадка, редко достигающей нефротического уровня (развитие гематурии, как правило, отражает острую тромботическую микроангиопатию – ТМА – интратенальных сосудов).

Наряду с приобретенной в настоящее время выделяют также группу наследственных тромбофилий, связанных с наличием мутаций в генах свертывающей системы и генетически обусловленным дефицитом ингибиторов свертывания: мутация фактора V Leiden, мутации генов протромбина, ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1), дефицит антипротромбина, протенинов C, S и др., а также гипергомоцистеинемией. В отличие от других форм генетической тромбофилии при последней отсутствуют исходные нарушения в системе гемостаза, их развитие опосредовано сбоем в работе ферментных систем, накоплением гомоцистеина в плазме крови, окислительным стрессом и т. д. Наиболее распространенным генетическим дефектом обмена гомоцистеина является термолabile вариант фермента метилентетрагидрофолат-редуктазы (MTHFR) C677T.

Носительство мутантных аллелей может привести к сходным с АФС проявлениям: тромбозам крупных артерий и вен, ишемическому инсульту и/или острому инфаркту миокарда у молодых пациентов, привычному невынашиванию беременности у женщин [1, 10, 14, 18, 19, 23, 29, 30, 34]. Особенно часто эти осложнения развиваются при наличии замен в нескольких генах – мультигенной тромбофилии.

Принимая во внимание обнаружение у некоторых больных хроническим гломерулонефритом (ХГН) гистологических

признаков ТМА [11], сочетающихся с гистологической картиной той или иной формы нефрита, есть основания полагать, что при наследственных формах тромбофилии, связанных с наличием генетического дефекта факторов свертывания крови, как и при АФС, может развиваться тромбоокклюзивное поражение сосудов микроциркуляторного русла почек. Нельзя также исключить, что ТМА может быть единственным проявлением генетической формы тромбофилии. Независимо от того, развивается ли почечная ТМА изолированно или сочетается с другим видом гломерулярной патологии, она, по-видимому, способствует прогрессированию почечной недостаточности, индуцируя нарастание нефросклероза [24]. Профиброгенную роль тромбофилии подтверждают немногочисленные пока исследования, свидетельствующие о том, что наличие генетического дефекта в системе свертывания крови является фактором риска развития нефросклероза у больных с эссенциальной артериальной гипертензией [20, 25].

Цель данной работы – оценить влияние генетической формы тромбофилии на клинико-морфологические проявления и характер течения ХГН.

## Материалы и методы

В исследование были включены 25 больных (12 женщин и 13 мужчин) в возрасте от 17 до 62 лет, госпитализированных в клинику им. Е.М. Тареева в 2006–2008 гг. с диагнозом «хронический гломерулонефрит». Поражение почек было представлено артериальной гипертензией (АГ), мочевым синдромом разной степени выраженности, признаками нарушения функции (снижение скорости клубочковой фильтрации, изолированное или в сочетании с повышением уровня креатинина крови). Длительность почечного анамнеза определяли на основании медицинской документации, в которой имелись данные об отсутствии поражения почек за относительно небольшой период времени до появления признаков нефропатии, и рассчитывали в месяцах от дебюта болезни до момента биопсии.

Критериями отбора пациентов для выполнения генетического исследования были:

- 1) тромбозы различной локализации;
- 2) у женщин – синдром потери плода или ранняя (до 34-й нед. беременности) преэклампсия с сохраняющимися более 6 месяцев после родов изменениями в анализах мочи и/или АГ;
- 3) отрицательные серологические маркеры АФС (антитела к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт);
- 4) АГ, не соответствующая активности почечного процесса;
- 5) изолированное или несопоставимое со степенью повышения уровня сывороточного креатинина (Scr) снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ).

На момент выполнения биопсии почки оценивали сле-

Таблица 1

## Условия ПЦР и последовательности праймеров, использованные в работе

Ген	Праймер: последовательность	Температура отжига MgCl <sub>2</sub>	Размер ПЦР-продукта
F5	F:5'-AGAGCAGATCCCTGGACACGC-3'	60 °C	245 п. н.
	R:5'-CTAGACTTGCCTTCGGCAGTG-3'		
PTG	F:5'-TGAAGAAGTGGATACAGAAGG-3'	57 °C	163 п. н.
	R:5'-TAGCACTGGGAGCATTGAAGC-3'		
ITGB3	F:5'-TAGCTATTGGGAAGTGGTAGG-3'	55 °C	254 п. н.
	R:5'-CTGACTTGAGTGACCTGGGAG-3'		
MTHFR	F:5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'	65 °C	198 п. н.
	R:5'-AGGACGGTCCGGTGAGAGTG-3'		
FGB	F:5'-ATTGAGCACAAAAAAGGGTC-3'	55 °C	228 п. н.
	R:5'-CAAGGCAACCACTAAATCGT-3'		
PAI-1	F:5'-ACAGAGAGAGTCTGGCCACGT-3'	62 °C	163 п. н.
	R:5'-CAACAGCCACAGGGCATGCAG-3'		

дующие клинико-лабораторные данные: артериальное давление (АД), суточную протеинурию (СПУ), эритроцитурию, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) методом Реберга–Тареева, креатинин сыворотки, уровень альбумина.

Критериями АГ были уровень систолического АД (САД)  $\geq 140$  мм рт. ст. и/или диастолического АД (ДАД)  $\geq 90$  мм рт. ст. до назначения антигипертензивных препаратов. При уровне АД  $\geq 180/110$  мм рт. ст. АГ расценивали как тяжелую. Нарушение функции почек констатировали при СКФ ниже 80 мл/мин и/или уровне Scr выше 1,4 мг/дл. «Почечным исходом» считали стабильное повышение уровня Scr  $> 1,4$  мг/дл в течение не менее 6 мес. Протеинурию определяли как суточную экскрецию белка не менее 0,1 г/сут (при значениях 0,1–0,4 г/сут – минимальная, при 0,5–3,0 г/сут – умеренная, более 3 г/сут – выраженная). Гематурию определяли как умеренную при количестве эритроцитов от 4 до 20 в поле зрения, как выраженную – более 20 в поле зрения.

Выделение геномной ДНК из лимфоцитов крови проводилось по стандартной методике (Molecular Cloning A Laboratory Manual, Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989).

