



## Тромбофилии.

Тумбинская Лидия Викторовна,  
ЗАО «НПФ ДНК-Технология»

2010 г.

# Фенотип и генотип

**Фенотип** (от греч. phainon - обнаруживающий, являющийся и typos - отпечаток, образец) - обозначает всю совокупность признаков конкретного организма

**Генотип** (от греч. genos - род, происхождение и typos – образец, отпечаток) - совокупность всех наследственных факторов организма



# Мутация — изменение в наследственных структурах (ДНК, ген, хромосома, геном).

Мутациями называются скачкообразные и устойчивые изменения единиц наследственности

**генная** — изменение последовательности нуклеотидов в определенном участке молекулы ДНК;

- ◆ **структурная** — приводящая к протяженному (мульти-нуклеотидному) дефекту гена;
- ◆ **точковая (точечная, SNP)** — затрагивающая один нуклеотид либо 1—2 соседних нуклеотида;

**хромосомная** — любое нарушение структуры хромосом (деления, дупликация, инверсия, транслокация).

**геномная** — изменение числа хромосом

- ◆ **полиплоидия** - кратное гаплоидному числу
- ◆ **анеуплоидия** - некратное

# SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

- это однонуклеотидные позиции в геномной ДНК, для которых в некоторой популяции имеются различные варианты последовательностей (аллели), причём редкий аллель встречается с частотой не менее 1%. ★

*По различным оценкам в геноме человека 3 - 10 миллионов SNP.*

Генетический полиморфизм - сосуществование в пределах популяции двух или нескольких различных наследственных форм, находящихся в динамическом равновесии в течение нескольких и даже многих поколений.

- ★ Синдром Дауна - одна из самых распространенных наследственных болезней. Частота рождения детей с синдромом Дауна составляет примерно один на 600-800 новорожденных (<0.2%).

# Заболевания, связанные с генетическими дефектами

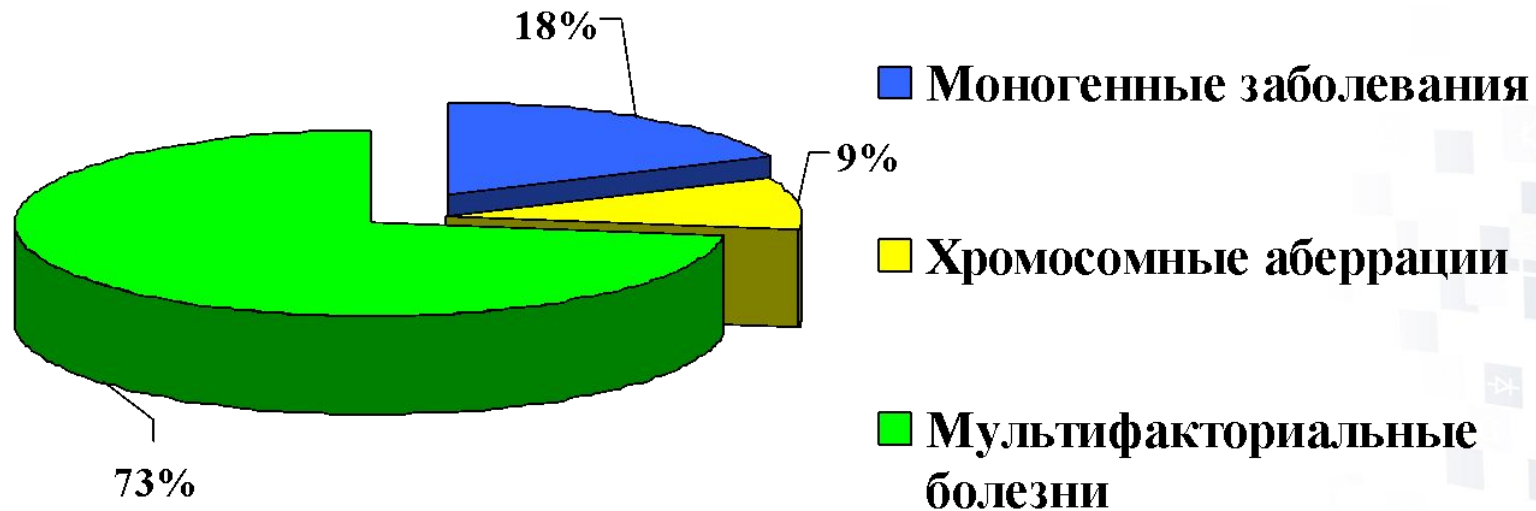
**Наследственная болезнь** — болезнь, для которой этиологическим фактором является генная, хромосомная или геномная мутация.

## **Мультифакторные болезни**

(Болезни с наследственной предрасположенностью) — болезни, которые развиваются в результате взаимодействия определённых комбинации аллелей разных локусов и специфических воздействий факторов окружающей среды.



