

РОЛЬ ГЕНОДИАГНОСТИКИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ДВС-СИНДРОМА И РИСКА РАЗВИТИЯ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ДЕТЕЙ С ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМИ ФОРМАМИ МЕНИНГОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

С.И. Капустин¹, А.А. Вильниц², Ж.Ю. Сидорова¹, В.Н. Чеботкевич¹, Л.П. Папаян¹, Л.А. Алексеева², Н.В. Скрипченко², С.С. Бессмельцев¹

¹Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия

²Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

Role of genotyping in prediction of disseminated intravascular coagulation and multiple organ failure in children with generalized forms of meningococcal infection

S.I. Kapustin¹, A.A. Vilnits², Zh.Yu. Sidorova¹, V.N. Chebotkevich¹, L.P. Papayan¹, L.A. Alekseeva², N.V. Skripchenko², S.S. Bessmeltsev¹

¹Russian Research Institute of hematology and transfusiology, Saint-Petersburg, Russia

²Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Цель: изучить особенности аллельного полиморфизма ряда генов иммунной системы и гемостаза у детей с генерализованными формами менингококковой инфекции и оценить возможность использования результатов генотипирования для прогнозирования тяжелого течения ДВС-синдрома и развития полиорганной недостаточности (ПОН).

Материалы и методы: обследовано 20 детей в возрасте от 8 месяцев до 17 лет с генерализованными формами менингококковой инфекции, протекающими с синдромом ПОН или/и тромбогеморрагическими нарушениями. Контрольную группу составили 200 доноров крови. В качестве материала исследования использована геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. Выявление аллельных вариантов генов, ассоциированных с дисфункцией плазменного звена гемостаза (F1-A, F1-B, FXIII-A, PAI-1, TPA) и повышенной продукцией ряда провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1B, TNF-A), проводили с помощью полимеразной цепной реакции и последующего рестрикционного анализа. Частоты встречаемости аллелей и генотипов определялись прямым подсчетом. Межгрупповые различия в распределении аллелей и генотипов оценивались с помощью точного метода Фишера. Статистическая обработка проводилась с использованием программы GraphPadPrism, версия 4.0.

Результаты: в группе детей с генерализованными формами менингококковой инфекции доля гетерозигот по полиморфизму 174 G/C в гене IL-6 была в 1,5 раза выше, чем в контроле (75,0% против 50,0% соответственно, OR=3,0; 95% CI: 1,1-8,6; p=0,037). Генотип TPA Del/Del встречался в группе детей с ПОН в 4 раза чаще, чем у пациентов с относительно благоприятным течением заболевания (45,4% против 11,1% соответственно, OR=6,7; 95% CI: 0,6-73,1; p=0,16). Выявлено увеличение в группе детей с ПОН доли лиц, имеющих в генотипе

Abstract

Aim: To investigate the features of allelic polymorphism of several immune- and hemostasis-related genes in children with generalized meningococcal infections and to assess the usefulness of genotyping for prediction of severe disseminated intravascular coagulation (DIC) and multiple organ dysfunction syndrome in these patients.

Materials and methods: we studied 20 children aged from 8 months up to 17 years with generalized meningococcal infections who developed DIC or/and multiple organ dysfunction syndrome. The control group consisted of 200 blood donors. Genomic DNA was isolated from peripheral blood leucocytes. Allelic variants of genes coding for plasma hemostatic factors (F1-A, F1-B, FXIII-A, PAI-1, TPA) or pro-inflammatory cytokines (IL-6, IL-1B, TNF-A) were detected by PCR and subsequent restriction analysis. Allele and genotype frequencies were calculated by direct counting, and their differences between the groups were assessed by Fisher's exact test. For statistical analysis, the GraphPad Prism ver.4.0 software was used.

Results: in the group of children with generalized meningococcal infections, the frequency of heterozygotes for the IL-6 -174 G/C polymorphism was 1.5-fold higher than in the controls (75.0% vs. 50.0%, respectively, OR=3.0; 95% CI: 1.1-8.6; p=0.037). Genotype TPA Del/Del was detected 4-fold more frequently in children who developed multiple organ dysfunction syndrome than in those with the more favorable disease course (45.4% vs. 11.1%, respectively, OR=6.7; 95% CI: 0.6-73.1; p=0.16). Moreover, among the patients having multiple organ dysfunction syndrome, we observed more frequently individuals who possessed at least 2 unfavorable genetic variants (p=0.022).