Полимеразная цепная реакция – по стандартной схеме (Saiki, 1990).

В общем объеме 25 мкл: к 0,1 мкг ДНК добавляли 0,05 мкМ каждого олигопраймера, 200 мкМ каждого дезоксирибонуклеотидтрифосфата, 1 единицу термофильной ДНК-полимеразы, 2,5 мкл десятикратного буфера для ПЦР следующего состава: 50 мМ KCl, 10 мМ трис-HCl pH 8,4. Затем добавляли 40–60 мкл вазелинового масла. Начальную денатурацию проводили при 95 °C в течение 5 мин, затем следовали 30–33 цикла при условиях, указанных в табл. 1.

Рестрикция – выявление наличия следующих полиморфизмов: метилентетрагидрофолат-редуктазы C677T (MTHFR (C677T), гена протромбина G20210A (PTG (G20210A), фактора V Leiden G1691A (F5 (G1691A),  $\beta$ -цепи фибриногена –455G > A (FGB (–455G > A), тромбозитарного гликопротеина IIIa T176C, L33P (ITGB3 (T176C, L33P) и ингибитора активатора плазминогена I типа –675 4G/5G (PAI-1 (–675 4G/5G) – с помощью ПДРФ-анализа была осуществлена по каталогам фирм «Сибэнзим» (Россия) и Fermentas (Латвия). Визуализация продуктов проходила в 8% ПААГ с последующим окрашиванием нитратом серебра.

Для морфологического исследования использовали материал, полученный с помощью чрескожной пункционной биопсии почки. В биоптатах оценивали: частоту и характер гломерулярных поражений, изменений интерстиция, канальцев и сосудов, наличие и особенности иммунных отложений. С этой целью проводились световая и у 6 больных электронная микроскопия, а также иммуногистохимическое исследование. Срезы толщиной 3 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, выполняли ШИК-реакцию; наличие фиброза определяли при окраске трихромом по Массону.

При статистической обработке полученных данных считывали среднее значение и стандартное отклонение (mean  $\pm$  SD) или медиану, 25-й и 75-й квартили – Me [25%, 75%] в зависимости от соответствия данных нормальному

распределению. Для проверки статистической значимости различий частотных показателей использовали критерий  $\chi^2$  по Пирсону. Достоверными считались различия при  $p < 0,05$ ;  $0,05 \leq p < 0,1$  рассматривали как тенденцию к различию.

Для выявления и оценки связей между исследуемыми показателями применялся непараметрический корреляционный анализ по методу Spearman. О силе и направленности связи судили по величине и знаку коэффициента регрессии r. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета программ SPSS 11,5.

## Результаты

Средний возраст включенных в исследование женщин составил  $32 \pm 12$  лет, мужчин –  $36 \pm 8,8$  года. Длительность почечного анамнеза к моменту проведения биопсии почки составляла  $42,1$  мес. (от 2 до 144 мес.).

При генетическом исследовании у 23 больных определяли все 6 полиморфизмов, у 2 – по три полиморфизма: MTHFR, PTG, FV Leiden (табл. 2).

Проведенное исследование выявило мутацию в одном гене у 6 (24%) больных, мультигенную форму тромбофилии – у 19 (76%) больных. Гомозиготные мутации обнаружены у 12 (48%) больных. Анализ распространенности мутаций генов тромбофилии в нашей популяции больных, несмотря на небольшую выборку, показал, что генотип 4G/4G гена PAI-1 встретился у 35% пациентов; генотип T/T гена MTHFR у 16%; генотип A/A FGB – у 9%, гетерозиготная мутация гена протромбина – у 12%, лейденская мутация в гетерозиготном носительстве выявлена у 8%.

Тромбозы различной локализации развились у 7 больных: артериальные и микроциркуляторные (ТМА миокарда, тромбоз артерии сетчатки, тромбоз почечной артерии) – у 4 больных, венозные (тромбоз почечной вены, тромбоз общей подвздошной вены, ТЭЛА) – у 2 больных, смешанные (острый инфаркт миокарда и ТЭЛА) – у одного. Акушерский анамнез был отягощен у 11 включенных в исследование пациентов, причем 9 из 15 беременностей осложнились ранней преэклампсией.

При анализе течения нефропатии было установлено, что у 56% больных болезнь манифестировала остроснефритическим синдромом, у 28% – сочетанием изолированной протеинурии и АГ, у 12% – нефротическим синдромом, у одного больного ОПН и АГ без изменений в общем анализе мочи. Артериальная гипертензия отмечена у подавляющего

большинства – у 21 больного: у 9 из них – тяжелая, у одного – злокачественная, у 11 – умеренная (рис. 1).

Среднее САД составило  $162 \pm 26$  мм рт. ст.; среднее ДАД –  $103 \pm 22$  мм рт. ст. Протеинурия выявлена у 24 пациентов и в большинстве случаев (64%) носила изолированный характер. Средняя величина ПУ составила  $2,42 \pm 2,64$  г/сут. Нефротический синдром (НС) на момент биопсии отмечен у 8 больных. Эритроцитурия имела лишь у 9 (36%) пациентов, у 5 из которых была минимальной, а у 4 – выраженной. Пол-

Таблица 2  
Распределение частот полиморфизмов в группе больных

Полиморфизм	Генотипы	Частота генотипа в группе, n (%)
PTG G20210A (F2)	G/G	22 (88)
	G/A	3 (12)
F5 Leiden G1691A	G/G	23 (92)
	G/A	2 (8)
MTHFR C677T	C/C	6 (24)
	C/T	15 (60)
	T/T	4 (16)
PAI-1 –675 4G/5G	5G/5G	4 (17)
	4G/5G	11 (48)
	4G/4G	8 (35)
FGB (–455GA)	G/G	14 (61)
	G/A	7 (30)
	A/A	2 (9)
ITGB3 L33P	T/T (L/L)	18 (79)
	C/T (L/P)	4 (17)
	C/C (P/P)	1 (4)

ное отсутствие микрогематурии в многочисленных анализах мочи зафиксировано у 16 (64%) пациентов.