# Структура наследственных патологий

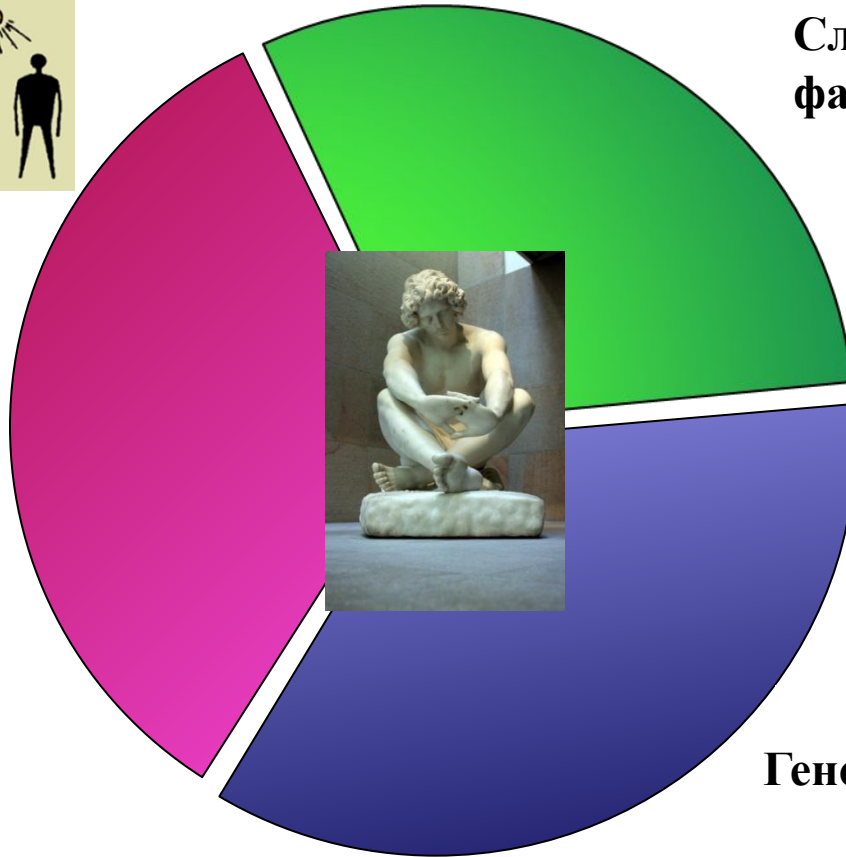


*Поляков А.В. 2008 г.*

# Слагаемые здоровья



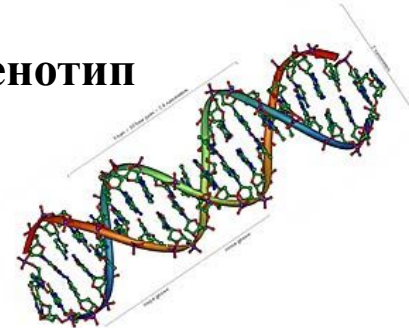
**Окружающая  
среда**



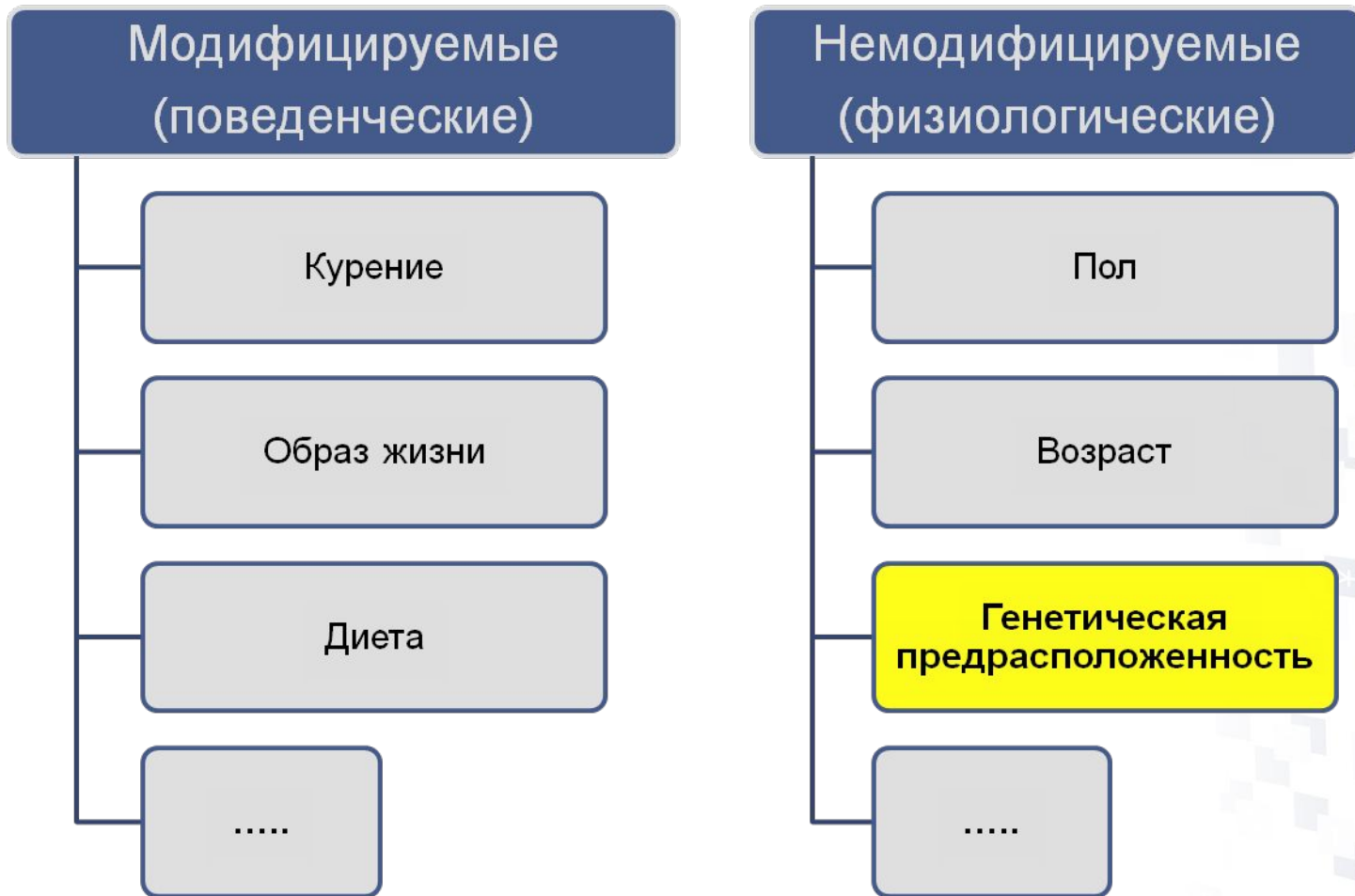
**Случайные  
факторы**



**Генотип**



# Классификация факторов риска





# ТРОМБОФИЛИЯ

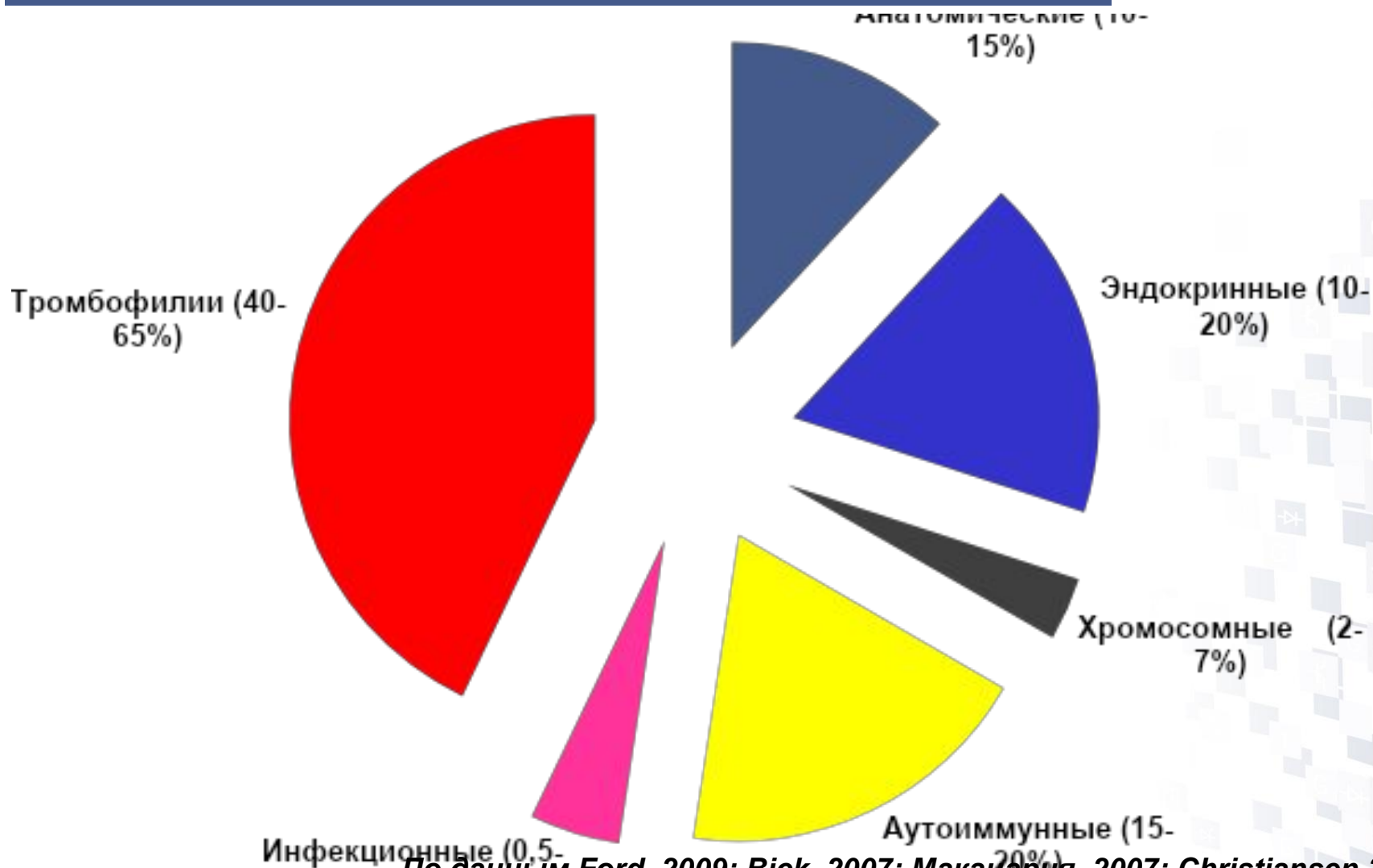
(от греч. thrombos – сгусток и philia - склонность)

