

Значение аллельных вариантов генов системы свертывания крови и тромбоцитарных рецепторов в развитии болезни Вильсона – Коновалова

Т.П. Розина^{1,2}, С.В. Фастовец¹, Е.Е. Старостина¹,
Л.М. Самоходская¹, Т.Н. Краснова¹

¹ГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», г. Москва, Российская Федерация

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России, г. Москва, Российская Федерация

The clinical role of blood coagulation and platelet receptors gene allelic variants in development of Wilson's disease

T.P. Rozina^{1,2}, S.V. Fastovets¹, E.E. Starostina¹, L.M. Samokhodskaya¹, T.N. Krasnova¹

¹ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

² Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Цель исследования. Оценить влияние носительства различных аллельных вариантов генов системы свертывания крови и тромбоцитарных рецепторов на особенности клинической картины *болезни Вильсона–Коновалова* (БВК).

Материал и методы. В исследование включены 85 больных с болезнью Вильсона–Коновалова, разделенные на две группы: без неврологической симптоматики (абдоминальная форма; $n=51$), с неврологической симптоматикой (смешанная форма; $n=34$). Определение полиморфизма исследуемых генов проводили с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с анализом кривых плавления.

Результаты. Аллели А генов гемостаза FII 20210 G/A, FV 1691G/A на уровне тенденции чаще выявляли в группе больных с неврологической симптоматикой, чем в группе больных с абдоминальной формой БВК. Частота встречаемости аллели 5G гена ингибитора активатора плазминогена PAI –675

Aim of investigation. To estimate the effect of carriage of various allelic variants of blood coagulation system and platelet receptors genes on Wilson's disease (WD) clinical presentation features.

Material and methods. Original study included 85 patients with a Wilson's disease who were divided into two groups: without neurological symptoms (abdominal form; $n=51$) and with neurologic symptomatology (mixed form; $n=34$). Genetic polymorphism testing was carried out by real-time polymerase chain reaction with melting curve analysis.

Results. Alleles A of hemostasis genes FII 20210 G/A, FV 1691G/A were more frequent in the group with neurologic symptomatology as compared to the group of patients with abdominal form of WD at the level of trend. Frequency of 5G allele of plasminogen activator inhibitor gene PAI-675 5G/4G in the group with neurologic symptoms was lower (41.17%), than in the group without symptoms of central nervous system (CNS) involvement (49.02%) (odds ratio – OR: 1.374; 95%

Старостина Екатерина Евгеньевна — кандидат медицинских наук, врач-гастроэнтеролог, терапевт, Медицинский научно-образовательный центр МГУ им. М.В. Ломоносова. Контактная информация: starostinaee@gmail.com; 119192, г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27, корп. 10

Starostina Ekaterina E. — MD, gastroenterologist, physician, Medical scientific and educational center, Lomonosov Moscow State University. Contact information: starostinaee@gmail.com

Поступила: 23.10.2017 / Received: 23.10.2017

5G/4G в группе с неврологическими симптомами была меньше (41,17%), чем в группе без признаков поражения *центральной нервной системы* (ЦНС) (49,02%) (*отношение шансов* — ОШ=1,374; 95% *доверительный интервал* — ДИ — 0,739–2,553). В группе больных с неврологическими проявлениями генотип 4G4G гена PAI –675 5G/4G обнаруживали чаще (47,06%), чем у пациентов без таковых (23,53%) (ОШ 2,889; 95%ДИ 1,135–7,350). Аллель T гена тромбоцитарного рецептора ITGA2807 C/T встречалась чаще в группе больных с поражением ЦНС, чем в группе пациентов без неврологических проявлений ($p=0,018$; ОШ 2,172, 95%ДИ 1,163–4,058). Объединенный генотип СТ+ТТ достоверно чаще обнаруживали у больных с неврологическими проявлениями (82,35%) по сравнению с группой пациентов без таковых (54,90%) ($p=0,010$; ОШ 3,833; 95%ДИ 1,355–10,846).

Заключение. Носительство мутантных генотипов генов FII 20210 G/A, FV 1691G/A, PAI –675 5G/4G, ITGA2807 C/T является фактором, ассоциированным с неврологическими симптомами у пациентов с болезнью Вильсона–Коновалова.