У 20 больных было выявлено снижение СКФ (<80 мл/мин), средняя величина которой составила  $67 \pm 38$  мл/мин. У 10 пациентов снижение СКФ сочеталось с повышением уровня Scr (средний уровень Scr –  $1,76 \pm 1,12$  мг/дл). «Почечный исход» наступил у 9 больных. У больных, достигших его, достоверно чаще выявлялась хотя бы одна гомозиготная мутация (рис. 2).

«Почечный исход» коррелировал с количеством мутантных аллелей ( $r = 0,6, p > 0,05$ ), с наличием аллеля 4G гена PAI-1 ( $r = 0,46, p = 0,05$ ) и склерозом интерстиция ( $r = 0,5, p = 0,05$ ).

У всех 25 больных при морфологическом исследовании были выявлены признаки ТМА, причем у 8 из них – как острой, так и хронической. У 3 (13%) пациентов ТМА оказалась единственным гистологическим вариантом нефропатии (рис. 3), у остальных сочеталась с различными морфологическими вариантами гломерулонефрита: мезангиопролиферативным гломерулонефритом (МПГН) – у 10 (39%) больных (рис. 4), нефросклерозом – у 5 (20%), фокально-сегментарным гломерулосклерозом (ФСГС) – у 4 (16%), мембранозной нефропатией (МН) – у 2 (8%), мезангиокапиллярным гломерулонефритом (МКГН) – у одного больного (4%).

Обращало на себя внимание обилие склеротических изменений в ткани почки при относительно коротком документированном анамнезе нефропатии. Очаговый или глобальный гломерулосклероз был обнаружен у 15 (60%) пациентов, у 8 из которых были полностью склерозированы 50% и более клубочков. Оказалось, что гломерулосклероз чаще выявлялся у больных с генотипами 4G/4G PAI-1 и T/T

MTHFR (рис. 5).

У 67% больных с гломерулосклерозом в биоптатах выявлена мультигенная тромбофилия, причем у 58% пациентов обнаружено одновременное носительство аллелей 4G гена PAI-1 и T гена MTHFR.

Необходимо отметить, что во всех биоптатах, независимо от морфологического варианта нефрита, имелись изменения базальных мембран клубочков (БМК), представленные утолщением различной степени выраженности (в том числе при ФСГС и МПГН) и/или удвоением (в том числе при МН). Фибриновые тромбы в капиллярах клубочков были выявлены у одной пациентки. Полнокровие капилляров отмечено у 8 (32%) больных. У 15 (60%) пациентов был выявлен артерио- и/или артериолосклероз. Аналогично гломерулосклерозу, последний вдвое чаще отмечался при мультигенной тромбофилии ( $68$  vs  $33\%$ ,  $p > 0,05$ ), при этом одновременное носительство аллелей 4G PAI-1 и T MTHFR обнаружено у 64% больных. Склероз интерстиция был выявлен у 22 (88%) больных, причем чаще у носителей аллеля 4G PAI-1 ( $94$  vs  $50\%$ ,  $p = 0,06$ ), носительство которого прямо коррелировало с наличием интерстициального склероза ( $r = 0,46, p = 0,05$ ). При замене в одном гене склероз интерстиция обнаружен с частотой 67%, в нескольких – с частотой 94% ( $p = 0,1$ ). Частота интерстициального склероза в зависимости от сочетания мутантных аллелей представлена на рис. 6. Атрофия канальцев обнаружена у 14 пациентов (56,0%).

### Обсуждение

Таким образом, у всех включенных в исследование больных выявлена генетическая форма тромбофилии, представленная полиморфизмом генов протромбина и V фактора, PAI-1, MTHFR, FGB и ITGB3.

Генотип C/T MTHFR был обнаружен у 15 больных (60%),

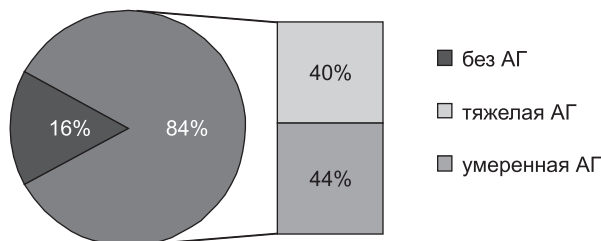


Рис. 1. Частота артериальной гипертензии у пациентов с ХГН и НТФ

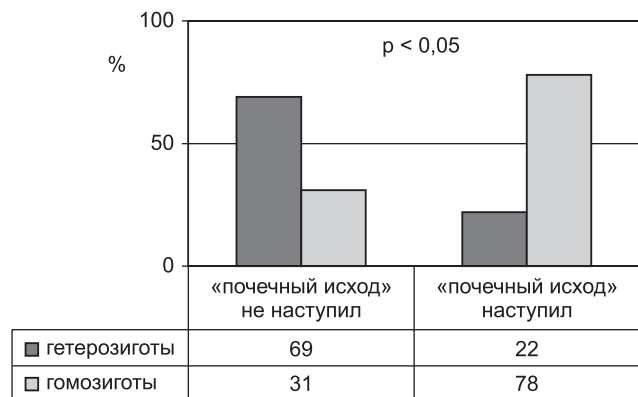
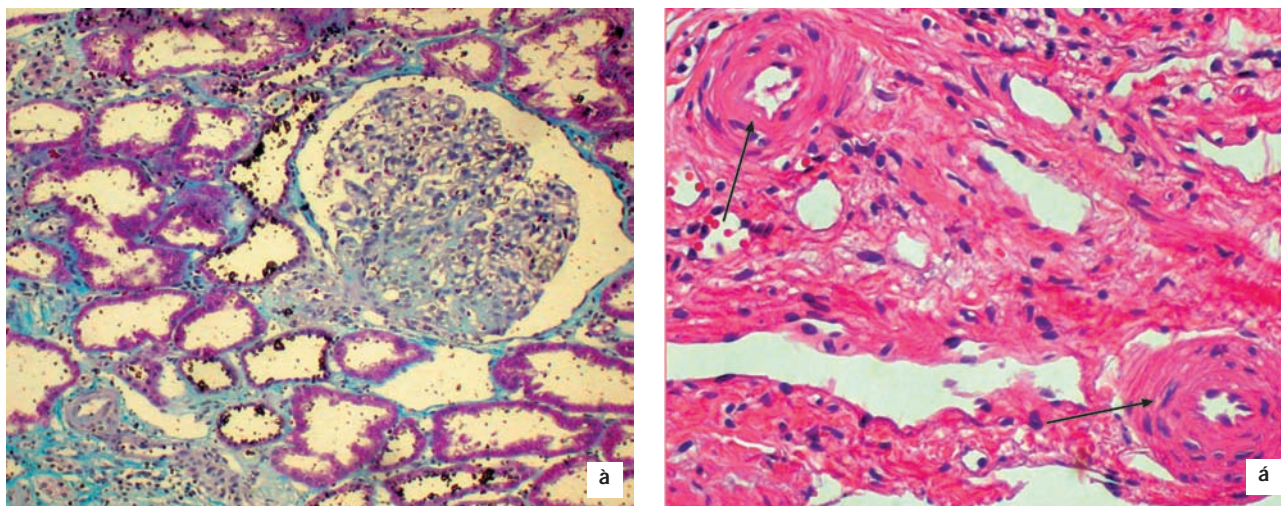