- ◆ **Патологическое состояние кровеносной системы, возникающее на фоне нарушения свойств и состава крови, и ведущее к возникновению тромбозов кровеносных сосудов (в основном венозных) и рецидивирующих тромбозов**

# Тромбофилия как ключевое звено в патогенезе осложнений в акушерстве и гинекологии



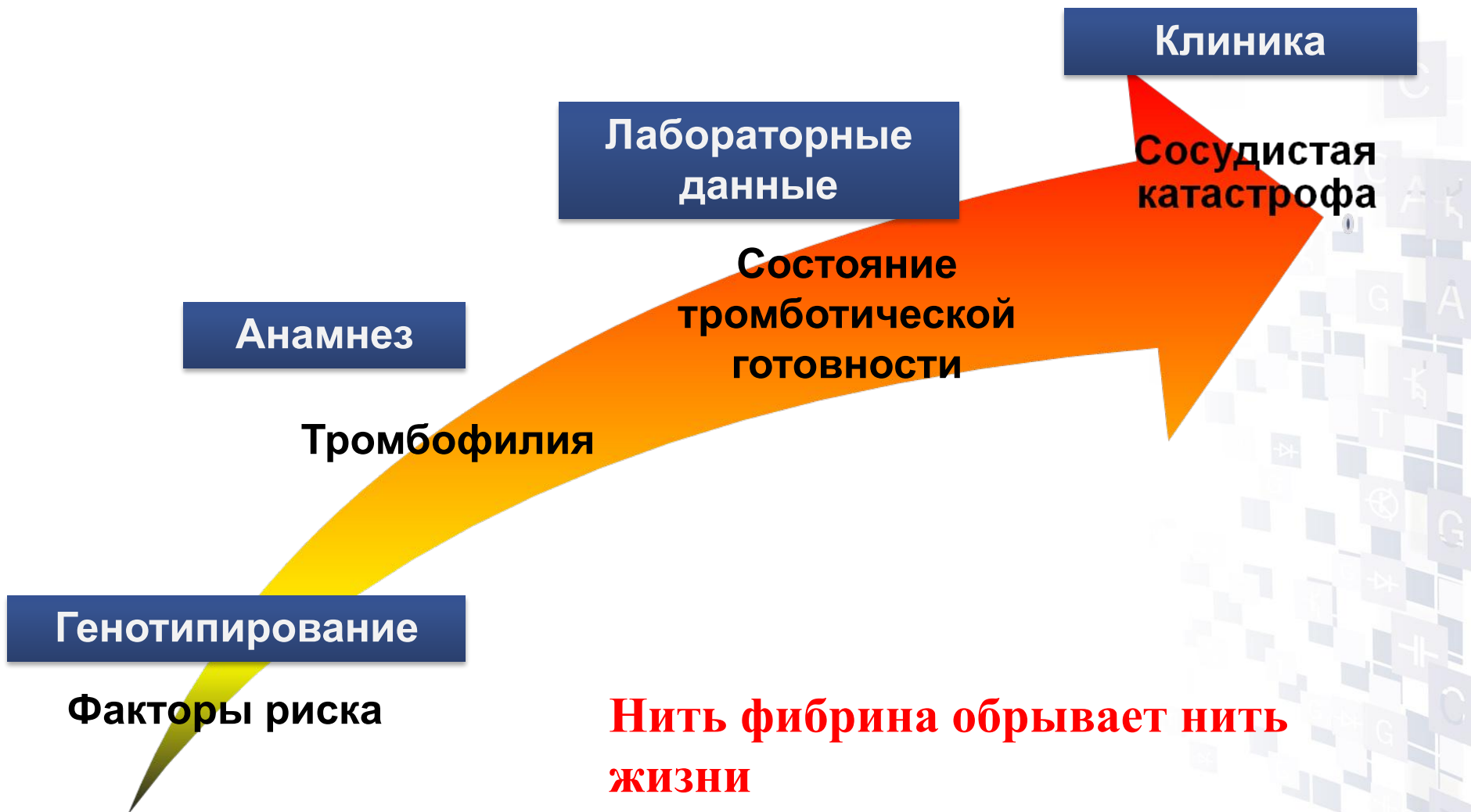
# Структура причин репродуктивных потерь



