

Министерство здравоохранения Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»
кафедра акушерства и гинекологии ФПК и ПП

Е.В. Кудрявцева, В.В. Ковалев

ТРОМБОФИЛИИ В АКУШЕРСТВЕ: ОТ ГЕНОТИПА К ФЕНОТИПУ

Учебное пособие для врачей

Екатеринбург
2019

УДК:618.3

«Тромбофилии в акушерстве: от генотипа к фенотипу»: учебное пособие для врачей / Кудрявцева Е.В., Ковалев В.В., Екатеринбург, УГМУ, 2019.

ISBN 978-5-89895-992-7

Учебное пособие написано в соответствии с государственными образовательными стандартами ВПО специальностей 060101-лечебное дело, образовательной программой дисциплины акушерство и гинекология для слушателей факультетов последипломного образования медицинских вузов. В пособии отражены современные взгляды на диагностику генетически детерминированных тромбофилий, тактику ведения пациенток с тромбофилиями, показания к молекулярно-генетическому исследованию на наличие полиморфизмов в «генах тромбофилии», основанные на результатах мультицентровых исследований, систематических обзоров и мета-анализов.

Рекомендовано в качестве учебно-методического пособия слушателям специальностей 060101-лечебное дело, на заседании Ученого совета факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России протокол № 3 от 22.03.2019 г.

Ответственный редактор:

доктор медицинских наук, профессор **В.В. Ковалев**

Рецензент:

доктор медицинских наук, профессор **И.И. Кукарская**

© Уральский государственный
медицинский университет, 2019 г.
Коллектив авторов, 2019 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление

АФС – антифосфолипидный синдром

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ВТЭО – венозные тромбозэмболические осложнения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗВУР – задержка внутриутробного роста

ЗГТ – заместительная гормональная терапия

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

МГТ – менопаузальная гормональная терапия

МКБ-10 – международная классификация болезней 10 пересмотра

НМГ – низкомолекулярные гепарины

ОАА – отягощенный акушерский анамнез

ООН – Организация объединенных наций

ТЭЛА – тромбоз эмболия легочной артерии

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ЮНЕСКО – Организация объединенных наций по вопросам образования, науки и культуры

FDA – Food and Drug Administration

СОДЕРЖАНИЕ

Философские, медицинские и юридические аспекты исследований на генетическую предрасположенность человека к заболеваниям.....	5
Понятие тромбофилии.....	12
Классификация тромбофилий	16
Физиология системы гемостаза.....	19
Связь тромбофилии и плаценти-ассоциированных осложнений беременности.....	26
Гены тромбофилии и фолатного цикла	29
Показания для проведения молекулярно-генетического исследования на наличие полиморфизмов в “генах тромбофилии”	47
Оценка уровня риска тромбофилии	56
Практические рекомендации.	61
Приложение 1. Оценка риска ВТЭО в акушерстве	70
Приложение 2. Оценка риска ВТЭО в гинекологии (хирургии).....	71
Приложение 3. Опросник для выявления риска тромбозов перед назначением МГТ	72
Приложение 4. Фармакологические характеристики НМГ	73
Приложение 5. Диагностика гепарин-индуцированной тромбоцитопении.....	74
Ситуационные задачи.....	75
Тестовые вопросы:.....	79
Ответы на тест:.....	86
Список литературы	87

ФИЛОСОФСКИЕ, МЕДИЦИНСКИЕ И ЮРИДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ГЕНЕТИЧЕСКУЮ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ ЧЕЛОВЕКА К ЗАБОЛЕВАНИЯМ

Изучение генетической предрасположенности человека к различным заболеваниям является наиболее интересным и значимым трендом в развитии не только медицины, но естествознания в целом. Согласно современным воззрениям большинство хронических заболеваний являются мультифакториальной патологией: вклад в их развитие вносят и множественные факторы окружающей среды, и несколько генных сетей [3]. Все чаще в настоящее время практикующие врачи назначают исследования на «гены предрасположенности» в надежде выяснить глубинные этиопатогенетические механизмы развития той или иной патологии, подобрать эффективную терапию или меры профилактики ее возникновения и развития.

Гены-кандидаты, то есть гены предрасположенности, на сегодняшний день описаны для многих заболеваний: гипертоническая болезнь, метаболический синдром, сахарный диабет, онкологическая патология, алкогольная и наркотическая зависимость, осложнения беременности и т.д. При этом лидирующие позиции по количеству направлений на анализ занимают так называемые «гены тромбофилии» – уже много лет они не сдают позиций, несмотря на скептическое отношение к целесообразности данного исследования среди ряда экспертов. Это неудивительно, поскольку состояние свертывающей системы крови является универсальным патогенетическим механизмом, определяющим функционирование всех органов и систем. Причем, согласно современным представлениям, при беременности система гемостаза приобретает особое звучание, являясь фактором, играющим роль в формировании большинства типичных осложнений в ее течении (невынашивание и недонашивание беременности, фетоплацентарная недостаточность, антенатальная гибель плода, преэклампсия) [7, 14].

Изменения в гемостазиограмме не всегда отражают реальный риск патологии, а при появлении клинических симптомов уже как правило не удастся существенно повлиять на исход беременности, поэтому актуальным представляется исследование именно предрасположенности, склонности к заболеванию. Мысль о возможности провести своевременную персонифицированную профилактику осложнений представляется крайне заманчивой.

На исследование генов, играющих роль в процессах гемостаза, акушеры-гинекологи исправно направляют планирующих беременность и беременных женщин. При этом большинство акушеров-гинекологов признается, что затрудняются с интерпретацией результата и считают необходимым послать пациентку к другому специалисту (например, гематологу или генетику). По результатам исследования, проведенного на кафедре акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки Уральского государственного медицинского университета в 2017–2018 гг., 58% акушеров-гинекологов Свердловской области направляют пациенток на данное исследование, но лишь 4% уверены, что могут интерпретировать результат самостоятельно [18]. Возникают сложности с определением показаний для назначения данного исследования, с оценкой роли выявленных полиморфизмов, с рекомендациями, которые необходимо выдать пациентке. Все это приводит к неправильному ведению пациентки, которое может заключаться как в недооценке факторов риска, так и переоценке выявленных генетических особенностей и, как результат, полипрагмазии. Кроме того, отсутствует единство по интерпретации результата и выдаче рекомендаций среди разных специалистов, что приводит к сомнению пациенток в компетентности врачей.

В настоящее время большинство специалистов сходятся во мнении, что присутствие неблагоприятного полиморфного аллеля (варианта гена) является вероятностным показателем, значение которого не следует переоценивать. Практически каждый из нас, любой человеческий индивид является носителем тех или иных

«вариантных» аллелей. Это лишь особенность генотипа, предрасположенность к заболеванию, а не диагноз. Полиморфные аллели в большинстве своем не детерминируют фатальной предрасположенности к патологии. Однако это не означает, что данное исследование не может быть полезным, поскольку в большинстве случаев гены-кандидаты обладают способностью потенцировать действие других вредных влияний. Изучение индивидуальных генетических особенностей и оценка межгенных и ген-средовых взаимодействий может стать основой персонифицированной медицины, при этом в настоящее время необходимо констатировать тот факт, что информации по оценке генов-предрасположенности и выдаче рекомендаций на основании генетического тестирования, недостаточно, существующие научные источники (монографии и статьи) часто противоречат друг другу.

Главная проблема исследования на генетическую предрасположенность в настоящее время заключается в том, что возможности диагностики превышают возможности действий (лечить или принимать профилактические меры). Множество различных клиник и медицинских центров проводят тестирование на «гены тромбофилии» - сдать этот анализ на сегодняшний день можно практически везде с незначительными вариациями в наборе тестируемых генов и полиморфизмов. Однако немногие специалисты способны адекватно расшифровать данный анализ и дать соответствующие рекомендации. Дискутабельным является вопрос, должна ли лаборатория, проводящая анализ, интерпретировать полученные данные, делать выводы о повышенном риске патологии и выносить их в заключение, либо задача лаборатории ограничивается указанием выявленного гаплотипа, а интерпретация данных – дело направляющего врача, который оценивает риск исходя из всей клинической информации, касающейся пациента. Кроме того, следует признать, что оценка риска заболевания по результатам генетического тестирования на данный момент все же остается эмпирической и групповой, а не индивидуальной. Недостаточно изучены межгенные и ген-средовые взаимодействия, а также

эпигенетические влияния. Поэтому консультирование в большинстве случаев остается недостаточно эффективным, а значения риска неопределенными [12, 17, 24].

При беседе с пациентом, прошедшим тестирование на генетическую предрасположенность, важно учитывать его психологические особенности и то, какое воздействие может оказать на него полученная информация. Генетическая информация имеет некоторые специфические особенности, по сравнению с другими медицинскими данными:

- позволяют с различной степенью вероятности предсказать будущее состояние здоровья человека, во многих случаях здорового на момент обследования;
- предоставляет информацию, которая останется неизменной на протяжении всей последующей жизни человека;
- может оказывать значительное воздействие не только на обследуемого, но и на его семью на протяжении нескольких поколений, включая его потомков;
- может выявить информацию, о значении которой было неизвестно во время сбора биологических образцов [24].

Отношение к результату анализа на генетическую предрасположенность можно сравнить с отношением к судьбе. Джеймс Уотсон, расшифровавший структуру ДНК, и получивший за это открытие Нобелевскую премию в 1962 г. совместно с Ф. Криком и М. Уилкинсом, заявил: «Раньше считали, что судьба человека записана на звездах. Теперь мы знаем, что она записана в его генах».

Следует учитывать, что одни и те же полиморфизмы могут проявлять себя по-разному в зависимости от факторов окружающей среды. Например, полиморфизмы в генах тромбофилии изначально у наших предков имели защитный характер и давали их носителям некоторые биолого-эволюционные преимущества. Они способствовали уменьшению кровопотери, защищали от фатальных кровотечений после каких-либо повреждений, что важно, например, для воинов и охотников, а также для рожениц, которым не оказывалась качественная медицинская помощь для уменьшения

кровопотери [16]. В современных же условиях, когда человек ведет менее подвижный образ жизни, и при этом появились новые факторы окружающей среды, не распространенные ранее, например, гормональные лекарственные препараты и курение, и в то же время увеличилась средняя продолжительность жизни, полиморфные аллели генов тромбофилии утратили свою положительную роль, и теперь мы рассматриваем их как фактор риска грозных заболеваний (инсульт, инфаркт и т.д.).

Проблемы защиты прав человека при использовании современных генетических технологий широко обсуждались различными международными организациями (ООН, ЮНЕСКО, Совет Европы и его комиссии, ВОЗ, Европейское общество генетики человека, Форум комитетов по этике государств-участников СНГ и др.). Результатом этих обсуждений стал целый ряд документов, положения которых использованы в законодательствах многих стран.

Формирование законодательной базы в области медицинской генетики в России, адекватной современному уровню развития этой отрасли знания, в настоящий момент только начинается. Юридическое регулирование осуществляется общим и специальным законодательством и подзаконными актами. В частности, многие вопросы, касающиеся соблюдения прав пациентов, регламентируются положениями Конституции РФ, соответствующими статьями нормативно-правовых актов субъектов РФ, Федерального закона № 323 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», положениями Уголовного, Гражданского, Семейного и некоторых других кодексов РФ, Федеральным законом РФ «Об информации, информатизации и защите информации» и др. [28].

В настоящее время важную роль в формировании этической составляющей общественного сознания играет религия. Несмотря на то, что в Российской Федерации церковь отделена от государства и нет государственной религии, невозможно отрицать, что большая часть населения считает себя православными, и, принимая решение о проведении тех или иных исследований, интересуется мнением

православной церкви по данному вопросу. Существует документ «Основы социальной концепции Русской православной церкви» (2000г.), в котором излагается официальная позиция Московского Патриархата по ряду значимых проблем общественной жизни. Раздел XII этого документа, «Проблемы биоэтики», посвящен биомедицинским технологиям. Там указывается, что «попытки людей поставить себя на место Бога по своему произволу изменяя и «улучшая» Его творение, могут принести человечеству новые тяготы и страдания». От внимания Церкви не ускользнули успехи в расшифровке генетического кода, и она не осуждает попытки оценить генетическую предрасположенность к заболеваниям, указывая, что «создание «генетического паспорта» при разумном использовании полученных сведений помогло бы своевременно корректировать развитие возможных для конкретного человека заболеваний». Однако содержится и предупреждение, что «обладание информацией о наследственной предрасположенности к тяжким заболеваниям может стать непосильным душевным грузом» [14, 29].

Остается нерешенным вопрос, кто должен проводить консультирование пациента по результатам анализов – врач-генетик или профильный специалист (например, в случае с оценкой генетической предрасположенности к акушерским осложнениям, акушер-гинеколог). На наш взгляд генетик не всегда может оценить весь массив данных, помимо генетического тестирования, и выдать правильные рекомендации. Кроме того в России на сегодняшний день имеется определенный дефицит врачей-генетиков, поэтому консультация этого специалиста для населения не всегда доступна. Следовательно, генетическое тестирование на предрасположенность к патологии должно стать одним из инструментов в работе узких специалистов. Генетическая тромбофилия вошла в Национальное руководство по акушерству 2015 г., гены тромбофилии упоминаются в федеральных клинических рекомендациях «Профилактика ВТЭО в акушерстве и гинекологии» [37, 41]. К сожалению, при всем при этом в приказе №572н от 01.11.2012 г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю акушерство и гинекология (за

исключением вспомогательных репродуктивных технологий)» данная патология вообще не упоминается, что заставляет многих врачей сомневаться, имеют ли они право давать рекомендации касательно данного состояния.

На наш взгляд, отказываться от такого эффективного инструмента, как генетическое тестирование не стоит (также, как и пытаться переложить выдачу рекомендаций на врачей других специальностей). В настоящее время это одно из наиболее перспективных направлений развития медицины и, особенно, акушерства и перинатологии, так как теоретически оно дает возможность предотвращать развитие заболевания задолго до того, как оно коснулось индивидуума. Способность разобраться в полученной генетической информации, адекватно оценить полученные результаты, принять обоснованное решение о целесообразности назначения корригирующего лечения или профилактики возможных осложнений становится основополагающей составляющей работы врача-клинициста.

ПОНЯТИЕ ТРОМБОФИЛИИ

В настоящее время существует несколько разных, значительно отличающихся друг от друга, по сути, и по форме, определений тромбофилии. Также существенно расходятся и представления о том, что же считать «генетической тромбофилией». Несмотря на значительную распространенность термина «тромбофилия» четкого понимания, что же это такое, нет. Во многих научных работах, посвященных тромбофилии, не всегда четко обозначено, что под этим термином понимается. Из-за этого возможны значительные противоречия в трактовке полученных результатов научных исследований и генетического тестирования.

В большинстве научных источников встречается следующее определение данной патологии: «Тромбофилия (или повышенная склонность к тромбозам) – наследственное или приобретенное состояние, характеризующееся чрезмерной склонностью организма к тромбообразованию в кровеносных сосудах» [3, 53]. Данное определение несовершенно, поскольку непонятно, что подразумевается под «склонностью».

Распространенной клинической ошибкой является диагноз «генетическая тромбофилия» при наличии любых полиморфизмов в генах, регулирующих гемостаз (что истолковывается, как «генетическая склонность» к повышенному тромбообразованию). Вследствие этого, когда тестирование на гены тромбофилии внедрялось в практику сложилась ситуация, что диагноз «генетическая тромбофилия» устанавливался практически всем, кто проходил данное исследование.

На сегодняшний день большинство врачей, использующих данный тест, понимают, что тот или иной полиморфизм имеется практически у всех, а некоторые из них не только не повышают риск тромбофилии, но, напротив, обладают протективным эффектом в отношении данного состояния. У многих сформировалась противоположное отношение к генам тромбофилии – наличие полиморфизмов стало считаться полностью не значимым. При этом

риск патологии при носительстве большинства полиморфизмов повышается, пусть и не значительно, и суммарно они могут проявляться клинически. Необходимы модели оценки риска, позволяющие оценивать не каждый полиморфизм по отдельности, а гаплотип пациентки комплексно.

В Международном консенсусе «Тромбофилия и венозный тромбоемболизм» тромбофилия определяется, как «повышенный риск венозного и случайного артериального тромбоза вследствие гематологических причин» [67]. Данное определение может трактоваться по-разному, поскольку формулировка слишком обтекаема.

В Малой Медицинской энциклопедии 1991-1996 гг. и в словаре медицинских терминов (1982-1984 гг.) приведено другое определение: «Тромбофилия – патологическое состояние, характеризующееся значительным повышением свертываемости крови; проявляется признаками тромбоза» [23, 43]. Данное определение, несмотря на то, что оно приведено в источниках 20-30 летней давности, более верно, поскольку показывает, что тромбофилия – это не просто «предрасположенность», а патологическое состояние.

ВОЗ в 1995 году предложила определять тромбофилию как «состояние с необычной склонностью к тромбозам с дебютом в раннем возрасте у лиц с отягощенным семейным анамнезом, а также несоответствие степени тяжести тромбоза известному причинному фактору и наличие рецидивов тромбоза» [27].

Американская коллегия торакальных хирургов в клиническом протоколе по тромбофилиям, венозному тромбоемболизму и антитромботической терапии поясняет, какие конкретно дефекты следует отнести к тромбофилии, и характеризует тромбофилию, как состояние, сопровождающееся наличием таких признаков, как дефицит антитромбина, дефицит протеина С или S, резистентность к активированному протеину С, носительство лейденовской мутации (мутации гена V фактора) или полиморфизм гена протромбина (II фактора), гипергомоцистеинемия, циркуляция

антифосфолипидных антител, увеличение активности фактора VIII или снижение уровня протеина Z [49].

Преимуществом данного определения является то, что оно выделяет наиболее значимые генетические и фенотипические факторы тромбофилии. Однако в некоторых случаях пациент может не иметь никаких из выше перечисленных параметров, и тем не менее, у него могут быть тромботические осложнения в молодом возрасте по неясным причинам (возможно вследствие суммарного эффекта полиморфизмов в генах тромбофилии, которые считаются не значимыми). Таким образом, данное определение дает возможность подтвердить диагноз «тромбофилия», но не позволяет наверняка его исключить.

Прежде чем обсуждать значение изменений генетической структуры в генезе патологии гемостаза, необходимо определить понятие нормального генотипа.

Традиционно под «нормальным» понимается наиболее часто встречающийся в популяции аллель или генотип, обеспечивающий высокий уровень здоровья у их носителей. Это не совсем корректно, поскольку в некоторых случаях, более редко встречающийся аллель не уступает по своей функции более частому, и даже может иметь преимущества перед ним.

Поэтому в специальной литературе избегают термина «нормальный» (так как это подразумевает, что все полиморфные аллели - отклонение от нормы), и в качестве альтернативы используется термин «дикий» аллель/генотип (это говорит лишь о том, что данный аллель/генотип – наиболее распространенный, но не оценивает его с точки зрения норма/патология).

Среди специалистов продолжается дискуссия о том, как обозначать варианты разновидности генов – полиморфизмами или мутациями. И полиморфизм, и мутация – это устойчивые изменения единиц наследственности (генов).