Рис. 2. Частота выявления мутаций у пациентов, достигших и не достигших «почечного исхода»



**Рис. 3.** Хроническая тромботическая микроангиопатия у пациента с НТФ, перенесшего ГУС: а – в области сосудистого полюса клубочка – участок с нарушенной структурой и гомогенизацией капиллярных петлей; отек и набухание эндотелиальных клеток с практически полной облитерацией просвета капиллярных петлей в этой области. Тиреоидизация канальцев. Трихром по Массону.  $\times 250$ ; б – расширение субэндотелиального пространства и набухание эндотелия в артериолах и мелких артериях, ведущие к значительному сужению просвета сосудов. Выраженный тубулоинтерстициальный фиброз. PAS-реакция.  $\times 250$

генотип Т/Т МТНFR – у 4 больных (16%); генотип 4G/5G гена PAI-1 – у 11 больных (48%), а 4G/4G – у 8 больных (35%); гетерозиготная мутация гена протромбина выявлена у 3 больных (12%), гетерозиготная мутация Leiden – у 2 больных (8%); гетерозиготное носительство аллеля А полиморфизма FGB 455 G > A отмечено у 7 больных (30%), гомозиготное – у 2 больных (9%); генотип С/Т (L/P) ITGB3 был выявлен у 4 (18%) пациентов, генотип С/С (P/P) – у 1 (4%). Следует отметить, что лишь меньшая часть больных имела по одной мутации, а у 2/3 пациентов выявлена мультигенная тромбофилия. У 6 больных было обнаружено по 2 мутации, у 13 – по 3 и более мутаций. Наиболее часто встречалось сочетание мутантных аллелей в генах PAI-1 и МТНFR.

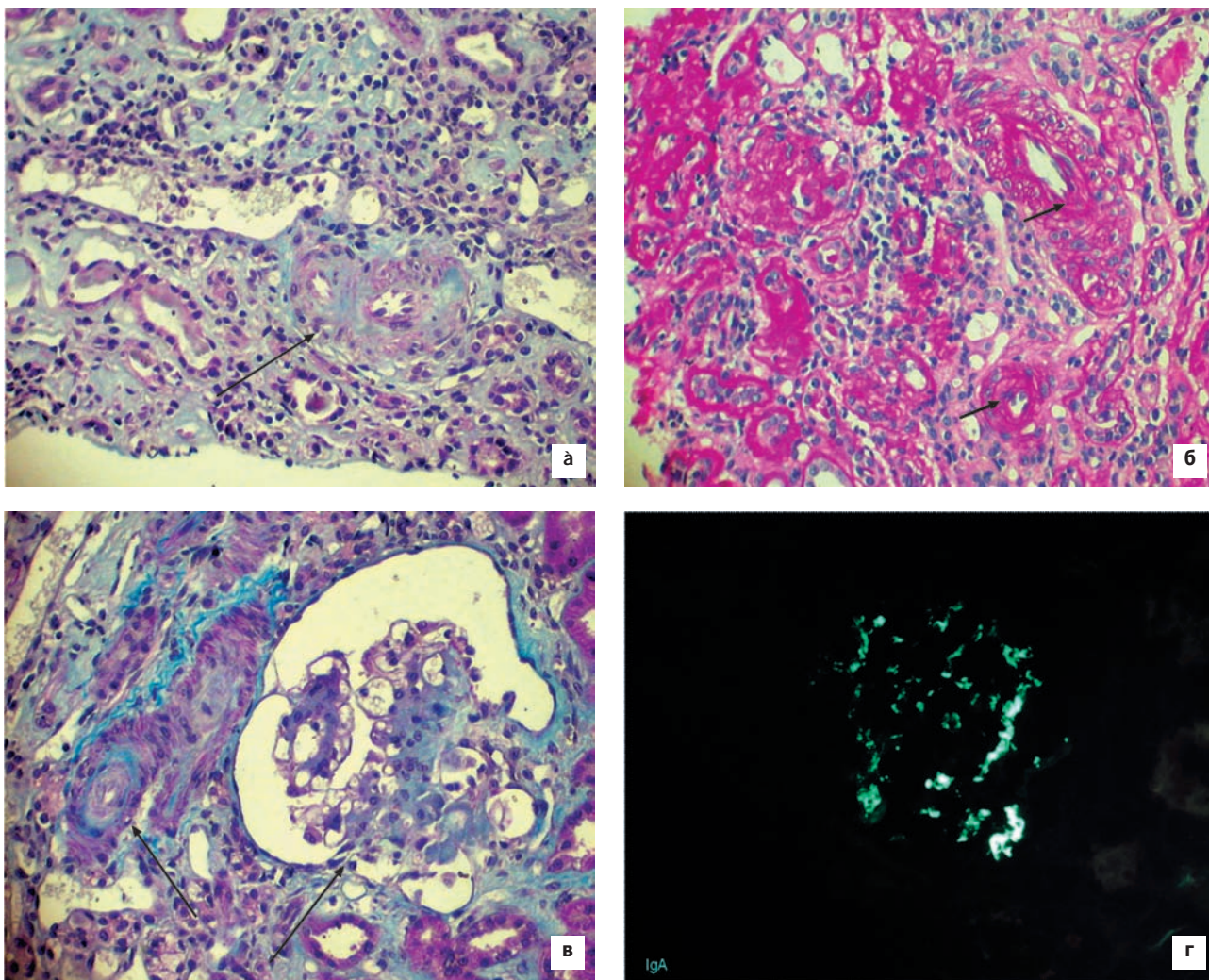
Хотя число обследованных пациентов невелико, в нашей группе больных по сравнению с российской популяцией отмечено отчетливое преобладание основных «тромбофилических генотипов». Так, частота генотипа 4G/4G гена PAI-1, составляющая в российской популяции 28%, в нашей группе составила 35%; частота генотипа Т/Т МТНFR – 8,5 и 16% соответственно. Лейденской мутации в гетерозиготном носительстве 2,6 и 8% соответственно, генотипа G/A PTG G20210A – 1,74 и 12% [4, 8, 12, 27, 39].

