

## **Лабораторная диагностика тромбофилии в акушерстве и гинекологии**



**Авторы: Мельник А.А.**

**к.б.н., руководитель проекта специализированного медицинского центра «Оптима-фарм», г. Киев, Украина**

**Разделы: [Справочник специалиста](#)**

**[Версия для печати](#)**

**Статья опубликована на с. 12-14 (Мир)**

---

**Тромбофилия — это состояние, объединяющее все наследственные (генетически обусловленные, постоянные) и приобретенные (вторичные, симптоматические, действующие в определенный промежуток времени) нарушения гемостаза, которым свойственна предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов [1].**

**В последние два десятилетия интерес к изучению тромбофилии неуклонно возрастает. Во-первых, это связано с крупными достижениями в области гемостазиологии (внедрение в эту область генетических и иммунологических методов исследования привело к открытию наследственных форм тромбофилии и ее молекулярных маркеров) и, во-вторых, с широкой распространенностью этих состояний.**

---

Важнейшими осложнениями тромбофилий являются следующие клинические проявления: невынашивание беременности и внутриутробная гибель плода (около 45 % всех случаев); 1) злокачественная пурпура новорожденных; 2) тромбоэмболии, ишемии и инфаркты органов; 3) кратное возрастание риска тромбоэмболий при онкозаболеваниях, травмах, хирургических вмешательствах; 4) высокий риск метастазирования злокачественных

образований; 5) значительное повышение риска развития лекарственных тромбозов (при гормональной контрацепции, лечении цитостатиками и др.); 6) повышение риска развития тромбозов при всех видах полиглобулии и 7) больших потерях жидкости (физические перегрузки, все виды обильной потери жидкости).

Американская коллегия торакальных врачей по антитромботической и тромболитической терапии (АССР) опубликовала в 2008 г. версию практических клинических рекомендаций, которая определила тромбофилию как наличие одного или более из следующих признаков [20]:

- 1) мутация фактора V (лейденовская мутация);
- 2) мутация гена протромбина G20210A;
- 3) гипергомоцистеинемия (мутации гена MTHFR C677T);
- 4) дефицит антитромбина III;
- 5) дефицит протеина C;
- 6) дефицит протеина S;
- 7) резистентность фактора Va к инактивирующему действию протеина C;
- 8) присутствие антител к фосфолипидам клеточных мембран,  $\beta$ 2-гликопротеину I, волчаночного антикоагулянта.

В руководстве «Consultative Hemostasis and Thrombosis» (2013 г.) приводится современная классификация тромбофилий, включая как те или иные нарушения в системе гемостаза, так и большое число патологических состояний, а также последствий медикаментозного лечения. В данном руководстве при классификации тромбофилий J. Neit к врожденным тромбофилиям («безусловно подтвержденным данным») относит мутацию фактора V, гена протромбина G20210A, гипергомоцистеинемия в связи с дефектом ферментов, участвующих в метаболизме метионина, дефицит антитромбина III, протеина C и S, резистентность фактора Va к инактивирующему действию протеина C.

#### Краткая история изучения тромбофилии

1965 г.	Норвежский ученый O. Egeberg описал семью, у членов которой имела место склонность к возникновению тромбозов в молодом возрасте. Эта тенденция передавалась по наследству. В крови этих пациентов обнаружено резкое снижение уровня антитромбина III (AT III)
1968–1970 гг.	Венгерский исследователь G. Shash показал возможность развития тромбофилии в результате изменения структуры молекулы AT III при нормальном его содержании в крови
1981 г.	J. Griffin (США) опубликовал сообщение о второй возможной причине тромбофилии — дефиците протеина C
1984 г.	C. Esmon, P. Komp описали наследственную предрасположенность к тромбозам в результате дефекта протеина S
1993 г.	B. Dalbek описал семейную тромбофилию, причиной которой являлась неспособность крови реагировать на активированный протеин C. Данная тромбофилия получила название «резистентность к активированному протеину C»
1994 г.	R. Bertina (ученый из Голландии) сделал сообщение о мутации фактора V — болезни фактора V Лейден
1996 г.	Голландские ученые (Лейденская группа) сообщили об открытии мутации гена, ответственного за формирование молекулы протромбина. Наличие мутированного протромбина 20210 A приводило к увеличению его содержания в крови