По данным Ford, 2009; Bick, 2007; Макацария, 2007; Christiansen, 2005

# Дефиниция тромбозов

А.П. Момот



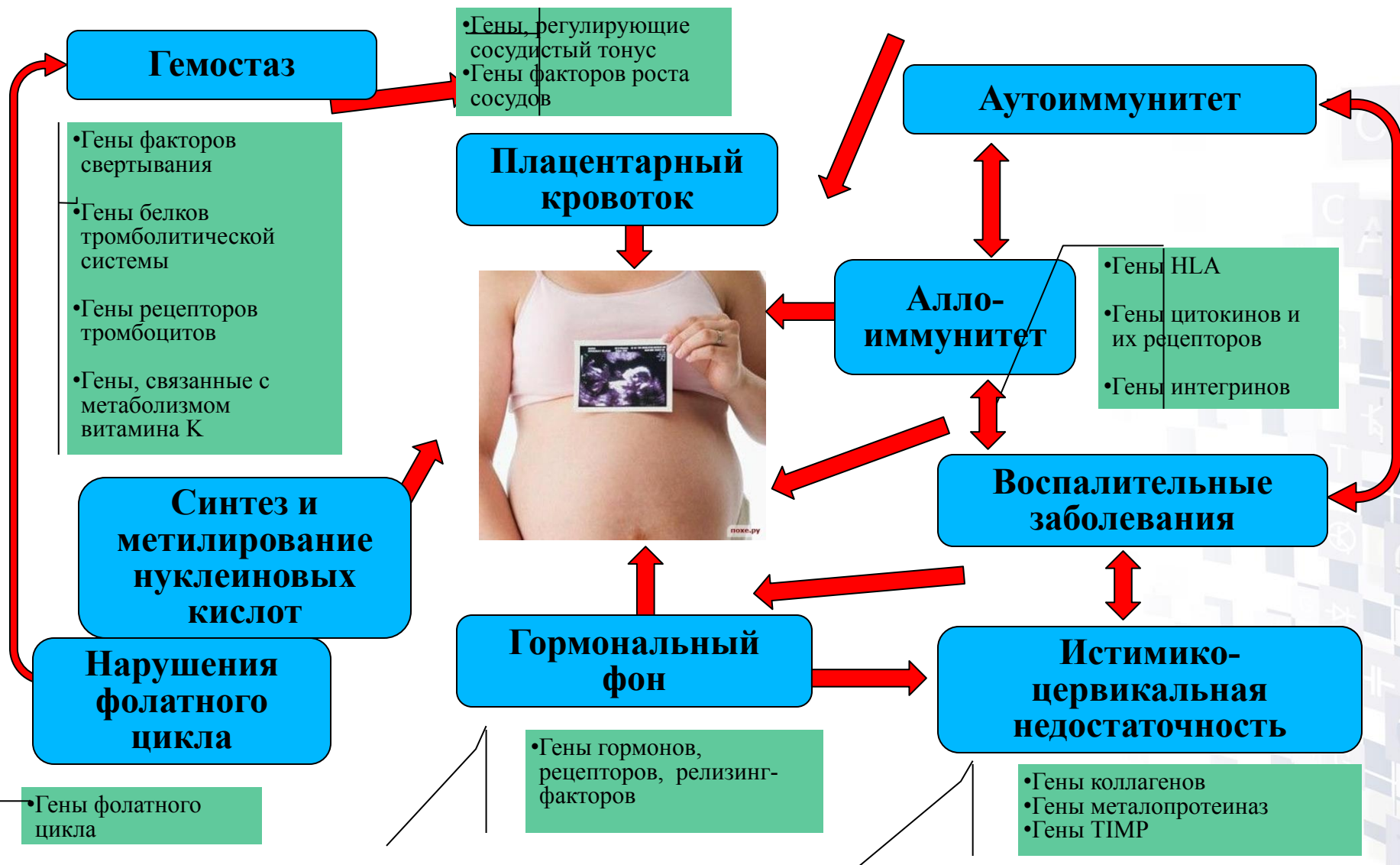
# Генетически обусловленные тромбофилии

Выделяют  
**первичные** (генетически обусловленные)  
и  
**вторичные** (приобретенные, симптоматические)  
тромбофилии

**До 70% случаев тромботических проблем  
могут быть связаны с генетическими  
факторами.**

Buchanan GS, Rodgers GM, Ware Branch D. The inherited thrombophilias: genetics, epidemiology, and laboratory evaluation. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2003;17:397–411

# Беременность



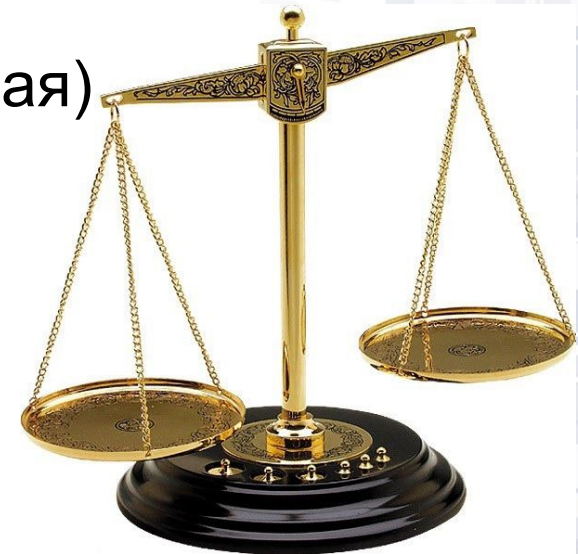
# Система гемостаза

## Структурно выделяют

- Плазменное звено
- Сосудисто-тромбоцитарное звено

## Функционально выделяют системы

- Свертывания
- Противосвертывания (антикоагулянтная)
  - антитромбин III;
  - протеин С;
  - протеин S;
  - ингибитор внешнего пути свертывания (TFPI);
  - кофактор гепарина II.
- Фибринолиза



# Риск нарушений системы свертывания крови

## Плазменное звено гемостаза

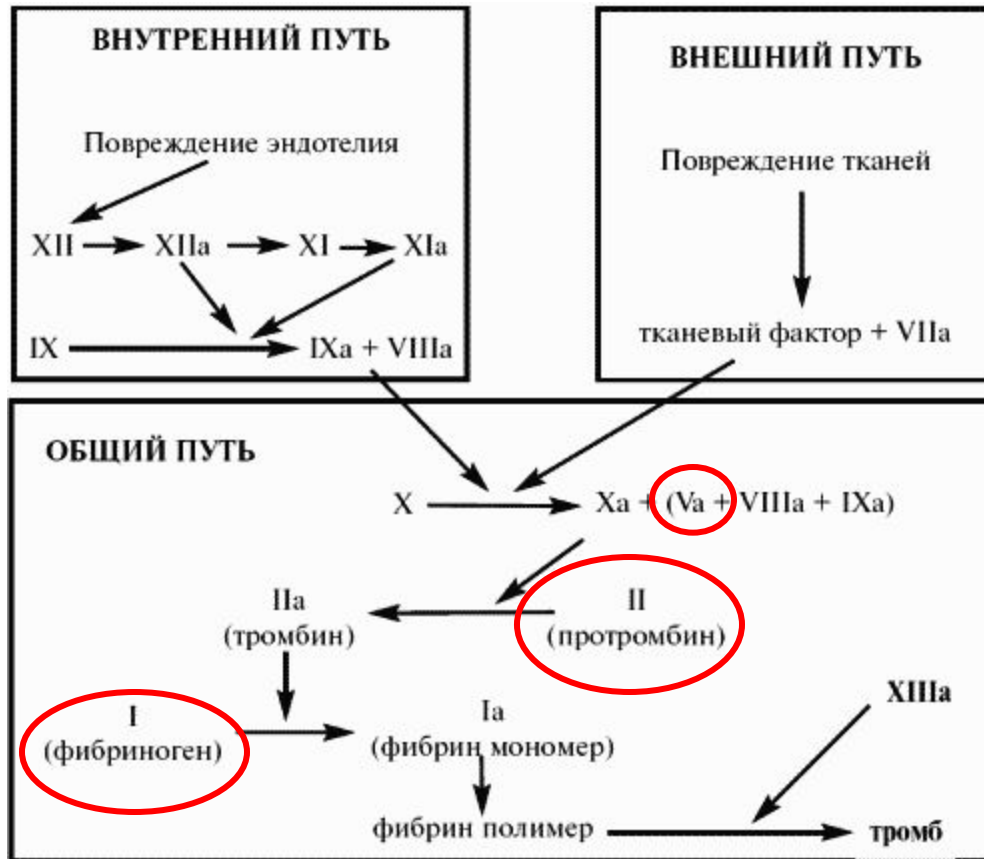
- ◆ Свертывающая система
  - **F5 (фактор V): 1691 G>A (Arg506Gln)** (Лейден мутация)
  - **F2 (протромбин): 20210 G>A**
  - **FGB (фибриноген): -455 G>A**
  - **F7 (фактор VII ): G>A (Arg353Gln)**
  - **F13A1 (фактор XIII ): G>A (Arg353Gln)**
- ◆ Система фибринолиза
  - **SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G**