Ключевые слова: болезнь Вильсона–Коновалова, полиморфизм генов, тромбофилия, гемостаз, тромбоцитарные рецепторы.

confidence interval – CI: 0.739–2.553). In the group of patients with neurological symptoms 4G4G genotype of PAI-675 5G/4G gene was more common (47.06%), than in patients without those symptoms (23.53%) (OR: 2.889; 95%-CI: 1.135–7.350). The allele T of platelet receptor gene ITGA2 807 C/T was more common in patients with CNS involvement than in the group of patients without neurological symptoms ($p=0.018$; OR: 2.172. 95%-CI: 1.163–4.058). Integrated genotype CT+TT was significantly more common in patients with neurological symptoms (82.35%) as compared to patients without those (54.90%) ($p=0.010$; OR: 3.833; 95%-CI: 1.355–10.846).

Conclusion. Carriage of mutant genotypes FII 20210 G/A, FV 1691G/A, PAI-675 5G/4G, ITGA2 807 C/T is the factor associated to the presence of neurological symptoms at Wilson's disease.

Key words: Wilson's disease, genetic polymorphism, thrombophilia, hemostasis, platelet receptors.

Для цитирования: Розина Т.П., Фастовец С.В., Старостина Е.Е., Самоходская Л.М., Краснова Т.Н. Значение аллельных вариантов генов системы свертывания крови и тромбоцитарных рецепторов в развитии болезни Вильсона–Коновалова. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2018; 28(2):50-55
DOI: 10.22416/1382-4376-2018-28-2-50-55

For citation: Rozina T.P., Fastovets S.V., Starostina E.E., Samokhodskaya L.M., Krasnova T.N. The clinical role blood coagulation and platelet receptors gene allelic variants in development of Wilson's disease. Rus J Gastroenterol Hepatol Coloproctol 2018; 28(2):50-55
DOI: 10.22416/1382-4376-2018-28-2-50-55

Введение

Болезнь Вильсона–Коновалова (БВК) — редко наблюдающееся заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, в основе развития которого лежит нарушение метаболизма меди, приводящее к избыточному накоплению металла в печени, головном мозге, почках, роговице и других органах-мишенях.

Причиной развития болезни Вильсона–Коновалова является мутация бета-полипептида АТР7В — медьтранспортирующей АТФазы. В результате мутации гена нарушается регуляция внутриклеточного транспорта меди, что ведет к значительному снижению ее экскреции с желчью и накоплению в печени. Медь, высвобождающаяся из поврежденных гепатоцитов, поступает в кровь, что приводит к отложению и накоплению микроэлемента в тканях головного мозга, почек, роговице и других органах.

Клинические проявления болезни Вильсона–Коновалова обусловлены в первую очередь пора-

жением печени и *центральной нервной системы* (ЦНС). Выделяют основные формы — абдоминальную и церебральную, которые в дебюте заболевания наблюдаются с одинаковой частотой (40–45%). Реже болезнь манифестирует поражением кроветворной системы (гемолитическая анемия, тромбоцитопения, лейкопения), почек (проксимальная канальцевая дисфункция), эндокринной системы (аменорея, гинекомастия, замедленное половое созревание, спонтанные аборты, гипопаратиреоз, гиперкальциурия).

Поражение печени при болезни Вильсона–Коновалова может быть диагностировано на стадии хронического гепатита, часто первый признак заболевания — декомпенсация цирроза печени или фульминантная печеночная недостаточность [1–4].

Причины такого разнообразия дебюта и течения заболевания до конца не известны. Установлено, что БВК характеризуется выраженным генетическим полиморфизмом, обусловленным большим количеством мутаций различных

типов: в литературе описано около 800 мутаций гена АТР7В. В ряде зарубежных исследований показано наличие корреляции между определенными мутациями гена АТР7В и клиническими проявлениями БВК [5]. Вместе с тем большое разнообразие фенотипических проявлений болезни Вильсона—Коновалова при одних и тех же мутациях гена АТР7В свидетельствует о наличии других генов-модификаторов, оказывающих влияние на патогенез и клинические проявления БВК.