Для акушерства и гинекологии проблема тромбофилии считается особенно актуальной, так как тромботические осложнения у беременных составляют 0,3–0,7 %, в послеродовом периоде эти осложнения наблюдаются уже в 0,7–3,2 % случаев, а смертельная тромбоэмболия легочной артерии — в 0,05–0,09 % случаев. Тромбоэмболии с летальным исходом после нормальных родов имеют место приблизительно в 0,03 % случаев. Состояние тромбофилии в акушерстве является также одной из важных причин невынашивания беременности и фетоплацентарной недостаточности. В настоящее время тромбофилии являются причиной более чем 45 % случаев невынашивания беременности, 80 % преэклампсий, что часто приводит к преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты, синдрому задержки роста плода с его гибелью, а также к послеродовым кровотечениям. На ранних сроках беременности тромбофилии являются причиной патологической имплантации и инвазии трофобласта, а на более поздних сроках приводят к нарушению маточно-плацентарного кровотока, развитию плацентарной недостаточности.

Современные результаты медико-биологических исследований последних лет заставляют по-новому оценить практические моменты при ведении беременных. Для этого сейчас должны выявляться мутации генов, кодирующих компоненты плазменного звена гемостаза, компоненты тромбоцитарных мембран, а также факторы, определяющие функцию эндотелия. В связи с этим своевременная и точная диагностика состояния тромбофилии в настоящее время является особенно актуальной для акушерско-гинекологической практики, так как дефекты системы свертывания крови могут долго себя не проявлять и возникать только при беременности. Выявление этих мутаций помогает предотвращать развитие заболеваний и их осложнений, а врач акушер-гинеколог должен понимать и правильно интерпретировать результаты полученных лабораторных тестов, на основании которых назначается обоснованное лечение.

### 1. Мутация фактора V Лейден (резистентность фактора V к активированному протеину С, связанная с полиморфизмом гена G1691A)

Фактор V представляет собой гликопротеин (м.в. 330 кДа), который синтезируется в печени. Содержание в крови составляет 0,007–0,01 г/л, или 70–100 % активности.

Фактор свертывания V расщепляется одним из главных физиологических антикоагулянтов — активированным протеином С (APC). Одной из причин тромбофилии является устойчивость этого фактора к расщепляющему действию APC. Такое состояние называется резистентностью к APC, а главной причиной такой резистентности является мутация фактора V.

Необходимым условием инактивации фактора V, помимо протеина С, является включение в процесс всей системы протеина С, которая состоит непосредственно из самого протеина С, его кофактора — протеина S, мембранного белка тромбомодулина, а также рецептора протеина С на эндотелиальных клетках. Основной же функцией APC в гемостазе является инактивация фактора Va, расположенного на мембране активированных тромбоцитов.

При возникновении мутации фактора V происходит образование из протромбина большого количества тромбина, что приводит к образованию тромбов (рис. 1).