## Тромбоцитарное звено гемостаза

- **ITGA2 (GP Ia): 807 C>T (F224F)**
- **ITGB3 (GP IIIa): 1565 T>C (L33P)**



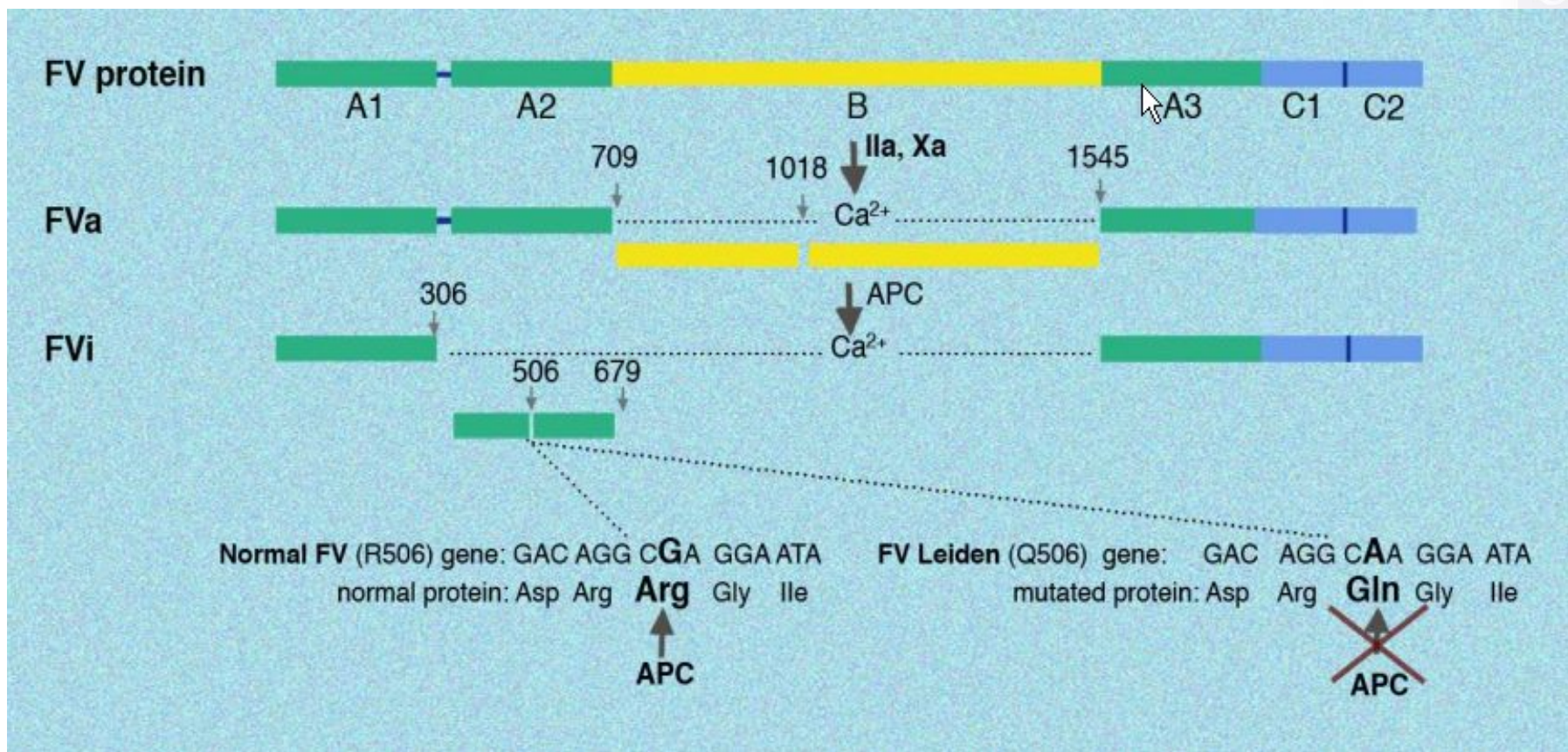
# Каскад свертывания крови



# Плазменное звено гемостаза

## Система свертывания крови

F5: 1691 G>A (Arg506Gln) - Лейденская мутация



# F5 (фактор v): 1691 G>A (Arg506Gln) (Лейден мутация)

Частота встречаемости варианта А полиморфизма в популяции: 2 - 3%.

Преобладающий генотип в популяции: (G/G).

Наследование по аутосомно-доминантному типу.

## Риски

1. потеря плода во II и III триместре
2. тромбоз вен нижних конечностей
3. ТЭЛА
4. тромбозы церебральных сосудов и ишемический инсульт
5. артериальные тромбозы в молодом возрасте

# Тромбозы вен нижних конечностей – факторы риска

1. Использование пероральных контрацептивов дополнительно повышает риск развития ТГВ в 30 раз у гетерозигот, в 100 раз при гомозиготном носительстве.
2. Беременность – в 16 раз повышает риск ТГВ.
3. Гормонзаместительная терапия – в 2 - 4 раза увеличивает риски.
4. Катетеризация центральных вен повышает риск ТГВ в 2 - 3 раза
5. Хирургические вмешательства – в 13 раз.
6. Инфекционные и онкологические заболевания также повышают риск развития ТГВ. Риск развития ишемического инсульта у женщин в возрасте 18-49 лет при наличии Лейденской мутации возрастает в 2,6 раза, а на фоне приёма пероральных контрацептивов увеличивается в 11,2 раза.

## F2 (протромбин): 20210 G>A

**Ген F2** - протромбин или фактор II свертывания крови – это предшественник тромбина (белка, стимулирующего образование тромба). Является одним из главных компонентов свертывающей системы крови.

**Полиморфизм 20210 G>A**, приводит в случае варианта А к повышенной экспрессии гена. Уровень протромбина в плазме носителей 20210А–аллеля может быть повышен на 30%.

# F2 (протромбин): 20210 G>A

Частота встречаемости варианта А полиморфизма в популяции: 2 - 5%.

Преобладающий генотип в популяции: (G/G).

Наследование по аутосомно-доминантному типу.

## Риски

1. потеря плода в I триместре
2. венозные тромбозы
3. повышение рисков послеоперационной смерти
4. ишемический инсульт

# FGB (фибриноген): -455 G>A

**Ген FGB** кодирует аминокислотную последовательность beta-субъединицы фибриногена (фактора свертывания I). Это растворимый белок, предшественник фибрина, присутствующий в плазме крови. Под влиянием фермента тромбина из фибриногена образуется нерастворимый белок фибрин на заключительном этапе свертывания крови. Тромбин последовательно отщепляет фибринопептиды А и В от  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей фибриногена, превращая его в фибрин-мономер, который затем полимеризуется и образует основу фибринового тромба.