В настоящее время большой интерес представляет исследование влияния полиморфных аллельных вариантов генов свертывания крови на течение генетических, воспалительных, токсических и обменных заболеваний печени, в том числе БВК. Так, А. Przybyłowski и соавт. [6] провели исследование двух мутаций гена МТНFR — 677 С/Т и 1298 А/С — у 245 пациентов с болезнью Вильсона—Коновалова. Установлено, что у пациентов с генотипом 1298СС гена МТНFR отмечается более ранний дебют заболевания, а у носителей гаплотипа 677 СС/1298 АА МТНFR первые симптомы болезни Вильсона—Коновалова появляются в более позднем возрасте. Кроме того, у пациентов с гомозиготной мутацией гена МТНFR677 ТТ чаще наблюдается абдоминальная форма заболевания.

Приведенные факты позволяют утверждать, что научный интерес представляет подробное и комплексное изучение влияния генов тромбофилии на дебют, течение и прогноз БВК с целью выявления патогенетических процессов и выбора подходов к их терапевтической коррекции.

Цель настоящего исследования — установить связь полиморфизма генов тромбофилии (МТНFR677 С/Т, МТНFR1298 А/С, FII 20210 G/A, FV 1691G/A, FVII 10976 G/A, FXIII 103 G/T, ITGA2807 С/Т, ITGB31565 Т/С, FBG —455 G/A, PAI —6755G/4G) с клинической формой БВК (абдоминальная и с неврологическими проявлениями).

Материал и методы исследования

Обследованы 85 больных с БВК, находившихся под наблюдением в Клинике нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» в период с ноября 2014 г. по сентябрь 2016 г. Критерии включения: клинически и лабораторно подтвержденный диагноз БВК (согласно Лейцигской количественной шкале для диагностики БВК).

Критерии исключения больных из исследования: употребление алкоголя (более 20 мл/сут для женщин и более 40 мл/сут для мужчин); наличие дополнительных этиологических факторов поражения печени (вирусный гепатит В, С, D, аутоим-

мунный гепатит, наследственный гемохроматоз); сахарный диабет 1-го и 2-го типов.

Геномную ДНК выделяли из ЭДТА-стабилизированной периферической венозной крови согласно протоколу с помощью коммерческого набора «QIAmp DNA Blood Mini Kit» и автоматической станции «QIAcube™(QIAGEN)». Полиморфизм генов МТНFR677 С/Т, МТНFR1298 А/С, FII 20210 G/A, FV 1691G/A, FVII 10976 G/A, FXIII 103 G/T, ITGA2807 С/Т, ITGB31565 Т/С, FBG —455 G/A, PAI —6755G/4G определяли с помощью коммерческих наборов «ДНК-технология», термоциклера DТprime и программного обеспечения для приборов ДТ («ДНК-технология»).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ «Excel 2007» и «Statistica 10.0». Использовали параметрические и непараметрические статистические критерии: t-критерий Стьюдента, критерий χ^2 Пирсона или двусторонний точный тест Фишера и критерий *отношения шансов* (ОШ). Достоверными считали различия при $p < 0,05$ и 95% *доверительном интервале* (ДИ) для ОШ, не включавшем единицу.

Результаты исследования

Клинико-демографическая характеристика больных

Среди 85 обследованных пациентов было 28 (33%) мужчин и 57 (67%) женщин. Средний возраст дебюта заболевания $18,1 \pm 8,3$ (2–46) года, или 22 года по медиане (интерквартильный размах 13–27 лет). Абдоминальная и смешанная формы БВК выявлены у 51 (60%) и 34 (40%) пациентов соответственно. Пациенты с изолированным поражением нервной системы не были представлены, в связи с тем что обычно они находятся под наблюдением неврологов. У 15 (17,6%) пациентов диагностирован хронический гепатит, у 70 (82,4%) — цирроз печени разной степени тяжести: у 37 (43,5%) пациентов — класса А, у 15 (17,7%) — класса В, у 18 (21,2%) — класса С по Child—Pugh. При этом достоверных различий в тяжести поражения печени у мужчин и женщин не установлено (табл. 1).