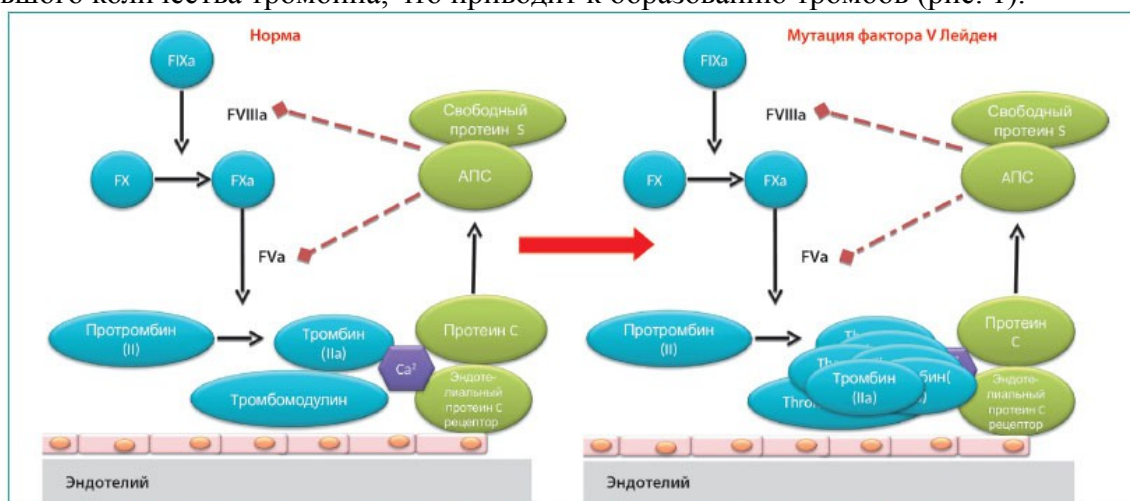


Рисунок 1. Образование большого количества тромбина из протромбина при мутации фактора V Лейден

Мутация в гене фактора V вносит существенный вклад в формирование наследственной предрасположенности к тромбозам и связана с развитием резистентности к активированному протеину С. Мутация описана в г. Лейден в 1994 году R. Bertina и названа мутацией Лейден [2–4]. В результате этой мутации происходит замена G → A в положении 1691 гена, что, в свою очередь, приводит к замещению аминокислоты аргинина (Arg-506) на глутамин (Gln) в полипептидной цепи фактора V, в результате чего нарушается расщепление фактора V активированным протеином С. Скорость инактивации фактора V Лейден протеином С в 10 раз меньше, чем у нормального фактора V, что проявляется гиперкоагуляционным состоянием и при определенных условиях может способствовать развитию тромбоза (рис. 2).

При возникновении мутации фактора Лейден гетерозиготное носительство ассоциировано с 2–7-кратным повышением риска тромбозов, а гомозиготное — с 40–80-кратным (рис. 3). Лейденская мутация может обозначаться как G1691A (замена нуклеотида гуанина на нуклеотид аденин), или Arg506Gln (замена аминокислоты аргинин на аминокислоту глутамин), или R506Q (R — однобуквенное обозначение аргинина, Q — однобуквенное обозначение глутамина). Эти обозначения — синонимы одной и той же мутации.

Механизмы тромбоза при мутации фактора V Лейден (при гомозиготной форме):

- 1) абсолютная резистентность к активированному протеину C;
- 2) полное «выключение» функции протеина C;
- 3) снижение резервной фибринолитической активности;

Клинические проявления могут отсутствовать и проявиться только под действием какого-либо провоцирующего фактора — беременности, оральных контрацептивов и др.

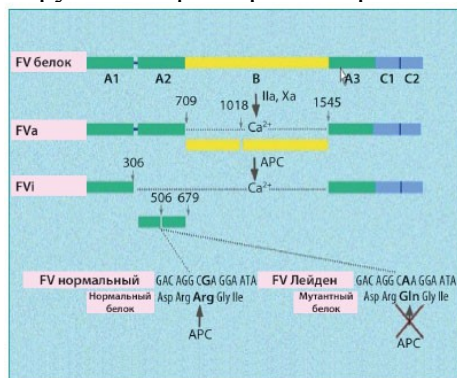


Рисунок 2. Замещение аминокислоты аргинина (Arg-506) глутамином (Gln) при мутации фактора Лейден

