

Система «ADAMTS-13 – фактор фон Виллебранда – тромбоциты» у больных с тромботическими микроангиопатиями при наследственных и приобретенных тромбофилиях

**Е.Ю. Хафизова¹, Н.Л. Козловская¹, Л.А. Боброва¹, И.Н. Бобкова¹,
В.А. Варшавский¹, Е.С. Столяревич², П.А. Авдонин³, Е.В. Захарова⁴**

¹ ГОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»

² ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ

³ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

⁴ Городская клиническая больница им. С.П. Боткина, Москва

«ADAMTS-13 – von Willebrand factor (vWF)– platelet» system in patients with thrombotic microangiopathy with hereditary and acquired thrombophilia

**E.Y. Khafizova¹, N.L. Kozlovskaya¹, L.A. Bobrova¹, I.N. Bobkova¹,
V.A. Varshavsky¹, E.S. Stoliarevich², P.A. Avdonin³, E.V. Zakharova⁴**

¹ Sechenov First Moscow State Medical University

² Shumakov Federal Research center of Transplantology and Artificial Organs

³ Koltzov institute of developmental biology

⁴ Botkin Moscow city hospital, Moscow

Ключевые слова: ADAMTS-13, фактор фон Виллебранда, тромботическая микроангиопатия, тромбофилия.

Дефицит ADAMTS-13 играет ключевую роль в патогенезе тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП). В последние годы снижение активности ADAMTS-13 выявляют не только при микроангиопатических синдромах, но и ряде гломерулярных болезней почек, в том числе при хроническом гломерулонефрите, волчаночном нефрите. Целью нашего исследования было оценить состояние системы «ADAMTS-13 – фактор фон Виллебранда – тромбоциты» у больных с тромбофилиями, имеющих заболевания почек. Обследовано 20 больных с тромбофилиями (антифосфолипидным синдромом и генетическими) и заболеваниями почек, в том числе с волчаночным нефритом, хроническим гломерулонефритом, имевших морфологические признаки тромботической микроангиопатии (ТМА). Активность ADAMTS-13 ниже крайнего референсного значения (<93%), составившая 92–56%, обнаружена у 8 (40%) больных. Активность ADAMTS-13 обратно коррелировала с уровнем фактора фон Виллебранда ($r = -0,3, p < 0,05$) и прямо – с числом тромбоцитов ($r = 0,57, p < 0,01$). Наиболее низкие значения активности ADAMTS-13 отмечены у двух больных с гистологической картиной острой ТМА в биоптатах почек (56% и 76%). Результаты нашего исследования позволяют рассматривать нарушения в системе «ADAMTS-13 – ФВ – тромбоциты» как один из универсальных патогенетических механизмов тромбообразования в сосудах микроциркуляторного русла почек при различных видах патологии.

Introduction and aims: It is known that ADAMTS-13 deficit is a reason of thrombotic thrombocytopenic purpura. A reduction of the ADAMTS-13 activity has been recently demonstrated in different glomerular nephropathy (lupus nephritis, chronic glomerulonephritis). The aim of our study was to assess the «ADAMTS-13 – von Willebrand factor – platelet» system disturbances in patients with nephropathy and thrombophilia with TMA in biopsy specimens. We

Исследование проводится при поддержке РФФИ (грант № 09-04-00468-а)

Адрес для переписки: 119991, Москва, ул. Россолимо, дом 11, стр. 4

Телефон: (499) 248-53-11. Козловская Наталья Львовна

E-mail: nkozlovskaya@yandex.ru

evaluated the ADAMTS-13 activity in plasma of 20 patients with nephropathy and thrombophilia (antiphospholipid syndrome and hereditary thrombophilia). The ADAMTS-13 activity <93% was founded in 8 (40%) pts. The lowest ADAMTS-13 activity (56% and 76%) was noted in 2 patients with acute TMA. ADAMTS-13 activity directly correlated with platelet counts ($r = 0,5$, $p = 0,012$) and there is indirect correlation between ADAMTS-13 activity and vWF ($r = -0,3$, $p < 0,05$). Our results suggest that the disturbances in the «ADAMTS-13 – von Willebrand factor – platelet» system is an universal pathogenetic mechanisms of thrombosis formation in renal microcirculation.

Key words: ADAMTS-13, von Willebrand factor, thrombotic microangiopathy, thrombophilia.

Введение

ADAMTS-13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1-like domains, member 13) – металлопротеаза, принадлежащая семейству пептидазных белков ADAM, биологическая роль которых заключается в деградации экстрацеллюлярного домена трансмембранных белков. В частности, ADAMTS-13 расщепляет сверхкрупные мультимеры фактора фон Виллебранда (ФВ), с присутствием которых в кровотоке связывают тромбозы сосудов микроциркуляторного русла при тромботической тромбоцитопенической пурпуре (ТТП) [27]. Дефицит или отсутствие активности этого фермента, как было установлено недавно, играет ключевую роль в патогенезе ТТП, приводя к накоплению в циркуляции сверхкрупных мультимеров ФВ вследствие дефекта их деградации [18, 37]. Причинами дефицита ADAMTS-13 могут быть многочисленные мутации гена, кодирующего синтез этой металлопротеазы (сегодня их известно более 70), или выработка антител к ней [17, 22, 37], в зависимости от чего выделяют два основных типа ТТП: наследственную (синдром Upshaw–Shulman) и приобретенную. Развитие последней возможно при системной красной волчанке (СКВ), в том числе при волчаночном нефрите (ВН), в результате дефицита ADAMTS-13, обусловленного анти-ADAMTS-13-антителами [14, 21].