Conclusion: Simultaneous assessment of nucleotide variations in 8 studied genes could help to define the group of children with high risk of multiple organ dysfunction syndrome. Genotype TPA Del/Del, associated with decreased production of this factor, might serve as a marker of unfavor-

два и более неблагоприятных варианта изученных генов ($p=0,022$).

Заключение: комплексная оценка аллельного полиморфизма 8 генов плазменных факторов гемостаза и провоспалительных цитокинов позволяет с высокой долей достоверности определить группу риска по развитию ПОН среди детей с генерализованными бактериальными инфекциями. Генотип TPA Del/Del может являться неблагоприятным маркером при данной патологии и быть ассоциированным с высоким риском развития тяжелого ДВС-синдрома.

Ключевые слова: гемостаз, ДВС, менингококковая инфекция, полиорганная недостаточность, генетика, ДНК, полиморфизм, прогноз.

Введение

Генерализованные формы менингококковой инфекции (ГФМИ) характеризуются наличием синдрома системного воспаления и всегда связаны с активацией системы гемостаза вплоть до развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС). Синдром ДВС является ведущим звеном патогенеза полиорганной недостаточности (ПОН) на фоне ГФМИ и проявляется развитием тромбинемии. Как показал целый ряд исследований, характер течения и вариант исхода ДВС-синдрома могут определяться не только типом инфекционного возбудителя, но и особенностями ответа организма больного, связанного с его биохимическим и генетическим профилем [1–8].

Несомненный интерес при установлении возможных предикторов тяжелого течения ДВС-синдрома представляют белки острой фазы воспаления (фибриноген, фактор VIII), а также другие компоненты, влияющие на процесс стабилизации и лизиса фибринового сгустка (фактор XIII свертывания крови, тканевой активатор плазминогена – ТРА, ингибитор активатора плазминогена 1-го типа – PAI-1). Для генов каждого из этих факторов установлено наличие нескольких аллельных изоформ, ассоциированных с различным уровнем продукции или/и активности соответствующего белкового продукта [9–11]. Так, нуклеотидная замена “– 455G/A” в гене b-субъединицы фактора I (FI-B) приводит к повышению его конститутивной экспрессии; вариант “– 455A” в большей степени, по сравнению с аллелем “– 455G”, подвержен активации под действием интерлейкина-6 и, вероятно, других медиаторов иммунного ответа [12]. Исследования показали, что аминокислотная замена в α -субъединице фибриногена (FI-A) – Thr312Ala приводит к изменению толщины фибриновых нитей и пористости тромба, в результате чего он становится более прочным и устойчивым к фибринолизу, однако данные о влиянии полиморфизма

able DIC course and possible predictor of multiple organ dysfunction syndrome in children with generalized meningococcal infections.

Key words: hemostasis, disseminated intravascular coagulation, meningococcal infection, multiple organ dysfunction, genetics, DNA, polymorphism, prognosis.

гена FI-A, приводящего к вышеуказанной замене, на характер течения и прогноз ДВС-синдрома при ГФМИ отсутствуют [13].

Важнейшими биологическими регуляторами фибринолитической активности плазмы крови являются белки ТРА и PAI-1. Носительство аллеля “311 п.н. Ins” сопряжено с примерно 8-кратным риском развития венозного тромбоза на фоне беременности у женщин европеоидной расы [14, 15]. Роль полиморфизма гена ТРА в патогенезе других тромбогеморрагических расстройств, в том числе ДВС-синдрома, остается пока невыясненной.

Одной из наиболее хорошо изученных наследственных детерминант снижения активности фибринолиза является полиморфизм “4G/5G” в 5'-нетранслируемой области гена PAI-1, который связан с инсерцией или делецией одного нуклеотида (гуанина) в позиции “-675”. Развитие гипофибринолиза вследствие увеличения продукции PAI-1 рассматривается как один из важнейших патогенетических механизмов ДВС-синдрома и ассоциированной с ним ПОН [1, 2, 16].