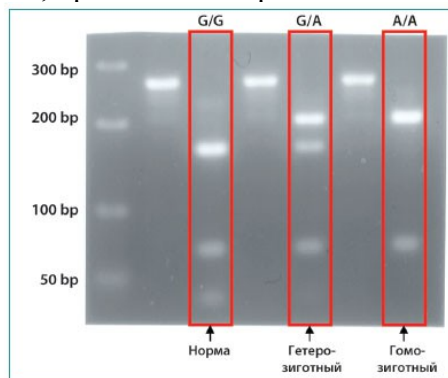


Рисунок 3. Гетерозиготное и гомозиготное носительство при мутации фактора Лейден

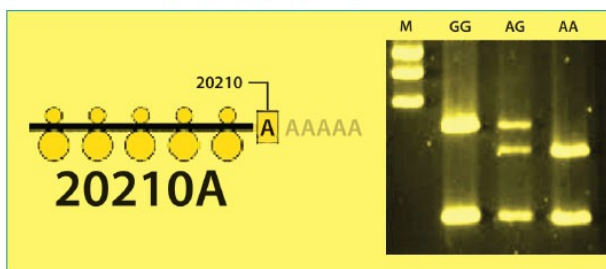


Рисунок 4. Мутация G20210A в гене протромбина  
Интерпретация результатов: G/G — генотип, не предрасполагающий к повышению свертывания крови; G/A — генотип, предрасполагающий к повышению свертывания крови в гетерозиготной форме; A/A — генотип, предрасполагающий к повышению свертывания крови в гомозиготной форме.

Частота встречаемости данной мутации: отмечается у 5–8 % европейского населения и очень редко наблюдается в странах Азии и Африки [5]. При этом большое значение имеют клинические проявления данного генетического дефекта и семейный анамнез [6]. У лиц со строгой семейной историей тромбозов частота встречаемости тромбозов в возрасте до 65 лет у носителей фактора V Лейден составляет 50 %, в то же время в отсутствие семейной истории при наличии такого же генетического дефекта риск составляет лишь 25 % [7]. Как правило, первый эпизод тромбоза у носителей фактора Лейден развивается в возрасте до 45 лет и связан с тромбозом вен нижних конечностей.

Носительство лейденской мутации — фактор риска развития следующих акушерских патологий:

- невынашивание беременности на ранних сроках (риск повышается в 3 раза);
- отставание плода в развитии;
- эклампсия;
- задержка внутриутробного развития плода;
- поздний токсикоз (гестоз);
- фетоплацентарная недостаточность;
- наличие у пациентки лейденской мутации увеличивает риск развития тромбозов на фоне приема контрацептивов в 30–50 раз.



## 2. Мутация G20210A в гене протромбина.

Протромбин (фактор II) — это гликопротеин, относящийся к фракции  $\alpha_2$ -глобулинов, который имеет молекулярную массу 72 кДа, синтезируется в печени при участии витамина К. Содержание в крови составляет 0,1 г/л, или 80–120 % активности. Мутация гена протромбина G20210A характеризуется заменой нуклеотида гуанина на нуклеотид аденин в позиции 20210 (рис. 4).

Мутация была открыта Лейденской группой исследования тромбофилии в 1996 г. В результате мутации не изменяется последовательность аминокислот полипептидной цепи протромбина, однако увеличивается экспрессия его мРНК. Это сопровождается повышением уровня синтеза протромбина и его концентрации в плазме крови (рис. 5) [8]. При наличии данной мутации обнаруживаются повышенные количества нормального протромбина (уровень протромбина может быть в 1,5–2 раза выше).