Можно предположить, что имеющаяся тромбофилия вносит свой вклад в формирование клинической картины нефропатии у пациентов с ХГН, оказывая влияние на состояние функции почек и выраженность артериальной гипертензии. Так, несмотря на относительно непродолжительный анамнез нефропатии, у 14 (78%) больных, независимо от морфологического варианта нефрита, отмечены признаки нарушения функции почек, преимущественно фильтрационной. Повышенный уровень креатинина сыворотки имели 10 пациентов, 9 из которых достигли «почечного исхода». Артериальная гипертензия отмечена у подавляющего большинства больных, причем определялась и при тех морфологических формах нефрита (мезангиопролиферативный, IgA-нефропатия и мембранозный), для которых она не характерна. Принимая во внимание сочетание гистологических признаков ХГН с признаками хронической ТМА в большинстве случаев, оправдано предположение о взаимосоиливающем влиянии

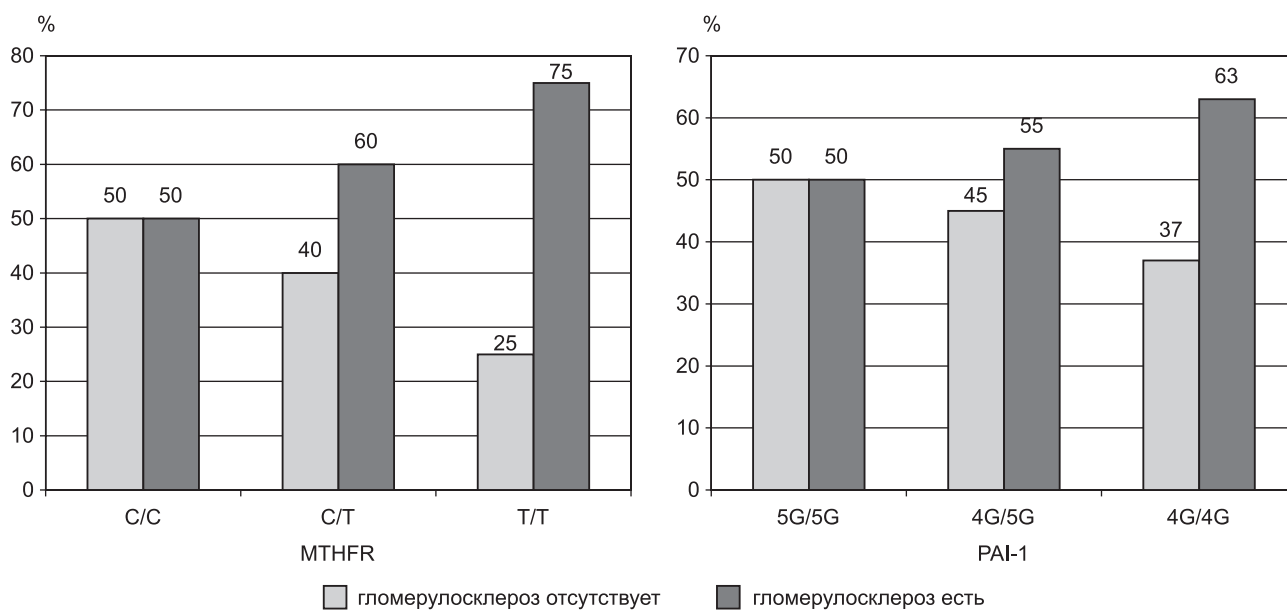
иммунного воспаления и ишемического процесса в клубочках при сочетании ХГН с генетической формой тромбофилии. Результатом данной комбинации, по-видимому, можно считать прогрессирующее течение нефропатии, клинически проявляющееся тяжелой артериальной гипертензией и ранним нарушением функции почек, а морфологически – ускоренным развитием нефроангиосклероза, что подтверждается выявленными нами обилием склеротических изменений в клубочках, интерстиции и сосудах. Наше предположение, кроме собственных результатов, опирается на немногочисленные пока исследования, в которых было показано влияние генетической формы тромбофилии (полиморфизмы генов PAI-1, FGB, FV Leiden, МТНFR) на прогрессирование IgA-нефропатии, мембранозного нефрита, волчаночного нефрита и диабетического гломерулосклероза [15, 20, 21, 32, 36], а также риск развития классических форм ТМА (ГУС/ТТП) [35].

Первым упоминанием связи тромбофилии с развитием нефроангиосклероза следует считать работу K.S. Kant и соавт., в которой на материале повторных нефробиопсий было установлено ускоренное развитие гломерулосклероза у больных волчаночным нефритом с циркулирующим волчаночным антикоагулянтом и тромбозом капиллярных петлей клубочков в первой биопсии [24]. В дальнейшем было показано развитие нефроангиосклероза в исходе излеченного гемолитико-уремического (ГУС) синдрома у детей [13], у взрослых пациентов с ГУС/ТТП (тромботическая тромбоцитопеническая пурпура) [33], у больных с АФС-ассоциированной нефропатией при первичном и вторичном АФС [6, 16, 31, 37].

Результаты этих исследований свидетельствуют о про-фиброгенной роли ТМА, точные механизмы реализации которой в настоящее время неизвестны. По-видимому, тромбообразование в микроциркуляторном русле почек, приводящее к развитию их ишемии, способствует быстрому развитию склеротических процессов в клубочках, внегломерулярных сосудах и интерстиции. В последние годы появились исследования по изучению роли микрососудистого тромбообразования в процессах фиброобразования почечной ткани у лиц с наследственной тромбофилией [20, 28].