Важную роль в формировании и стабилизации фибринового сгустка играет фактор XIII свертывания крови, под действием которого образуются ковалентные связи между мономерами фибрина [17]. Полиморфизм “163 G/T” в гене A-субъединицы фактора XIII (FXIII-A) приводит к замене валина (Val) на лейцин (Leu) в аминокислотной позиции 34. Указанный полиморфизм может оказывать влияние как на кинетику образования фибринового сгустка, так и на его структуру [8], а следовательно – устойчивость к фибринолизу. Данные о связи полиморфизма фактора XIII с риском возникновения и характером течения ДВС-синдрома, в том числе у детей с ГФМИ, практически отсутствуют.

Наряду с генетическим полиморфизмом компонентов системы гемостаза, важную роль в патогенезе ДВС-синдрома могут играть индивидуальные особенности иммунного ответа на инфекционное поражение, которые также во многом определяют

ся генотипом пациента. Именно на примере ДВС-синдрома наиболее четко прослеживается взаимосвязь процессов коагуляции и иммунного воспаления [18, 19]. Помимо регуляции экспрессии генов ТРА, РА1-1 и фибриногена, такие провоспалительные цитокины, как фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкин (IL)-1 и IL-6, могут иными путями воздействовать на систему гемостаза и способствовать тромбообразованию. Наиболее известными механизмами являются активация коагуляционного каскада за счет усиления экспрессии тканевого фактора и снижения активности естественных антикоагулянтов [19]. Имеется большое количество публикаций, посвященных изучению роли полиморфизма провоспалительных цитокинов в патогенезе сепсиса, ДВС-синдрома и ПОН. Однако результаты этих исследований весьма противоречивы. Наиболее клинически значимыми и хорошо изученными являются аллельные варианты, обусловленные однонуклеотидными заменами в регуляторной области соответствующих генов (IL-1 β T-31C, IL-1 β C-511T, IL-6 G-174C, TNF- α G-308A) и приводящие к их усиленной экспрессии [18, 20, 21].

Таким образом, результаты проведенных к настоящему времени исследований не позволяют сделать вывод о целесообразности использования какого-либо отдельного генетического маркера в качестве прогностического критерия течения ДВС-синдрома у детей с ГФМИ. Дальнейший поиск индивидуальных особенностей генотипа и фенотипа пациента, способных оказывать влияние на характер течения заболевания, в частности, являться предикторами его неблагоприятного прогноза, представляется актуальным направлением в решении проблемы прогнозирования ДВС-синдрома у детей с ГФМИ.

Цель исследования — изучить особенности аллельного полиморфизма ряда генов иммунной системы и гемостаза у детей с ГФМИ и оценить возможность использования результатов генотипирования для прогнозирования тяжелого течения ДВС-синдрома и развития ПОН.

Материалы и методы

Объектом исследования явилась группа из 20 детей в возрасте от 8 месяцев до 17 лет с ГФМИ, госпитализированных в Детский научно-клинический центр инфекционных болезней в период с декабря 2015 г. по июнь 2017 г. Клинико-лабораторные проявления заболевания у всех пациентов, вошедших в исследование, соответствовали критериям педиатрического сепсиса, предложенным в 2005 г. на международной консенсусной конференции по педиатрическому сепсису (ICSPS) [23], в том числе тяжелому сепсису — в 6, септическому шоку — в 14 случаях. У всех пациентов была верифицирована менингококковая природа заболева-

ния выделением культуры и/или обнаружением ДНК возбудителя методом ПЦР из крови и/или cerebro-спинальной жидкости. Краткая клиническая характеристика исследуемой группы больных приведена в таблице 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика детей с генерализованными формами менингококковой инфекции инфекциями, вошедшими в исследование