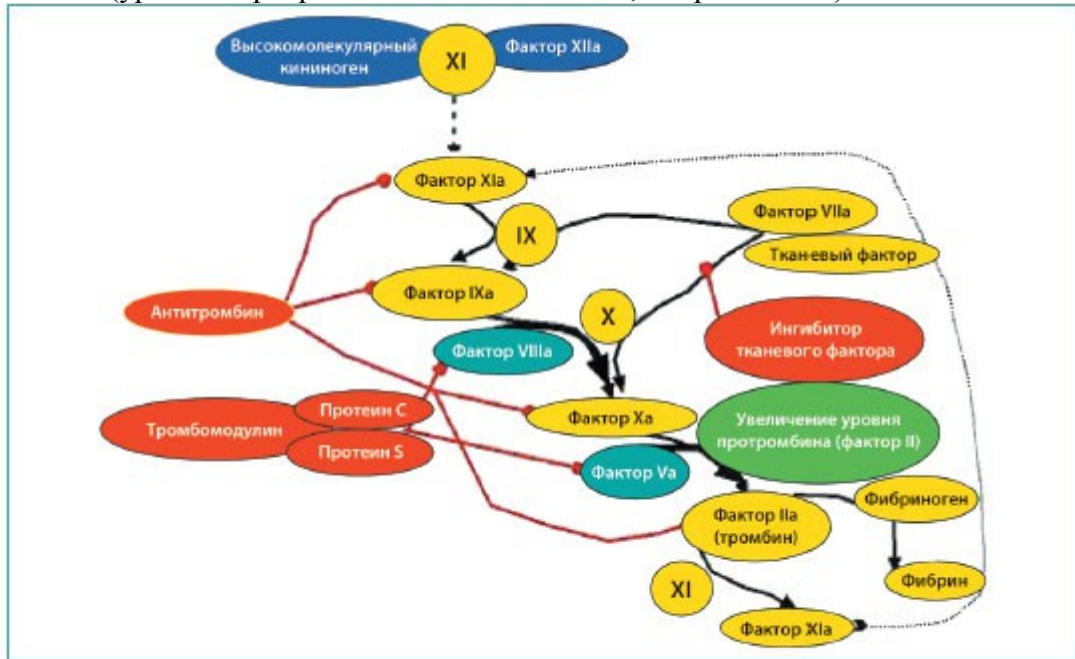


Рисунок 5. Повышение уровня протромбина (выделен зеленым) в плазме крови в результате мутации G20210A в гене протромбина

Мутация гена протромбина (G20210A) — второй по частоте наследственный дефект факторов свертывания, который связан с развитием венозных тромбозов. Частота мутации в европейской популяции составляет 1–4 %. Характерными клиническими проявлениями носительства G20210A являются рецидивирующие венозные тромбозы глубоких вен нижних конечностей [9]. Гетерозиготное носительство мутации в гене протромбина повышает риск тромбообразования примерно в 3 раза, а в возрасте более 60 лет — в 19 раз. Риск тромбозов у носителей мутации протромбина значительно повышается при наличии внешних факторов риска, при сочетании носительства с лейденской мутацией [10].

Мутация гена протромбина является фактором риска всех акушерских осложнений, которые характерны для мутации фактора V Лейден (необъяснимое бесплодие, гестозы, преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, привычное невынашивание беременности, фетоплацентарная недостаточность, внутриутробная гибель плода, задержка развития плода, HELLP-синдром, прием оральных контрацептивов).

### 3. Мутация гена метилтетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T

Метилтетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) — внутриклеточный фермент, участвующий в превращении гомоцистеина в метионин в присутствии кофакторов — пиридоксина (витамина B6) и цианокобаламина (витамина B12) и субстрата — фолиевой кислоты. MTHFR катализирует реакцию превращения фолиевой кислоты в активную форму, которая участвует в синтезе аминокислоты метионина, отвечающей за метилирование ДНК при делении клетки и устранении избытка аминокислоты гомоцистеина (рис. 6).

Активность фермента может снижаться в результате нуклеотидных замен в кодирующем его гене, вследствие чего нарушается метаболический путь превращения гомоцистеина, а его содержание в плазме крови увеличивается.

Ген MTHFR локализован на хромосоме 1p36.3. Известно около двух десятков мутаций этого гена, нарушающих функцию фермента. Наиболее изученной мутацией является вариант, в котором нуклеотид цитозин (С) в позиции 677 заменен тимидином (Т), что приводит к замене аминокислотного остатка аланина на остаток валина (позиция 222) в сайте связывания фолата. Такой полиморфизм MTHFR обозначается как мутация C677T. У лиц, гомозиготных по данной мутации (генотип Т/Т), отмечается снижение активности фермента примерно до 35 % от среднего значения.