Обычно под «полиморфизмом» понимают различные варианты гена (нуклеотидных последовательностей), которые достаточно широко распространены в популяции и не приводят к серьезным

последствиям для здоровья, а «мутациями» называют те изменения генов, которые встречаются редко, то есть менее чем у 5% населения (некоторые авторы считают, что менее 2% или менее 1%), но, носительство которых, приводит к заболеваниям и ухудшению качества жизни.

Среди генов тромбофилии к мутациям условно относят однонуклеотидные замены G20210A в гене F2 и G1691A в гене F5, а все остальные изменения в генах тромбофилии – к полиморфизмам. Хотя деление на «полиморфизмы» и «мутации» условно.

КЛАССИФИКАЦИЯ ТРОМБОФИЛИЙ

В МКБ-10 отсутствует указание на нозологию с названием «Генетическая тромбофилия». Обычно данное состояние шифруется с помощью кода D68.2: «Наследственный дефицит других факторов свертывания». Если речь идет о тромбофилии во время беременности, то может использоваться код O99.1: «Другие болезни крови и кроветворных органов и отдельные нарушения с вовлечением иммунного механизма, осложняющие беременность, деторождение и послеродовой период».

В настоящее время тромбофилии принято подразделять на первичные (наследственные) и вторичные (приобретенные) [16]. Иногда отдельно выделяют ятрогенную тромбофилию [22].

Ряд экспертов считают деление на врожденную и приобретенную тромбофилию устаревшим, поскольку тромбофилия является мультифакториальной патологией, и в её развитии, как правило, играет роль и генетическая предрасположенность (причем, не одна мутация, а множество полиморфизмов), и факторы внешней среды. Связь между генетическими полиморфизмами и средовыми факторами с тромботическими и акушерскими осложнениями объективна и обоснована, но ее необходимо оценивать в контексте присутствия у индивида не какого-либо одного фактора риска, а их комбинаций, обуславливающих во всех случаях мультигенное происхождение тромбофилии [26].

Однако во многих случаях можно выявить ведущий, наиболее значимый фактор, развития тромбофилии. Согласно международным рекомендациям, к генетическим тромбофилиям относятся: врожденный дефицит естественных антикоагулянтов (протеина С, протеина S или антитромбина), мутация гена фактора V (Лейден), мутация гена фактора II, повышение активности или количества VIII фактора свертывания, а также редкие причины (дисфибриногенемия, дефицит факторов XI, XII, кофактора гепарина II, плазминогена). В отечественном национальном руководстве по акушерству [38]

гомозиготный полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа (РАI1) также фигурирует, как один из видов генетической тромбофилии. Существует и множество других полиморфизмов в генах тромбофилии, однако каждый из них самостоятельно незначительно повышает риск тромбозов. Требуются серьёзные исследования и неоспоримые доказательства роли носительства дефекта того или иного гена для того, чтобы причислить его к наследственной тромбофилии [6, 45, 49, 67, 74].

Эти полиморфизмы нельзя полностью сбрасывать со счетов, поскольку они могут значительно потенцировать негативное действие друг друга при множественных их сочетаниях, увеличивать риск при вышеупомянутых мутациях или при наличии средовых факторов риска. К сожалению, как уже говорилось выше, на данный момент отсутствуют какие-либо рекомендации регламентирующие подсчет индивидуального риска при наличии данных полиморфизмов и единого мнения о целесообразности их оценки нет.

Причинами приобретенных тромбофилий считаются антифосфолипидный синдром, злокачественные новообразования, большие хирургические вмешательства, травма, длительная иммобилизация, застойная сердечная недостаточность, нефротический синдром, эссенциальная полицитемия, ожирение [6, 16, 22, 74].

К ятрогенным формам тромбофилии относятся гепарин-индуцированная тромбофилия и тромбоз, тромбофилии вследствие гормональной терапии (гормональная контрацепция, заместительная гормональная терапия, стимуляция овуляции), химио- и лучевая терапия.

Данная классификация является достаточно условной, поскольку тромбофилия в большинстве случаев является мультифакторной патологией, то есть для её развития необходимо сочетание определенной генетической предрасположенности и факторов внешней среды. За исключением случаев наличия нескольких строго определенных предрасполагающих тромбогенных генетических факторов (дефицит антитромбина, протеинов С и S, мутации фактора

V Лейден и мутации гена протромбина G20210A), как правило, нет оснований для утверждения, что к развитию тромбофилии у конкретного пациента привели именно генетические факторы, даже если у него имеется несколько полиморфизмов в генах, контролирующих факторы свертывания. В то же время одни и те же приобретенные факторы риска не приводят к развитию тромбоэмболических осложнений у всех, кто их имеет, следовательно, они реализуются на фоне определенной генетической предрасположенности. Например, на наш взгляд не стоит считать «ятрогенной тромбофилией» ту ситуацию, когда тромботические осложнения возникли на фоне гормональной контрацепции при наличии не выявленных ранее мутаций в генах тромбофилии (тестирование на которые не рекомендовано проводить рутинно при назначении контрацепции).

ФИЗИОЛОГИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

В регуляции процесса гемокоагуляции участвуют три известные системы:

- 1) свертывающая, образующая тромб;
- 2) противосвертывающая, препятствующая образованию тромба;
- 3) фибринолитическая, лизирующая образовавшийся тромб [44].

От равновесия всех трех систем зависит поддержание жидкого состояния крови. Общий баланс между концентрацией и активностью факторов коагуляции и антикоагуляционными белками является одним из определяющих факторов генерации тромбина [65].

Если все фазы гемостаза работают в равновесии обеспечивается жидкое состояние крови. Систему гемокоагуляции и все механизмы, регулирующие ее структуру и функции, можно рассматривать как саморегулирующую, обеспечивающую оптимальное состояние гемостатического потенциала [44].

Система гемостаза является фундаментальным общебиологическим феноменом, определяющим функционирование других органов и систем, включая сердечно-сосудистую, дыхательную, мочевыделительную и другие. Особенность системы гемостаза состоит в двойственности выполняемых ею функций, с одной стороны гемостатические механизмы обеспечивают остановку кровотечения при травмах и повреждениях, а с другой стороны – препятствуют свертыванию крови, поддерживают ее в жидком состоянии в сосудистом русле, что в свою очередь необходимо для нормальной микроциркуляции и трофики тканей.

Механизмы системы гемостаза хорошо изучены. Система гемокоагуляции представляет собой сложную, многокомпонентную, неоднократно дублированную совокупность морфологических, биохимических, функционально-биологических реакций направленных на поддержание целостности организма и его нормальной жизнедеятельности, обеспечения адекватных адаптивных ответов на воздействие факторов внешней среды.

Нормальное функционирование системы гемостаза предполагает равновесное взаимодействие трех её основных компонентов – свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем.

В свою очередь гемостаз осуществляется тремя взаимодействующими морфофункциональными составляющими:

- стенками сосудов (локальный сосудистый спазм, эндотелиальная реакция)
- клетками крови (тромбоцитами)
- плазменными факторами (плазминовыми (фибринолитическими) факторами, каллекреин-кининовой системой и системой комплимента)

Гемостаз представляет собой последовательный трехфазный процесс:

- первичный гемостаз, в котором участвуют сосуды и тромбоциты (сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, внешний путь свертывания);
- вторичный гемостаз (плазменный гемостаз, коагуляционный гемостаз), в котором принимают участие плазменные факторы, а также тромбоцитарный фактор 3;
- фибринолиз, обеспечивающий растворение тромба и восстановление проходимости сосуда.

Последовательность гемостатических процессов выглядит следующим образом. В ответ на повреждение сосуда формируется локальная вазоконстрикция, адгезия и агрегация тромбоцитов, что в норме в течение 3-5 минут обеспечивает первичную остановку кровотечения. В дальнейшем в ближайшие 5-10 минут происходит армирование (увеличение прочности) первичного тромбоцитарного тромба нитями фибрина, что приводит к окончательной остановке кровотечения. Затем активизируется фибринолитическая система, и в течение 48-72 часов осуществляется лизис тромба и восстанавливается проходимость сосудистого русла.

Первая фаза остановки кровотечения (сосудисто-тромбоцитарный гемостаз) обеспечивается эндотелием, гладкой мускулатурой сосудов и тромбоцитами крови. Многообразные

функциональные свойства эндотелия состоят в удержании форменных элементов крови в сосудистом русле, образовании и выделении в кровь мощного ингибитора агрегации тромбоцитов (простациклин), продукции тканевого активатора фибринолиза и тканевого тромбопластина, фиксации на клеточной поверхности антикоагулянтного комплекса антитромбин III+гепарин. Эти свойства эндотелия обеспечивают поддержание крови в жидком состоянии и предотвращение тромбозов. Повреждение эндотелия неизбежно приводит к снижению тромборезистентности, активации процессов свертывания крови и микротромбообразованию. Пусковым механизмом образования первичного (тромбоцитарного) тромба является повреждение стенки кровеносного сосуда. Тромбоциты, вступающие в контакт с субэндотелиальными структурами, набухают, образуют отростки и адгезируют место повреждения. Помимо адгезии тромбоцитов нарастает процесс их агрегации, что приводит к быстрому увеличению тромбоцитарного тромба. Основными стимуляторами адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов являются турбулентное движение крови в зоне повреждения или стенозирования сосудов, коллаген, АДФ, адреналин, тромбоксан А₂, серотонин. Ведущим фактором адгезии тромбоцитов к субэндотелию является фактор Виллебранда. Помимо адгезии и агрегации тромбоцитов в коагуляционных реакциях принимает участие тканевой тромбопластин, который выделяется из поврежденных тканей эндотелия. В результате его взаимодействия с фф. VII, IV, X, V, а затем с протромбином образуется тромбин, который воздействуя на агрегаты тромбоцитов превращает их обратимую агрегацию в необратимую. Взаимодействие тромбоцитарных и плазменных факторов формирует белый тромбоцитарный тромб, который подвергаясь вязкому метаморфозу и ретракции, надежно стягивает и фиксирует края поврежденного микрососуда. В сосудах среднего и большого диаметра функция окончательного надежного гемостаза принадлежит плазменным факторам свертывания крови. При этом у здоровых людей на

первичном (белом) тромбоцитарном тромбе образуется красный тромб, в основе которого находится фибрин.

Коагуляционный (вторичный) гемостаз осуществляется благодаря последовательному взаимодействию друг с другом тринадцати факторов свертывания крови, которое приводит к формированию сгустку фибрина. На каждой стадии этого биологического каскада семь проферментов превращаются в соответствующие сериновые протеазы – ф. XII, XI, IX, X, II, VII, прекалликреин. Еще три фактора являются кофакторами этих реакций (V, VIII, кининоген с высокой молекулярной массой). Остальные три фактора (тканевой фактор III, фибриназа (ф. XIII) и фибриноген (ф. I) являются субстратами для образования фибрина, конечного продукта каскада свертывания крови.

Существует два условно различных пути активации коагуляционного гемостаза: «**внешний**» и «**внутренний**». Первый из них обозначается, как «внешний путь», так как генерируется тканевым тромбопластином (ф.3), проникающим в кровь из травматически поврежденных тканей. Этот путь коагуляции наиболее короткий, так как образующийся тромбин эффективно усиливает агрегацию тромбоцитов и активирует факторы «внутреннего» пути коагуляции. Второй, более длинный «внутренний» (внутрисосудистый), путь коагуляции инициируется активацией фактора XII при контакте циркулирующей крови с поврежденной тканевой поверхностью. Поликаскадная сложная система множественных ферментативных превращений необходима для многократного усиления инициирующего сигнала направленного на образование высокой концентрации тромбина. В свою очередь тромбин необходим для фибринообразования.

«Внешний» и «внутренний» пути существуют не изолированно, а в тесном взаимодействии с помощью взаимной активации факторов коагуляции. Это взаимодействие обеспечивает усиление внутрисосудистого свертывания. Оба пути коагуляции замыкаются на X факторе, после чего они следуют вместе. Фактор X последовательно отщепляет два фрагмента от протромбина и затем

путем частичного протеолиза образуется тромбин. Объектом воздействия тромбина является фибриноген. Под действием тромбина от фибриногена отщепляется 2 фибринопептида А и 2 фибринопептида В (мономеры фибрина). Дальнейшие превращения мономеров фибрина могут идти двумя путями. Согласно первому пути мономеры фибрина соединяются сначала в ди-, а затем в полимеры, формируя нити фибрина. Под действием XIII фактора свертывания растворимый фибрин приобретает свойство нерастворимости и превращается в тромб. По второму пути отщепившиеся фрагменты вновь присоединяются к фибриногену, защищая его от действия тромбина и образуя заблокированный фибриноген или растворимые фибринмономерные комплексы (РФМК). Согласно современным представлениям механизм свертывания крови заключается в формировании каскада проферментно-ферментативных реакций, в котором каждый фактор, переходящий в активированное состояние, активирует последующий фактор, создавая эффект «домино». Причем активация прокоагулянтного звена гемостаза вызывает последующую активацию противосвертывающих компонентов системы гемостаза – систему ингибиторов (антикоагулянтов).

Основную ответственность за профилактику тромбообразования в физиологических условиях, регуляция свертывания крови несет именно антикоагулянтная система. Физиологические антикоагулянты подразделяются на первичные и вторичные. К первичным относятся ряд антикоагулянтов, синтезируемых в печени: антитромбин III, протеины С и S. Вторичные антикоагулянты образуются в процессе свертывания крови и фибринолиза. Они представлены преимущественно продуктами деградации фибрина. Наиболее эффективным естественным антикоагулянтом является антитромбин III, который подавляет активность следующих факторов свертывания крови: тромбин, Ха, IXa, XIa, XIIa. Данный эффект многократно усиливается, когда антитромбин III, связывается с гепарин-сульфатом на поверхности эндотелия.

Важная роль в реализации антикоагулянтного потенциала крови принадлежит протеинам C и S, подавляющим неферментативные факторы свертывания крови: Va1 и VIIIa. Активация протеина C вызывается тромбином и значительно усиливается в результате его связывания с тромбомодулином, который в результате утрачивает способность вызывать свертывание крови.

Лизис фибрина в сосудистом русле осуществляется фибринолитической (плазминовой) системой. В физиологических условиях значение фибринолитической системы невелико, так как процесс свертывания крови полностью контролируется антикоагулянтной системой. Функция фибринолитической системы состоит в локализации образования фибрина на месте повреждения, предупреждении системных прокоагулянтных реакции, сдерживании избыточного тромбообразования, восстановлении проходимости сосудистого русла. Суть фибринолиза состоит в превращении плазминогена в плазмин, который расщепляет фибрин до конечных продуктов D-димеров, а фибриноген – до фрагментов Д и Е. Окончательно фибрин лизируется до небольших фрагментов неопределенной структуры, получивших название продуктов деградации фибрина. Фибринолитическая система может быть активирована по аналогии со свертывающей системой по внутреннему пути, представленному ферментными системами самой крови, и внешнему пути, связанному с тканевыми активаторами. Кроме этого, помимо ферментной фибринолитической системы существует и система неферментного фибринолиза.

Таким образом, система гемокоагуляции и все её регуляторные механизмы представляют собой единую, саморегулирующую систему, обеспечивающую оптимальное состояние гемостатического потенциала.

При беременности система гемостаза меняется. Это является адаптивным механизмом, цели которого это предотвращение кровотечения в процессе имплантации и во время родов и обеспечение плавного кровотока в интервиллезном пространстве [25, 45, 65]. При нормальной беременности у матери происходит

увеличение генерации тромбина, тенденция к повышенной агрегации тромбоцитов и снижение антикоагулянтной активности и фибринолиза. Наряду с этим происходит снижение активности металлопротеиназы ADAMTS-13. Концентрация фибриногена при беременности увеличивается в 2-3 раза. Меняется уровень факторов свертывания: возрастает уровень VII, VIII, IX, X, и XII факторов. При этом уровень протромбина и фактора V не меняется, а концентрация XI и XIII факторов немного снижается. Несколько снижается уровень протеина S, увеличивается резистентность к активированному протеину C, в 3-4 раза увеличивается уровень PAI1 [26, 65].

Многих практикующих врачей волнует повышенный уровень Д-димера при беременности. Вне беременности данный маркер широко используется для диагностики тромбозов, однако при беременности роль этого анализа остается спорной [25, 26]. Мы считаем, что оценивать показатель уровня Д-димера можно только в динамике и в комплексе с другими показателями.

Таким образом, при нормальной беременности свертывающий потенциал повышен, следовательно, будут меняться и показатели лабораторных анализов. Основные изменения в коагулограмме представлены в таблице 1.

Таблица 1

Изменение показателей коагулограммы при беременности*

Показатель	Нормативные значения	Изменения при беременности
АЧТВ	30-40''	Возможно укорочение
ПТИ/МНО	93-107%/0,87-1,02	Существенных изменений не происходит
РФМК	3,5-4 мг/100 мл	Повышение до 8-12 мг/100 мл
Д-димер	Менее 500 нг/мл	Повышение в 2-3 раза
Тромбоциты	150-400*10 ¹² /л	Существенных изменений не происходит
Антитромбин III	75-125%	Возможно небольшое снижение по сравнению с уровнем вне беременности, при этом показатель должен оставаться в пределах нормативных значений
Фибриноген	2-4 г/л	Повышение до 6 г/л
Протромбиновое время	14-18''	Существенных изменений не происходит
Тромбиновое время	15-18''	Существенных изменений не происходит

*представлены средние значения показателей, нормы в различных лабораториях могут быть несколько различны.

СВЯЗЬ ТРОМБОФИЛИИ И ПЛАЦЕНТО-АССОЦИИРОВАННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Ключевые процессы в развитии беременности – это имплантация, формирование трофобласта и плацентация. Нарушение этих процессов ведет к осложнениям беременности, объединенным термином «большие акушерские синдромы»: привычная потеря беременности, преэклампсия, фето-плацентарная недостаточность и задержка роста плода, антенатальная гибель плода, преждевременные роды [71].

При патологическом течении беременности активация коагуляционного каскада усиливается. При всех «больших акушерских синдромах» генерация тромбина выше, чем при нормально протекающей беременности. Это может быть ответом на децидуальные кровоизлияния, инфекцию, активированный материнский системный воспалительный ответ. Тромботические изменения в сосудах плаценты ведут к нарушению фето-плацентарной перфузии, что в дальнейшем клинически выливается в ЗВУР, преэклампсию, антенатальную гибель плода, и в некоторой степени повышает риск ПРПП и преждевременных родов [65].