Фактор фон Виллебранда – мультимерный протеин, синтезируемый исключительно в клетках эндотелия сосудов и мегакариоцитах. Зрелый ФВ состоит из агрегированных субъединиц с молекулярным весом около 280 кДа, собранных в мультимеры, сохраняющиеся в виде сверхкрупных форм в тельцах Вейбла–Паллада эндотелиальных клеток [25, 34]. Сверхкрупные мультимеры ФВ секретируются из этих оргanelл при повреждении эндотелия, стимуляции тромбином, провоспалительными цитокинами [31] и, попадая в кровоток, быстро расщепляются ADAMTS-13 до гетерогенных мультимеров с молекулярной массой от 500 до 20 000 кДа [13], опосредующих адгезию тромбоцитов к клеткам эндотелия и субэндотелиальным структурам. При этом адгезивная активность ФВ коррелирует с размером его мультимеров. Очевидно, что без немедленной деградации ADAMTS-13 сверхкрупные мультимеры ФВ могут быстро накапливаться в участках повреждения эндотелия, привлекая туда большие количества тромбоцитов, формирующих тромбы [5, 13]. Таким образом, ADAMTS-13 регулирует функциональную активность ФВ, способствуя ограничению роста тромбов в микроциркуляторном русле.

Многочисленные исследования показали, что активность ADAMTS-13 <5%, вплоть до ее полного отсутствия (тяжелый дефицит металлопротеазы), характерна для ТТП [7, 17, 28, 33, 37]. Однако недавно было установлено,

что небольшое или умеренное снижение активности ADAMTS-13 может наблюдаться при целом ряде заболеваний, в том числе кардио- и цереброваскулярных [8, 9, 16], циррозе печени, алкогольном гепатите, остром панкреатите [29, 38], сепсисе и индуцированном им синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) [20, 30, 41]. Умеренное снижение активности ADAMTS-13, помимо ТТП, описано при других микроангиопатических синдромах: гемолитико-уремическом синдроме (ГУС), злокачественной артериальной гипертензии [15, 24, 39], а также антифосфолипидном синдроме (АФС) [4, 11]. Появились и первые исследования, в которых низкая активность ADAMTS-13 обнаружена при гломерулярных поражениях почек разного генеза – волчаночном нефрите (ВН), хроническом гломерулонефрите (ХГН) [7, 23]. Эти данные дают основание предполагать, что ADAMTS-13 является одним из факторов, вносящих вклад в формирование микроциркуляторных тромбозов не только при ТТП, но и при других микроангиопатических синдромах, а также гломерулярной патологии иммуновоспалительного генеза.

В последние годы получены данные, свидетельствующие о возможности тромботического поражения сосудистого русла почек при наиболее частых генетических формах тромбофилии – Лейденской мутации V фактора свертывания крови, мутациях гена протромбина, ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) и метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) [19, 32]. Так, T. Raife и соавт. обнаружили, что у пациентов с клиническими и морфологическими признаками ТМА частота выявления мутации фактора V Leiden была достоверно выше по сравнению с контрольной группой. Кроме того, в исследованиях Sucker и соавт. была выявлена связь развития ГУС/ТТП с носительством генотипа T/T гена MTHFR C 677 T и генотипа G/G гена тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (TAFI G505A) [35].

В наших недавних исследованиях было установлено, что ТМА у пациентов с генетическими тромбофилиями, аналогично нефропатии, ассоциированной с АФС (АФСН), может развиваться либо как единственная форма поражения почек, либо сочетаться с уже существующей нефропатией, чаще всего ХГН [2].

Однако работы по изучению роли ADAMTS-13 и ФВ в развитии тромбозов микроциркуляторного русла почек, ассоциированных с приобретенными и наследственными тромбофилиями, отсутствуют.

Целью нашего исследования было оценить состояние активности системы «ADAMTS-13 – фактор фон Виллебранда – тромбоциты» у пациентов с приобретенной (АФС) и наследственными тромбофилиями и поражением почек, либо развившимся как локально почечное проявление тромбофилии, либо сочетающимся с ХГН или ВН.

Материалы и методы

В исследование было включено 20 больных с тромбозами и признаками поражения почек (ср. возраст 30 ± 11 лет): 14 (70%) мужчин и 6 (30%) женщин, находившихся в клинике им. Е.М. Тареева в 2007–2010 гг., и 14 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту. Критерием отбора пациентов было наличие морфологических признаков ТМА в нефробиоптатах. На момент выполнения биопсии почки оценивали основные клинико-лабораторные проявления нефропатии: артериальное давление (АД), суточную протеинурию (СПУ), эритроцитурию, скорость клубочковой фильтрации (СКФ) методом Реберга–Тареева, креатинин сыворотки (Scr), уровень альбумина крови.