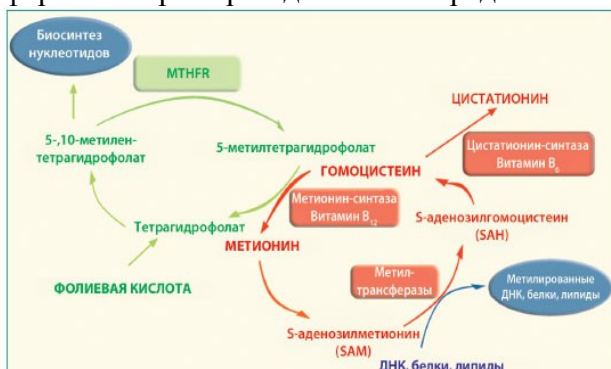


Рисунок 6. Участие фермента метилтетрагидрофолатредуктазы в цикле превращения фолиевой кислоты

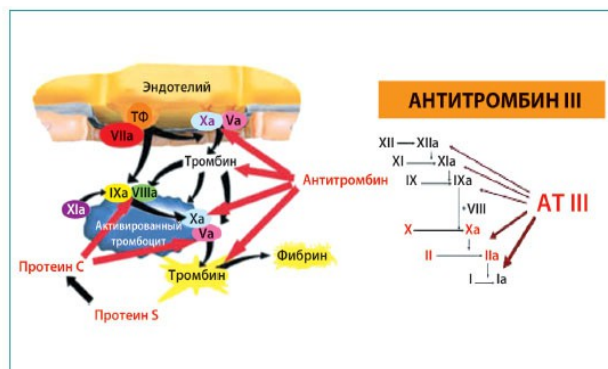


Рисунок 7. Антитромбин III как ингибитор факторов свертывания крови XIIa, XIa, IXa, Xa, IIa

Другим вариантом полиморфизма гена MTHFR является замена нуклеотида аденина (А) на цитозин (С) в позиции 1298, приводящая к изменению структуры фермента, в котором глутаминовая кислота в позиции 429 заменяется аланином.

Комбинация генотипов 677 С/Т и 1298 А/С сопровождается не только снижением активности фермента, но и повышением концентрации гомоцистеина в плазме и снижением уровня фолиевой кислоты.

Мутация 677Т гена MTHFR достаточно широко распространена у представителей европейской расы — 35–55 % случаев. Такая мутация сопровождается повышением уровня гомоцистеина крови, что является риском развития нефропатии у беременных. Повышение частоты 677Т было отмечено при гестозе и других осложнениях беременности (отслойка плаценты, задержка роста плода, антенатальная смерть плода, дефекты развития нервной трубки плода, «заячья губа», «волчья пасть»). Дефицит MTHFR способствует не только тератогенному, но и мутагенному действию. Сочетание мутации 677Т с другими факторами риска приводит к повышению вероятности раннего выкидыша. Интерпретация результатов: С/С — нормальная активность фермента; С/Т — активность фермента снижена; Т/Т — активность фермента снижена.

Среди европейцев носителями генотипа Т/Т являются примерно 10 % населения, в то время как у африканцев не отмечено ни одного генотипа Т/Т.

### 4. Антитромбин III (АТ III).

Антитромбин III (АТ III) впервые в гомогенном состоянии был выделен U. Abildgaard в 1968 г. [11]. АТ III представляет собой  $\alpha$ -2-глобулин с молекулярным весом 58 кДа, состоит из 432 аминокислот, имеет 3 дисульфидных мостика и 4 участка гликирования. АТ III синтезируется клетками паренхимы печени и является наиболее значимым ингибитором системы свертывания крови, так как обеспечивает 75 % антикоагулянтной активности крови. Значительное количество АТ III депонируется в тканях.

Антитромбин III играет важнейшую роль ингибитора коагуляционного каскада, являясь ингибитором факторов XIIa, XIa, IXa, Xa, IIa (рис. 7). Концентрация антитромбина в плазме крови составляет 150–180 мкг/мл, или 85–110 %, а время полужизни — около 3 дней.