Высокая распространенность наследственных тромбофилий при наличии патологических изменений в плаценте, выявленная в исследованиях случай-контроль демонстрирует взаимосвязь между тромбофилией и плацентоассоциированными осложнениями беременности. Есть данные, что при наличии тромбофилии в плаценте чаще определяются специфические морфологические признаки, характерные для фето-плацентарной недостаточности: диссоциированное формирование котиледонов, редукция терминальных ворсин, псевдоинфаркты, обеднение капиллярами терминальных ворсин. В последние 30 лет проведено огромное количество исследований, целью которых явилось повышение частоты живорождений у этих пациентов. Некоторые исследователи утверждают, что дефекты гемостаза ответственны за 75-80% акушерских осложнений [54]. Однако данные литературы противоречивы и недостаточно убедительны. Из-за

мультифакториальной природы акушерских осложнений очень сложно доказать, что наследственные тромбофилии это значимый фактор риска осложнений беременности. Поэтому существующие клинические протоколы не рекомендуют рутинный скрининг на генетическую тромбофилию при прегравидарной подготовке, в том числе и у женщин с отягощенным акушерским анамнезом [55, 71, 72]. Однако и убедительных доказательств того, что тромбофилия не играет роли в формировании «больших акушерских синдромов» нет. Также не существует доказательств, что назначение антикоагулянтов при беременности для профилактики акушерских осложнений неэффективно. Для того чтобы поставить окончательную точку в этом вопросе требуются дальнейшие мультицентровые хорошо спланированные исследования с качественным дизайном.

В разных популяциях могут быть получены различные результаты демонстрирующие роль генов тромбофилии при акушерских осложнениях. Это объясняется не только разным дизайном исследования, но и различной распространенностью полиморфных аллелей у разных народов, разными межгенными взаимодействиями и отличающимися друг от друга условиями окружающей среды [76].

При оценке риска акушерских осложнений важно ориентироваться не только на результаты молекулярно-генетического исследования, но и на анамнез. Перинатальные исходы у пациенток с генетической тромбофилией лучше, если они не имели осложнений беременности ранее, по сравнению с теми, у кого акушерский анамнез отягощен [46, 79]. Существует гипотеза о том, что нарушение маточно-плацентарного кровотока может быть обусловлено не только материнской, но и фетальной тромбофилией. Была показана ассоциация между задержкой внутриутробного роста плода и наличием у него мутаций в генах FII и FV, причем эта взаимосвязь была сильнее у пациенток без преэклампсии или гестационной артериальной гипертензии [69].

Полиморфизмы в генах тромбофилии и фолатного цикла могут быть одним из этиологических факторов привычного невынашивания

беременности. При этом распространенность тромбофилии выше у пациенток с повторными случаями невынашивания беременности в анамнезе даже если беременности с абортным исходом не наступали друг за другом подряд, а между ними были нормальные роды. Однако утверждать, что причиной невынашивания беременности явилась именно тромбофилия возможно только после проведения комплексного обследования и анализа, данных анамнеза, обнаружение полиморфизмов в искомым генах еще не позволяет утверждать, что найдена причина патологии. Данный анализ наиболее полезным может оказаться в случаях с идиопатическим привычным невынашиванием, но даже в этой ситуации стоит помнить, что помимо генов тромбофилии есть и другие важные генные сети, определяющие предрасположенность к абортному исходу беременности (гены иммунного ответа, гены детоксикации и другие) [50, 62, 70, 76].

Если касательно акушерских осложнений ведется дискуссия, то факт, что тромбоэмболические осложнения в период беременности встречаются чаще не вызывает сомнений. Венозный тромбоэмболизм осложняет 0,5-2 на 1000 беременностей. У беременной женщины риск тромбоэмболизма в 4-5 раз выше, чем вне беременности [8, 41, 45, 49]. Еще в конце XIX века была описана «Триада Вирхова», включающая в себя три фактора, которые могут привести к тромбозу: гиперкоагуляция, венозный стаз и повреждение сосудистой стенки. Все эти факторы в норме присутствуют при каждой беременности: меняется работа системы гемостаза и возникает физиологическая гиперкоагуляция, растущая матка оказывает компрессию на нижнюю полую вену и вены таза, что нарушает венозный отток от нижних конечностей, гормон прогестерон приводит к расслаблению гладкомышечных клеток сосудов и истончению их стенок, что повышает травматизацию. Именно поэтому, наследственная предрасположенность к тромбофилии может впервые проявиться у женщин при беременности. Безусловно, на генотип пациентки мы повлиять не можем, однако стоит попытаться, по крайней мере, исключить модифицируемые средовые факторы риска.

ГЕНЫ ТРОМБОФИЛИИ И ФОЛАТНОГО ЦИКЛА

Помимо выше упомянутых мутаций в генах F2 и F5, для которых четко доказан высокий риск развития тромботических осложнений, существует еще множество различных полиморфизмов в «геринах тромбофилии». Разные диагностические лабораторные центры осуществляют исследование разных полиморфизмов генов, которые принимают участие в регуляции гемостаза. Мы рассмотрим те полиморфные варианты генов, тестирование на которые осуществляется чаще всего.

В подавляющем большинстве случаев, полиморфизмом (или мутацией) является точечная однонуклеотидная замена в цепи ДНК (когда одно азотистое основание меняется на другое, и вследствие этого в продукте гена одна аминокислота меняется на другую, либо изменяется количество этого продукта - фермента). В некоторых случаях полиморфизмом (мутацией) является изменение количества нуклеотидных повторов в цепи ДНК.

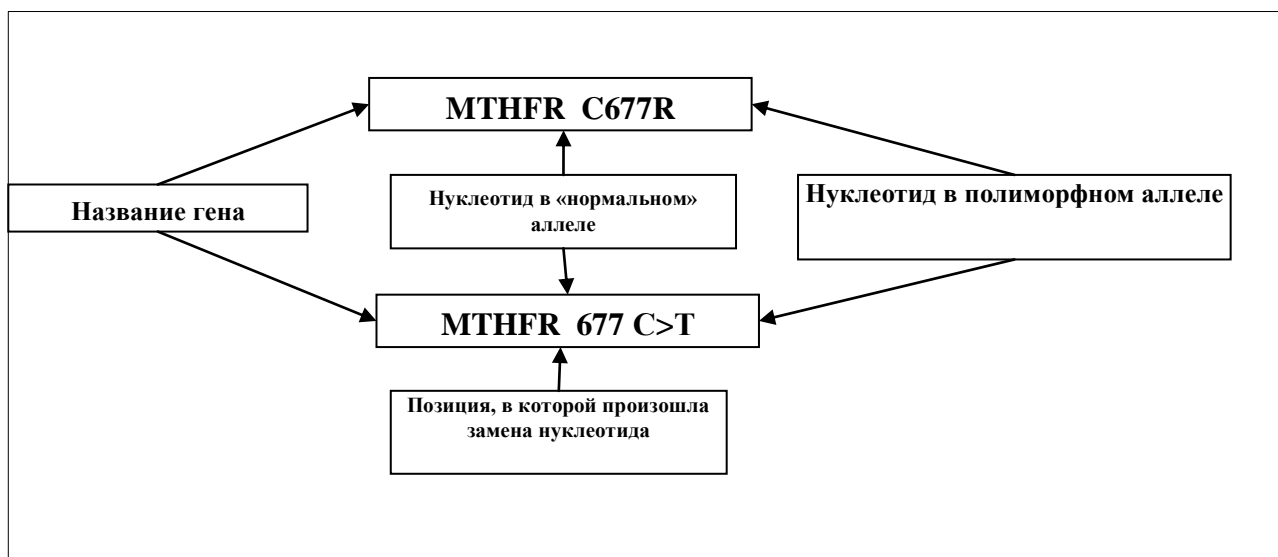


Рис. 1. Пример записи названия полиморфизма гена

В обозначении однонуклеотидного полиморфизма на первое место ставится название гена, далее – нуклеотид, который

встречается в «диком» варианте гена, позиция (номер) этого основания в цепи ДНК, нуклеотид, который встречается в полиморфном аллеле. Либо после названия гена обозначается позиция, в которой произошла замена, и далее – какие буквы в цепи ДНК меняются, со знаком «>» между ними (см. рис. 1).

Таблица 2

Гены наследственной тромбофилии [3]

Ген	Полиморфизм	Продукт гена	Распространенность полиморфного аллеля в популяции, %
F2	G20210A	Протромбин	1-3
F5	G1691A	Коагуляционный фактор V	3-7
FGB (F1)	G-455A	Фибриноген	20-30
F7	G10976A	Коагуляционный фактор VII	14-16
PAI1	-675 5G>4G	Ингибитор активатора плазминогена 1 типа	50-60
PLAT	I/D полиморфизм	Тканевой активатор плазминогена	50-60
ITGA2 (GP1A)	C807T	Гликопротеин 1a	40
ITGB3 (GP3A)	T1565C	Гликопротеин 3a	10-15
MTHFR	C677T	Метилентетрагидро фолатредуктаза	20-40

В таблице 2 представлены основные из известных генов, контролирующих систему гемостаза, включая их генетическую характеристику, локализацию полиморфных нуклеотидных последовательностей, кодируемый фактор гемостаза и их популяционная распространенность среди европейцев.

Гены тромбофилии можно разделить на несколько групп:

- гены плазменных факторов свертывания, кодирующие факторы внутреннего пути гемостаза (FGB, F2, F5, F7, F9, F11, F12);
- гены гликопротеидов тромбоцитарных рецепторов, играющих роль во внешнем пути свертывания (GP1A, GP3A, GP1ba, GPVI);
- гены, отвечающие за фибринолиз (PAI1, PLAT);
- гены, отвечающие за антикоагулянтное звено (PROC, SERPINC)

Гены фолатного цикла (MTHFR, MTR, MTRR, MTHFD, CBS, BHMT) в некоторых случаях также относят к генам тромбофилии, поскольку они опосредованно, при повышении уровня гомоцистеина, могут влиять на внешний путь свертывания.

Клинические лаборатории и медицинские центры, как правило, предоставляют разные наборы генов. Обычно на рынке медицинских анализов предлагается три вида панелей, характеризующих нарушение работы системы гемостаза: скрининговый вариант (гены F2, F5), стандартная панель (10-14 полиморфизмов) и экспертная панель, включающая порядка 30 полиморфизмов.

Скрининговый вариант тестирования на гены тромбофилии можно использовать перед назначением гормональной контрацепции или при направлении пациента на операцию, некоторые центры используют данный тест при планировании беременности.

При наличии осложнений беременности в анамнезе чаще всего используется стандартный вариант - 10-14 наиболее изученных полиморфизмов, для которых многие исследования показали связь с теми или иными осложнениями беременности. В данном пособии будут освещены гены и полиморфизмы, используемые в этом наборе.

Экспертная панель используется у пациентов, с тромбозами неясной этиологии в личном анамнезе, когда требуется уточнение причины патологии и коррекция терапии.

F2

Фактор II (протромбин), который кодируется геном F2, – витамин-К зависимый гликопротеин, играющий центральную роль в системе гемостаза. Полиморфизм G20210Ав гене протромбина (F2) приводит к повышенному уровню циркулирующего в плазме протромбина. Полиморфный аллель А встречается примерно у 3% европейского населения, следовательно, согласно распределению Харди-Вайнберга, гетерозиготный генотип GA можно обнаружить примерно у 2,9% населения, полиморфный гомозиготный генотип менее чем у 0,1% населения [3, 16]. Данная мутация наследуется по аутосомно-доминантному типу, то есть ее негативное действие проявляется даже при гетерозиготном носительстве (хотя в этом случае эффект намного менее выражен, чем при гомозиготном носительстве полиморфизма).

Несмотря на то, что данный полиморфизм является общепризнанно значимым фактором в развитии тромбофилии, оценка риска тромбоза зависит не только от наличия полиморфизма, но также и от личного и семейного анамнеза пациентки. В клинических рекомендациях Американской коллегии акушеров-гинекологов указывается, что у гетерозиготной носительницы полиморфного аллеля в гене протромбина, не имеющей тромбозов в анамнезе и родственников первой линии, страдающих тромбозами, риск развития тромботических осложнений при беременности не превышает 1%, поэтому гетерозиготное носительство полиморфизма F2 G20210Ав настоящее время считается тромбофилией низкого риска [45, 47, 49]. Однако при наличии личного тромботического анамнеза риск повышается до 10%. Если у пациентки гомозиготный генотип AA, то риск тромбоза при беременности составляет 2-3% при отсутствии личного или семейного тромботического анамнеза и 17% при его наличии[45].

В ряде мета-анализов показана роль мутаций в гене F2 при привычном невынашивании беременности [62, 76].

Поскольку данная мутация является значимой для жизни и здоровья в постнатальном периоде, следует учитывать и риск наследования для потомства. При гетерозиготном носительстве мутации одним из родителей, для детей риск унаследовать данную мутацию составляет 50%. Если же родитель является гомозиготным носителем, то 100% детей будут гетерозиготными носителями. Это необходимо знать, поскольку носительство мутации может приводить к тромбоэмболическим осложнениям у детей, в том числе и в пренатальном, и в неонатальном периодах.

F5

Фактор V (проакцелерин) является кофактором при активации протромбина под действием фактора Ха. Лейден-мутация (F5 G1691A) считается одним из наиболее значимых наследственных дефектов, приводящим к тромбофилии. Данная мутация делает фактор V рефрактерным к протеолизу с помощью активированного протеина С, замедляется деградация проакцелерина, стабилизируется протромбиновый комплекс, увеличивается скорость образования тромбина [2].

Полиморфизм G1691A (Лейден-мутация) встречается в европейской популяции примерно у 5% здорового населения в гетерозиготном варианте и примерно у 0,2% в гомозиготном варианте. Среди же пациентов с тромбозами данная мутация обнаруживается в 15-20% случаев [16, 77]. Интересно, что в различных популяциях частота встречаемости мутации Лейден значительно различается: например, в Японии она не встречается вообще, в Европе – у 2-7% населения, а в Палестине до 25% жителей являются носителями мутации [3, 16, 45].

Лейден-мутация, также как и мутация в гене F2, является аутосомно-доминантной. Риск тромбоза у гетерозиготных носителей повышен в 3-7 раз, а у гомозиготных – в 40-80 раз. Наличие дополнительных факторов риска, таких как прием оральных

контрацептивов, курение, беременность, дополнительно увеличивает риск [2, 16]. Риск гетерозиготного носительства мутации для потомства составляет 50% при гетерозиготном носительстве и 100% при гомозиготном носительстве у одного из родителей. Если оба родителя являются гетерозиготными носителями мутации, высок риск гомозиготного носительства для потомства – 25% (см. рисунок 2).

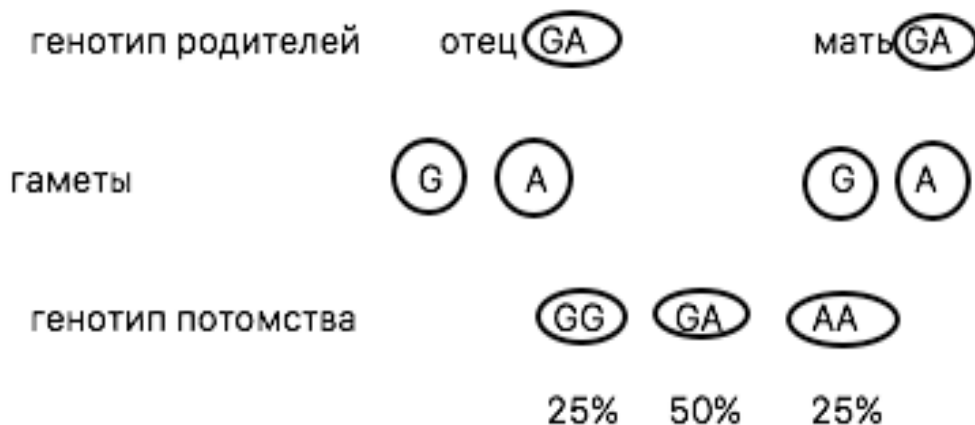


Рис. 2. Риск наследования мутации при гетерозиготном носительстве у обоих родителей

На сегодняшний день известно, что, несмотря на повышенный риск тромбоэмболических осложнений, данный генотип совместим с нормальной жизнью в постнатальном периоде, и в некоторых случаях носитель может даже не иметь тромботического анамнеза (особенно, если отсутствуют дополнительные факторы риска). Возможна даже ситуация, когда гомозиготное носительство мутации Лейден определяется «случайно».

Клинический пример. В нашей практике был случай, когда пациентка сдала анализ просто потому, что в лаборатории было предложено сдать анализ бесплатно нескольким сотрудникам, чтобы протестировать методику, и была выявлена гомозиготная мутация в гене F5. Это была женщина 55 лет, серьезных тромбоэмболических осложнений у нее в жизни не было, антикоагулянты она не принимала. При дополнительном опросе выяснилось, что однажды в молодости у нее был эпизод тромбофлебита. В анамнезе у данной

пациентки были одни роды, которые закончились рождением здорового ребенка, беременность протекала без осложнений. Стоит отметить, что данная пациентка не имела значимых средовых факторов риска – она имела нормальную массу тела, вела достаточно активный образ жизни, не принимала гормональных контрацептивов (в качестве контрацепции использовала внутриматочный контрацептив), не была никотинозависимой. Этот случай наглядно иллюстрирует, что здоровый образ жизни позволяет значительно снизить генетически детерминированный риск.

Среди женщин, перенесших венозную тромбоэмболию во время беременности мутация V фактора обнаруживается примерно в 40% случаев. Однако гетерозиготные носительницы этой мутации, не имеющие тромбоэмболических осложнений в анамнезе или родственников первой степени родства с тромбоэмболическим анамнезом, имеют риск при беременности лишь около 0,3% (общепопуляционный риск). Пациенты, у которых помимо мутации присутствует еще и семейный тромбоэмболический анамнез имеют более высокий риск – около 1,5%, а при наличии личного анамнеза риск составит уже 10%. Гомозиготные носительницы данной мутации без личного или семейного тромботического анамнеза имеют риск венозной тромбоэмболии при беременности 1-2%, а при наличии такого анамнеза – 17% [45]. Таким образом, у гомозиготных носительниц риск выше, чем у гетерозиготных, однако гетерозиготная носительница с личным или семейным анамнезом имеет более высокий риск, чем гомозиготная носительница без него. Вот почему нельзя оценивать риск тромбоэмболических осложнений только по данным генетического тестирования в отрыве от анамнестических данных.

Результаты ряда исследований показали, что мутация Лейден повышает предрасположенность в привычному невынашиванию беременности и осложнениям беременности [62, 63, 76].

Сочетание мутаций в генах F2 и F5 имеет синергичный эффект. Комбинация гетерозиготного носительства полиморфизма в двух этих генах является достаточно редкой (примерно 1:10000). При

наличии этой комбинации риск венозной тромбоэмболии даже без личного и семейного анамнеза составляет 4-5% [45, 85].

Неблагоприятно также сочетание мутации в генах F5 и MTHFR. Такая комбинация повышает риск привычного невынашивания беременности и внезапной смерти плода [63].