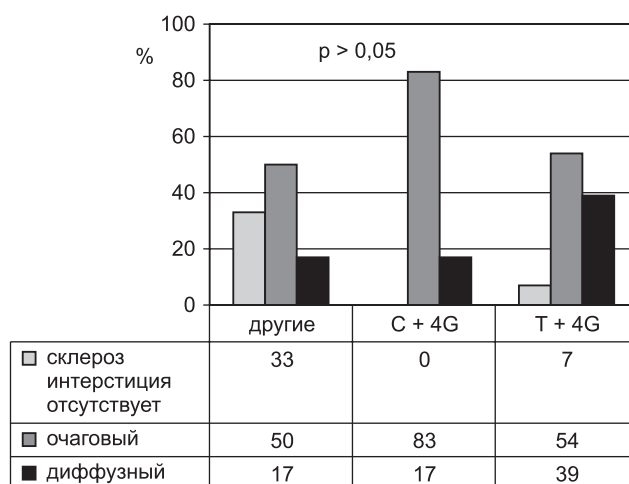
**Рис. 4.** Сочетание хронического гломерулонефрита (IgA-нефropатия) и хронической ТМА: а – артерия с мукоидным набуханием интимы. Трихром по Массону.  $\times 250$ ; б – малая артерия и артериола с такими же изменениями. PAS-реакция.  $\times 250$ ; в – артериола с расширением субэндотелия и сужением просвета, в клубочке – сегментарный склероз и синехии с капсулой в этой области. Трихром по Массону.  $\times 250$ ; г – свечение IgA в мезангии +++ . Иммунофлюоресценция с антителами к IgA.  $\times 250$



**Рис. 5.** Частота выявления гломерулосклероза в зависимости от генотипов MTHFR и PAI-1 ( $p > 0,05$ )

Можно предполагать, что в основе нефроангиосклероза у этих пациентов лежит ТМА. В пользу этого предположения свидетельствуют результаты нашей работы, выявившей признаки ТМА в отсутствие характерных для ХГН гистологических изменений у 3 больных с мультигенной тромбофилией (интересно, что во всех случаях выявлено носительство мутантного аллеля 4G гена PAI-1 наряду с другими полиморфизмами, различающимися у всех больных). При этом клиническая картина нефропатии у всех троих не отличалась от таковой у пациентов с первичной АФС-ассоциированной нефропатией и была представлена острым нефритическим синдромом с рецидивирующими эпизодами нарушения функции почек. Следует отметить, что во всех трех случаях признаки острой ТМА сочетались с уже имеющимся хроническим вазоокклюзивным поражением, представленным фиброзной гиперплазией интимы артерий, артериолосклерозом, сочетающимися с утолщением базальных мембран капилляров клубочков, склерозом интерстиция и атрофией канальцев, что дает основание обсуждать волнообразное течение тромботического процесса в микроциркуляторном русле (МЦР) почек при наличии генетической тромбофилии, аналогично тому, как это имеет место при АФС-нефропатии [7]. Предположение о том, что почечная ТМА связана с тромбофилией, подтверждает ее сочетание в одном случае с венозным тромбозом, в другом – с акушерской патологией и ТМА миокарда, поскольку по результатам опубликованных в последнее время исследований выявлена взаимосвязь между наличием тромбофилических мутаций и развитием тромбозов различной локализации и акушерской патологии [1, 9, 14, 30, 38].

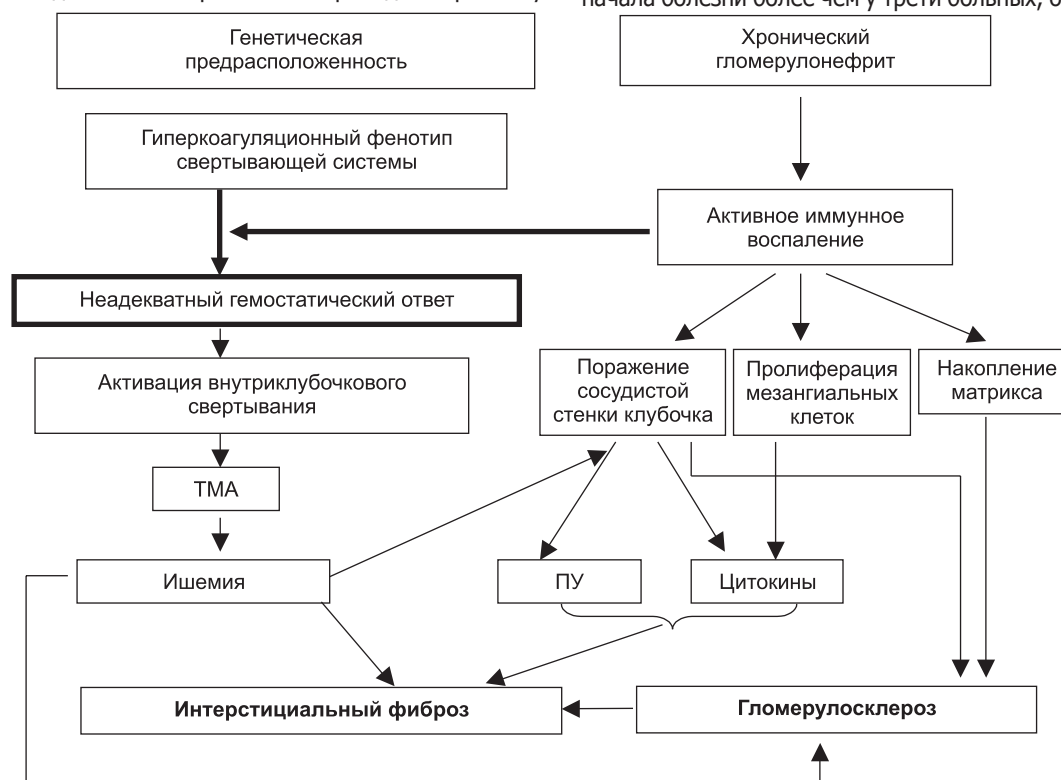
Таким образом, полученные нами данные позволяют высказать предположение о том, что генетическая тромбофилия, особенно мультигенная ее форма, не являясь причиной развития ХГН, может способствовать развитию ТМА, присоединение которой к ХГН приводит к раннему



**Рис. 6. Частота интерстициального склероза в зависимости от сочетания мутантных аллелей**

появлению и неуклонному нарастанию нефросклероза.