Критериями артериальной гипертензии (АГ) были уровень систолического АД (САД) ≥ 140 мм рт. ст. и/или диастолического АД (ДАД) ≥ 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.

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 почек. Средняя длительность почечного анамнеза к моменту проведения биопсии составила 10 [2; 96] мес.

У всех больных определяли серологические маркеры АФС (антитела к кардиолипину, волчаночный антикоагулянт, антитела к β_2 -гликопротеину I) и следующие полиморфизмы генов свертывающей системы крови: метилентетрагидрофолатредуктазы C677T (MTHFR (C677T)), протромбина G20210A (PTG (G20210A)), фактора V Leiden G1691A (F5 (G1691A)), β -цепи фибриногена -455G>A (FGB (-455G>A)), тромбоцитарного

гликопротеина IIIa T176C, L33P (ITGB3 (T176C, L33P) и ингибитора активатора плазминогена I типа -675 4G/5G (PAI-1 (-675 4G/5G)) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

У 5 (25%) больных диагностирован АФС: первичный АФС – у 1, вторичный при СКВ – у 4 пациентов. У 15 (75%) больных выявлена мультигенная тромбофилия, представленная различными сочетаниями «протромбогенных» генотипов исследованных генов (табл. 1).

Для определения уровня и активности ФВ и активности ADAMTS-13 в плазме крови венозную кровь смешивали с антикоагулянтом (цитрат натрия), после чего центрифугировали при ускорении 3000 g в течение 20 минут и замораживали при температуре -20°C . Активность ADAMTS-13 определяли методом FRET (fluorescence resonance energy transfer) с использованием флюорогенного субстрата FRET5-VWF73 (PeptaNova GmbH, Germany) и выражали в процентах. Интервал активности ADAMTS-13 у здоровых составил 94–113%.

Концентрацию ФВ в плазме крови (vWF:Ag) и его активность определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с помощью поликлональных антител (Technozym vWF:Ag ELISA; American diagnostic inc. vWF activity kit). Уровень ФВ у здоровых волонтеров составил 0,5–1,5 ед/мл, а активность ФВ – 56% [5, 31, 83].

Для морфологического исследования использовали материал, полученный с помощью чрескожной пункционной биопсии почки. В биоптатах оценивали частоту и характер гломерулярных изменений, изменений интерстиция, канальцев и сосудов, наличие и особенности иммунных отложений, гломерулярного склероза.

При статистической обработке полученных данных рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение ($\text{mean} \pm \text{SD}$) 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 χ^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.

Таблица 1

Распределение генотипов полиморфных маркеров генов гемостаза у обследованных больных

Ген	Полиморфизмы	«Дикий» аллель	«Дикий» генотип, n (%)	Гетерозиготная замена, n (%)	Гомозиготная замена, n (%)
FV Leiden	G1691A	G	19 (94,7)	1 (5,3)	0
PTG	G 20210A	G	19 (94,7)	1 (5,3)	0
MTHFR	C 677T	C	10 (50)	7 (35)	3 (15)
FGB	G (-455)A	G	7 (35)	10 (50)	3 (15)
ITGB3	C 176T (L33P)	C	15 (75)	5 (25)	0
PAI-1	4G (-675)5G	5G	5 (25)	7 (35)	8 (40)

Результаты

Клиническая картина поражения почек была представлена нефротическим синдромом у 7 (35%) больных, остроснефритическим синдромом – у 3 (15%), изолированным мочевым синдромом – у 10 (50%) пациентов. Протеинурия (ПУ) выявлена у 18 больных, у 10 из которых (55,6%) носила изолированный характер. Величина ПУ составила 0,95 [2,2; 5,2] г/сут. Эритроцитурия зарегистрирована у 16 (80%) пациентов, в том числе выраженная – у 6. Нарушение

функции почек отмечено у 15 больных. Все они имели сниженную СКФ, средняя величина которой составила 61 ± 38 мл/мин, у 12 (75%) из них снижение СКФ сочеталось с повышением уровня Scr. У 2 больных (10%) развилась ОПН, потребовавшая лечения сеансами гемодиализа. «Почечный исход» наступил у 10 больных.

Клинико-лабораторная характеристика больных представлена в табл. 2.

Анемия выявлена у 8 (40%) больных, значения гемоглобина у которых составили 55–116 г/л. Повышение уровня ЛДГ от 480 до 834 МЕ имели 4 (20%) из этих пациентов. Тромбоцитопения (число тромбоцитов $53\,000$ в 1 мкл крови) отмечена лишь у 1 (5%) пациентки, имевшей наиболее низкий показатель гемоглобина и высокий ЛДГ. Таким образом, лабораторные признаки ТМА в виде тяжелой гемолитической анемии и выраженной тромбоцитопении зарегистрированы только в одном случае, у больной СКВ. Еще у 3 пациентов констатирована изолированная микроангиопатическая гемолитическая анемия с умеренным снижением уровня гемоглобина и повышением ЛДГ при нормальном числе тромбоцитов.

Тромбозы развились у 8 (40%) больных: артериальные – у 5, венозные – у 2, смешанные – у 1 больного.