Оценивая риск тромбоза при мутации Лейден или при наличии мутации в гене протромбина мы должны выяснять наследственность пациентки. Однако не всегда более отягощенная наследственность означает более высокий риск. Например, у пациентки с гомозиготной мутацией наследственность может быть, и не отягощена, если оба ее родителя – гетерозиготные носители мутации (а это наиболее вероятный вариант). В этой ситуации риск у пациентки в несколько раз выше, чем у каждого из родителей, так как ее генотип оказался более «неблагоприятным», чем у них (см. рис. 2). Может быть и противоположная ситуация – пациентка с гетерозиготной мутацией, но с отягощенной наследственностью с одной стороны (либо по отцу, либо по матери). Необходимо помнить, что у пациентки, имеющей гетерозиготную мутацию, возможно, не будет такого же высокого риска тромбоэмболических осложнений, как у отягощенного по этой патологии родственника первой линии – так как гетерозиготную мутацию она получила от гомозиготного носителя, однако риск у нее в этом случае будет намного ниже (см. рис. 3).

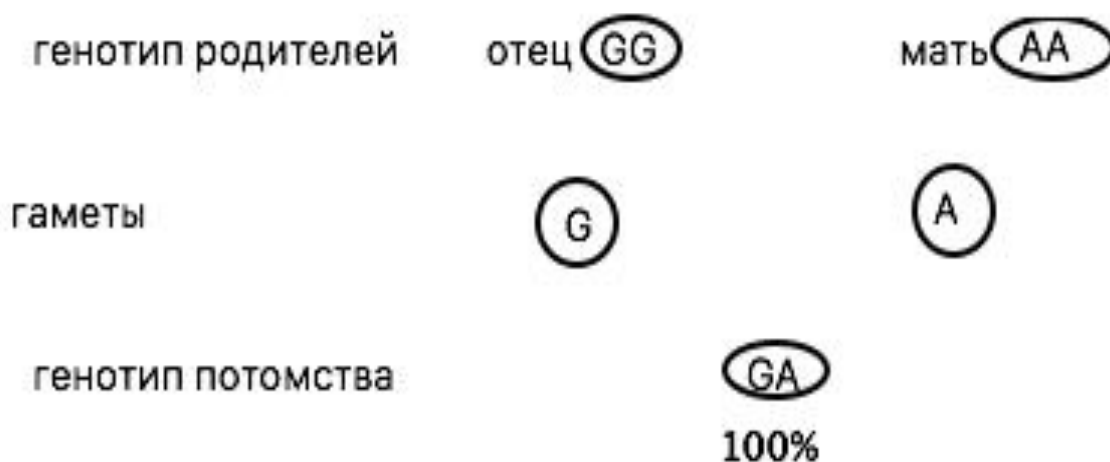


Рис. 3. Риск наследования мутации при гомозиготном носительстве у одного из родителей.

FGB

Фибриноген (фактор I) присутствует в норме в плазме крови в концентрации 1,7-4 г/л. С возрастом уровень фибриногена увеличивается (на 5-7% каждые 10 лет). Образование фибрина из фибриногена является заключительным этапом каскада плазменного гемостаза [16, 44].

Полиморфизм G-455A в гене FGB, кодирующем β -субъединицу фибриногена, встречается в гетерозиготном варианте у 20-30% населения, в гомозиготном – у 4-6% (у европейского населения). Гетерозиготное носительство данного полиморфизма риска ВТЭО не повышает и является вариантом нормы. При гомозиготном носительстве полиморфизма G-455A уровень фибриногена в плазме повышается. Кроме того, полиморфный аллель A, в большей степени по сравнению с аллелем G активируется интерлейкином 6 и другими медиаторами иммунного ответа [3].

В одном из наших исследований было показано, что у женщин с привычным невынашиванием гомозиготный полиморфизм гена FGB встречается достоверно чаще [15]. Однако исследований о влиянии полиморфизмов гена FGB на развитие беременности на сегодняшний день немного.

F7

Фактор VII (проконвертин) участвует в процессе свертывания крови по внешнему пути свертывания. Полиморфизм F7 G10976A интересен тем, что приводит к снижению плазменной концентрации проконвертина (наличие полиморфизма F7 в гетерозиготном состоянии вызывает снижение концентрации и активности FVII на 25%, а в гомозиготном – на 50% по сравнению с носителями «дикого» аллеля), поэтому не повышает, а снижает риск тромбофилии. При этом он несколько повышает риск послеродового кровотечения, особенно при гомозиготном носительстве [3, 16, 80]. Частота встречаемости полиморфизма F7 14-16% [3].

В ряде работ показано, что при привычном невынашивании беременности полиморфизм G10976A встречается реже, чем дикий генотип, что говорит о возможном протективном эффекте в

отношении невынашивания беременности [48]. Хочется отметить, что этот протективный эффект достаточно слабый, и не может нивелировать отрицательное действие значимых полиморфизмов в других генах тромбофилии, таких как F2 и F5, но и фактором риска невынашивания беременности полиморфизм в гене F7 не является. Грубой ошибкой является при подсчете уровня риска так называемой «мультигенной» тромбофилии добавлять баллы за наличие полиморфного аллеля в гене F7. При решении вопроса о назначении низкомолекулярных гепаринов у носителей полиморфизма в гене F7 стоит тщательно оценить все факторы риска, как тромбоза, так и кровотечения, чтобы принять верное решение.

F13

Фактор XIII (фибринстабилизирующий фактор) активизируется в конце гемокоагуляционного каскада, стабилизируя фибрин. В физиологических условиях фактор XIII переходит в свою активную форму под воздействием тромбина и ионов Ca^{++} . В случае наличия полиморфизма G103C (Val34Leu) снижается активность белка FXIII. Частота встречаемости полиморфного аллеля около 40%. Носительство полиморфизма снижает риск тромбоэмболических осложнений, поэтому у больных с тромбозами в анамнезе, гомозиготное носительство полиморфизма встречается существенно ниже, чем у здоровых индивидуумов.

При этом мнение о влиянии полиморфизма F13 на риск привычного невынашивания не однозначно. Уровень фибриногена при наличии гомозиготного полиморфизма гена F13 находится в низко-нормальном диапазоне, однако при этом структура фибрина может быть модифицирована в сторону повышения устойчивости к фибринолизу, вероятно, поэтому научных работ, в которых показано что полиморфизм F13 Val34Leu повышает риск невынашивания беременности больше, чем публикаций о том, что он обладает протективным эффектом в отношении данной патологии. Безусловно, при оценке риска важно учитывать и межгенные взаимодействия [20, 54, 76].

РАІ1

Ингибитор активатора плазминогена 1 типа играет важнейшую роль в фибринолитической системе. Он ингибирует урокиназу, протеин С и тканевой активатор плазминогена.

Полиморфизм 5G -675 4G (делеция гуанина в 675 положении отстартовой точки промотора гена) в гене РАІ1 (SERPINE1) приводит к усилению транскрипции гена и, как следствие, к повышению содержания ингибитора активатора плазминогена в плазме и снижению фибринолитической активности крови. В гетерозиготном варианте данный полиморфизм встречается у 50-60% населения, что позволяет не считать его значимым фактором генетической тромбофилии.

Однако при гомозиготном носительстве данного полиморфизма (генотипе 4G4G) концентрация РАІ на 25% выше, чем у лиц, имеющих генотип 5G5G, что может фенотипически проявляться снижением фибринолиза, повышением уровней РФМК и Д-димера [2, 16]. Национальное руководство «Акушерство» 2015 года указывает, что гомозигота РАІ1 4G4G – это один из видов генетической тромбофилии [38]. В ряде исследований показано, что, несмотря на широкую распространенность аллеля 4G, гомозиготный генотип РАІ1 4G4G повышает риск ЗВУР и привычного невынашивания беременности у европеоидов [62, 64, 76].

В мета-анализе, проведенном Giannakou К. в 2018 году, включающем 1466 первичных исследований, оценивающих генетические и не генетические факторы преэклампсии, гомозиготный полиморфизм РАІ1 оказался единственным генетическим полиморфизмом, имеющим достоверные доказательства вклада в развитие преэклампсии [58].

PLAT

I/D полиморфизм (наличие инсерции) в гене PLAT (тканевого активатора плазминогена) также, как и полиморфизм в гене PAI(ингибитора активатора плазминогена), является причиной снижения фибринолитической активности крови. Данный полиморфизм в гетерозиготном состоянии не является существенным фактором в развитии наследственной тромбофилии. В гомозиготном состоянии инсерционно-делеционный вариант этого гена ассоциирован с различными тромбозами [2, 3].

ГЕНЫ ГЛИКОПРОТЕИНОВ ТРОМБОЦИТАРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

GP1A (ITGA2)

Продуктом гена ITGA2 является α 2-субъединица коллагенового рецептора (гликопротеин 1a - GP1A). Наиболее значимым полиморфизмом в этом гене является C807T. Неблагоприятный аллель С ассоциирован с усилением адгезии тромбоцитов к эндотелию вследствие интенсификации синтеза гликопротеина 1a и увеличению плотности коллагенового рецептора на мембране (структура гликопротеина при этом остается неизменной) [2, 16]. Частота встречаемости полиморфного аллеля составляет 40%.

ITGB3

Продуктом гена ITGB3 является β -субъединица фибриногенового рецептора тромбоцитов (гликопротеин 3a). Полиморфизм T1565C встречается у 10-15% (в гомозиготном варианте у 2%) европейского населения. Он приводит к конформационным изменениям на сайте связывания фибриногена. Полиморфный аллель Т, особенно, при одновременном наличии полиморфного аллеля С в гене ITGA2, несколько повышает риск тромбозов вследствие усиления агрегации тромбоцитов [2, 3].

У пациентов с носительством полиморфизма ITGA2 T1565C может отмечаться резистентность к ацетилсалициловой кислоте в качестве антиагрегантного средства, поэтому в профилактических целях рекомендуется использовать альтернативные препараты.

GPVI

Полиморфизмы в гене GPVI, который кодирует рецептор тромбоцитов гликопротеин VI, ассоциированы с синдромом липких тромбоцитов, то есть с повышенной агрегабельностью тромбоцитов (то есть повышенной чувствительностью рецепторов тромбоцитов к

индукторам агрегации) в сочетании с тромбоцитопенией. Кроме того, существуют исследования указывающие, что данные генетические варианты повышают риск потери плода при беременности [78].

При наличии полиморфизмов в генах рецепторов тромбоцитов прежде всего необходимо контролировать количество тромбоцитов и провести тестирование на агрегацию тромбоцитов.

MTHFR

На сегодняшний день описано 9 мутаций гена MTHFR. Самой частой и наиболее изученной из них является миссенс-мутация C677T, связанная с замещением цитозина на тимин в положении 677, в результате чего в соответствующем белковом продукте аланин меняется на валин. У гомозигот по полиморфному аллелю активность фермента *in vitro* снижена на 70%, а у гетерозигот на 35% [13, 42, 83].

Гомозиготность по полиморфизму C677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы считается наиболее распространенной (хотя и совсем не обязательной) причиной умеренной гипергомоцистеинемии.

Полиморфный аллель C присутствует в генотипе у 20-40% европейцев, гомозиготный генотип TT встречается с частотой 10-16% [13, 45]. Ранее, при гомозиготной мутации TT в гене MTHFR рекомендовалось выставить диагноз «генетическая тромбофилия», однако на сегодняшний день доказано, что риск тромбофилии повышает не сам по себе полиморфизм, а наличие гипергомоцистеинемии, которая даже при гомозиготном носительстве выявляется далеко не всегда. Следовательно, если уровень гомоцистеина в норме, то данная мутация значимым фактором риска тромбоэмболических осложнений не является, и не относится к генетическим тромбофилиям.

Вторым распространенным полиморфизмом в гене MTHFR является A1298C. Сам по себе этот полиморфизм не приводит к гипергомоцистеинемии, но может оказывать синергичный эффект при одновременном наличии полиморфизма MTHFR C677T [13, 42].

По данным ряда авторов полиморфизмы в гене MTHFR повышают риск невынашивания беременности [62, 76]. Некоторые исследования и даже систематические обзоры показали, что полиморфизм MTHFR C677T ассоциирован с преждевременными родами и низким весом плода [57, 66, 84]. Есть данные, что при

преэклампсии повышена частота гомозиготного генотипа TT плаценты, следовательно фетальный генотип тоже может играть определенную роль [51]. Хотя в других обзорах и мета-анализах утверждается, что нет статистически достоверных различий по частоте полиморфизмов в гене MTHFR при нормальной гестации или при беременности, осложненной фето-плацентарной недостаточностью и преждевременными родами [52]. Ассоциация с привычным невынашиванием также не была получена в ряде работ [60, 68]. Вероятно, определенная связь полиморфизмов в гене MTHFR с акушерской патологией существует, но его пенетрантность в этом аспекте достаточно низкая, и патологическое действие будет реализована только в сочетании с другими факторами риска (в том числе с недостаточностью витаминов B6, B9, B12, характером питания, а также с другими полиморфизмами в генах-кандидатах осложнений беременности). Требуются исследования с достаточно большим объемом выборки, учитывающие комбинации различных факторов риска.

MTRR

Ген MTRR кодирует фермент метионин-синтазу-редуктазу. Этот фермент участвует в восстановлении активности метионин-синтазы – фермента, непосредственно осуществляющего метилирование гомоцистеина. MTRR также осуществляет обратное превращение гомоцистеина в метионин [21].

В этом гене описаны разные типы мутаций и несколько полиморфных вариантов. Полиморфизм A66G в 4 раза снижает активность фермента MTRR. Частота гетерозиготных носителей аллеля 66G в гене MTRR составляет около 45,0 — 50,0%, а гомозиготных около 25,0% [59].

MTR

Ген MTR кодирует аминокислотную последовательность фермента метионин синтазы. Фермент метионин-синтаза – один из ключевых ферментов обмена метионина, катализирующего образование

метионина из гомоцистеина путем его реметилиации. В качестве кофактора этой реакции принимает участие витамин В₁₂ (кобаламин).

В гене MTR также было описано несколько мутаций и полиморфизмов, снижающих его активность. Полиморфизм A2756G связан с аминокислотной заменой (аспарагиновой кислоты на глицин) в молекуле фермента метионин синтазы. В результате этой замены функциональная активность фермента изменяется. Влияние полиморфизма усугубляется повышенным уровнем гомоцистеина [13, 56].

Присутствие данных полиморфизмов не является непосредственной причиной тромбофилии и не приводит к тромбоэмболическим осложнениям у беременных, также как и у небеременных женщин, но их наличие в гомозиготном варианте является показанием для контроля уровня гомоцистеина. Высокая концентрация гомоцистеина оказывает повреждающее действие на эндотелий, что запускает внешний путь свертывания и приводит к активации гемостаза. Кроме того, он может оказывать прямое токсическое действие на плод [13, 60].

Помимо повышенного уровня гомоцистеина, полиморфизмы в генах фолатного цикла ассоциированы и с другими неблагоприятными эффектами – повышение риска пороков развития и хромосомных перестроек у плода, в том числе синдрома Дауна [61]. Показано, что сочетание ряда полиморфизмов в генах фолатного цикла повышает риск преждевременных родов и преэклампсии [75, 82].

Назначение высоких доз фолиевой кислоты при наличии полиморфизмов в генах фолатного цикла не оправдано. Например, полиморфизмы в гене MTHFR приводят к снижению активности фермента, переводящего 5,10-метилтетрагидрофолат в тетрагидрофолат (метафолин), который является кофактором реметилирования гомоцистеина. При ограниченной активности ферментов фолатного цикла количество фолиевой кислоты, которая будет метаболизирована в метафолин также ограничено. Поэтому в данной ситуации патогенетически более оправдано назначение фолатов в виде метафолина. Клинический протокол «Преграavidарная подготовка» общества МАРС указывает на то, что мутации в генах

фолатного цикла ассоциированы с нарушением метаболизма фолатов, повышением вероятности развития гипергомоцистеинемии, и этим обусловлена целесообразность назначения пациенткам с мутациями в генах фолатного цикла фолатов в форме метафолина и в составе поливитаминных комплексов, содержащих витамины В₆ и В₁₂ [36].

Несмотря на то, что международные протоколы рекомендуют исследование в группах риска по тромбозам только на наличие полиморфизмов в генах F2 и F5 [49, 67], мы считаем целесообразным проводить расширенное исследование. Во-первых, многие исследования свидетельствуют о роли и других полиморфизмов в генах тромбофилии в генезе акушерских осложнений, во-вторых, имеет значение не только вид полиморфизма, но и общее количество полиморфных аллелей в генотипе (исключая протективные аллели). Например, по нашим данным среднее количество полиморфизмов генов тромбофилии достоверно выше у женщин с привычным невынашиванием, по сравнению с пациентками, имевшими в анамнезе не более 1 случая невынашивания [15].

ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НА НАЛИЧИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ В «ГЕНАХ ТРОМБОФИЛИИ»

Стоит отметить, что в настоящее время исследования на «генетическую тромбофилию» назначаются часто при отсутствии показаний. В то же время, часть пациентов, которым данное тестирование показано, остаются необследованными. Причем данная ситуация имеет место как в отечественной системе здравоохранения, так и за рубежом. Нормативных документов, однозначно определяющих показания для анализа, в России в настоящее время нет. Так, в некоторых клиниках анализ проводится практически всем беременным женщинам или пациенткам планирующим беременность.

Однако молекулярно-генетические исследования имеют достаточно высокую стоимость, поэтому их назначение должно быть обосновано. И врач, и пациент должны понимать, с какой целью назначается тот или иной анализ. Поэтому в международных протоколах, касающихся тромбофилии, четко прописаны показания для проведения этого исследования. Рекомендуется принимать решение о назначении анализа исходя из того, повлияют ли результаты исследования на тактику лечения пациентки или нет.

Мы проводили опрос на кафедре акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки Уральского государственного медицинского университета, чтобы определить, какие состояния врачи акушеры-гинекологи считают показаниями для тестирования на полиморфизмы в генах тромбофилии. Результаты представлены в таблице 3.

Практически все выше перечисленные показания дискутабельны. Одной из важнейших задач генетического тестирования считается профилактика заболеваний не только у объекта исследования, но и у здоровых родственников больного. Потенциальная польза выявления

генетически детерминированных дефектов гемостаза у больного с тромбозом состоит в предупреждении заболевания у предрасположенных, но не имевших тромботических эпизодов членов семьи. Однако серьезных проспективных наблюдений в этом отношении нет, как нет и соответствующих рекомендаций по ведению таких асимптомных родственников [6, 47].