Фамилия, имя	Пол	Возраст	Диагноз*
Б-в Е.	м	2 года	ГФМИ: МК + БГМ, СШ, УФ, СПОН
А-ч Г.	м	8 мес.	ГФМИ: МК, СШ, УФ, СПОН
Б-в А.	м	12 лет	ГФМИ: МК + БГМ; СШ, СПОН
В-а Е.	д	10 мес.	ГФМИ: МК + БГМ
Г-в А.	м	6 лет	ГФМИ: БГМ, ОГМ, СПОН
Т-в В.	м	1,8 года	ГФМИ: МК, СШ, УФ, СПОН
П-ва К.	д	13 лет	ГФМИ: МК + БГМ, СШ, УФ, СПОН
Л-в К.	м	10 мес.	ГФМИ: МК + БГМ, СШ
К-в Д.	м	8 мес.	ГФМИ: МК + БГМ
К-в Н.	м	8 лет	ГФМИ: МК, СШ, СПОН
А-н А.	м	10 мес.	ГФМИ: СШ, ОГМ, СПОН
Л-в В.	м	17 лет	ГФМИ: МК + БГМ, СШ, СПОН
И-в Д.	м	8 мес.	ГФМИ: МК, СШ, СПОН
М-в Л.	м	12 мес.	ГФМИ: БГМ, ОГМ, СПОН
П-в А.	м	16 лет	ГФМИ: МК + БГМ
Т-ко К.	м	15 лет	ГФМИ: МК, ОГМ, СШ, СПОН
Г-ва В.	д	8 мес.	ГФМИ, МК + БГМ, СШ
М-ц М.	м	2 года 11 мес.	ГФМИ: МК, СШ, УФ, СПОН
В-в А.	м	16 лет	ГФМИ: МК, СШ
Б-в А.	м	1 год 2 мес.	ГФМИ: МК + БГМ; СШ, СПОН

* — во всех случаях выявлялись признаки ДВС-синдрома; ГФМИ — генерализованная форма менингококковой инфекции; БГМ — бактериальный гнойный менингит, ОГМ — отек головного мозга, СШ — септический шок, УФ — синдром Уотерхауса — Фридериксена, МК — менингококцемия.

Контрольную группу (КГ) составили 200 доноров крови.

В качестве материала исследования использована геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови с помощью солевого метода [22]. Выявление аллельных вариантов генов, ассоциированных с дисфункцией плазменного звена гемостаза (F1-A, F1-B, FXIII-A, РА1-1, ТРА) и повышенной продукцией ряда провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1 β , TNF-A), проводили на основании методик, описанных в литературе [9, 12, 14, 22, 24, 25, 26-28]. В большинстве случаев

генотипирование проводили с помощью метода ПЦР-ПДРФ, основанного на анализе полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ) продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР), полученных с помощью обработки специфической эндонуклеазой рестрикции. Варианты гена ТРА определяли путем электрофореза ПЦР-продукта в акриламидном геле непосредственно после проведения ПЦР.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы GraphPad Prism, (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Частоты встречаемости (ЧВ) генотипов определяли прямым подсчетом. Для оценки степени различий в частоте встречаемости генотипов и их сочетаний между исследуемыми группами использовался точный критерий Фишера.

Результаты и обсуждение

В таблице 2 представлены результаты сравнительного анализа ЧВ генотипов изученных генов у детей с ГФМИ и в контроле. Как видно из этой таблицы, доля гетерозигот по гену IL-6 в группе обследованных больных была в 1,5 раза выше, чем в КГ (75,0% против 50,0% соответственно, OR = 3,0; 95% CI: 1,1 – 8,6;

$p=0,037$). Распределение генотипов по полиморфизму IL-6 –174 G/C в группе детей с ГФМИ характеризовалось статистически значимым отличием от канонического распределения Харди – Вайнберга ($p=0,024$), что указывает на вовлечение указанного генетического маркера в формирование предрасположенности к данной патологии. Этот вывод согласуется с данными ряда других авторов [28 – 30]. Для генов других провоспалительных цитокинов, IL-1B и TNFA, также отмечалось увеличение доли гетерозигот в обследованной группе, по сравнению с нормой. Обращает на себя внимание факт отсутствия гомозигот по аллелю IL-1B -31C среди детей с ГФМИ, тогда как в контрольной группе ЧВ данного генотипа составила 11,0%.