При биомикроскопическом исследовании с помощью щелевой лампы у 69 (81,2%) пациентов выявлено *кольцо Кайзера—Флейшера* (ККФ), причем данный феномен чаще наблюдался у пациентов с циррозом печени, что, вероятно, обусловлено большей длительностью заболевания и более высокой скоростью накопления меди в органах (табл. 2).

У 50 (59%) пациентов в дебюте БВК наблюдалось поражение печени, у 19 (22%) — поражение ЦНС. Реже болезнь манифестировала в виде

Таблица 1

Частота выявления различных поражений печени в зависимости от пола обследованных

Table 1

Detection rate of different liver lesions according to the patients' gender

Пол Gender	Хронический гепатит, абс. число (%) Chronic hepatitis, n (%)	Цирроз печени, абс. число (%) Liver cirrhosis, n (%)
Мужчины Men	7 (25)	21 (75)
Женщины Women	8 (14)	49 (86)

Таблица 2

Частота выявления ККФ при различных поражениях печени

Table 2

Frequency KFR detection at various liver lesions

ККФ KFR	Хронический гепатит, абс. число (%) Chronic hepatitis, n (%)	Цирроз печени, абс. число (%) Liver cirrhosis, n (%)
Нет Neg.	11 (73,3)	5 (7,1)
Есть Pos.	4 (26,7)	65 (92,9)

гемолитической анемии — у 8 (9,5%) пациентов, геморрагического васкулита — у 2 (2,5%), поражения эндокринной системы (аменорея) — у 6 (10,5%).

Анализ взаимосвязи клинической формы (абдоминальная или смешанная) БВК и носительства вариантных аллелей исследуемых генов

Ассоциации между возрастом дебюта БВК и полиморфными маркерами изучаемых генов не выявлено.

При сравнении встречаемости аллелей и генотипов гена FII 20210 G/A в группах больных с неврологическими проявлениями (смешанная форма) и без них (абдоминальная форма) статистически значимых различий не установлено, однако у больных с неврологическими проявлениями на уровне тенденции к статистической значимости чаще встречался генотип GA ($p=0,157$).

Аналогичную тенденцию к статистической значимости можно наблюдать при анализе носительства полиморфизма гена FV 1691G/A. Генотип GA чаще выявляли у пациентов с неврологическими проявлениями по сравнению с больными без таковых.

Минорную аллель A гена FV 1691G/A также чаще обнаруживали у больных с неврологическими проявлениями. В данном случае для получения достоверных результатов необходимым представляется увеличение выборки пациентов.

У пациентов с неврологическими проявлениями минорную аллель 4G гена PAI –675 5G/4G выявляли чаще, чем у больных без них (58,82 и 50,98% соответственно). Частота встречаемости мажорной аллели 5G гена PAI –675 5G/4G у больных с неврологическими симптомами была меньше (41,17%), чем у пациентов без признаков

поражения ЦНС (49,02%) (ОШ=1,374; 95%ДИ 0,739–2,553) (рис. 1).

При анализе распространенности генотипов было установлено, что у больных с неврологическими проявлениями генотип 4G4G выявляли чаще (47,06%), чем у пациентов без них (23,53%) (ОШ 2,889; 95%ДИ 1,135–7,350). При объединении генотипов с мажорной аллелью 5G в одну группу различия стали более выраженными. Так, у пациентов с неврологическими симптомами объединенный генотип 5G5G+5G4G обнаруживали реже, чем у больных с абдоминальной формой БВК (52,97 и 76,47%; $p=0,033$; ОШ 0,346; 95%ДИ 0,136–0,881). Таким образом, аллель 4G гена PAI –675 5G/4G и генотип 4G4G чаще встречаются у пациентов с неврологическими проявлениями (рис. 2).