Таблица 3

Показания для тестирования на «генетическую тромбофилию» по мнению врачей акушеров-гинекологов Свердловской области [18]

Показание для исследования на «Генетическую тромбофилию»	Доля опрошенных, направляющих при данном состоянии на исследование полиморфизмов «генов тромбофилии»
Отягощенный тромбозом осложненными личным или семейным анамнезом	90%
Привычное невынашивание беременности	86%
Направление пациентки на ЭКО	51%
Наличие акушерских осложнений в анамнезе	50%
Бесплодие неясного генеза	42%
Обследование перед назначением гормональной контрацепции	35%
Обследование перед назначением менопаузальной гормональной терапии	26%
1 самопроизвольный выкидыш в анамнезе	26%

Согласно международным рекомендациям, большинству беременных женщин, имеющих в анамнезе тромбоз при беременности, неспровоцированный какими-либо факторами риска, или тромботические осложнения, связанные с приемом гормональной контрацепции, молекулярно-генетическое исследование на наличие полиморфизмов в генах тромбофилии не требуется, так как тромбопрофилактика этим женщинам должна проводиться независимо от результата анализа. Если тромбоз возник в результате воздействия очевидного серьезного провоцирующего фактора, например, обширного оперативного вмешательства или тяжелых травм, тромбопрофилактика в последующей жизни, как правило, не

требуется. Тестирование на «генетические тромбофилии» необходимо беременным женщинам, родственники которых имели в анамнезе тромботические осложнения, когда целесообразность тромбопрофилактики вызывает сомнения, а также беременным, у которых тромбоз возник под воздействием незначительных транзиторных факторов риска (например, респираторная инфекция). Причем исследование в этом случае будет более информативным, если родственники с отягощенным анамнезом также прошли тестирование (чтобы сравнить их гаплотип с гаплотипом пациентки, для которой необходимо принять решение о необходимости назначения препаратов для профилактики тромбофилических осложнений). В таком случае риск у пациентки будет высоким, если у нее выявлены аналогичные родственнику с отягощенным анамнезом полиморфизмы. Если родственник не тестировался, то риск для пациентки после проведения анализа останется неопределенным [47].

У пациентов с острым тромбозом решение о начале, характере и интенсивности антикоагулянтной и фибринолитической терапии не зависит от того, есть ли у пациента наследственная тромбофилия. Результат анализа может повлиять только на решение о назначении терапии для профилактики рецидивов в дальнейшем. Тем не менее, пациентам с первым эпизодом тромбоза, не имеющим семейного анамнеза, при наличии значимых средовых факторов риска тромбоза, назначение молекулярно-генетического исследования на наследственную тромбофилию не показано (согласно международным рекомендациям), так как нет достаточных доказательств того, что данное тестирование действительно снижает частоту рецидивов тромбоза в дальнейшем [47].

Несмотря на то, что 86% акушеров-гинекологов считают привычное невынашивание беременности показанием для анализа на генетическую тромбофилию (а 36% уверены, что именно с этого исследования нужно начинать обследование в таких случаях), данный тест и в этой ситуации не обязателен, и, безусловно, не должен быть тестом первой линии. Вопрос о целесообразности тестирования должен решаться только после сбора анамнеза и исключения

хромосомных aberrаций у супругов. Если речь идет о спорадическом невынашивании беременности, то в 50-60% случаев причиной выкидыша или неразвивающейся беременности является генетическая патология у эмбриона. Поставить вопрос об анализе на тромбофилию стоит только в том случае, если было проведено генетическое исследование абортного материала, хромосомные перестройки у эмбриона исключены, и требуется поиск других возможных причин невынашивания беременности для профилактики привычного выкидыша в дальнейшем. Федеральный клинический протокол «Выкидыш в ранние сроки беременности. Диагностика и тактика ведения» отмечает, что необходимо стремиться выявить причины прерывания беременности, поскольку эти факторы могут привести к повторным (привычным) выкидышам [1].

Совершенно не обязательно проводить анализ на генетическую тромбофилию всем женщинам при направлении на ЭКО. Безусловно, повышенная гормональная нагрузка при проведении данной процедуры – это фактор риска тромбофилии, однако следует в первую очередь оценивать клинический риск, а на генетическую тромбофилию тестировать лишь при наличии дополнительных оснований – отягощенный личный или семейный анамнез. Ряд исследователей связывает с тромбофилией и неудачные попытки ЭКО [27], хотя стоит помнить, что главный фактор удачного исхода ЭКО – качество эмбриона.

Международные рекомендации также не предполагают проведение исследований на генетическую тромбофилию женщинам перед процедурой ЭКО, в том числе и тем, в анамнезе которых был синдром гиперстимуляции яичников [47]. Однако есть данные о том, что проведение антикоагулянтной терапии у женщин с тромбофилией значительно улучшает исходы программ ЭКО [27], поэтому мы рекомендуем активное выявление генетической тромбофилии у женщин с невынашиванием беременности и неудачными попытками ЭКО в анамнезе, готовящихся к использованию вспомогательных репродуктивных технологий.

Интересно, что большое количество врачей считают показанием для генетического исследования бесплодие. Предполагается, что мутации в генах тромбофилии могут приводит к предимплантационным потерям, и, как следствие, ненаступлению беременности, что может проявляться, как бесплодие неясного генеза. Тем не менее, бесплодие неясного генеза само по себе не должно являться показанием для тестирования на тромбофилию, так как нет никаких достоверных данных о снижении у женщин с тромбофилией способности к репродукции.

Наличие акушерских осложнений как показание для тестирования на генетическую тромбофилию также вызывает много споров. С одной стороны, доказана связь между тромбофилией и акушерскими осложнениями, в том числе «большими акушерскими синдромами» - фето-плацентарной недостаточностью, преэклампсией, невынашиванием беременности, антенатальной гибелью плода, преждевременными родами [62]. С другой стороны, рандомизированные исследования показали, что рутинное тестирование на тромбофилию при планировании беременности не приводит к снижению количества осложнений беременности и не улучшает ее исходов [47]. Мы считаем, что в данном случае важен персонифицированный подход – тестирование на генетическую тромбофилию может быть полезным, но следует проводить поиск и множества других причин осложненного течения беременности (хромосомные перестройки, пороки развития плода, инфекции, эндокринные нарушения, аутоиммунная патология и другие факторы), и оценивать все данные в совокупности.

Нет однозначного мнения и о целесообразности исследования на генетическую тромбофилию перед назначением гормональной контрацепции, в первую очередь, если речь идет о комбинированных оральные контрацептивах. Не отрицается, что риск тромбоза при приеме КОК повышен. При этом, согласно международным и российским рекомендациям рутинный скрининг на генетическую тромбофилию при подборе контрацепции не целесообразен вследствие редкой встречаемости значимых тромбогенных мутаций и

высокой стоимости исследования [40]. Показанием для проведения молекулярно-генетического тестирования на генетическую тромбофилию в этой ситуации является наличие родственника первой линии, имеющего тромботический анамнез (сама по себе наследственность, отягощенная по тромбозу глубоких вен или ТЭЛА – это 2 категория приемлемости комбинированной гормональной контрацепции). При тромбозе или ТЭЛА в анамнезе гормональная контрацепция противопоказана в любом случае (4 категория приемлемости), независимо от результата анализа, поэтому практической пользы от него не будет. Исключение составляет тромбоз в анамнезе, спровоцированный такими факторами как длительная иммобилизация, большое хирургическое вмешательство, множественная травма.

Тем не менее, во многих случаях, когда молодая пациентка обращается с целью подбора контрацепции, анамнез у нее может быть абсолютно не информативным – у таких пациенток во многих случаях не было ни беременности, ни операции в анамнезе, а про наличие тромботических осложнений в анамнезе у родственников она может не знать. В таких случаях именно начало приема гормонов может стать тем пусковым фактором, который приведет к клинической манифестации генетической тромбофилии в виде тромбоза. Поэтому при неинформативном анамнезе стоит провести хотя бы анализ на наличие полиморфизмов в генах F2 и F5. Стоимость этого исследования невелика, а результат может пригодиться пациентке и в течение дальнейшей жизни.

При назначении менопаузальной гормональной терапии данное исследование в подавляющем большинстве случаев для оценки наличия противопоказаний не требуется, поскольку пациентки, которые обращаются с целью назначения МГТ находятся в более старшем возрасте, и решение о возможности приема гормональных средств у них как правило можно принять на основании данных анамнеза. Если данная пациентка имеет генетическую тромбофилию высокого риска, то к моменту назначения МГТ она должна себя тем или иным образом проявить. Полноценный сбор анамнеза занимает в

данной случае ведущее место. В клинических рекомендациях «Менопаузальная гормонотерапия и сохранение здоровья женщин зрелого возраста» [39] содержится опросник для выявления риска тромбозов, и в данном случае он будет более полезен, нежели молекулярно-генетическое исследование.

Суммируя отечественный и зарубежный опыт, мы рекомендуем следующие показания для проведения тестирования на наследственную предрасположенность к тромбофилии:

1. Наличие родственника первой линии, имеющего тромботический анамнез, у женщин, планирующих беременность или принимающих решение о приеме гормональной контрацепции (при наличии результата генетического анализа у родственника);

2. Беременность у женщины, имеющей в анамнезе тромбоз, спровоцированный значимыми факторами риска, если недостаточно клинических данных для назначения тромбопрофилактики;

3. Выкидыш во втором триместре беременности, либо 2 и более случаев невынашивания в первом триместре (после исключения хромосомных aberrаций у супругов);

4. Наличие осложнений беременности в анамнезе (преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, перинатальные потери, преждевременные роды);

5. Подготовка к ЭКО при наличии неудачных попыток или невынашивания беременности в анамнезе;

6. Неинформативный анамнез при обращении пациентки с целью подбора гормональной контрацепции.

В приказе Минздрава России №572н от 01.11.2012 г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением вспомогательных репродуктивных технологий)» молекулярно-генетическое исследование на полиморфизмы в генах тромбофилии не фигурирует, ни у беременных женщин (в том числе и у страдающих привычным невынашиванием), ни у гинекологических пациенток. Однако в этом приказе вообще не прописана предгравидарная подготовка ни у здоровых женщин, ни у пациенток

группы высокого риска. В приказе Минздрава России №107н от 30.08.2012 «Об утверждении Порядка использования вспомогательных акушерских технологий, противопоказания и ограничения к их применению» тестирование на «генетическую тромбофилию» в перечень необходимых обследований, перед проведением ЭКО, также не входит, и не оговорены случаи, когда это исследование все же необходимо пациентке, готовящейся к проведению процедур ВРТ. Следовательно, с юридической точки зрения акушер-гинеколог вообще не обязан назначать данное исследование, оно не является обязательным ни в какой ситуации [34, 35]. Поэтому не следует настаивать на обязательном генетическом исследовании в случае, если у пациентки есть финансовые затруднения, либо организационные проблемы для сдачи биологического материала.

Проблемой является и та ситуация, что в приказе Минздрава России №572н не регламентировано, какие назначения стоит сделать при беременности пациентке с ранее выявленной генетической тромбофилией. Многие акушеры-гинекологи придерживаются мнения, что им вообще не стоит давать какие-то рекомендации по этому поводу, а нужно направить пациентку в специалисту другого профиля. Такие пациентки направляются к гематологу, гемостазиологу, специалисту лабораторной диагностики, генетику, сосудистому хирургу и другим специалистам.

Однако существуют федеральные клинические рекомендации «Профилактика ВТЭО в акушерстве и гинекологии» [41], которые написаны именно для акушеров-гинекологов, и которые необходимо соблюдать. При невыполнении данных рекомендаций, ответственность, в случае возникновения у беременной пациентки тромбоэмболических осложнений, лежит на враче акушере-гинекологе, который её наблюдает.

Врачу, который затрудняется с интерпретацией результата, стоит воздержаться от назначения анализа. Недопустимы ситуации, когда пациентке данное исследование назначалось, но после того, как она его проходила, результат никто квалифицированно не оценивал.

Естественно, в этом случае у пациентки возникают вопросы о полезности данного исследования.

Кроме того, необходимо проинформировать пациентку, что анализ не имеет срока давности и его результаты никак не изменятся в течение жизни. Перед направлением пациентки на исследование нужно выяснить, не проходила ли она его ранее. Нужно объяснить пациентке, что документ с результатами анализа необходимо сохранить, так как, содержащиеся в нем сведения, могут потребоваться в будущем, причем не только ей, но и ближайшим родственникам.

ОЦЕНКА УРОВНЯ РИСКА ТРОМБОФИЛИИ

При беременности у пациентки в первую очередь необходимо провести клиническую оценку факторов риска ВТЭО. Собирая анамнез, нужно помнить, что к ВТЭО относятся не только ТЭЛА и тромбоз глубоких вен, но и тромбоз поверхностных вен, то есть тромбофлебит и геморрой [41].

К факторам риска ВТЭО при беременности, помимо генетической тромбофилии, относятся:

- ВТЭО в анамнезе;
- Употребление наркотиков в настоящее время;
- Семейный анамнез ВТЭО;
- Возраст старше 35 лет;
- Избыточная масса тела;
- Никотинозависимость;
- Варикозное расширение крупных вен;
- Беременность после ВРТ;
- Многоплодная беременность.

Согласно методу балльной оценки риска ВТЭО, за каждый фактор риска дается 1 балл (за исключением ВТЭО в анамнезе, которое оценивается сразу на 3 балла если ВТЭО произошло под воздействием значимого фактора риска, например травмы или операции, или на 4 балла, если не выявлено факторов риска ВТЭО, либо они не значительные) [73].

Генетическое тестирование для назначения тромбопрофилактики и терапии не всегда обязательно (если, например, у пациентки имеется 3-4 фактора риска и риск ВТЭО оценивается как высокий или крайне высокий, даже при отсутствии результатов анализа на наличие полиморфизмов в гене F2 и F5, тромбопрофилактика должна проводиться в любом случае). Однако в дальнейшем молекулярно-генетическое может быть полезным для определения прогноза для пациентки и риска для ее потомства.

В настоящее время существует определенная проблема для оценки риска генетической тромбофилии по результатам молекулярно-генетического тестирования. Про полиморфизмы в генах тромбофилии в большинстве источников говорится, что существенного самостоятельного значения они не имеют, однако известно, что они могут играть определенную роль, сочетаясь между собой или со средовыми факторами.

Существуют различные методики для подсчета риска. Например, в НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта разработан для этого метод подсчета баллов. Каждому полиморфному аллелю присваивается 1 балл, при гомозиготном носительстве полиморфизма – 2 балла (за исключением полиморфизмов в генах FV и FII. В этих случаях гетерозиготам присваивается сразу 3 балла, гомозиготам – 4 балла).

Затем подсчитывают сумму баллов в каждой генной сети (гены факторов свертывания, гены системы фибринолиза, гены рецепторов тромбоцитов и гены фолатного цикла), и делят ее на количество проанализированных в этой сети генов (тестирование двух полиморфизмов одного гена учитывается как тестирование двух генов).

Если полученное значение внутри одной генной сети $< 0,9$ – риск низкий, $0,9-1,1$ – риск умеренный, более $1,1$ балла – риск повышен. Далее рекомендуется общую сумму баллов суммировать. В группу повышенного риска попадают индивидуумы с 4 баллами и выше, среднего риска – с 2-3 баллами, низкого риска – менее 2 баллов [2].

На кафедре акушерства и гинекологии ФПК и ПП УГМУ мы несколько модифицировали эту шкалу. Во-первых, мы считаем, что при наличии мутаций в гене протромбина или мутации Лейден вообще не целесообразно проводить балльную оценку, так как эти генетические особенности всегда свидетельствуют о генетической тромбофилии [37, 41, 49, 67].

Во-вторых, чаще всего в клинической практике обычно тестируется только один ген системы фибринолиза – PAI1. Поэтому мы не выделяем эту генную сеть отдельно, а при подсчете суммы баллов объединяем гены факторов свертывания и гены системы фибринолиза. Иначе наличие даже гетерозиготного полиморфизма в

гене PAI1 (а встречается этот полиморфизм более чем у половины населения), сразу значительно повышает подсчитываемый риск, что, на наш взгляд, не совсем неоправданно.

Кроме того, полиморфизмы в генах F7 и F13 при подсчете степени риска по этому методу также повышают сумму баллов, тогда как несколько исследований показали протективный эффект полиморфизмов в этих генах в отношении акушерских осложнений, ассоциированных с тромбофилией. Поэтому мы предлагаем «диким» гомозиготам по данному полиморфизму давать 0 баллов, а при наличии полиморфизма (в гетеро- или гомозиготном варианте) вычитать 1 балл из общей суммы баллов для данной генной сети.

Иногда помимо выше перечисленных генных сетей, проводится тестирование еще и на дополнительные генные сети (гены дисфункции эндотелия, гены – регуляторы АД, гены детоксикации и др.). В этом случае для этих сетей уровень риска нужно подсчитывать отдельно, а не суммировать с баллами, полученными при подсчете полиморфизмов в генах тромбофилии. В противном случае риск будет тем больше, чем больше генных сетей протестировано, и при определенном их количестве он окажется повышенным у всех, кому проводилось тестирование.

Для примера рассмотрим результат анализа пациентки Д., представленный в таблице 4.

Таблица 4

Результат анализа «Полиморфизмы в генах системы гемостаза»,
13 маркеров

Ген/полиморфизм	Результат у пациентки
FGB G455A	GA
F2 G20210A	GG
F5 G1619A	GG
F7 G10976A	GA
F13 G103C	GG
PAI1 5G 675 4G	5G4G
ITGA2 C807T	TT
ITGB3 T1565C	TT
MTR A2756G	AA
MTRR A66G	GG
MTHFR C677T	CT
MTHFR A1298C	AC

Итак, проанализировано 5 генов факторов свертывания (FGB, F2, F5, F7, F13), 1 ген системы фибринолиза (PAI1), 2 гена рецепторов тромбоцитов (ITGA2 и ITGB3) и 3 гена фолатного цикла (MTR, MTRR и MTHFR). При этом у гена MTHFR рассмотрено 2 разных полиморфизма.

В гене факторов свертывания обнаружено гетерозиготное носительство полиморфизма FGBG-455A (1 балл) и гетерозиготное носительство полиморфизма F7 G10976A (-1 балл). Итого 0 баллов.

В гене системы фибринолиза PAI1 также обнаружен полиморфизм в гетерозиготном варианте – 1 балл.

Далее общее количество баллов (1-1+1) мы делим на общее количество генов этих двух систем (6). Итого – 0,17 балла (если гены системы факторов свертывания и гены системы фибринолиза считать отдельно, то мы получим 0 баллов в генах факторов свертывания и 1 за полиморфизм в гене системы фибринолиза).

В генах рецепторов тромбоцитов обнаружен 1 гомозиготный полиморфизм - ITGA2 C807T (1 балла). Общее количество анализируемых генов – 2. Итого – $2/2=1$ балл.

В генах фолатного цикла обнаружено гомозиготное носительство полиморфизма MTRR A66G и гетерозиготные полиморфизмы MTHFR в 677 и в 1280 положении ($2+1+1=4$ балла). Общее число генов – 4 (2 полиморфизма гена MTHFR считаем как 2 гена). Итого, по этой системе получаем 1 балл.

Таким образом, по каждой системе отдельно риск подсчитывается как низкий. Если сложить баллы по всем системам, то в сумме получим $0,17+1+1=2,17$. То есть итоговый риск генетической тромбофилии подсчитывается как умеренный.