У всех больных в биоптатах почек имелись морфологические признаки ТМА, представленные гломерулярным и/или артериолярным тромбозом, утолщением интимы артерий с клеточной пролиферацией по типу «луковичной шелухи», утолщением базальных мембран капилляров клубочков, артериолосклерозом, интерстициальным фиброзом, атрофией канальцев, ишемической атрофией коры. При этом у 5 (25%) больных с мультигенной тромбофилией ТМА оказалась единственным вариантом поражения почек; у 1 больного была проявлением АФС-нефропатии при первичном АФС; у 4 с вторичным АФС сочеталась с волчаночным нефритом (ВН); у 10 пациентов ТМА сочеталась с различными морфологическими формами ХГН: у 3 – с мезангиокапиллярным ГН, у 5 – с мезангиопролиферативным ГН, у 1 – с мембранозным ГН, у 1 – с фокально-сегментарным гломерулосклерозом (табл. 3).

Обращали на себя внимание частота и выраженность склеротических изменений в ткани почек при относительно коротком анамнезе нефропатии. Сегментарный или глобальный гломерулосклероз был выявлен у 12 (60%) больных, артерио- и/или артериолосклероз – у 17 (85%), склероз интерстиция – у 15 (75%) больных. В 15 биоптатах имелись изменения базальных мембран клубочков (БМК), представленные утолщением различной степени выраженности и/или удвоением, независимо от морфологического варианта нефропатии. Полнокровие капилляров отмечено у 10 (50%) больных. Признаки острой ТМА обнаружены у 2 больных (10%): у одной с СКВ, имевшей признаки микроангиопатического гемолиза и тромбоцитопению, в сочетании с ВН III класса, у другого – с мембранозным ГН. При иммуногистохимическом исследовании отложения фибриногена на ГБМ, в стенках сосудов и капилляров были выявлены у 10 больных.

Активность ADAMTS-13 в группе контроля составила 94–114%, в группе больных – 56–123% ($p > 0,1$). В зависимости от активности ADAMTS-13 у здоровых, больные были разделены на 3 группы: с активностью ниже край-

Таблица 2

Клинико-лабораторная характеристика больных (n = 20)

Показатель	Значение
САД, мм рт. ст.	181 ± 54
ДАД, мм рт. ст.	106 ± 28
Гемоглобин, г/л	123 ± 29
Тромбоциты, тыс. в 1 мкл	242 ± 91
ЛДГ, Ед/л	371 ± 245
Креатинин сыворотки, мг/дл	$3,1 \pm 2,5$
Суточная протеинурия, г/сут	0,95 [2,2; 5,2]
СКФ, мл/мин	61 ± 38

Таблица 3

Морфологические варианты поражения почек

Морфологические варианты	Количество больных
Изолированная ТМА	5
АФСН при ПАФС	1
АФСН + ВН	4
МГН + ТМА	1
МКГН + ТМА	3
МПГН + ТМА	5
ФСГС + ТМА	1

него референсного значения, в пределах референсных значений и выше них. Активность ADAMTS-13 ниже крайнего референсного значения (<93%), составившая 92–56%, обнаружена у 8 (40%) больных (табл. 4), из которых 2 страдали СКВ, в одном случае с АФС, 4 – ХГН, 1 – первичным АФС и 1 имел только генетическую тромбофилию. У этих же пациентов отмечены наиболее высокие показатели уровня и активности ФВ, а также наименьшее количество тромбоцитов. Последнее хотя и было в пределах нормальных значений, тем не менее оказалось значительно ниже, чем у больных II и III групп. В III группе, в которой активность ADAMTS-13 превышала референсные значения, исследованные показатели имели обратные значения: уровень и активность ФВ оказались наиболее низкими, а число тромбоцитов – наиболее высоким. Во II группе эти показатели имели промежуточные значения (табл. 4). Корреляционный анализ выявил обратную зависимость между активностью ADAMTS-13 и уровнем ФВ ($r = -0,3$, $p < 0,05$) (рис. 1) и прямую – между активностью ADAMTS-13 и числом тромбоцитов ($r = 0,57$, $p < 0,01$) (рис. 2). Наиболее низкие показатели активности ADAMTS-13 (56% и 76%) отмечены у двух больных с гистологической картиной острой ТМА в биоптатах почек, у одной из которых она сочеталась с III классом ВН, а у другого – с мембранозной нефропатией.

Поскольку значения ADAMTS-13, превышающие референсные, не ассоциированы с развитием патологии, мы объединили пациентов, у которых значения

Таблица 4
Показатели, характеризующие фактор фон Виллебранда и тромбоциты в зависимости от активности ADAMTS-13

Параметры	Активность ADAMTS-13			p
	I гр. (n = 8) ≤93%	II гр. (n = 9) 94–114%	III гр. (n = 3) ≥115%	
Уровень фактора фон Виллебранда, ед/мл	1,2 ± 0,4	0,9 ± 0,6	0,5 ± 0,4	0,02*
Активность фактора фон Виллебранда, %	186 ± 38	159 ± 70	120 ± 84	Нд
Число тромбоцитов, тыс./мкл	198 ± 109	268 ± 65	306 ± 74	Нд

* – различия между группами I и III.