Дефицит АТ III как причину повышенной склонности к тромбообразованию впервые описал O. Edeberg в 1965 г. [12]. Недостаток антитромбина III в плазме приводит к развитию тромбофилии. Дефицит АТ III может быть наследственным и приобретенным.

Частота встречаемости в популяции наследственного дефицита АТ III составляет 1 на 2000 человек [13]. Различают два типа дефицита АТ III: тип I (классический) — количественный дефицит АТ III, обусловленный его снижением в плазме более чем на 50 %; тип II — функциональный дефицит, обусловленный функциональной неполноценностью белка. Тип I (классический), наиболее часто встречающийся тип дефицита АТ III, подразделяют на две подгруппы: Ia и Ib. При типе Ia молекулярные свойства АТ III и время полужизни не изменены, снижена только его концентрация. При типе Ib в дополнение к сниженной концентрации часть синтезирующихся молекул АТ III видоизменена, что проявляется во взаимодействии с гепарином или снижении времени полужизни.

Тип II характеризуется тем, что у больных концентрация АТ III находится в пределах нормы, но его свойства изменены. В зависимости от природы функционального дефекта II тип недостаточности АТ III подразделяется на подтипы: RS — дефекты тромбинсвязывающего сайта, HBS — дефекты гепаринсвязывающего сайта, PE — остальные. Важность такого разделения обусловлена тем, что дефекты гепаринсвязывающего сайта не приводят к развитию тромбофилии [14].

Приобретенный дефицит АТ III может быть обусловлен сниженным синтезом, повышенным потреблением или потерей белка. Во всех этих случаях наблюдается параллельное снижение концентрации и активности АТ III. Основным местом синтеза АТ III являются клетки паренхимы печени (как было указано выше), поэтому заболевания, сопровождающиеся снижением белково-синтетической функции печени, приводят к снижению уровня АТ III [15]. К настоящему времени описано более 250 различных мутаций, ассоциированных с дефицитом АТ III.

В акушерско-гинекологической практике клинические проявления наследственного дефицита антитромбина III могут иметь место в следующих случаях:

- привычное невынашивание беременности; -
- тромботические поражения плаценты; -
- нарушения плацентарной функции; -
- антенатальная гибель плода; -
- середина менструального цикла. -

## 5. Протеин С.

В 1976 г. J. Stenflo [16], разделяя на колонке витамин-К-зависимые факторы свертывания, обнаружил неизвестный ранее белок, который элюировался в третьем по счету пике и был назван соответственно по третьей букве алфавита протеином С (PrC). Протеин С представляет собой гликопротеин, который синтезируется в печени как полипептид, состоящий из 461 аминокислотного остатка с молекулярной массой 62 кДа. Основная форма PrC в плазме представлена в виде белка, состоящего из 2 соединенных дисульфидным мостиком цепочек: легкой N-концевой и тяжелой C-концевой.

Концентрация в плазме составляет 4 мкг/мл, или 65–145 %, период полужизни в кровотоке — 8 ч.

Протеин С активируется комплексом «тромбин — тромбомодулин — эндотелиальный рецептор протеина С» (рис. 8А). Активированный протеин С (АПС) в присутствии протеина S, ионов кальция, фосфолипидов инактивирует факторы Va и VIIIa коагуляционного каскада и ингибирует образование тромбина и фактора Ха (рис. 8Б).