Мы рекомендуем первоначально оценивать клинический риск (для чего использовать балльную шкалу оценки риска). Если клинический риск оценивается как высокий, генетическое тестирование для определения тактики ведения пациента не требуется, она уже не будет от него зависеть. В этом случае стоит объяснить пациентке, что поиск полиморфизмов в генах тромбофилии будет целесообразен только если он имеет

тромботический анамнез, и хочет узнать риск подобных осложнений для своего потомства. Если же клинический риск низкий или умеренный, но у пациентки есть какие-то из указанных выше показаний для проведения молекулярно-генетического тестирования, тогда необходимо подсчитать риск и по результатам анализа на наличие полиморфизмов в генах тромбофилии. При наличии гетерозиготной мутации в генах F2 и F5 к клиническому риску нужно прибавить 1 балл, при наличии гомозиготной мутации в одном из этих генов, либо гетерозиготных мутаций сразу в двух генах – прибавить 3 балла. Если этих мутаций нет, но риск по результатам подсчета баллов оценивается как повышенный, нужно прибавить соответственно 1 балл.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Следует помнить, что само по себе отсутствие или наличие полиморфизмов в генах тромбофилии не является основанием для проведения лечебных мероприятий, поскольку данный анализ характеризует лишь предрасположенность пациента к патологии, которая может никогда не реализоваться.

Согласно современным рекомендациям, показаниями для назначения фармакологической тромбопрофилактики по результатам тестирования на гены тромбофилии являются лишь гомозиготная мутация в гене F2, либо гомозиготная мутация Лейден (в гене F5), либо гетерозиготные мутации одновременно в генах F2 и F5. Также необходимо проводить подсчет клинических факторов риска в баллах, и при сумме баллов 4 и более проводить тромбопрофилактику с 1 триместра и в течение всей беременности [41, 73].

При наличии гомозиготного полиморфизма в гене FGB следует проводить контроль уровня фибриногена 1 раз в триместр.

При наличии полиморфизмов в генах ITGA2, ITGB3, GPVI целесообразно проведение тестов на агрегацию тромбоцитов с АДФ и с адреналином. При наличии гомозиготного полиморфизма в гене PAI-1 необходимо контролировать состояние фибринолиза. Маркеры неполного фибринолиза – повышенный уровень Д-димера и РФМК. Однако при беременности эти показатели существенно повышаются и в норме, поэтому необходимо оценивать их регулярно в динамике и в совокупности в другими данными.

При наличии полиморфизмов в генах F7 и F13, особенно в гетерозиготном состоянии, при решении вопроса о назначении НМГ стоит помнить, что наличие этих полиморфизмов несколько повышает риск геморрагических осложнений, поэтому стоит тщательно оценить все показания для использования данных препаратов и задуматься о том, насколько они необходимы.

При выявлении гомозиготного полиморфизма MTHFR C677T, либо при наличии множественных полиморфизмов в генах фолатного

цикла, необходимо направить пациентку на анализ уровня гомоцистеина и уровня фолиевой кислоты в крови. Если показатели в пределах нормы, никакие специфические рекомендации не требуются – рекомендуется назначение фолиевой кислоты в физиологической дозе (400 мкг/сут.). Для профилактики развития гипергомоцистеинемии, учитывая возможное снижение активности ферментов фолатного цикла, фолиевую кислоту, возможно, частично заменить на метафолин, суммарная доза фолатов при этом также должна составлять 400 мкг/сут. Для повышения эффективности профилактики пороков развития плода и гипергомоцистеинемии показано назначение фолатов в сочетании с витаминами группы В (прежде всего необходим витамин В₁₂). Если уровень фолиевой кислоты снижен, а уровень гомоцистеина повышен, необходимо повышение дозы фолатов.

К сожалению, нет рекомендаций высокого уровня, касающихся проведения тромбопрофилактики при планировании беременности. Большинство экспертов считает назначение НМГ на этапе прегравидарной подготовки не обоснованным ввиду недоказанной эффективности. Однако в некоторых случаях при выявлении генетической тромбофилии высокого риска, особенно в сочетании с отягощенным тромбозом или акушерским анамнезом, а также при наличии множественных факторов риска, тромбопрофилактику все же стоит начинать заблаговременно, то есть еще на этапе прегравидарной подготовки. Назначение ее только после наступления беременности и постановки пациентки на учет может оказаться запоздалым (особенно при невынашивании беременности в ранние сроки в анамнезе, ассоциированном с тромбофилией).

Всем пациенткам, имеющим высокий или умеренный риск требуется проводить контроль коагулограммы 1 раз в триместр при беременности и оценивать ее показатели в динамике. По показаниям требуется расширенное исследование системы гемостаза – гемостазиограмма. Согласно приказу №572н гемостазиограмма требуется всем пациенткам с сахарным диабетом (в том числе и гестационным), гипертензивными расстройствами и с привычным

невывынашиванием беременности в анамнезе. Также требуется контроль гемостазиограммы пациенткам, перенесшим ВТЭО при беременности. К сожалению, приказ не учитывает возможное наличие генетической тромбофилии высокого риска, а также то, что возможно пациентка имела в анамнезе ВТЭО не связанное с беременностью. На наш взгляд данным пациенткам также целесообразно проводить исследование гемостазиограммы.

К сожалению, несмотря на то, что мы рекомендуем периодический контроль показателей гемостаза, мы вынуждены признать, что нет никаких четких рекомендаций, при каких конкретно изменениях стандартных показателей коагулограммы (АЧТВ, ПТИ, фибриноген, Д-димер, РФМК и др.) следует начинать медикаментозную коррекцию или увеличивать дозу препаратов. Проблемой остается интерпретация интегральной оценки системы гемостаза – таких тестов как тромбоэластограмма и тромбодинамика. Многие специалисты ориентируются на нормы, разработанные для не беременных пациенток, и изменения, которые естественное возникают в процесс гестации трактуют как патологические и стремятся привести их к изначальным показателям. Другие практикующие акушеры-гинекологи вообще не считают нужным вникать в результаты данного анализа, считая, что это задача узких специалистов. Такая позиция является в корне неверной: коагулограмма и гемостазиограмма (включая ТЭГ) упоминаются в приказе №572н МЗ РФ «Порядок оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением вспомогательных репродуктивных технологий)» [35], полагаем это означает, что акушер-гинеколог обязан грамотно оценивать результаты этого анализа. Контроль уровня анти-Ха и уровня тромбоцитов при проведении тромбопрофилактики согласно клиническим рекомендациям на фоне проведения тромбопрофилактики низкомолекулярными гепаринами не требуется [41, 73].

При высоком риске тромбозов при беременности следует назначить тромбопрофилактику (даже при нормальных результатах исследования коагулограммы). Периодичность контроля гемостаза определяется индивидуально. Необходимо учитывать, что с течением

беременности в норме нарастает физиологическая гиперкоагуляция, поэтому показатели гемостазиограммы, естественно, будут меняться, и не стоит стремиться добиться того, чтобы в течение всей беременности они оставались неизменными и соответствовали нормативным значениям для пациентов вне беременности.

Группы антитромботических средств представлены на рис. 4. Препаратами выбора для проведения фармакологической тромбопрофилактики при беременности являются низкомолекулярные гепарины [37, 41, 49, 67]. При высоком риске тромбозов они применяются в течение всей беременности в профилактических дозах, отменяются за 12-24 часа до родов, а в послеродовом периоде прием возобновляется (через 4-6 часов после самостоятельных родов, через 8-12 часов после кесарева сечения) и продолжается до 6 недель. При крайне высоком риске применяются не профилактические, а лечебные дозы препаратов.

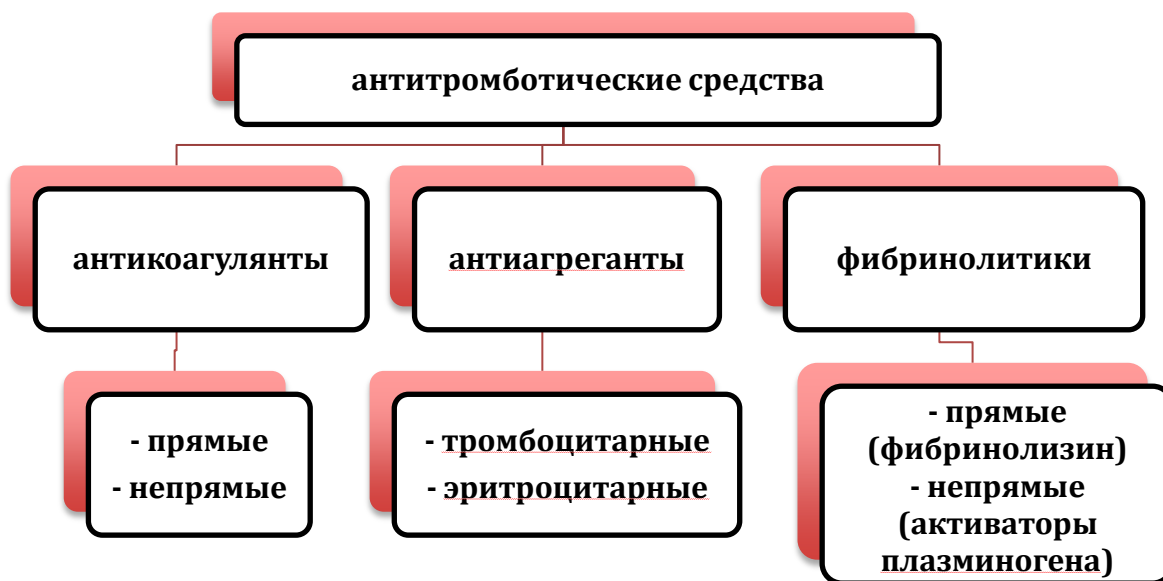


Рис. 4. Анти тромботические средства

Фармакологические характеристики низкомолекулярных гепаринов представлены в приложении 4. Преимуществами НМГ перед нефракционированным гепарином являются больший период полувыведения, благодаря чему нет необходимости многократного введения препарата в течение суток, более высокая активность анти Ха по сравнению с анти IIa (высокая антикоагулянтная активность и

низкий риск кровотечений), крайне низкий риск гепарин-индуцированной тромбоцитопении (ГИТ).

На сегодняшний день наиболее изученным среди низкомолекулярных гепаринов является эноксапарин. Он не проникает через плаценту, может быть рекомендован при беременности с профилактической и лечебной целью, разрешен к применению в период лактации. В инструкции к препарату сказано, что всасывание эноксапарина из ЖКТ новорожденного маловероятно, и препарат может применяться в период грудного вскармливания (изменения в инструкцию внесены в 2018 году, ранее в инструкции указывалось, что при необходимости применения препараты следует прекратить грудное вскармливание) [11].

Перспективным представляется использование НМГ 2 поколения бемипарина. По своим фармакологическим характеристикам (период полувыведения, молекулярная масса, отношение анти-Ха/анти II активности) он имеет преимущества перед НМГ I поколения (эноксапарин, дальтепарин), однако исследований по применению бемипарина в период беременности существенно меньше, чем, например, по использованию эноксапарина.

В ряде научных работ продемонстрировано, что помимо антикоагулянтного воздействия, низкомолекулярные гепарины имеют ряд других эффектов, которые могут положительно сказаться на течении беременности, в том числе противовоспалительное и иммуномодулирующее действие за счет влияния на миграцию и адгезию лейкоцитов и снижение количества провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-10), ингибирования активации комплемента при формировании воспалительного ответа. Иммунологическая толерантность к полу-аллогенным плоду и плаценте крайне важна для успешного течения и исхода беременности. Благодаря этому может быть положительный эффект от назначения НМГ при повторных неудачных попытках ЭКО [71]. В ряде ретроспективных исследований случай-контроль показано, что назначение НМГ в ранние сроки гестации снижает частоту ассоциированных осложнений и улучшает перинатальные исходы [71, 79]. Причем

некоторые авторы отмечают снижение риска как у пациентов с наследственной тромбофилией, так и без нее [72], а другие рекомендуют назначение НМГ только у пациентов с доказанной тромбофилией и отягощенным акушерским анамнезом [79]. Но в других крупных работах показано, что нет достоверных различий по частоте живорождений между пациентками, которые получали или не получали НМГ в период беременности [71]. Возможно, это объясняется тем, что исследования гетерогенны по дизайну и исследуемой популяции.

Большинство экспертов сходятся во мнении, что низкомолекулярные гепарины могут играть роль в благоприятном исходе беременности, но требуются дальнейшие исследования этого вопроса, чтобы получить более убедительные данные. Поэтому на сегодняшний день клинические рекомендации и аннотации к лекарственным препаратам все же подразумевают назначение НМГ при беременности лишь как профилактику тромбоэмболических осложнений, а применение их в качестве профилактики невынашивания беременности или фето-плацентарной недостаточности считается использованием лекарственных препаратов off-label [37, 41, 45, 47, 11]. Поэтому при назначении низкомолекулярных гепаринов при беременности стоит либо указывать в истории болезни в качестве показания к назначению тромбопрофилактику (при этом должен быть документированный расчет риска в баллах), либо обосновывать назначение этих лекарственных препаратов с помощью лечебно-контрольной комиссии. Также хотим отметить, что препараты группы гепарина – нефракционированный гепарин и эноксапарин фигурируют в приказе МЗ РФ №588 «Об утверждении стандарта оказания специализированной медицинской помощи при гипоксии плода, недостаточном росте плода и других плацентарных нарушениях» (с усредненным показателем частоты предоставления 0,7), а также в приказе МЗ РФ №596 «Об утверждении стандарта оказания специализированной медицинской помощи при отеках, протеинурии

и гипертензивных расстройствах во время беременности, родов и в послеродовом периоде» [31, 32].

Даже если имеются неоспоримые показания для назначения НМГ, их введение следует прекратить при появлении любого наружного кровотечения, в том числе из половых путей или из геморроидальных узлов. Также тромбопрофилактику НМГ прекращают при появлении признаков преждевременных родов или при начале родовой деятельности [41, 53].

Важно понимать разницу между тромбопрофилактикой и коррекцией гемостаза. Если проведение тромбопрофилактики при беременности находится в компетенции акушера-гинеколога, то проведением коррекции гемостаза должен заниматься гематолог. Для акушера-гинеколога при этом важно уметь интерпретировать результаты коагулограммы и понимать, какие изменения в коагулограмме являются нормальными, а какие – патологическими. Не профилактические, а лечебные дозы антикоагулянтов требуются при таких патологиях как ВТЭО при настоящей беременности, дефицит протеина С или антитромбина, синдром гиперстимуляции яичников средней или тяжелой степени.

Применение непрямых антикоагулянтов при беременности противопоказано – доказан тератогенный эффект и риск кровотечений у плода при приеме неодикумарина (категория X по FDA). В период беременности применения неодикумарина возможно только у пациенток с механическими клапанами сердца, при этом желательно хотя бы в первом триместре по возможности заменить неодикумарин на низкомолекулярные гепарины в терапевтических дозах. В инструкции к препарату указано, что противопоказанием для приема являются первый триместр беременности и последние 4 недели беременности, а в другие сроки беременности препарат назначают только при крайней необходимости. При назначении неодикумарина (варфарина) необходимо информировать пациентку и возможном неблагоприятном воздействии препарата на плод и побочных эффектах. При этом в период лактации прием препарата допускается – в инструкции указано, что неодикумарин, попадая в

грудное молоко, не влияет на свертываемость крови младенца [9, 41]

При беременности возможно применение аспирина в дозах 75-162 мг/сут (категория С по FDA). Клинических испытаний высокого уровня доказательности по применению аспирина для профилактики тромбоэмболических осложнений вовремя беременности не существует. Выводы по его эффективности являются экстраполированными данными из исследований по применению аспирина у небеременных пациенток. Эффективность тромбопрофилактики аспирином, вероятно, ниже, чем при применении НМГ. При этом доказано, что применение аспирина снижает риск преэклампсии и улучшает исходы для плода у пациенток с АФС. Поэтому в некоторых случаях применение аспирина оправдано как в виде монотерапии, так и в сочетании с низкомолекулярными гепаринами [41]. Аспирин также может применяться при синдроме «липких» тромбоцитов для профилактики артериальных тромбоэмболических осложнений [78].

Некоторые авторы рекомендуют применение гепариноидов (сулодексида) для профилактики тромбоэмболических и акушерских осложнений у пациенток с тромбофилиями. Преимуществом сулодексида является то, что он оказывает воздействия на все звенья системы гемостаза, а не только на внутренний путь свертывания. Но при этом антикоагулянтный эффект у него ниже, чем у препаратов НМГ, антиагрегантный – ниже чем у ацетилсалициловой кислоты. Показано, что терапия гепариноидами при тромбофилии снижает риск гестационных осложнений [4]. Но, согласно международным клиническим рекомендациям, он не рекомендован для рутинной профилактики тромбозов ввиду недоказанной эффективности. Категорически не рекомендован прием сулодексида в сочетании с другими препаратами, оказывающими влияние на гемостаз (антиагрегантами и антикоагулянтами). В 1 триместре беременности прием препарата противопоказан, во 2 и 3 триместре возможен прием под строгим наблюдением врача [10].

Подчас акушеры-гинекологи, занимаясь профилактикой осложнений беременности, забывают, что антикоагулянты и другие

препараты, влияющие на гемостаз, это в первую очередь все-таки тромбопрофилактика, а не профилактика осложнений беременности, поэтому отменяют медикаменты сразу по завершению беременности. Это грубая ошибка, поскольку в первые 6 недель после родов риск ВТЭО в 20-80 раз выше, чем при беременности, а в первые 7 дней – в 100 раз [8, 38, 41, 53]. В раннем послеродовом периоде необходимо проводить повторный документированный расчет риска тромбоза и проводить тромбопрофилактику согласно существующим клиническим рекомендациям «Профилактика ВТЭО в акушерстве и гинекологии» [41]. Особенно актуально профилактика ВТЭО в послеродовом периоде при оперативном родоразрешении и при осложненном течении родов [30]. Ряд практикующих врачей считает кровотечение в послеродовом и послеродовом периоде противопоказанием для назначения антикоагулянтов, и они правы – при продолжающемся кровотечении данные препараты использовать нельзя. Однако после прекращения кровотечения, в организме возникает гиперкоагуляция, следовательно, риск тромбозов резко повышается, поэтому если у пациентки произошло кровотечение, то в послеродовом периоде должен решаться вопрос о назначении низкомолекулярных гепаринов [33, 41].

Таким образом, генетическая предрасположенность к тромбозам, вследствие универсальности гемостазиологических механизмов, является одной из важнейших причин формирования не только фатальной патологии (инфаркты миокарда, инсульты, тромбоэмболия легочной артерии), но и одним из ключевых звеньев патогенеза наиболее тяжелых осложнений беременности, приобретая особое звучание в перинатологии и репродуктивной медицине. Поэтому острая востребованность знаний данного раздела общей биологии и физиологии человека применительно к специфическим проблемам деторождения становится особенно очевидной. Надеемся, что представленные материалы будут полезны практикующим врачам, ежедневно сталкивающимся с непростыми вызовами современной медицины.