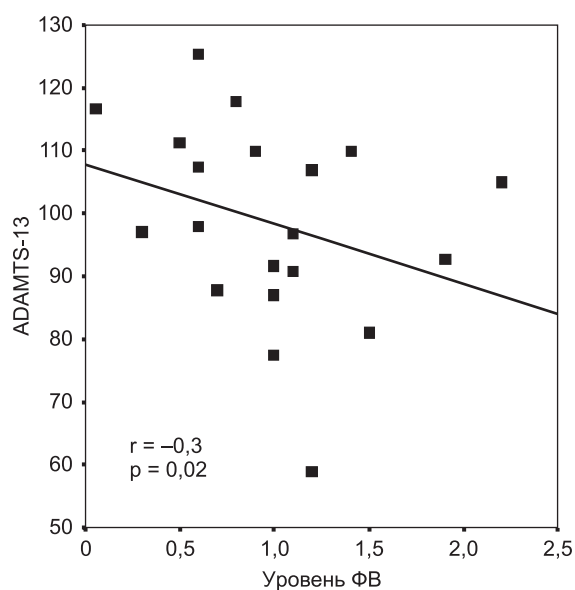


Рис. 1. Связь активности ADAMTS-13 с уровнем ФВ

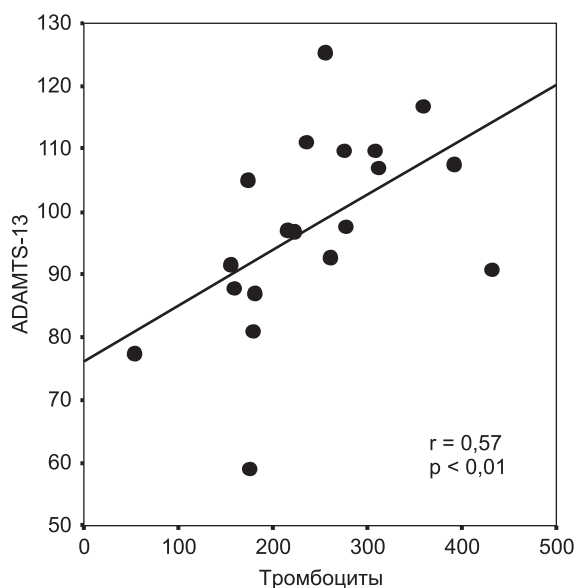


Рис. 2. Связь активности ADAMTS-13 с количеством тромбоцитов

металлопротеазы находились в пределах референсных или были выше них, в единую группу с «нормальными» показателями активности ADAMTS-13. Сравнительный анализ основных характеристик почечного процесса в этой группе (12 больных) и в группе больных со сниженными показателями ADAMTS-13 (8 больных) показал, что при отсутствии различий в величине протеинурии ($3,5 \pm 6,0$ vs $3,1 \pm 3,8$ г/сут), САД ($188,7 \pm 57,4$ vs $159,0 \pm 39,8$ мм рт. ст.) и ДАД ($109,3 \pm 30,0$ vs $98,0 \pm 21,7$ мм рт. ст.), а также СКФ ($47,9 \pm 28,9$ vs $37,9 \pm 30,2$ мл/мин) у пациентов с «нормальным» ADAMTS-13 уровень креатинина сыворотки был ниже, чем у больных с «низким» ADAMTS-13 ($2,5 \pm 1,5$ vs $3,7 \pm 2,7$ мг/дл, $p = 0,07$). «Почечного исхода» достигли 5 из 8 (62,5%) пациентов со сниженным уровнем металлопротеазы и 5 из 12 (41,6%) – с «нормальным» ($p > 0,05$).

Обсуждение

Таким образом, в проведенное исследование были включены пациенты с приобретенной (АФС) и наследственной тромбофилиями и поражением почек. Гистологическая картина нефропатии во всех случаях была представлена признаками ТМА, изолированной у 6 больных (у 1 с первичным АФС и 5 – с мультигенной формой тромбофилии) и сочетающейся с ВН у 4 пациентов с вторичным АФС или различными морфологическими вариантами ХГН – у 10 с носительством нескольких «протромбогенных» полиморфизмов генов гемостаза. Возможность развития ТМА как единственной формы поражения почек у больных с мультигенной тромбофилией, аналогично возможности возникновения изолированной АФС-ассоциированной нефропатии при АФС, была установлена нами ранее [3]. Несмотря на несомненные морфологические признаки ТМА, лишь у 1 пациентки с СКВ выявлены тромбоцитопения и микроангиопатическая гемолитическая анемия, позволяющие предполагать развитие ТТП, хотя признаки поражения ЦНС и лихорадка отсутствовали, еще у 3 больных признаки микроангиопатического гемолиза отмечены в отсутствие тромбоцитопении.

Наши данные совпадают с опубликованными недавно результатами исследования, в котором ТМА выявлена в биоптатах почек больных с неясными причинами нарушения почечных функций, также не имевших этого симптома, причем у части этих пациентов отсутствовала и анемия. Авторы назвали такую форму ТМА «атромбоцитопенической» и предположили ее возможную связь с нарушениями ADAMTS-13 и ФВ [12].