## Полиморфизм -455 G >A

Наличие аллеля -455А фибриногена бета (FGB) приводит к постоянно увеличенной экспрессии гена и, соответственно, к повышению на 10-30% уровня фибриногена в крови.

Повышенный уровень фибриногена приводит к увеличению вероятности образования тромбов и повышает риск инсульта (ишемического или геморрагического).

Показана связь между носительством аллеля -455А и повышением функциональной активности тромбоцитов.

# FGB (фибриноген): -455 G>A

Частота встречаемости варианта А полиморфизма в популяции: 5 - 10%.

Преобладающий генотип в популяции: (G/G).

## Риски

1. гиперкоагуляция
2. инфаркт миокарда
3. лакунарные инфаркты церебральных сосудов



# Плазменное звено гемостаза

## Система свертывания крови

**F7 (Коагуляционный фактор VII): G>A (Arg353Gln)**

**F13A1 (Коагуляционный фактор XIII): G>A (Arg353Gln)**

### Эффекты:

- Уменьшение риска венозного тромбоза
- Снижение риска инфаркта миокарда даже при наличии заметного коронарного атеросклероза.

### **Риски**

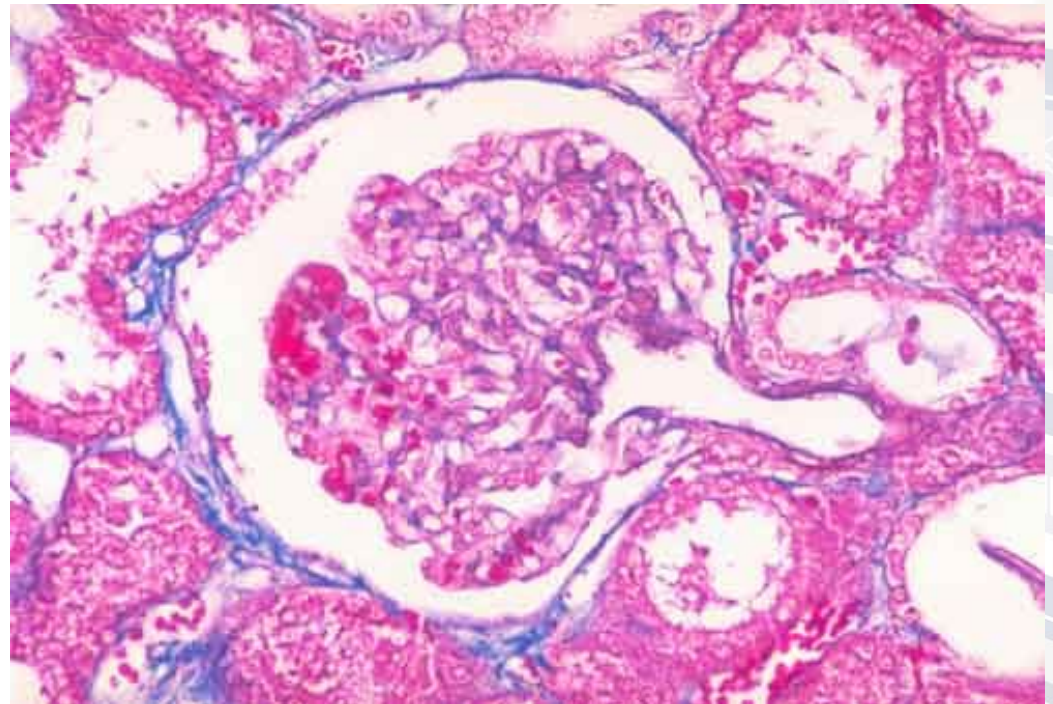
- Повышение риска кровотечений на фоне антикоагулянтной терапии.
- Субарахноидальные кровотечения

# Система фибринолиза

## Основные функции:

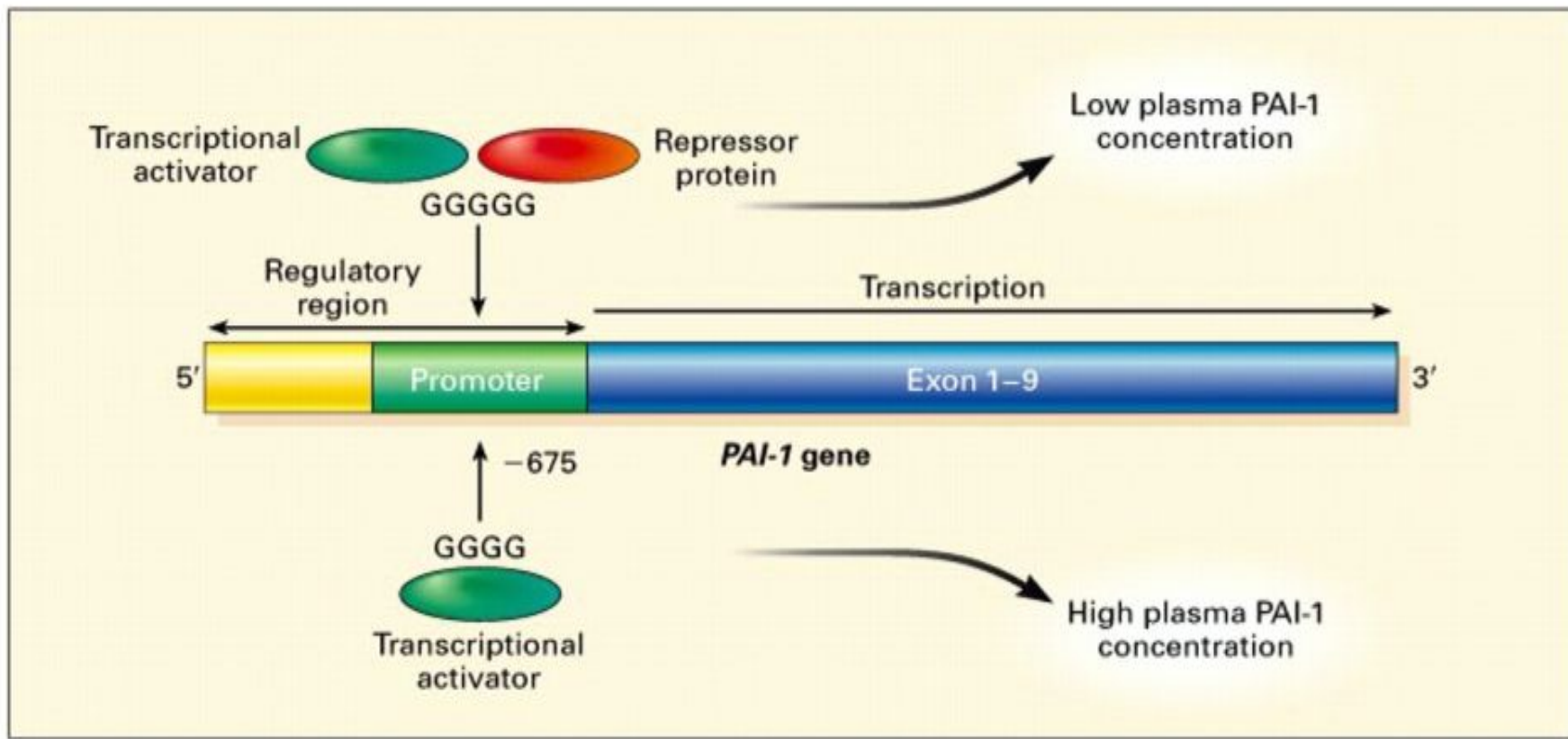
Противодействие свертывающей системе

Канализация тромба и восстановление кровотока



# Плазменное звено гемостаза Фибринолитическое звено

**SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G**



# SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G

PAI-I обеспечивает до 60% общей ингибиторной активности в отношении активатора плазминогена в плазме крови и тем самым играет важную роль в активации фибринолиза.