**Оценка риска ВТЭО в акушерстве
(RCOG Green-top Guideline No. 37)**

Предшествующие факторы риска	Баллы	Отметьте галочкой
Перенесенное ранее ВТЭО не связанное с хирургическим вмешательством	4	
Перенесенное ранее ВТЭО, спровоцированное крупным хирургическим вмешательством	3	
Сопутствующие заболевания (онкология, сердечная недостаточность, СКВ, воспалительные заболевания кишечника, нефротический синдром, СД 1 типа, СКА)	3	
Употребление наркотиков в настоящее время	3	
Семейный анамнез ВТЭО у ближайших родственников	1	
Генетическая тромбофилия низкого риска	1	
Возраст старше 35 лет	1	
ИМТ >30 (>40)	1 (2)	
Количество родов в анамнезе >3	1	
Курение	1	
Варикозное расширение крупных вен	1	
Акушерские факторы риска		
Преэклампсия во время текущей беременности (тяжелая преэклампсия)	1 (2)	
ВРТ	1	
Многоплодная беременность	1	
Плановое кесарево сечение	1	
Экстренное кесарево сечение	2	
Наложение акушерских щипцов	1	
Роды более 24 ч	1	
Послеродовое кровотечение >1л (или гемотрансфузия)	1	
Преждевременные роды (до 37 недель)	1	
Мертворождение (антенатальная гибель плода)	1 (2)	
Тромбофилия высокого риска (мутация F5 или F2, АФС, дефицит АТIII, протеина С, протеина S)	3	
Транзиторные факторы риска		
Хирургическое вмешательство во время беременности или в послеродовом периоде (включая ДХС)	3	
Неостановимая рвота	3	
СГЯ	4	
Текущая системная инфекция	1	
Иммобилизация	1	
Дегидратация	1	
Всего		

- При оценке ≥ 4 в дородовом периоде – тромбопрофилактика с 1 триместра, в послеродовом периоде – до 6 недель
- При оценке ≥ 3 в дородовом периоде – тромбопрофилактика с 28 недель, в послеродовом периоде – до 6 недель
- При оценке ≥ 3 и наличии транзиторных факторов риска – тромбопрофилактика не менее 10 дней
- При оценке ≥ 2 – тромбопрофилактика в послеродовом периоде – 7 дней

Оценка риска ВТЭО в гинекологии (хирургии)
Модель оценки риска Caprini (АССР, 2012)*

1 балл	2 балла	3 балла	5 баллов
Возраст 41-60 лет	Возраст 61-74 года	Возраст >75 лет	
Малая хирургия	Артроскопическая хирургия	ВТЭО или семейный анамнез ВТЭО	Элективная артропластика
Лапароскопия <45 мин	Ларапоскопия >45 мин	Мутация F5 (Лейден)	Перелом бедра или таза
Беременность или 6 недель после родов	Крупная открытая хирургия	Мутация F2 (протромбина)	Травма спинного мозга (<1 мес)
Отеки ног	Злокачественные опухоли	Циркуляция ВА	Инсульт (<1 мес)
Варикозные вены	Катетеризация центральной вены	Циркуляция АФА	
ИМТ 25-40	ИМТ >40	Гипергомоцистеинемия	
Постельный режим 24-72ч	Постельный режим >72ч	Гепарин-индуцированная тромбоцитопения	
Гормональная контрацепция или КОК	Иммобилизация гипсовой повязкой		
Сепсис (<1 мес)			
Заболевания легких			
Инфаркт в анамнезе			
Сердечная недостаточность			
Воспалительные заболевания кишечника в анамнезе			
Привычное невынашивание беременности в анамнезе			
Итого			

- 0-2 балл – низкий риск, эластическая компрессия
- 3-4 балла – умеренные риск. НМГ в профилактических дозах (менее 3400 ЕД)
- более 4 баллов – высокий риск. НМГ в дозах выше 3400 ЕД

*Сухих Г.Т., Филиппов О.С., Белокриницкая Т.Е. и др. Профилактика ВТЭО в акушерстве и гинекологии. Клинические рекомендации. Москва, 2014.

**Опросник для выявления риска тромбозов
перед назначением МГТ***

1. Были ли у Вас или у ближайших родственников инсульты / инфаркты миокарда в молодом возрасте?
2. Проходили ли Вы или кто-нибудь из ближайших родственников тестирование на наследственную (генетическую) предрасположенность к тромбообразованию?
3. Было ли у Вас в анамнезе привычное невынашивание беременности и / или преждевременные роды, мертворождения
4. Страдаете ли Вы варикозным расширением вен?
5. Были ли у вас тромбозы / тромбоэмболии (тромбоз глубоких вен голени, ТЭЛА) ранее?
6. Повышалось ли у Вас АД во время беременности?
7. Отмечались ли периоды неподвижности (болезнь, травма) более суток в последние 2 недели?
8. Предстоит ли Вам в ближайшее время плановая хирургическая операция?
9. Больны ли Вы раком или страдали раком ранее?

Сметник В.П., Сухих Г.Т., Андреева Е.Н. и др. Менопаузальная гормонотерапия и сохранения здоровья женщин зрелого возраста. Клинические рекомендации. Москва, 2014.

Фармакологические характеристики НМГ

Действующее вещество	Торговое название	Молекулярная масса, Да	Период полувыведения (Т ½)	Анти Ха/анти Па
Эноксапарин натрия	Клексан Гемапаксан Эниксум Анфибра Новопарин	4000-4500	4 ч	3,9
Надропарин кальция	Фраксипарин	4000-5000	3,7 ч	3,5
Бемипарин натрия	Цибор	3600	5-6 ч	8
Далтепарин натрия	Фрагмин Тедельпарин	6000	3-5 ч	2,2
Парнапарин натрия	Флюксум	4000-6000	6 ч	1,5-3
Тинзапарин натрия	Инногеп	4500	80 мин	1,9

Диагностика гепарин-индуцированной тромбоцитопении*

Шкала 4Т	Баллы
Тромбоцитопения	
Снижение > 50% или потеря числа тромбоцитов $20 \times 100 \times 10^9/\text{л}$	2
Снижение 30-50% или потеря числа тромбоцитов $10-19 \times 100 \times 10^9/\text{л}$	1
Снижение <30% или потеря числа тромбоцитов $<10 \times 100 \times 10^9/\text{л}$	0
Время от начала снижения числа тромбоцитов	
5-10 дней (или 1 день при применении гепарина в течение предыдущего месяца)	2
Начало тромбоцитопении после 10 дня	1
Снижение <4 дней без дальнейшего прогрессирования	0
Тромбоз и другие осложнения	
Вновь возникший (подтвержденный) тромбоз, некроз кожи, острая системная реакция после болюсного введения гепарина	2
Прогрессирование или рецидив тромбоза, повреждение кожи без некроза, подозрение на тромбоз	1
Нет	0
Тромбоцитопения вследствие других причин	
Нет	2
Возможно	1
Да	0

Клиническая вероятность ГИТ:

6-8 баллов – высокая

4-5 баллов – средняя

0-3 балла – низкая

*Crowther M. A. et al. The 4Ts scoring system for heparin-induced thrombocytopenia in medical-surgical intensive care unit patients. Journal of critical care. 2010; 25(2): 287-293

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Задача 1.

Пациентка 27 лет страдает привычным невынашиванием беременности – в анамнезе 3 неразвивающиеся беременности в сроке 7-9 недель. Соматически пациентка неотягощена, вредных привычек не имеет, наследственность неотягощена. Менструации с 13 лет, через 25-27 дней по 5-6 дней, умеренные, безболезненные.

Результаты обследования:

Кариотип пациентки: 46,XX (нормальный женский кариотип)

Кариотип супруга пациентки: 45,XY,rob15:21 (мужской кариотип, сбалансированная робертсоновская транслокация между 15 и 21 хромосомами).

Обследование на ИППП методом ПЦР: хламидии – отр., уреаплазма *urealiticum* – пол., микоплазма – отр., ВПГ – отр., ЦМВ – отр.

TORCH-комплекс: краснуха: IgM – отр., IgG – пол.; токсоплазма: IgM – отр., IgG – пол.; ВПГ: IgM – отр., IgG – пол.; ЦМВ: IgM – отр., IgG – пол.

Гормоны крови (5 день менструального цикла): ЛГ 5,6 мМЕ/мл, ФСГ 4,7 мМЕ/мл, эстрадиол 43 пг/л, пролактин 620 мМЕ/л, ТТГ 2,8 мМЕ/л, тестостерон 2,0 мкг/л, ДГЭАс 3,4 мкг/л.

Уровень прогестерона (на 22 день менструального цикла) – 12,2 нг/мл.

Генетические маркеры тромбофилии и фолатного цикла представлены в таблицах:

Ген/полиморфизм	FGB	F2	F5	PAI1	ITGA2	ITGB3	F7	F13
	-455 G>A	20210 G>A	1619 G>A	675 5G>4G	807 C>T	1565 T>C	10976 G>A	G>T
Результат пациентки	AA	GG	GG	5G4G	CT	CC	GA	GA

Ген/полиморфизм	MTHFR 677	MTHFR 1298	MTRR 2756	MTR 66
	C>T	A>C	A>G	A>G
Результат пациентки	CT	AA	GG	AA

Что на ваш взгляд является ведущей причиной невынашивания беременности в данном случае? Каковы будут ваши рекомендации и тактика ведения пациентки?

Задача 2.

Пациентка 30 лет страдает привычным невынашиванием беременности – в анамнезе 2 неразвивающаяся беременности в сроках 7-8 недель и 10-11 недель беременности. Соматически пациентка не отягощена, вредных привычек не имеет. У матери пациентки в 45 лет был тромбоз глубоких вен голени (инициирующий фактор не установлен). Менструации с 12 лет, через 28 дней по 5 дней, умеренные, болезненные в первые 2 дня.

Результаты обследования:

Кариотип пациентки: 46,XX,inv 9 (нормальный женский кариотип, инверсия 9 хромосомы).

Кариотип супруга пациентки: 46,XY (нормальный мужской кариотип)

Обследование на ИППП методом ПЦР: хламидии – отр., уреоплазма urealiticum – пол., микоплазма hominis – пол., ВПГ – отр., ЦМВ – отр.

TORCH-комплекс: краснуха: IgM – отр., IgG – отр.; токсоплазма: IgM – отр., IgG – отр.; ВПГ: IgM – отр., IgG – пол.; ЦМВ: IgM – отр., IgG – пол.

Гормоны крови (5 день менструального цикла): ЛГ 4,6 мМЕ/мл, ФСГ 6,7 мМЕ/мл, эстрадиол 38 пг/л, пролактин 420 мМЕ/л, ТТГ 3,8 мМЕ/л, тестостерон 2,0 мкг/л, ДГЭАс 3,4 мкг/л.

Уровень прогестерона (на 22 день менструального цикла) – 52,2 нг/мл.

Генетические маркеры тромбофилии и фолатного цикла представлены в таблицах:

Ген/полиморфизм	FGB - 455 G>A	F2 20210 G>A	F5 1619 G>A	PAI1 675 5G>4G	ITGA2 807 C>T	ITGB3 1565 T>C	F7 10976 G>A	F13 G>T
Результат пациентки	GA	GG	AA	4G4G	CC	TT	GA	GG

Ген/полиморфизм	MTHFR 677 C>T	MTHFR 1298 A>C	MTRR 2756 A>G	MTR 66 A>G
Результат пациентки	TT	AC	AA	AG

Что на ваш взгляд является ведущей причиной невынашивания беременности в данном случае? Каковы будут ваши рекомендации и тактика ведения пациентки?

Задача 3.

У пациентки беременность 22 недели. Возраст пациентки – 21 год. В анамнезе – неразвивающаяся беременность в 5-6 недель. Пациентка не курит. Беременность желанная, запланированная, наступила спонтанно. В 7 недель гестации в связи с угрозой самопроизвольного выкидыша (мажущие выделения в течение 2х дней) назначен дюфастон по 1й таблетке 2 раза в день (принимала препарат до 20 недель)

Генетические маркеры тромбофилии и фолатного цикла представлены в таблицах:

Ген/полиморфизм	FGB - 455 G>A	F2 20210 G>A	F5 1619 G>A	PAI1 675 5G>4G	ITGA2 807 C>T	ITGB3 1565 T>C	F7 10976 G>A	F13 G>T
Результат пациентки	GA	GA	GG	5G4G	CT	CT	GA	TT

Ген/полиморфизм	MTHFR 677 C>T	MTHFR 1298 A>C	MTRR 2756 A>G	MTR 66 A>G
Результат пациентки	CT	AC	AG	AG

Результаты коагулограммы: протромбин по Квику 132%, тромбоциты $390 \cdot 10^9/\text{л}$, фибриноген 5,6г/л, АЧТВ 30', Протромбиновое время 16'', Тромбиновое время 15''

Требуется ли данной пациентке назначение тромбопрофилактики или проведение коррекции гемостаза?

Задача 4.

У пациентки 32 лет - беременность 12 недель. В анамнезе – самопроизвольный выкидыш в 16 недель. Беременность желанная, запланированная, наступила спонтанно. В анамнезе – курение (бросила курить, когда узнала о наступлении беременности). Наследственность отягощена: инсульт у матери в 50 лет. В настоящее время принимает утрожестан 100мгх2р/сут, фолацин 1 таб/сут

Генетические маркеры тромбофилии и фолатного цикла представлены в таблицах:

Ген/полиморфизм	FGF - 455 G>A	F2 20210 G>A	F5 1619 G>A	PAI1 675 5G>4G	ITGA2 807 C>T	ITGB3 1565 T>C	F7 10976 G>A	F13 G>T
Результат пациентки	GG	GG	GA	5G5G	CT	TC	GG	GG

Ген/полиморфизм	MTHFR 677 C>T	MTHFR 1298 A>C	MTRR 2756 A>G	MTR 66 A>G
Результат пациентки	CT	AA	AA	AA

Результаты коагулограммы: протромбин по Квику 102%, тромбоциты $290 \cdot 10^9/\text{л}$, фибриноген 3,2г/л, АЧТВ 34', Протромбиновое время 15'', Тромбиновое время 15''

Требуется ли данной пациентке назначение тромбопрофилактики или проведение коррекции гемостаза?

ТЕСТОВЫЕ ВОПРОСЫ

1. Анализируя наличие полиморфизмов в генах

предрасположенности к заболеванию и давая рекомендации следует учитывать:

- а) количество и характер неблагоприятных полиморфных аллелей
- б) образ жизни пациента
- в) семейный анамнез
- г) личный анамнез
- д) достаточно только результата молекулярно-генетического тестирования

2. Тромбофилия является заболеванием

- а) исключительно генетическим
- б) обусловленным воздействием окружающей среды
- в) мультифакториальным

3. Особенности профилактики ВТЭО при беременности:

- а) профилактические дозы прямых антикоагулянтов могут быть увеличены по сравнению с таковыми вне беременности
- б) противопоказано использование непрямых антикоагулянтов
- в) профилактические дозы непрямых антикоагулянтов могут быть увеличены по сравнению с таковыми вне беременности
- г) противопоказано использование прямых антикоагулянтов

4. Особенности тромбопрофилактики в послеродовом периоде

- а) в послеродовом периоде тромбопрофилактика не требуется, так как риск ВТЭО резко снижается сразу после родов
- б) риск тромбоза глубоких вен резко повышен в первые 4-6 недель после родов
- в) противопоказано назначение непрямых антикоагулянтов (варфарин)
- г) противопоказано назначение низкомолекулярных гепаринов

5. Укажите верные утверждения

а) в послеродовом периоде антикоагулянты не назначаются из-за опасности послеродового кровотечения

б) в послеродовом периоде при назначении антикоагулянтов необходимо прекратить лактацию

в) в послеродовом периоде с целью тромбопрофилактики могут быть использованы как прямые, так и непрямые антикоагулянты

6. Метод выбора для профилактики ВТЭО при беременности:

а) непрямые антикоагулянты

б) низкие дозы аспирина

в) гепариноиды

г) низкомолекулярные гепарины

7. Носительство каких полиморфизмов позволяет поставить диагноз «Генетическая тромбофилия»:

а) F5 G1691A

б) F2 G20210A

в) FGB G-455A

г) PAI 5G 675 4G

д) ITGA2 C807T

е) все ответы правильные

8. Какие гены относятся к «Генам тромбофилии»?:

а) F5 G1691A

б) F2 G20210A

в) FGB G-455A

г) PAI 5G 675 4G

д) ITGA2 C807T

е) все ответы правильные

9. Причины приобретенных тромбофилий:

- а) мутация Лейдена
- б) антифосфолипидный синдром
- в) длительная иммобилизация
- г) злокачественные новообразования

10. Укажите причины ятрогенных тромбофилий:

- а) гепарин-индуцированная тромбофилия
- б) комбинированные оральные контрацептивы
- в) назначение гепариноидов при беременности
- г) химио- и лучевая терапия

11. Составляющие «внешнего» пути свертывания:

- а) плазменные факторы свертывания
- б) эндотелий сосудов
- в) тромбоциты

12. Составляющие «внутреннего» пути свертывания:

- а) плазменные факторы свертывания
- б) эндотелий сосудов
- в) тромбоциты

13. Укажите гены плазменного звена гемостаза:

- а) PAI1, PLAT
- б) F5, F2, F7, F13, FGB
- в) ITGA2, ITGB3
- г) MTHFR, MTR, MTRR
- д) все ответы правильные

14. Укажите гены системы фибринолиза:

- а) PAI 1, PLAT
- б) F5, F2, F7, F13, FGB
- в) ITGA2, ITGB3
- г) MTHFR, MTR, MTRR
- д) все ответы правильные

15. Укажите гены сосудисто-тромбоцитарного гемостаза:

- а) PAI 1,PLAT
- б) F5, F2, F7, F13, FGB
- в) ITGA2, ITGB3, GPVI
- г) MTHFR, MTR, MTRR
- д) все ответы правильные

16. Укажите гены фолатного цикла:

- а) PAI 1,PLAT
- б) F5, F2, F7, F13, FGB
- в) ITGA2, ITGB3, GPVI
- г) MTHFR, MTR, MTRR
- д) все ответы правильные

17. Укажите физиологические изменения показателей коагулограммы при беременности:

- а) увеличение АЧТВ
- б) уменьшение АЧТВ
- в) увеличение уровня фибриногена
- г) укорочение тромбинового времени

18. Какие изменения в тромбоэластограмме свидетельствуют о гиперкоагуляции:

- а) удлинение времени реакции (R), удлинение времени образования сгустка (K), увеличение максимальной амплитуды (MA)
- б) удлинение R, укорочение K, уменьшение MA
- в) укорочение R, укорочение K, увеличение MA
- г) укорочение R, укорочение K, уменьшение MA

19. Укажите верные утверждения:

- а) мутация F2 G20210A проявляется только при гомозиготном носительстве
- б) мутация F2 G20210A является доминантной и оказывает влияние даже гетерозиготном носительстве

- в) мутация F2 G20210A приводит к повышению уровня протромбина
- г) мутация в гене F2 приводит к снижению уровня протромбина

20. Укажите верные утверждения:

- а) мутация Лейден проявляется только при гомозиготном носительстве
- б) мутация Лейден является доминантной и оказывает влияние даже гетерозиготном носительстве
- в) гомозиготная мутация Лейден является сублетальной
- г) при отсутствии факторов риска гомозиготная мутация Лейден может не проявляться

21. Укажите верные утверждения:

- а) Риск тромбоэмболических осложнений у гомо- и гетерозиготных носителей мутации Лейден одинаков
- б) Семейный анамнез при наличии мутации Лейден не играет роли, уровень риска зависит только от того, является пациент гомо- или гетерозиготным носителем мутации
- в) наличие гетерозиготной мутации Лейден у пациентки – абсолютное противопоказание для назначения КОК
- г) все ответы правильные
- д) все ответы не правильные

22. Укажите верные утверждения:

- а) сочетание мутаций в генах F2 и F5 имеет синергичный эффект
- б) при сочетании мутаций в генах F2 и F5 существует высокий риск венозной тромбоэмболии даже без личного и семейного анамнеза
- в) сочетание мутаций в генах F2 и F5 является показанием для проведения тромофилактики при беременности
- г) все ответы правильные
- д) все ответы не правильные

23. Полиморфизм PAI1 5G/4G

- а) является значимым фактором тромбофилии
- б) встречается у 50-60% населения
- в) при гомозиготном носительстве приводит к повышению содержания ингибитора активатора плазминогена
- г) при гомозиготном носительстве приводит к снижению содержания ингибитора активатора плазминогена

24. Полиморфизм MTHFR C677T. Укажите верные утверждения

- а) гомозиготное носительство данного полиморфизма является самой частой причиной умеренной гипергомоцистеинемии
- б) наличие полиморфизма повышает риск тромбофилии независимо от уровня гомоцистеина
- в) при привычном невынашивании беременности гомозиготное носительство полиморфизма встречается чаще, чем у здоровых пациенток
- г) наличие полиморфизма является показанием для приема высоких доз фолиевой кислоты (до 5 мг)

25. Показания для проведения исследования на наличие полиморфизмов в генах тромбофилии:

- а) наличие осложнений беременности в анамнезе
- б) наличие родственника первой линии, имеющего тромботический анамнез
- в) привычное невынашивание беременности
- г) все ответы правильные
- д) все ответы неправильные

26. Показания для проведения исследования на наличие полиморфизмов в генах тромбофилии:

- а) подготовка к ЭКО
- б) решение вопроса о назначении ЗГТ
- в) острый тромбоз при текущей беременности
- г) все ответы правильные
- д) все ответы неправильные

27. Тест АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время) преимущественно характеризует состояние:

- а) Антикоагулянтной системы крови
- б) Фибринолитической системы крови
- в) «Внешнего» пути свертывания крови
- г) «Внутреннего» пути свертывания крови

28. Основным отличием фармакокинетики низкомолекулярных гепаринов (НМГ) от нефракционированного гепарина при подкожном введении является:

- а) В 2-3 раза меньший период полувыведения
- б) В 3-6 раз более высокая биодоступность, в 2-3 раза больший период полувыведения
- в) Эти средства имеют сходные показатели фармакокинетики

29. Какие существуют методы тромбопрофилактики?