Это предположение подтвердили результаты нашего исследования, обнаружившего снижение активности ADAMTS-13, повышение уровня и активности ФВ у 40% больных с приобретенной (АФС) и наследственной тромбофилиями при наличии ТМА независимо от того, существовала ли она изолированно или сочеталась с ХГН или ВН. Несмотря на нормальное число тромбоцитов в группе больных со сниженной активностью ADAMTS-13, мы, как и другие авторы, обнаружили прямую связь между этими двумя показателями и обратную – между активностью ADAMTS-13 и уровнем ФВ [39], что дает основания предполагать возможность потребления тромбоцитов для формирования микроциркуляторных тромбов в сосудистом русле

почек и при умеренном дефиците ADAMTS-13. Даже небольшое снижение активности этой металлопротеазы, по-видимому, может стать причиной неполной деградации и, следовательно, накопления сверхкрупных мультимеров ФВ, которые играют ключевую роль в образовании тромбоцитарных агрегатов, составляющих основу тромбов в сосудах микроциркуляторного русла [26].

Наши данные согласуются с результатами других исследований, в которых незначительный или умеренный дефицит ADAMTS-13 был обнаружен у больных ГУС/ТТП, ассоциированными с беременностью и родами, приемом различных лекарств, трансплантацией костного мозга, сепсисом, опухолями, злокачественной артериальной гипертензией, а также у больных постдиарейным ГУС [15, 39, 40, 42]. Более того, в работе S.K. Vessly и соавт. было установлено, что почти у двух третей пациентов с идиопатической ТТП активность ADAMTS-13 оказалась выше 5%, причем у 36% больных превышала 25% [40]. На основании этих данных было высказано предположение о том, что умеренный дефицит ADAMTS-13 (>10%) может быть дополнительным фактором риска развития микроциркуляторных тромбозов различного генеза [42], даже при ТТП. Правомерность этого предположения подтверждают наблюдения позднего дебюта наследственной ТТП, которая развивается у взрослых людей [36]. Причина отсроченного начала болезни неясна, но острым эпизоду, как правило, предшествуют инфекции, беременность, хирургические операции, т. е. состояния, при которых развивается эндотелиальная дисфункция, сопровождающаяся секрецией сверхкрупных мультимеров ФВ, что дает основания предполагать необходимость триггерного механизма ТМА даже при наследственном дефиците ADAMTS-13 [39, 40, 42].

Сегодня в качестве причин умеренного дефицита ADAMTS-13 рассматривают повышенное потребление, уменьшенный синтез и прямую ингибицию [42]. Некоторые провоспалительные цитокины, в том числе фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-4, интерферон- γ ингибируют транскрипцию этой металлопротеазы в звездчатых клетках печени и эндотелиоцитах и ее секрецию из них [10], а также непосредственно блокируют активность ADAMTS-13 [6]. Поэтому можно предположить, что в нашем исследовании у больных активными формами нефрита, независимо от того, был ли это брайтов или волчаночный нефрит, могли иметь место локально почечное подавление секреции ADAMTS-13 или прямая его блокада, опосредованная цитокинами. Именно поэтому в системной циркуляции отмечено лишь незначительное снижение активности металлопротеазы. С другой стороны, эндотелиальная дисфункция, характерная для ХГН и особенно ВН, может проявляться повышением уровня и активности ФВ в плазме крови, как было установлено ранее И.Н. Бобковой и соавт. [1]. Повреждение клеток эндотелия может быть вызвано также воздействием антифосфолипидных антител, что объясняет рост активности ФВ при АФС-нефропатии. Таким образом, у пациентов с ВН, ХГН или АФСН, имеющих морфологические признаки ТМА, может наблюдаться дисбаланс между активностью ADAMTS-13 и ФВ, который, как полагают, более

важен, чем абсолютные концентрации этих факторов [39]. При этом взаимодействие между ними может осуществляться двояко: с одной стороны, освобождение избыточных количеств ФВ из поврежденных эндотелиальных клеток может связать ADAMTS-13, приводя к уменьшению его активности, с другой – сниженная активность ADAMTS-13 способна привести к экспрессии сверхкрупных мультимеров ФВ, обладающих наиболее высокой протромбогенной активностью [39], что может индуцировать тромбообразование в сосудах микроциркуляторного русла почек с развитием ишемии органа. По-видимому, мультиметную тромбофилию, имевшуюся у большинства больных с умеренным дефицитом ADAMTS-13, можно считать дополнительным фактором, вносящим вклад в развитие микроциркуляторных тромбозов, поскольку, как было установлено в нашем предыдущем исследовании, она обуславливает избыточную активацию внутриклубочкового свертывания крови, не адекватную выраженности иммунного воспаления [2]. Полученные нами данные свидетельствуют о справедливости теории «двойного удара» применительно к развитию микроциркуляторных тромбозов, возникновение которых у больных ВН, ХГН и АФСН обусловлено несколькими факторами, включающими в себя, кроме активности иммуновоспалительного процесса, генетические нарушения в системе гемостаза и в ряде случаев дефицит ADAMTS-13. Их сочетание, по-видимому, обеспечивает прогрессирующее течение почечного процесса, в пользу чего свидетельствует более выраженное повышение креатинина сыворотки у пациентов с дефицитом ADAMTS-13 по сравнению с больными, имевшими нормальную его активность, а также большая частота «почечного исхода» при сниженной активности металлопротеазы. Наши данные согласуются с результатами исследований, в которых установлена обратная связь между сывороточным креатинином и активностью ADAMTS-13 у больных злокачественной артериальной гипертензией и ДВС-синдромом при сепсисе, что дало основания авторам этих работ предполагать важную роль даже небольшого дефицита ADAMTS-13 в развитии органного повреждения при различных микроангиопатических синдромах, сопровождающихся активацией и дисфункцией эндотелия [30, 39].