**Рисунок 8. Активация протеина С комплексом «тромбин — тромбомодулин — эндотелиальный рецептор протеина С» (А) и инактивация факторов Va и VIIIa коагуляционного каскада (Б)**

Дефицит протеина С является фактором, предрасполагающим к развитию венозных тромбозов. Так, по данным ретроспективных исследований 230 больных с гетерозиготным дефицитом протеина С, тромбозы редко проявляются в возрасте до 14 лет, но к 60 годам вероятность их развития достигает 90 %. Встречаемость гетерозиготного дефицита протеина С в популяции может достигать величины 1 на 300 человек [17]. Частота выявления дефицита ПрС у больных с семейными тромбозами составляет 1 на 20–50 больных [18]. Дефицит протеина С встречается у 3,7 % лиц с тромбозами глубоких вен нижних конечностей. Частота дефицита протеина С в европейской популяции составляет 0,2–0,4 %. Дефицит протеина С повышает риск тромбообразования в 5–8 раз. Гомозиготный дефицит ПрС несовместим с жизнью, и младенцы умирают вскоре после рождения в результате тромбозов в микроциркуляции, мозге, глазных сосудах.

Различают два типа врожденного дефицита ПрС. Чаще всего встречается тип I дефицита (количественный). У этих больных наблюдается параллельное снижение функциональной активности ПрС. В большинстве случаев тип I дефицита обусловлен точечными мутациями, при которых в результате замены определенной аминокислоты синтезирующийся белок не секретируется клетками или обладает низкой стабильностью. Тип II дефицита ПрС (дисфункциональный) характеризуется более выраженным снижением функциональной активности. Этот тип дефицита более сложен для диагностики, так как при использовании иммунологических методов может быть определен нормальный уровень белка, который не обладает функциональной активностью.

Клинические проявления дефицита протеина С в акушерско-гинекологической практике:

- привычная потеря беременности, мертворождения (до 27,9 %);
- некрозы кожи, подкожной клетчатки (особенно при лечении непрямыми антикоагулянтами);
- оральные контрацептивы повышают риск тромбозов.

В настоящее время известно около 200 различных мутаций гена протеина С.

## 6. Протеин S.

В 1983 г., через несколько лет после открытия ПрС, в плазме был обнаружен еще один витамин-К-зависимый белок системы противосвертывания, который назвали протеином S (PrS) [19].



Протеин S — это одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой 69 кДа, состоящий из 635 аминокислотных остатков. ПрS синтезируется в печени и эндотелии, а также в интерстициальных клетках семенников и мегакариоцитах. Концентрация протеина S в плазме составляет 25 мкг/мл, или 80–120 %. ПрS ускоряет инактивацию фактора Va вместе с протеином C на поверхности фосфолипидов.

Более 50 % протеина S в плазме находится в связанном состоянии с C4b-связывающим протеином (регуляторным компонентом системы гемостаза), который нейтрализует его антикоагулянтную активность. ПрS представляет собой одно из связующих звеньев между системами гемостаза и комплемента.

Частота выявления дефицита ПрS у больных с семейными тромбозами составляет около 5 %. Гомозиготная форма дефицита ПрS встречается крайне редко и ассоциируется с тяжелыми тромботическими осложнениями в неонатальном периоде.

Классификация дефицита ПрS является более сложной, чем АТ III и ПрС, и включает 3 типа. Сложность классификации обусловлена тем, что низкая функциональная активность ПрS может быть обусловлена изменениями структуры белка, приводящими к изменению как его собственных антикоагулянтных свойств, так и соотношения между свободной и связанной с C4b формами ПрS.

Различают следующие типы дефицита протеина S:

тип 1 — снижено общее количество протеина и свободная фракция; -

тип 2 — нормальный уровень общего протеина S и сниженная функциональная активность; -

тип 3 — низкий уровень свободного протеина S и нормальный уровень общего протеина S плазмы. -

В европейских странах частота дефицита протеина S составляет 0,03–0,13 % среди здоровых людей и 1–2 % среди больных венозными тромбозами. Дефицит протеина S повышает риск тромбообразования в 5–8 раз.

Описано около 100 различных мутаций в гене протеина S.

**В настоящее время для врачей акушеров-гинекологов является особенно важным и актуальным обследовать женщин на состояние тромбофилии. Прежде всего это должны быть женщины, принимающие оральные контрацептивы, а также женщины, которым предстоит обширная операция (высокий процент кесарева сечения в современном акушерстве), и женщины, у которых были потери беременностей или осложнения.**