- а) фармакологическая
- б) механическая
- в) хирургическая
- г) психологическая

30. Показания для проведения фармакологической тромбопрофилактики при беременности:

- а) рекомендована всем пациенткам, имеющим какие-либо полиморфизмы в генах тромбофилии
- б) гомозиготная мутация Лейден или гена протромбина
- в) гетерозиготная мутация F5 или F2
- г) сочетание мутаций F5 и F2
- д) гомозиготный полиморфизм MTHFR C677T

ОТВЕТЫ НА ТЕСТ

1	а,б,в,г	16	г
2	в	17	а,в
3	а,б	18	в
4	б	19	б, в
5	в	20	б, г
6	г	21	д
7	а,б	22	г
8	е	23	б,в
9	б,в,г	24	а,в
10	а,б,г	25	г
11	б,в	26	д
12	а	27	г
13	б	28	б
14	а	29	а,б,в
15	в	30	б,г

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян Л.В., Артымук Н.В., Белокриницкая Т.Е. и др. Выкидыш в ранние сроки беременности: диагностика и тактика ведения. Клинические рекомендации (протокол лечения). Москва, 2016.
2. Баранов В.С., Айламазян Э.К., ред. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья. СПб.: «Изд-во Н-Л», ООО; 2009.
3. Баранов В.С., ред. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб: ООО «Издательство Н-Л»; 2009.
4. Башмакова Н.В., Путилова Н.В. Рациональная противотромботическая терапия у пациенток с различными формами тромбофилий в прегравидарный период и во время беременности. Российский вестник акушера-гинеколога. 2011; 11 (5): 49-53.
5. Белоусов Ю.Б., ред. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации. Изд. 2-е. М.: 2006.
6. Вавилова Т.В., Сироткина О.В. Генетический анализ на тромбофилию в клинической практике. Лаборатория. 2012; 4: 8-10.
7. Вахарловский В.Г., Романенко О.П., Горбунова В.Н. Генетика в практике врача-педиатра. СПб.: «Феникс»; 2009.
8. Верткий А.Л., Ткачева О.Н., Гальперин В.А. Профилактика тромбозов и особенности антикоагулянтной терапии у беременных. Гинекология. 2003; 6: 263-270.
9. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Варфарин.
10. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Вессел ДУЭ Ф.
11. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Клексан.

12. Ковалев В.В., Кудрявцева Е.В. Генетически детерминированные тромбофилии в акушерстве и гинекологии. Методические рекомендации для врачей. Екатеринбург: УГМА, 2015.
13. Ковалев В.В., Кудрявцева Е.В. Механизмы влияния полиморфизмов генов фолатного цикла на формирование акушерской патологии. Уральский медицинский журнал. 2011; 12: 20-24.
14. Ковалев В.В., Кудрявцева Е.В., Миляева Н.М., Беломестнов С.Р. Большие акушерские синдромы: «гордиев узел» генных сетей. Уральский медицинский журнал. 2018, №13
15. Ковалев В.В., Третьякова Т.Б., Сударикова Е.Г., Кудрявцева Е.В. Частота мутаций генов плазменного звена гемостаза у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе. Уральский медицинский журнал. 2010; 5: 5-7.
16. Ковтун О.П., ред. Генетически детерминированные тромбофилии: теория и практика. Екатеринбург: Изд-во УГМУ Минздрава России; 2013.
17. Кудрявцева Е.В. Философские, медицинские и юридические аспекты репродуктивной генетики. Уральский медицинский журнал. 2018, №13
18. Кудрявцева Е.В., Ковалев В.В. Генетические тромбофилии: типичные ошибки и заблуждения в клинической практике. Уральский медицинский журнал. 2016; 2 (135): 11-13.
19. Макацария А.Д. Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. М: Russo; 2001.
20. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилия и противотромботическая терапия в акушерской практике. М., 2003.
21. Макацария А.Д., Пшеничникова Е.Б., Пшеничникова Т.Б., Бицадзе В.О. Метаболический синдром и тромбофилия в акушерстве и гинекологии. М: ООО «МИА»; 2006.
22. Макацария А.Д., ред. Профилактика повторных осложнений беременности в условиях тромбофилии (синдром потери плода, гестозы, преждевременная отслойка нормально расположенной

- плаценты, тромбозы и тромбоэмболия). Руководство для врачей. М.: «Триада-Х»; 2008.
23. Малая медицинская энциклопедия. М.: Медицинская энциклопедия; 1991—96 гг.
 24. Масленников А.В., ред. Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Вып. 3. Новосибирск: Альфа-Виста; 2003.
 25. Момот А.П. Физиологическая беременность как модель несостоявшегося тромбоза. Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. 2017; 2: 44-52.
 26. Момот А.П., Николаева М.Г. Тромбофилии в акушерско-гинекологической практике. Медицинский совет. 2017; 13: 71-78.
 27. Момот А.П., Цывкина Л.П., Тараненко И.А. Современные методы распознавания тромботической готовности. Барнаул: изд. Алт. университета; 2011.
 28. Никитина А.Е. Этические аспекты правового регулирования генетических технологий в Российской Федерации. Материалы Междунар. конф. Форума Комитетов по этике государств – участников СНГ (Ереван, Республика Армения, 5–7 окт. 2005 г.). Ереван, 2005: 28–35.
 29. Основы социальной концепции РПЦ. Юбилейный архиерейский собор русской православной церкви, Москва, 2000.
 30. Приказ МЗ РФ от 6 ноября 2012 г. № 583н «Об утверждении стандарта оказания специализированной медицинской помощи при родоразрешении посредством кесарева сечения»
 31. Приказ МЗ РФ от 7 ноября 2012 г. № 588н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при гипоксии плода, недостаточном росте плода, других плацентарных нарушениях»
 32. Приказ МЗ РФ от 7 ноября 2012 г. № 596н «Об утверждении стандарта оказания специализированной медицинской помощи при отеках, протеинурии и гипертензивных расстройствах во время беременности, родов и в послеродовом периоде»

33. Приказ МЗ РФ от 7 ноября 2012 г. № 598н «Об утверждении стандарта оказания специализированной медицинской помощи при кровотечении в последовом и послеродовом периоде»
34. Приказ Минздрава РФ №107н от 30.08.2012 «Об утверждении Порядка использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказания и ограничения к их применению».
35. Приказ Минздрава РФ №572н от 01.11.2012 «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».
36. Радзинский В.Е., авт.-разр. Прегравидарная подготовка: клинический протокол. М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2016.
37. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике ВТЭО. Флебология. 2015; 4 (2): 2-52.
38. Савельева Г.М., Сухих Г.Т., Серов В.Н., Радзинский В.Е., ред. Акушерство: Национальное руководство – 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.
39. Сметник В.П., Сухих Г.Т., Андреева Е.Н. и др. Менопаузальная гормонотерапия и сохранения здоровья женщин зрелого возраста. Клинические рекомендации. Москва, 2014.
40. Сухих Г.Т., Прилепская В.Н., Вартапетова Н.В. Национальные медицинские критерии приемлемости методов контрацепции. Москва, 2012.
41. Сухих Г.Т., Филиппов О.С., Белокриницкая Т.Е. и др. Профилактика ВТЭО в акушерстве и гинекологии. Клинические рекомендации. Москва, 2014.
42. Фетисова И.Н., Добролюбов А.С., Липин М.А., Поляков А.В. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека. Вестник новых мед технологий. 2007; X (1): 575.
43. Энциклопедический словарь медицинских терминов. М.: Советская энциклопедия; 1982—1984.

44. Юрченко Л.Н., Медвинский И.Д., Ковалев В.В. Состояние системы гемостаза при осложнениях беременности и родов. Екатеринбург: УрОРАН; 2009.
45. American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin 197: inherited thrombophilias in pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 2018; 132 (1): e18-e34.
46. Aracic N., Roje D., Jakus I.A., Bakotin M., Stefanovic V. The impact of inherited thrombophilia types and low molecular weight heparin treatment on pregnancy complications in women with previous adverse outcome. *Yonsei Med J.* 2016; 57(5): 1230-5.
47. Baglin T., Gray E., Greaves M. et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *British J of heamatology.* 2009; 149: 209-220.
48. Barlic M., Seremak-Mrozikiewicz A., Drews K., Klejewski A., Kurzawinska G., Lowicki Z., Wolski H. Correlarion between factor VII and PAI-1 genetic variants and recurrent miscarriage. *Ginekol Pol.* 2016; 87(7): 504-9.
49. Bates S.M., Greer I.A., Padinger I. et al. Venous thromboembolism, thrombophilia, antitrombotic therapy and pregnancy: American college of Chest Physicians Evidence-based Clinical Practice Guidelines (9th edition). *Chest.* 2012; 141 (2): e691S-736S.
50. Cardinale C., Berbis J., Chau C. et al. Two miscarriages, consecutive or non consecutive, does it change something? *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2017; 46 (10): 721-725.
51. Chedraui P., Andrade M.E., Salazar-Pousada D. et al. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T and A1298C) in the placenta of pregnancies complicated with preeclampsia. *Gynecol Endocrinol.* 2015; 31(7): 569-72.
52. Chen J., Chen L., Zhu L.H., Zhang S.T., Wu Y.L. Assotiation of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism with preterm delivery and placental abruption: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016; 95(2): 157-65.
53. Colman R.W., Marder V.J., Clowes A.W. et al. Hemostasis and thrombosis. Basic principles and clinical practice. Philadelphia, 2006.

54. Dossenbach-Glaninger A., van Trotsenburg M., Oberkanins C., Atamaniuk J. Risk for early pregnancy loss by factor XIII Val34Leu: the impact of fibrinogen concentration. *J Clin Lab Anal.* 2013; 27(6): 444-9.
55. Drobinskaia A.N., Nadeeva A.P., Zhukova V.A., Pasma N.M., Karpov M.A., Teliatnikova N.V. Placental morphology in inherited thrombophilia. *Arkh Patol.* 2014; 76(3): 33-6.
56. Engel S. M., Olshan A. F., Siega-Riz A. M. Polymorphisms in folate metabolism in genes and risk for spontaneous preterm and small-for-gestational age birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2006; 195 (5): 1231.
57. Fang Q., Jiang Y., Liu Z., Zhang Z., Zgang T. Systematic review and meta-analysis of the associations between maternal methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and preterm delivery. *J Obstet Gynaecol Res.* 2018; 44(4): 663-672.
58. Giannkou K., Evangelou E., Papatheodorou S.I. Genetic and non-genetic risk factors for pre-eclampsia: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018, 51(6): 720-730.
59. Hobbs C. A., Sherman S. L., Yi P. et al. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 67: 623-630.
60. Hwang K.R., Choi Y.M., Kim J.J. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss. *J Korean Med Sci.* 2017; 32(12): 2029-2034.
61. Jackson R.A., Nguyen M.L., Barrett A.N., Tan Y.Y., Choolani M.A., Chen E.S. Synthetic combinations of missense polymorphic genetic changes underlying Down Syndrome susceptibility. *Cell Mol Life Sci.* 2016; 73(21): 4001-17.
62. Kamali M., Hantoushzadeh S., Borna S., Neamatzadeh Y., Mazaheri M., Noori-Shadkam M., Haghighi F. Association between thrombophilic genes polymorphisms and recurrent pregnancy loss susceptibility in the Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *Iran Biomed J.* 2018; 22 (222): 78-89

63. Lenz B., Samardzija M., Drenjacevic D., Zibar D., Samardzija M., Milostic-Srb A. The investigation of hereditary and acquired thrombophilia risk factors in the development of complications in pregnancy in Croatian women. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 29(2): 264-9.
64. Li X., Liu Y., Zhang R., Tan J., Chen L., Liu Y. Meta-analysis of the association between plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and recurrent pregnancy loss. *Med Sci Monit.* 2015; 21: 1051-6.
65. Mastrolia S.A., Mazor M., Loverro G., Klaitman V., Erez O. Placental vascular pathology and increased thrombin generation as mechanisms of disease in obstetrical syndromes. *PerrJ.* 2014; 18 (2): e653.
66. Nan Y., Li H. MTHFR genetic polymorphism increases the risk of preterm delivery. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(6): 7397-402.
67. Nicolaidis A.N., Breddin H.K., Carpenter P. et al. Thrombophilia and venous thromboembolism. International consensus treatment. Guidelines according to scientific evidence. *Int Angiol.* 2005; 24(1): 1-26.
68. Nowak I., Bylinska A., Wilcznska A. The methylentetrahydrofolate reductase c.c. 677 C>T and c.c. 1298 A>C polymorphisms in reproductive failures: experience from RSA and RIF study on a polish population. *PloS One.* 2017; 12(10): e0186022.
69. Pileri P., Franchi F., Cetin I., Mando C., Antonazzo P., Ibrahim B., Rossi F., Biguzzi E. Maternal and fetal thrombophilia in intrauterine growth restriction in the presence or absence of maternal hypertensive disease. *Reprod Sci.* 2010; 17(9): 844-8.
70. Pritchard A.M., Hendrix P.W., Paidas M.J. Hereditary thrombophilia and recurrent pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol.* 2016; 59(3): 487-97.
71. Quaranta M., Erez O., Mastrolia S.A. et al. The physiologic and therapeutic role of heparin in implantation and placentation. *PeerJ.* 2015;3:e691.

72. Rath W., Thaler C. J., Hereditary thrombophilias and placental mediated pregnancy complications in the II/III trimester. *Hämostaseologie*. 2013; 3: 21-36.
73. RCOG Green-top Guideline No37a. Reducing the Risk of Venous Thromboembolism during Pregnancy and the Puerperium. 2015
74. Rosendaal F.R., Reitsma P.H. Genetics of venous thrombosis. *J of Thrombosis and Haemostasis*. 2009; 7(1): 301–304.
75. Serimac-Mrozikiewicz A., Bogacz A., Bartkowiak-Wieczorek J. et al. The importance of MTHFR, MTR, MTRR and CSE expression levels in Caucasian women with preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015; 188: 113-7.
76. Shi X., Xie X., Jia Y., Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clin Genet*. 2017; 91(2): 265-284.
77. Simioni P., Sanson B.J., Prandoni P. et al. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia. *Tromb Haemost*. 1999; 81: 198-202.
78. Sokol J., Skerenova M., Biringer K., Simurda T., Kubisz P., Stasko J. Glycoprotein VI Gene Variants Affect Pregnancy Loss in Patients With Platelet Hyperaggregability. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018; 2: 1076029618802358
79. Sokol V., Ivanisevic M., Herman M., Delmis J. The role of low molecular weight heparin in women with hereditary thrombophilia for good perinatal outcome. *Acta Clin Croat*. 2016; 55(2): 309-15.
80. Suzuki K., Yoshioka T., Obara T., Suwabe A. Haplotype analysis of coagulation factor VII gene in a patient with congenital coagulation factor VII deficiency with heterozygous p.Arg337Cys Mutation and o.Aro413Gin Polymorphism. *Rinsho Byori*. 2016; 64(4): 380-386.
81. Venous Thromboembolism during Pregnancy and the Puerperium. 2015
82. Wang B.J., Liu M.J., Wang Y. et al. Association between SNPs in genes involved in folate metabolism and preterm birth risk. *Genet Mol Res*. 2015 14(1): 850-9.

83. Weisberg I. Tran P., Christensen B. et al. Second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) associated with decreased enzymeactivity. *Mol. Genet. Metab.* 1998; 64: 169-172.
84. Wu H., Zhu P., Geng X. et al. Genetic polymorphism of MTHFR C677T with preterm birth and low birth weight susceptibility: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2017; 295(5): 1105-11.
85. Zotz R.B., Gerhardt A., Scharf R.E. Inherited thrombophilia and gestational venous thromboembolism. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2003; 16: 243–259.

Кудрявцева Елена Владимировна

кандидат медицинских наук, врач акушер-гинеколог, врач-генетик, доцент
кафедры акушерства и гинекологии УГМУ

Ковалев Владислав Викторович

доктор медицинских наук, профессор, врач акушер-гинеколог, заведующий
кафедрой акушерства и гинекологии ФПК и ПП и ПФ УГМУ

ТРОМБОФИЛИИ В АКУШЕРСТВЕ: ОТ ГЕНОТИПА К ФЕНОТИПУ

Учебное пособие для врачей

ISBN 978-5-89895-922-7



Подписано в печать 22.03.2019 г. Формат 60x84 ¹/₁₆ Усл. печ. л. 1,2. Тираж 500 экз.
Заказ № 177. Отпечатано в типографии АО «ИПП «Уральский рабочий».
г. Екатеринбург, ул. Тургенева,13..