При анализе полиморфизма генов плазменных факторов гемостаза, вовлеченных в формирование либо лизис фибринового сгустка, в обследованной группе было выявлено почти двукратное увеличение доли гомозиготных носителей варианта FI-A 312Ala, по сравнению с контролем (10,0% против 5,5% соответственно, OR = 1,9; 95% CI: 0,4 – 9,3; $p=0,33$). Кроме того, среди детей с ГФМИ чаще встречались гомозиготы по аллелю 163T гена А-субъединицы фактора XIII (10,0% против 6,0% в КГ, OR = 1,7; 95%

Таблица 2

Распределение генотипов изученных генов у детей с ГФМИ и в контроле

Ген, полиморфизм	Генотип	ЧВ генотипа, %		OR (95% CI)	P
		Группа детей с ГФМИ (N = 20)	КГ (N = 200)		
FI-A, 4266 A/G (Thr312Ala)	312 Thr/Thr	60,0	51,0		
	312 Thr/Ala	30,0	43,5		
	312 Ala/Ala	10,0	5,5		
FI-B, – 455 G/A	– 455 GG	60,0	55,5		
	– 455 GA	35,0	36,5		
	– 455 AA	5,0	8,0		
FXIII-A, 163 G/T (Val34Leu)	163 GG	45,0	48,5		
	163 GT	45,0	45,5		
	163 TT	10,0	6,0		
PAI-1, – 675 4G/5G	– 675 4G/4G	30,0	34,0		
	– 675 4G/5G	50,0	48,0		
	– 675 5G/5G	20,0	18,0		
TRA, 311 п.н. Ins/Del	Ins/Ins	20,0	26,5		
	Ins/Del	50,0	47,0		
	Del/Del	30,0	26,5		
IL-6, – 174 G/C	–174 GG	15,0	32,0	0,4 (0,1 – 1,3)	0,13
	– 174 GC	75,0	50,0		
	– 174 CC	10,0	18,0		
TNFA, –308 G/A	– 308 GG	75,0	78,0	3,0 (1,1 – 8,6)	0,037
	– 308 GA	25,0	21,0		
	– 308 AA	0,0	1,0		
IL-1B, – 31 T/C	– 31 TT	45,0	48,5	0,5 (0,1 – 2,3)	0,54
	– 31 TC	55,0	40,5		
	– 31 CC	0,0	11,0		

N – количество индивидуумов в группе.

CI: 0,4–8,4; $p=0,37$). Указанные различия не были статистически значимыми. Для выяснения роли аллельного полиморфизма генов FI-A и FXIII-A в патогенезе ГФМИ у детей необходимы дальнейшие исследования на более многочисленных выборках больных.

С целью ответа на вопрос о возможности использования результатов генотипирования изученных генов для прогнозирования течения ГФМИ у детей был проведен сравнительный анализ распределения генотипов в подгруппах больных, выделенных в зависимости от тяжести течения заболевания, в частности, развития синдрома ПОН. Наличие ПОН диагностировали у 11 (55,0%) детей. При этом в 5 (25,0%) случаях данное осложнение привело к летальному исходу. У 9 (45,0%) обследованных больных наблюдалось относительно благоприятное течение ГФМИ. Результаты сравнительного анализа представлены в таблице 3.

Наиболее выраженные различия между указанными подгруппами наблюдались при анализе инсерционно-делеционного полиморфизма в гене TPA. В группе детей с ПОН доля гетерозигот по гену TPA была почти в 3 раза ниже, чем среди больных без данного осложнения (27,3% против 77,8% соот-

ветственно, OR=0,11; 95% CI: 0,01–0,84; $p=0,07$). В то же время ЧВ генотипа TPA Del/Del, ассоциированного со сниженной продукцией этого активатора фибринолиза, в группе детей с ПОН в 4 раза превышала таковую у детей с относительно благоприятным течением заболевания (45,4% против 11,1% соответственно, OR=6,7; 95% CI: 0,6–73,1; $p=0,16$). У 3 из 5 детей с ПОН, являвшихся гомозиготными носителями аллеля TPA Del, заболевание окончилось летальным исходом. Полученные результаты могут указывать на высокую вероятность неблагоприятного течения ГБИ у детей с генотипом TPA Del/Del, тогда как у гетерозигот по гену TPA риск развития ПОН существенно ниже.