Заключение

Таким образом, результаты нашего исследования позволяют рассматривать нарушения в системе «ADAMTS-13 – ФВ – тромбоциты» как один из универсальных патогенетических механизмов тромбообразования в сосудах микроциркуляторного русла почек при различных видах патологии и обосновывают возможность развития ТМА при иммуновоспалительных заболеваниях почек (ВН, ХГН) и АФС-нефропатии. Носительство множественных полиморфизмов генов гемостаза, как и антифосфолипидные антитела, по-видимому, служит фактором, предрасполагающим не только к артериальным и/или венозным, но и микроциркуляторным тромбозам, и в ряде случаев может играть роль локального триггерного механизма гиперкоагуляции.

Литература

1. Бобкова И.Н., Полянцова Л.Р., Тареева И.Е., Козловская Л.В. Клиническое значение определения фактора Виллебранда у больных волчаночным нефритом // *Терапевт. архив*. 1995. № 67 (5). С. 14–16.
2. Боброва Л.А., Козловская Н.Л., Шкарупо В.В. и др. Влияние генетической формы тромбофилии на клинико-морфологические проявления и характер течения хронического гломерулонефрита // *Нефрология и диализ*. 2010. № 1 (12). С. 25–33.
3. Боброва Л.А. Поражение почек при наследственных и приобретенных тромбофилиях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010.
4. Austin S.K., Starke R.D., Laurie A.S. et al. The VWF/ADAMTS-13 axis in the antiphospholipid syndrome: ADAMTS-13 antibodies and ADAMTS-13 dysfunction // *Br. J. Haematol.* 2008. Vol. 14. P. 536–544.
5. Bernardo A., Ball C., Nolasco L. et al. Platelets adhered to endothelial cell-bound ultra-large von Willebrand factor strings support leucocyte tethering and rolling under high shear stress // *J. Thromb. Haemost.* 2005. Vol. 3 (3). P. 562–570.
6. Bernardo A., Ball C., Nolasco L. et al. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cells-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow // *Blood*. 2004. Vol. 104 (1). P. 100–106.
7. Bianchi V., Robles R., Alberio L. et al. Von Willebrand cleaving protease (ADAMTS-13) in thrombocytopenic disorders: a severely deficient activity is specific for thrombotic thrombocytopenic purpura // *Blood*. 2002. Vol. 100 (2). P. 710–713.
8. Bongers T.N., de Bruijne E.L., Dippel D.W. et al. Lower levels of ADAMTS-13 are associated with cardiovascular disease in young patients // *Atherosclerosis*. 2009. Vol. 207 (1). P. 250–254.
9. Bongers T.N., de Maat M.P., van Goor M.L. et al. High von Willebrand factor levels increase the risk of first ischemic stroke: influence of ADAMTS-13, inflammation and genetic variability // *Stroke*. 2006. Vol. 37 (11). P. 2672–2677.
10. Cao W.J., Niya M., Zheng X.W. et al. Inflammatory cytokines inhibit ADAMTS-13 synthesis in hepatic stellate cells and endothelial cells // *J. Thromb. Haemost.* 2008. Vol. 6 (7). P. 1233–1235.
11. Carvalho J.F., Freitas CAEW, Lima IVS et al. Primary antiphospholipid syndrome with thrombotic thrombocytopenic purpura: a very unusual association // *Lupus*. 2009. Vol. 18. P. 841–844.
12. De Serres S.A., Isenring P. Athrombocytopenic thrombotic microangiopathy, a condition that could be overlooked based on current diagnostic criteria // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009. Vol. 24. P. 1048–1050.
13. Dong J.F., Moake J.L., Nolasco L. et al. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions // *Blood*. 2002. Vol. 100 (12). P. 4033–4039.
14. Feng Yu, Ying Tan, Ming-Hui Zhao. Lupus nephritis combined with renal injury due to thrombotic thrombocytopenic purpura – haemolytic uraemic syndrome // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. Vol. 25. P. 145–152.
15. Franchini M., Montagnana M., Targher G., Lippi G. Reduced von Willebrand factor-cleaving protease levels in secondary thrombotic microangiopathies and other disease // *Semin. Thromb. Hemost.* 2007. Vol. 33 (8). P. 787–797.
16. Fuchigami S., Kaikita K., Soejima K. et al. Changes in plasma von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) levels in patients with unstable angina // *Thromb. Res.* 2008. 12 Vol. 2 (5). P. 618–623.
17. Furlan M., Robles R., Solentbaler M., Lämmle B. Acquired deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura // *Blood*. 1998. Vol. 91 (8). P. 2839–2846.
18. Furlan M., Robles R., Lämmle B. et al. Deficit ADAMTS-13, activity of von Willebrand factor-cleaving protease in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura // *Blood*. 1997. Vol. 89 (9). P. 3097–3103.