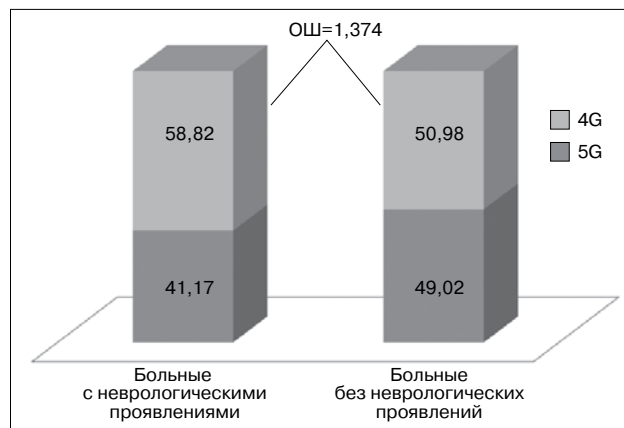


Рис. 1. Частота выявления (в %) аллелей полиморфизма гена PAI –675 5G/4G у больных с неврологическими проявлениями и без них

Fig. 1. Detection rate of PAI-675 5G/4G genetic polymorphism in patients with and without neurological symptoms (%)

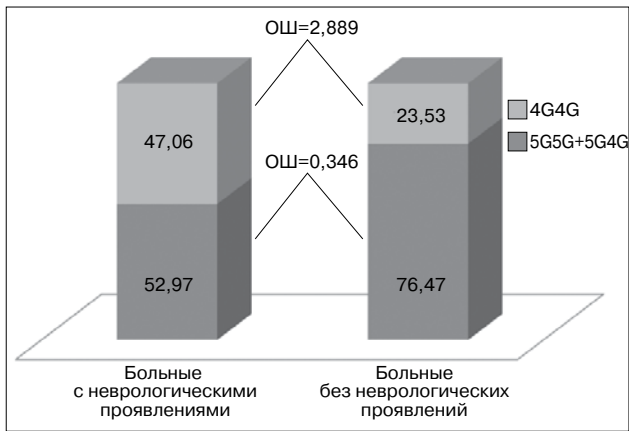


Рис. 2. Частота выявления (в %) генотипов полиморфизма гена PAI –675 5G/4G у больных с неврологическими проявлениями и без них
Fig. 2. Detection rate of PAI-675 5G/4G genetic polymorphism in patients with and without neurological symptoms (%)

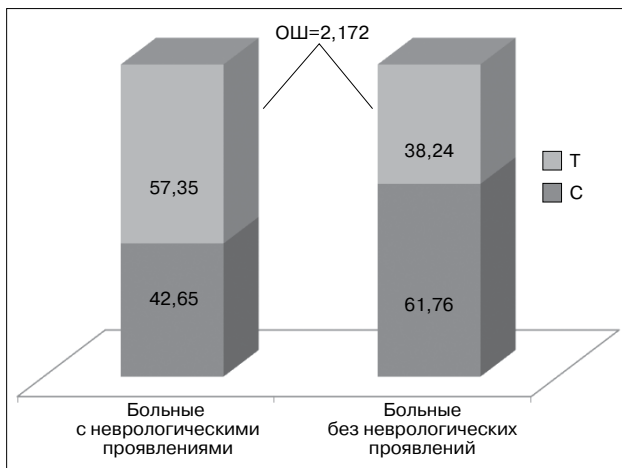


Рис. 3. Частота выявления (в %) аллелей полиморфизма ITGA2807 C/T у больных с неврологическими проявлениями и без них
Fig. 3. Detection rate of ITGA2807 C/T polymorphism alleles in patients with and without neurological symptoms (%)

Минорную аллель Т гена ITGA2807 C/T обнаружили у 57,35% больных со смешанной формой БВК и 38,24% больных без неврологических проявлений. Полученные данные были статистически достоверными ($p=0,018$; ОШ 2,172; 95%ДИ 1,163–4,058). Мажорная аллель С гена ITGA2807 C/T встречалась достоверно чаще у пациентов без неврологических проявлений (61,76 и 42,65% соответственно) ($p=0,018$; ОШ 0,460; 95%ДИ 0,246–0,860) (рис. 3). Среди пациентов с неврологической симптоматикой дикий генотип СС гена ITGA2807 C/T выявлен у 17,6%, в группе больных без неврологических проявлений – у 45,1% (ОШ 0,261; 95%ДИ 0,092–0,738). В то же время объединенный генотип СТ+ТТ достоверно чаще наблюдался у больных с неврологическими проявлениями (82,35 и 54,90% соответ-