Среди других отличий группы больных с ПОН стоит отметить увеличение доли носителей аллеля -455A гена FI-B, по сравнению с группой детей без данного осложнения (54,6% против 22,2% соответственно, OR=4,2; 95% CI: 0,6–30,1; $p=0,2$). Доля гомозигот по аллелю 4G гена PAI-1 также была несколько выше среди детей с ПОН, чем среди детей с относительно благоприятным течением заболевания (36,4% против 22,2% соответственно, OR=2,0; 95% CI: 0,3–14,7; $p=0,64$). Кроме того, было обнаружено более чем трехкратное увеличе-

Таблица 3

Распределение генотипов у детей с ГФМИ в зависимости от наличия синдрома ПОН

Ген, полиморфизм	Генотип	ЧВ генотипа, %		OR (95%CI)	P
		Группа детей с ПОН (N=11)	Группа детей без ПОН (N=9)		
FI-A, 4266 A/G (Thr312Ala)	312 Thr/Thr	63,6	55,6	0,24 (0,03-1,71)	0,2
	312 Thr/Ala	27,3	33,3		
	312 Ala/Ala	9,1	11,17		
FI-B, – 455 G/A	– 455 GG	45,4	77,8	0,24 (0,03-1,71)	0,2
	– 455 GA	45,5	22,2		
	– 455 AA	9,1	0,0		
FXIII-A, 163 G/T (Val34Leu)	163 GG	36,4	55,6		
	163 GT	54,5	33,3		
	163 TT	9,1	11,1		
PAI-1, – 675 4G/5G	– 675 4G/4G	36,4	22,2		
	– 675 4G/5G	45,4	55,6		
	– 675 5G/5G	18,2	22,2		
TPA, 311 п.н. Ins/Del	Ins/Ins	27,3	11,1	0,11 (0,01-0,84) 6,7 (0,6-73,1)	0,07 0,16
	Ins/Del	27,3	77,8		
	Del/Del	45,4	11,1		
IL-6, – 174 G/C	– 174 GG	9,1	22,2		
	– 174 GC	81,8	66,7		
	– 174 CC	9,1	11,1		
TNFA, – 308 G/A	– 308 GG	63,6	88,9	4,6 (0,4-51,2)	0,32
	– 308 GA	36,4	11,1		
	– 308 AA	0,0	0,0		
IL-1B, – 31 T/C	– 31 TT	36,4	55,6		
	– 31 TC	63,6	44,4		
	– 31 CC	0,0	0,0		

N – количество индивидуумов в группе

ние ЧВ гетерозигот по гену TNFA в группе больных с ПОН (36,4% против 11,1% у детей без данного осложнения, OR = 4,6; 95% CI: 0,4-51,2; p = 0,32). Однако в связи с малой численностью обследованных групп больных все выявленные различия не были статистически значимыми.

Помимо увеличения ЧВ отдельных генетических вариантов, ассоциированных со склонностью к протромботическим сдвигам в системе гемостаза, в группе детей с ПОН значительно чаще отмечалось сочетание двух и более неблагоприятных маркеров, чем у детей без данного осложнения (81,8% против 22,2% соответственно, OR = 15,8; 95% CI: 1,8-141,5; p = 0,022). Данный показатель можно рассматривать как наиболее значимый для прогнозирования риска развития ПОН у детей с ГФМИ.

Заключение

Генерализованные формы менингококковой инфекции характеризуются развитием системной воспалительной реакции и всегда связаны с активацией системы гемостаза вплоть до развития ДВС-синдрома, который является ведущим звеном патогенеза полиорганной недостаточности. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии отличительных особенностей в распределении генотипов ряда изученных генов в группе детей с ГФМИ, по сравнению со здоровой популяцией. Наиболее выраженные различия между обследованной группой больных и контролем наблюдались при анализе полиморфизма 174 G/C в гене IL-6, что указывает на вероятное вовлечение указанного генетического маркера в патогенез ГФМИ у детей. Анализ полученных данных показал, что наличие у больных полиморфизма гена TPA (генотип Del/Del), ассоциированного со сниженной продукцией тканевого активатора плазминогена, может являться маркером неблагоприятного течения заболевания и развития ПОН. Также в ходе проведенного исследования впервые выявлен факт увеличения в группе детей с ПОН доли лиц, имеющих в генотипе два и более неблагоприятных варианта изученных генов (p = 0,022). Данный показатель, предполагающий комплексную оценку аллельного полиморфизма 8 генов плазменного звена гемостаза и провоспалительных цитокинов, можно рассматривать в качестве наиболее значимого при прогнозировании характера течения ДВС-синдрома и риска развития ПОН у детей с ГФМИ.