19. Gong R., Liu Z., Chen Z., Li L. Genetic variations in plasminogen activator inhibitor-1 gene and beta fibrinogen gene associated with glomerular microthrombosis in lupus nephritis and the gene dosage effect // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2002. Vol. 19. P. 1–5.
20. Kremer Hovinga J.A., Zeerleder S., Kessler P. et al. ADAMTS-13, von Willebrand factor and related parameters in severe sepsis and septic shock // *J. Thromb. Haemost.* 2007. Vol. 5 (11). P. 2284–2290.
21. Kwok S.K., Ju J.H., Cho C.S. et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura in systemic lupus erythematosus: risk factors and clinical outcome: a single centre study // *Lupus*. 2009. Vol. 18. P. 16–21.
22. Lery G.G., Nichols W.C., Lian E.C. et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura // *Nature*. 2001. Vol. 413 (6855). P. 488–494.
23. Lu G., Shen L., Wang Z. et al. Significance of plasma von Willebrand factor level and von Willebrand factor-cleaving protease activity in patient with chronic renal disease // *Chin. Med. J.* 2008. Vol. 121 (2). P. 133–136.
24. Mammucci P.M., Canciani M.T., Forza I. et al. Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor // *Blood*. 2001. Vol. 98. P. 2730–2735.
25. Mammucci P.M. Platelet von Willebrand factor in inherited and acquired bleeding disorders // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. Vol. 92 (7). P. 2428–2432.
26. Mammucci P.M. Thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic uremic syndrome: much progress and many remaining issues // *Haematologica/the Hematology Journal*. 2007. Vol. 92. P. 878–880.
27. Moake J.L., Rudy C.K., Troll J.H. et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura // *N. Engl. J. Med.* 1982. Vol. 307. P. 1432–1435.
28. Moake J.L. Thrombotic microangiopathies // *N. Engl. J. Med.* 2002. Vol. 347. P. 589–600.
29. Morioka C., Uemura M., Matsuyama T. et al. Plasma ADAMTS-13 activity parallels the APACHE II score, reflecting an early prognostic indicator for patients with severe acute pancreatitis // *Scand. J. Gastroenterol.* 2008. Vol. 43 (11). P. 1387–1396.
30. Ono T., Mimuro J., Madoiwa S. et al. Severe secondary deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation: its correlation with development of renal failure // *Blood*. 2006. Vol. 107. P. 528–534.
31. Paleolog E.M., Crossman D.C., McVey J.H., Pearson J.D. Differential regulation by cytokines of constitutive and stimulated secretion of von Willebrand factor from endothelial cells // *Blood*. 1990. Vol. 75 (3). P. 688–695.
32. Rajfe T.J., Lentz S.R., Atkinson B.S. et al. Factor V Leiden: a genetic risk factor for thrombotic microangiopathy in patients with normal von Willebrand factor-cleaving protease activity // *Blood*. 2002. Vol. 99. P. 437–442.
33. Sadler J.E. Von Willebrand factor, ADAMTS-13, and thrombotic thrombocytopenic purpura // *Blood*. 2008. Vol. 112. P. 11–18.
34. Sporn L.A., Marder V.J., Wagner D.D. Inducible secretion of large, biologically potent von Willebrand factor multimers // *Cell*. 1986. Vol. 46 (2). P. 185–190.
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. Tao Z., Anthony K., Peng Y. et al. Novel ADAMTS-13 mutations in an adult with delayed onset thrombotic thrombocytopenic purpura // *J. Thromb. Haemost.* 2006. Vol. 4 (9). P. 1931–1935.
37. Tsai H.M., Lian E.C. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura // *N. Engl. J. Med.* 1998. Vol. 339 (22). P. 1585–1494.
38. Uemura M., Fujimura Y., Matsuyama T. et al. Potential role of ADAMTS-13 in the progression of alcoholic hepatitis // *Curr. Drug Abuse. Rev.* 2008. Vol. 1 (2). P. 188–196.
39. Van den Born B.H., van der Hoeven N.V., Groot E. et al. Association between thrombotic microangiopathy and reduced ADAMTS-13 activity in malignant hypertension // *Hypertension*. 2008. Vol. 51. P. 862–866.
40. Vessly S.K., George J.N., Lämmle B. et al. ADAMTS-13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients // *Blood*. 2003. Vol. 102. P. 60–68.
41. Yong Keun Kim, Jonquook Lee, Kyunq-A Lee et al. Clinical Significance of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS-13) deficiency in patients with sepsis-induced disseminated intravascular coagulation // *Infectious Chemotherapy*. 2009. Vol. 41 (2). P. 78–81.
42. Zhou Z., Nguyen T.C., Guchhait P., Dong J.F. Von Willebrand factor, ADAMTS-13, and thrombotic thrombocytopenic purpura // *Semin. Thromb. Hemost.* 2010. Vol. 36 (1). P. 71–81.

Дата получения статьи: 29.04.11
Дата принятия к печати: 26.06.11