Сочетание ХГН с тромбофилией, по-видимому, обуславливает избыточную активацию внутриклубочкового свертывания крови, неадекватности иммунного воспаления («неадекватный гемостатический ответ на болезнь»), что, в свою очередь, приводит к развитию микроциркуляторных тромбозов, превращающихся в самостоятельный фактор прогрессирования нефропатии. В пользу этого свидетельствует преобладание склеротических изменений во всех структурах почечной ткани (гломерулосклероз, артериолосклероз, интерстициальный фиброз) у больных ХГН с мультигенной тромбофилией. Более того, течение нефрита, приближающееся по характеру к таковому при быстро прогрессирующем ГН и приведшее к развитию почечной недостаточности в относительно короткий срок от начала болезни более чем у трети больных, отмечено лишь



**Рис. 7. Механизм влияния наследственной тромбофилии на прогрессирование нефропатии**

у пациентов, имевших носительство нескольких «минорных» аллелей исследованных генов ( $r = 0,6$ ,  $p = 0,05$ ).

Анализ генотипов, наиболее часто ассоциированных с прогрессирующим течением болезни, показал преобладание аллелей T MTHFR и 4G PAI-1. При этом наибольшая частота интерстициального фиброза была отмечена у больных с 4G/4G генотипом PAI-1, который коррелировал с почечным исходом ( $r = 0,5$ ,  $p = 0,04$ ).

На вопрос о том, почему именно полиморфизм гена PAI-1 оказывает наибольшее влияние на прогрессирование нефропатии, трудно дать однозначный ответ. Мы полагаем, что повышенная концентрация PAI-1, ассоциированная с носительством аллеля 4G [17, 21], способствует подавлению локального внутриклубочкового фибринолиза, повышая тем самым риск развития гломерулярных тромбозов у пациентов с активным иммунным воспалением в клубочках почки, в свою очередь сопровождающимся угнетением фибринолиза [2]. С другой стороны, избыточная концентрация PAI-1 в плазме крови может усиливать его экспрессию в клубочках, возрастающую при прогрессирующем течении нефрита, что приводит к ингибции протеолиза белков экстракцеллюлярного матрикса и индуцирует развитие гломерулосклероза, а усиление экстрагломерулярной экспрессии PAI-1, вероятно, способствует прогрессированию интерстициального фиброза [5, 22].

Принимая во внимание полученные результаты, мы предполагаем, что механизм влияния наследственной тромбофилии на прогрессирование нефропатии, по-видимому, можно представить так, как отображено на схеме (рис. 7).

### Заключение

У больных с полиморфизмом генов свертывающей системы крови (PAI-1, MTHFR, FGB, PTG, FV Leiden) возможно развитие почечной ТМА как проявления тромбофилии, в ряде случаев – единственного.

У больных с генетической формой тромбофилии почечная ТМА может сочетаться с венозными и/или артериальными тромбозами, а также с акушерской патологией, наиболее частое проявление которой – ранняя преэклампсия.

У лиц с генетической формой тромбофилии почечная ТМА может развиваться в сочетании с ХГН, вероятно, в результате дополнительной локальной активации внутрисосудистого свертывания крови, обусловленной активностью иммуновоспалительного процесса в почках.

Сочетание ТМА и ХГН, независимо от морфологического варианта последнего, способствует прогрессированию нефропатии, индуцируя быстрое развитие процессов нефросклероза вследствие ишемического повреждения ткани почки, присоединившегося к иммунному воспалению.

### Литература

1. Авдонин П.В., Кириенко А.И., Кожевникова Л.М., Шостак Н.А. и др. Корреляция наличия мутации С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы и повышенный риск тромбозов легочных артерий у больных из центрального региона России с венозными тромбозами // Тер. архив. 2006. № 6. С. 70–71.
2. Андреев Г.В., Полянцева Л.Р., Подорожская Л.В. Фибринолитические свойства плазмы крови, мочи и отечных жидкостей у больных с нефротическим синдромом // Тер. архив. 1982. № 7. С. 53–57.
3. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И., Тлепшук И.К. Физиология системы гемостаза. М., 1995.
4. Калашникова Е.А., Кокоровцева С.Н., Коваленко Т.Ф. и др. Частоты мутаций в генах фактора V (FV Leiden), протромбина (G20210A) и 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (С677Т) у русских // Мед.

генетика. 2006. № 7. С. 27–29.

5. Козловская Л.В., Бобкова И.Н., Плиева О.К. и др. Значение исследования в моче молекулярных медиаторов иммунного воспаления и фиброза в почке при хроническом гломерулонефрите // Тер. архив. 2004. № 9. С. 84–87.

6. Козловская Н.Л., Шилов Е.М., Метелева Н.А. Клинико-морфологические особенности нефропатии при первичном и вторичном АФС // Тер. архив. 2007. № 6. С. 16–25.

7. Козловская Н.Л., Швецов М.Ю., Козловская Л.В. Поражение почек у больных системной красной волчанкой с антифосфолипидным синдромом и первичным антифосфолипидным синдромом // Успехи нефрологии. М.: ММА им. И.М. Сеченова, 2001. С. 227–236.

8. Никитина Л.А., Демидова Е.М., Садекова О.Н. и др. Роль некоторых генетических полиморфизмов в невынашивании беременности // Проблемы репродукции. 2007. № 6. С. 83–89.

9. Balta G., Altay C., Gurgey A. PAI-1 gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs // Am J Hematol. 2002. Vol. 71 (2). P. 89–93.

10. Behague I., Poirier O., Nicaud V. et al. Beta-fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM Study // Circulation. 1996. Vol. 93. P. 440–449.

11. Besbas N., Karpman D., Landau D. et al. A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders // Kidney Int. 2006. Vol. 70. P. 423–431.

12. Canavy I., Henry M., Morange P.E. et al. Genetic polymorphisms and coronary artery disease in the south of France // Thromb Haemost. 2000. Vol. 83. P. 212–216.