Литература

1. The 4G/4G genotype of PAI-1 polymorphism is associated with higher plasma PAI-1 concentrations and mortality in patients with severe sepsis / L. Lorente, M.M. Martín, J.M. Borreguero-León et al. // PLoS One. — 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0129565.

2. Differential expression of leukocyte receptors in disseminated intravascular coagulation: prognostic value of low protein C receptor expression / J.Y. Sung, J.E. Kim, K.S. Kim et al. // Thromb. Res. — 2014. — Vol. 134. — P. 1130-1134.

3. Decreased thrombomodulin mRNA expression on peripheral monocytes in disseminated intravascular coagulation patients relates to poor outcomes: the ex vivo effects of lipopolysaccharide and thrombin on monocyte thrombomodulin and CD14 mRNA / S.K. Hong, J.E. Kim, K.S. Han, H.K. Kim // ThrombRes. — 2013. — Vol.132. — P. 392-397.

4. Tumor necrosis factor gene polymorphism results in high TNF level in sepsis and septic shock / N. Kothari, J. Bogra, H. Abbas et al. // Cytokine. — 2013. — Vol. 61. — P. 676-681.

5. Predictive value of procalcitonin, interleukin-6, and C-reactive protein for survival in postoperative patients with severe sepsis / K. Tschaikowsky, M. Hedwig-Geissing, G.G. Braun et al. // J. Crit. Care. — 2011. — Vol. 26. — P. 54-64.

6. The relevance of coding gene polymorphisms of cytokines and cellular receptors in sepsis / A.M. Georgescu, B.L. Grigorescu, I.R. Chirtes et al. // J. Crit. Care Med. (Targu Mures). — 2017. — Vol. 3. — P. 5-11.

7. Host genetics and outcome in meningococcal disease: a systematic review and meta-analysis/ M. Brouwer, R. Read, D.van de Beek // The Lancet Inf. Dis.-2010.-V. 10(4).-P.262-74

8. Sepsis and septic shock: endothelial molecular pathogenesis associated with vascular microthrombotic disease / J.C. Chang // Thromb J. -2019 — 30.-17:10

9. Variation in the promoter region of the b fibrinogen gene is associated with plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers / A. Thomas, F. Green, C. Kelleher et al. // Thromb. Haemost. — 1991. — Vol. 65. — P. 487-490.

10. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease / D. Davalos, K.Akassoglou //Semin Immunopathol.-2012-V.34.-P. 43—62.

11. Fibrinogen gene regulation/ RJ Fish, M.Neerman-Arbez //Thromb Haemost. 2012.-V.108.-P. 419—426.

12. Fibrinogen and clot-related phenotypes determined by fibrinogen polymorphisms: Independent and IL-6-interactive associations / H. T.Cronjé [et al.]/ PLoS One.- 2017.- 12(11).-e0187712.

13. The Influence of Tissue Plasminogen Activator I/D Polymorphism on the tPA Response to Exercise / A.M. Coughlin, P.R. Nagelkirk, J.A. Cooper et al. //Int J Exerc Sci.- 2018.- V.-11(3).-P.1136-1144.

14. Maternal venous thrombosis /P. Clark / / European J of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology .-2008 .-V.139.-P. 3—10.

15. The relationship between the tissue plasminogen activator Alu I/D polymorphism and venous thromboembolism during pregnancy / W.C. Hooper, M. El-Jamil, A. Dilley et al. // Thromb. Res. — 2001. — Vol. 102. — P. 33-37.

16. 4G/5G polymorphism of PAI-1 gene is associated with multiple organ dysfunction and septic shock in pneumonia induced severe sepsis: Prospective, observational, genetic study /K.Madách, I.Aladzsy A.Szilagyi G.Fust// Crit Care. -2010.-V.14(2).-R79

17. Blood coagulation factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphisms and intracerebral hemorrhage risk: A meta-analysis of case-control studies/J Ma, H Li, C,Youet al. //Br J Neurosurg.- 2015.- V.29(5).-P.672-677.