Доказана роль PAI-I в патогенезе как венозных, так и артериальных тромбозов. PAI-I обладает способностью накапливаться в фибриновых сгустках в концентрации, в 500 раз превышающих его концентрацию в плазме. В результате сгусток стабилизируется и становится более резистентен к фибринолизу.

У 35% пациентов с ТГВ фибринолитическая активность снижена. Наличие дополнительных факторов риска (других генетических дефектов, циркулирующих АФА, сахарного диабета, ожирения и т.д.) увеличивает риск венозных и артериальных тромбозов.

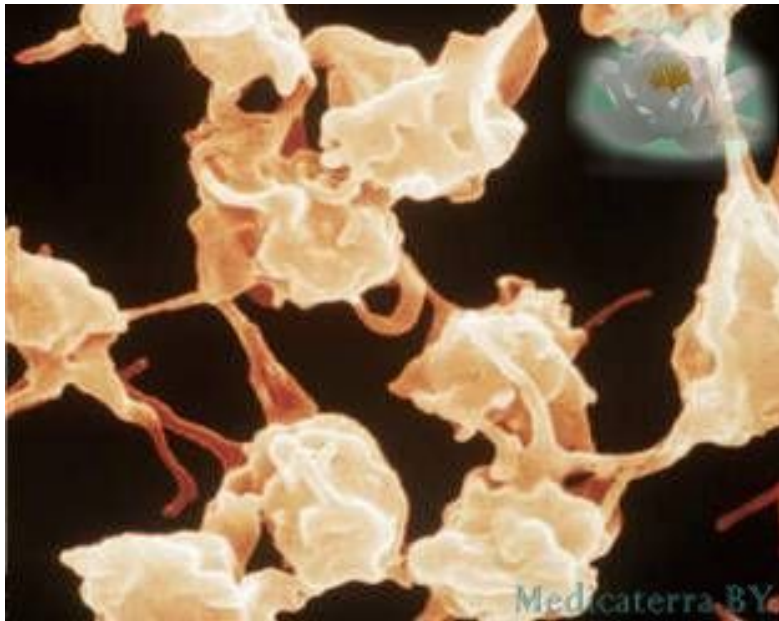
# SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G

Распространенность гомозиготной формы данного варианта в европеоидных популяциях составляет 5-8%.

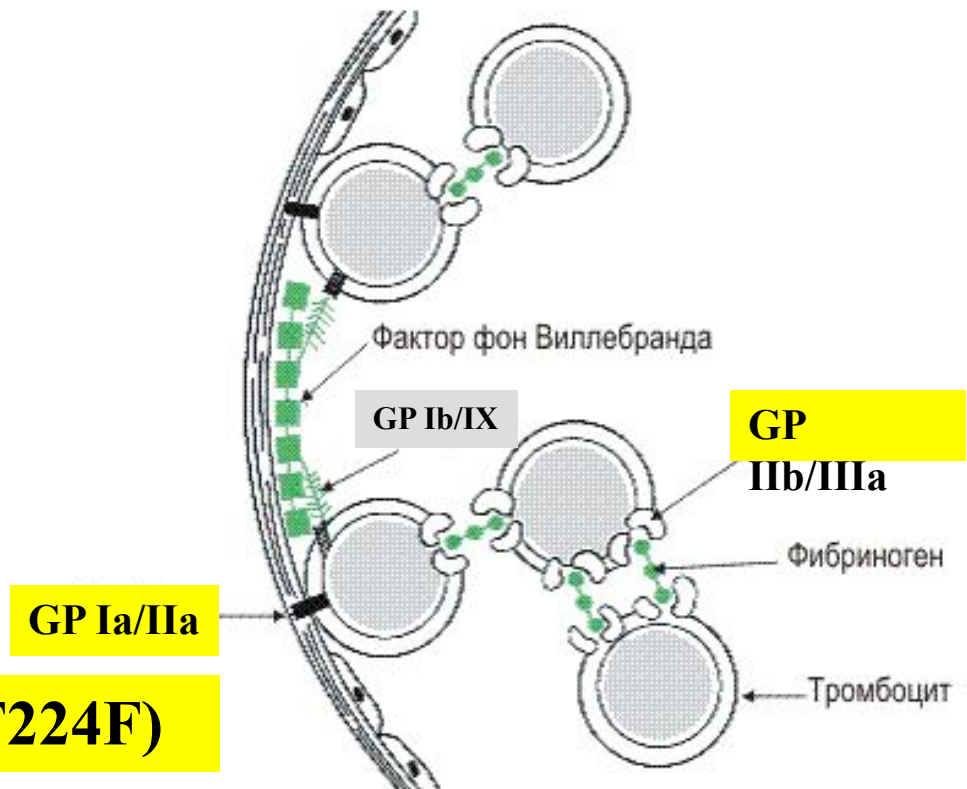
## Риски

1. преэклампсия
2. привычное невынашивание беременности
3. снижение фибринолитической активности крови
4. венозные тромбозы
5. сердечно-сосудистые заболевания
6. повышенные риски послеоперационных тромбозов

# Тромбоцитарное звено гемостаза



**ITGB3 (GP IIIa): 1565 T>C (L33P)**



**ITGA2 (GP Ia): 807 C>T (F224F)**

# Тромбоцитарное звено гемостаза

## ITGA2 (GP Ia): 807 C>T (F224F)

### Ген:

$\alpha$ -2 интегрин (тромбоцитарный рецептор к коллагену) является специализированным рецептором тромбоцитов, обеспечивающий взаимодействие тромбоцитов с поврежденной стенкой сосудов, что является необходимым условием включения последующих звеньев свертывающей системы крови.

### Полиморфизм:

В случае варианта Т изменение первичной структуры субъединицы вызывает изменение свойств рецепторов и отмечается увеличение скорости адгезии тромбоцитов.

# Тромбоцитарное звено гемостаза

## ITGB3 (GP IIIa): 1565 T>C (L33P)

### Ген:

Тромбоцитарный гликопротеин IIIA ( $\beta 3$ -интегрин), субъединица рецептора мембраны тромбоцитов (GP IIb/IIIa) для фибриногена и фактора Виллебрандта и является компонентом другого интегрина –  $\alpha \nu \beta 3$ . Играет важную роль в агрегации тромбоцитов и отвечает за адгезию тромбоцитов к субэндотелиальным структурам.