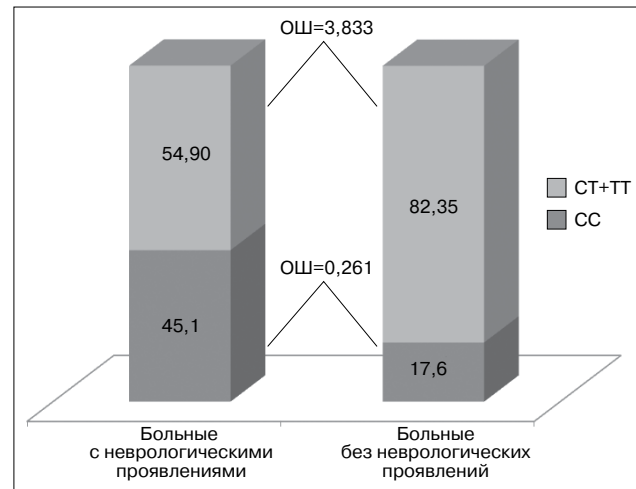


Рис. 4. Частота выявления (в %) генотипов полиморфизма гена ITGA2807 C/T в группах больных с неврологическими проявлениями и без них
Fig. 4. Detection rate of ITGA2807 C/T genetic polymorphism in patients with and without neurological symptoms (%)

ственно) ($p=0,010$; ОШ 3,833; 95%ДИ 1,355–10,846) (рис. 4). Следовательно, аллель Т и объединенный генотип СТ+ТТ гена ITGA2807 C/T являются негативными для развития неврологической патологии.

Взаимосвязи клинических проявлений БВК и полиморфизма генов FVII 10976 G/A, FXIII 103 G/T, FBG –455 G/A, MTHFR677 C/T, MTHFR1298 A/C, ITGB31565 T/C не установлено.

Заключение

Таким образом, нами была установлена взаимосвязь клинической формы БВК (абдоминальная и смешанная) и носительства полиморфизма генов гемостаза (FII 20210 G/A, FV 1691G/A, PAI –675 5G/4G) и тромбоцитарного рецептора ITGA2807 C/T. Так, аллели А генов FII 20210 G/A, FV 1691G/A на уровне тенденции чаще встречались у больных с неврологической симптоматикой, чем у пациентов с абдоминальной формой БВК. В связи с редкой встречаемостью этих мутаций для получения достоверных результатов требуется расширение выборки пациентов. Кроме того, нами было показано, что носительство аллели 4G и генотипа 4G4G гена PAI –675 5G/4G, а также аллели Т и объединенного генотипа СТ+ТТ гена ITGA2807 C/T у пациентов с БВК является негативным для развития неврологической симптоматики. Механизмы такого влияния не до конца ясны. В доступной нам литературе данных о подобных исследованиях не найдено.

Исследование выполнено в рамках проекта № 14–50–00029 Российского научного фонда.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict interest. The authors declare no conflict of interest.

Список литературы/References

1. *Ferenci P., Caca K., Loudianos G., Mieli-Vergani G., Tanner S., Sternlieb I., Schilsky M., Cox D., Berr F.* Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease. *Liver Int* 2003; 23:139-42.
2. *Stremmel W., Meyerrose K.W., Niederau C., Hefter H., Kreuzpaintner G., Strohmeyer G.* Wilson disease: clinical presentation, treatment, and survival. *Ann Intern Med* 1991; 115:720-6.
3. *EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease.* *J Hepatol* 2012; 56:671-85.
4. *Rodriguez-Castro K.I., Hevia-Urrutia F.H., G.C.* Wilson's disease: A review of what we have learned. *World J Hepatol* 2015; 7(29):2859-70.
5. *Ferenci P.* Regional distribution of mutations of the ATP7B gene in patients with Wilson disease: impact on genetic testing. *Hum Genet* 2006; 120:151-9.
6. *Przybyłkowski A., Gromadzka G., Członkowska A.J.* Polymorphisms of metal transporter genes DMT1 and ATP7A in Wilson's disease. *Trace Elem Med Biol* 2014 Jan; 28(1):8-12.