18. Pathogenesis, diagnosis, and management of disseminated intravascular coagulation: a literature review/ I.Dalainas// Eur Rev Med Pharmacol Sci. -2008 — V.12(1).-P.19-31.

19. Patel P, Walborn A, Rondina M, Fareed J, Hoppensteadt D.Markers of Inflammation and Infection in Sepsis and Disseminated Intravascular Coagulation//Clin Appl Thromb Hemost. 2019 Jan-Dec; 25:1076029619843338.

20. Analysis of inflammation- and atherosclerosis-related gene / I. Steinbrugger, A. Haas, R. Maier et al. // *Molecular Vision*. — 2009. — Vol. 15. — P. 609-618.
21. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in febrile seizures and epilepsy: systematic review and meta-analysis / A. Saghaizadeh, M. Gharedaghi, A. Meysamie et al. // *Rev Neurosci*. — 2014. — Vol. 25(2). — P. 281-305.
22. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells / S.A. Miller, D.D. Dykes, H.F. Polesky // *Nucl. Acid. Res.* — 1988. — Vol. 16. — P. 1215-1218.
23. The association of the α -fibrinogen Thr312Ala polymorphism with post-stroke mortality in subjects with atrial fibrillation / A.M. Carter, A.J. Catto, P.J. Grant // *Circulation*. — 1999. — Vol. 99. — P. 2423-2426.
24. Factor XIII Val34Leu polymorphism in primary intracerebral haemorrhage / J. Corral, J.A. Iniesta, R. González-Conejero et al. // *Hematol. J.* — 2000. — Vol. 4. — P. 269-273.
25. Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein / M.A. Vickers, F.R. Green, C. Terry et al. // *Cardiovascular Research*. — 2002. — Vol. 53. — P. 1029-1034.
26. An alternative method for PAI-1 promoter polymorphism (4G/5G) typing / M. Margaglione, E. Grandone, G. Cappucci et al. // *Thromb. Haemost.* — 1997. — Vol. 77. — P. 605-606.
27. Tumour necrosis factor alpha G->A -238 and G->A -308 polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis / S. Ozen, M. Alikasifoglu, A. Bakkaloglu et al. // *Rheumatology*. — 2002. — Vol. 41. — P. 223-227.
28. A functional polymorphism in the IL1B gene promoter, IL1B -31C>T, is not associated with cerebral malaria in Thailand / J. Ohashi, I. Naka, A. Doi et al. // *Malar. J.* — 2005. — Vol. 4. — P. 38.
29. Association of tumor necrosis factor α -308G/A and interleukin-6 -174G/C genopolymorphism with pneumonia-induced sepsis / B. Feng, Z.R. Mao, K. Pang et al. // *J. Crit. Care*. — 2015. — Vol. 30. — P. 920-923.
30. IL6-174 G/C Gene Polymorphism in Children with Sepsis: Single Center Study / W.A. Shahin [et al.] // *J. Pediatr*

Авторский коллектив:

Капустин Сергей Игоревич — руководитель лаборатории биохимии Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии, д.б.н.; тел.: 8(812)717-19-37, e-mail: kapustin.sergey@mail.ru

Вильниц Алла Ароновна — старший научный сотрудник отдела нейроринфекций и органической патологии нервной системы Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, к.м.н.; тел.: 8(812)234-19-01, e-mail: vilnitz@mail.ru

Сидорова Жанна Юрьевна — старший научный сотрудник лаборатории биохимии Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии, к.б.н.; тел.: 8(812)717-19-37, e-mail: sidorovajanet@gmail.com

Чеботкевич Виталий Николаевич — руководитель лаборатории бактериологии Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)717-29-54, e-mail: vitnikcheb@mail.ru

Папаян Людмила Петровна — руководитель лаборатории свертывания крови Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)717-35-82, e-mail: papayan@mail.ru

Алексеева Лидия Аркадиевна — руководитель отдела клинической лабораторной диагностики, ведущий научный сотрудник Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, д.б.н.; тел.: 8(812)234-34-18, e-mail: kldidi@mail.ru

Скрипченко Наталья Викторовна — заместитель директора по научной работе Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ; тел.: 8(812)234-38-22, e-mail: snv@niidi.ru

Бессмельцев Станислав Семенович — заместитель директора по научной работе Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)717-67-80, e-mail: bsshem@hotmail.com