### Полиморфизм:

Данная замена приводит к изменению конформации белка и пространственной ориентации лиганд-связывающего участка, что приводит к повышению сродства к фибриногену. Наблюдается повышенная адгезия клеток, более интенсивная ретракция фибринового сгустка.



# Тромбоцитарное звено гемостаза

Частота встречаемости вариантов в европеоидной популяции составляет порядка 20-30%

## Риски:

- Гиперагрегация тромбоцитов
- Резистентностью к аспирину и плавиксу
- Повышенный риск потери плода на ранних сроках  
**OR=2,7-4,4**

## У ребенка

- Неонатальная тромбоцитопения
- Геморрагический диатез
- Посттрансфузионная тромбоцитопения

# Когорты пациентов

College of American Pathologists Consensus Conference XXXVI: Diagnostic Issues in Thrombophilia. Arch Pathol Lab Med 2002;126:1277–1433



- a. Принадлежность к группе риска
- b. Семейный характер заболевания
- c. Раннее начало
- d. Атипично тяжелое течение
- e. Толерантность к терапии

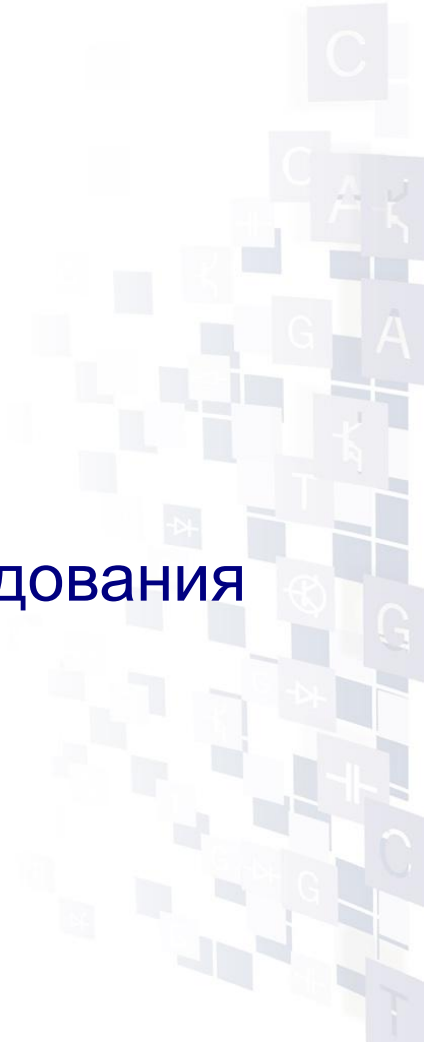
## a. Ситуации высокого риска

Массивные хирургические вмешательства  
Беременность и послеродовой период  
Применение гормональной контрацепции или гормональной заместительной терапии  
Длительная иммобилизация

- a. Повторные тромбозы.
- b. Случай тромбоза в любом возрасте при наличии семейного анамнеза.
- c. Единичный тромбоз до 50 лет.
- d. Тромбозы необычной локализации (портальные, брызжеечные, мозговые вены)
- d. Тромбоз непонятной этиологии после 50 лет.

# Как трактовать результаты исследования

- **Пакетное исследование**
  - Понимание патогенеза
  - Взаимодействие генов
- **Индивидуальное заключение**
  - Учет негенетических факторов риска
  - Учет результатов других методов исследования
- **Количественная оценка риска**



# Плазменное звено гемостаза

Полиморфизм	Гестоз, прерывание	Тромбофилия
F5 (фактор V): 1691 G>A (Arg506Gln)	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">GG</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">GA</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">AA</div> </div> <p style="text-align: center; color: red;">II-III триместр</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">GG</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">GA</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">AA</div> </div>
F2 (протромбин): 20210 G>A	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">GG</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">GA</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">AA</div> </div> <p style="text-align: center; color: red;">I триместр</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">GG</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">GA</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">AA</div> </div>
FGB (фибриноген): -455 G>A	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">GG</div> <div style="background-color: yellow; color: black; padding: 2px 5px;">GA</div> <div style="background-color: yellow; color: black; padding: 2px 5px;">AA</div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">GG</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">GA</div> <div style="background-color: red; color: white; padding: 2px 5px;">AA</div> </div>
SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">5G/5G</div> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">5G/4G</div> <div style="background-color: yellow; color: black; padding: 2px 5px;">4G/4G</div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="background-color: green; color: white; padding: 2px 5px;">5G/5G</div> <div style="background-color: yellow; color: black; padding: 2px 5px;">5G/4G</div> <div style="background-color: yellow; color: black; padding: 2px 5px;">4G/4G</div> </div>

**Сочетание тромбофилических полиморфизмов с полиморфизмами генов фолатного цикла увеличивает риск гестоза и тромбофилии.**

**Сочетание нескольких тромбофилических полиморфизмов увеличивает риск гестоза и тромбофилии.**

# Взаимодействие факторов риска

Для некурящих носителей гомозигот 4G/4G гена PAI показано примерно 1,5-кратное повышение риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Для курящих носителей гомозигот 4G/4G негативный эффект от курения маскирует эффект данной мутации.

Риск тромбозов и инфаркта миокарда:  
F5: Arg506Gln (Лейденская мутация) – OR= 4-8.  
F2: G20210A – OR=2-4  
Сочетание обоих полиморфизмов - OR>17  
Сочетание F2: G20210A и курения – OR>40

# Генотип и генетический паспорт

## Генотип человека

- Определяет его индивидуальность
- Передается от родителей
- Является врожденным и не меняется в течение жизни

**Генетический паспорт** - индивидуальная генетические данные, отражающие врожденные генетические особенности каждого человека, включая его предрасположенность к тем или иным наследственным, мультифакторным и другим заболеваниям

## Результаты генетического тестирования пациента

Полиморфизм	Генотип пациента	Внимание	Комментарий
NR3C1: 1220 A>G (N363S) (Глюкокортикоидный рецептор, рецептор глюкагона)	AA		Без особенностей
ADRB2: A>G (Arg16Gly) (Adrenergic beta-2- receptor)	GG	✓	Метаболический синдром OR=1,83
NPY: A>G (Leu7Pro) (Нейролептин Y, препронейролептин)	AA		Без особенностей
FTO: T>A (IVS1) (fat mass and obesity associated gene)	TA	✓	Диабет II типа OR=1.3 Склонность к ожирению
PPARG: 34 C>G (Pro12Ala) (Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma)	CC		Без особенностей

### Заключение по результатам тестирования:

Имеется предрасположенность к ожирению. Повышен риск развития метаболического синдрома.

### Практические рекомендации:

# Используемый биоматериал

В каждой соматической клетке заключен полный геном организма

- Кровь с ЭДТА

Сразу после взятия крови пробирка должна быть несколько раз перевернута вверх дном, чтобы кровь перемешалась с антикоагулянтом, нанесенным на стенки пробирки. В пробирке не должно быть сгустков.



**Пробирки с биоматериалом должны храниться в холодильнике (+2 - +4°C)  
Срок хранения 24 часа**

# Достоверность и полнота генетической информации

## Точность определения генотипа практически **100%**

- **Высокая аналитическая чувствительность**
- **Высокая аналитическая специфичность**
- **Технологичность проводимого анализа**





***спасибо за внимание!***