13. Caletti M.G. et al. Development of focal segmental sclerosis and hyalinosis in haemolytic uremic syndrome // Pediatr Nephrol. 1996. Vol. 10. P. 687–692.

14. Choi B.O., Kim N.K., Kim S.H. et al. Homozygous C677T mutation in the MTHFR gene as an independent risk factor for multiple small artery occlusions // Thromb Res. 2003. Vol. 111 (1–2). P. 39–44.

15. Cheng-Hsu Chen, Kuo-Hsiung Shul, Mei-Chin Wen et al. Impact of plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms on primary membranous nephropathy // Nephrol Dial Transplant. 2008. Vol. 23. P. 3166–3173.

16. Dugas E., Nochy D., Thi Huong D.L. et al. Antiphospholipid syndrome nephropathy in systemic lupus erythematosus // J Am Soc Nephrol. 2002. Vol. 13. P. 42–52.

17. Dawson S.J., Wiman B., Hamsten A. et al. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells // J Biol Chem. 1993. Vol. 268. P. 10 739–10 745.

18. Doggen C.J., Cats V.M., Bertina R.M., Rosendaal F.R. Interaction of coagulation defects and cardiovascular risk factor: increased risk of myocardial infarction associated with factor V Leiden or prothrombin 20210A // Circulation. 1998. Vol. 97. P. 1037–1041.

19. Fowkes F.G.R., Connar J.M., Smith F.B. et al. Fibrinogen genotype and risk of peripheral atherosclerosis // Lancet. 1992. Vol. 339. P. 639–646.

20. Goforth R.L., Renke H., Sethi S. Renal vascular sclerosis is associated with inherited thrombophilias // Kidney Int. 2006. Vol. 70. P. 743–750.

21. Gong R., Liu Z., Li L. Epistatic effect of plasminogen activator inhibitor I and  $\beta$ -fibrinogen genes on risk of glomerular microthrombosis in lupus nephritis // Arthritis Rheum. 2007. Vol. 56. P. 1608–1617.

22. Hamano K., Iwano M., Akai Y. et al. Expression of glomerular plasminogen activator inhibitor type 1 in glomerulonephritis // Am J Kidney Dis. 2002. Vol. 39. P. 695–705.

23. Hoekstra T., Geleijnse J.M., Schouten E.G., Kluft C. Plasminogen activator inhibitor-type 1: its plasma determinants and relation with cardiovascular risk // Thromb Haemost. 2004. Vol. 91. P. 861–862.

24. Kant K.S., Pollak V.E., Weiss M.A. et al. Glomerular thrombosis in systemic lupus erythematosus: prevalence and significance // Medicine. 1981. Vol. 60 (7). P. 71–85.

25. Koupepidou P., Deltas C., Christofides T.C. et al. The MTHFR 677TT and 677CT/128AC genotypes in Cypriot patients may be predisposing to hypertensive nephrosclerosis and chronic renal failure // Int Angiol. 2005. Vol. 24. P. 287–294.

26. Lane D.A., Mannucci P.M., Bauer K.A. et al. Inherited thrombophilia. Part I [Review] // Thromb Haemost. 1996. Vol. 76. P. 651–662.

27. Lee D.H., Henderson P.A., Blajchman M.A. Prevalence of Factor V Leiden in a Canadian blood donor population // Canadian Medical Association Journal. 1996. Vol. 155 (3). P. 285–289.

28. Marcantoni C., Fogo A.B. A perspective on arterionephrosclerosis: from pathology to potential pathogenesis // Journ Nephrol. 2007. Vol. 20. P. 518–524.



29. Martiskainen M., Pohjasvaara T., Mikkelsen J. et al. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke // *Stroke*. 2003. Vol. 34. P. 886–891.
30. Mello G., Parretti E., Marozio L. et al. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia // *Hypertension*. 2005. Vol. 46. P. 1270.
31. Nochy D., Daugas E., Droz D. et al. The intrarenal vascular lesions associated with primary antiphospholipid syndrome // *J Am Soc Nephrol*. 1999. Vol. 10. P. 507–518.
32. Paueksakon P., Revelo M.P., Ma L.J. et al. Microangiopathic injury and augmented PAI-1 in human diabetic nephropathy // *Kidney Int*. 2002. Vol. 61. P. 2142–2148.
33. Ruggenenti P., Remuzzi G. Malignant vascular disease of the kidney: nature of the lesions, mediators of disease progression, and the case for bilateral nephrectomy // *Am J Kidney Dis*. 1996. Vol. 27. P. 459–475.
34. Sirotkina O., Merkulova A., Chukhlovina M., Elchaninov P. The 4g/5g Polymorphism of the PAI-1 Gene is Associated with Cerebrovascular Disease Development in Childhood and Juvenile Period // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2005. Vol. 3 (Suppl. 1). P. 1606 (Abstract).
35. Sucker C., Kurschat C., Farokhzad F. et al. The TT Genotype of the C677T Polymorphism in the Methylentetrahydrofolate Reductase as a Risk Factor in Thrombotic Microangiopathies: Results From a Pilot Study // *Clin Appl Thromb Hemost*. 2009. Vol. 15. P. 283–289.
36. Suzuki H., Sakuma Y., Kanesaki Y. et al. Close relationship of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and progression of IgA nephropathy // *Clin Nephrol*. 2004. Vol. 62. P. 173–179.
37. Tectonidou M.G., Sotsiou F., Nakopoulou L. et al. Antiphospholipid syndrome nephropathy in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies: prevalence, clinical associations and long-term outcome // *Arthritis Rheum*. 2004. Vol. 50 (8). P. 2569–2579.
38. Wiklund P.-G., Nilsson L., Nilsson Ardnor S. et al. Plasminogen Activator Inhibitor-1 4G/5G Polymorphism and Risk of Stroke // *Stroke*. 2005. Vol. 36. P. 1661.
39. Wilcken B., Banforth F., Li Z. et al. Geographical and ethnic variation of the 677 C-T allele of 5,10 methylentetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide // *Med Genet*. 2003. Vol. 40. P. 619–625.

Получено: 25.11.09  
Принято к печати: 8.02.10