

Проблемы, возникающие при интерпретации результатов лабораторных исследований

Чаще всего эти проблемы связаны с ошибками на преаналитическом этапе обследования. Секреция многих гормонов (пролактин, АКТГ, ТТГ, кортизол) имеет суточный (циркадный) ритм, поэтому взятие крови необходимо осуществлять в определенное время (как правило, в 8-9 часов утра). У молодых мужчин секреция гонадотропинов также имеет суточный и почасовой (цирхоральный) ритм секреции. При однократном взятии крови возможно попадание как на максимальное, так и на минимальное содержание гормона в данной пробе. Нередко при диагностике гипо- и гипергонадотропных состояний содержание гонадотропинов в крови соответствует нижним или верхним значениям «нормы», что вызывает недоумение у клиницистов и недоверие к работе лаборатории и качеству тест-систем [3]. В этих случаях во избежание диагностических ошибок необходимы повторные определения концентрации ЛГ и ФСГ или определение содержания гормонов в смешанной пробе, полученной от 2-кратного взятия крови с интервалом 30 минут. При интерпретации лабораторного обследования необходимо учитывать возможную фармакотерапию пациента. Так, нейролептики, трициклические антидепрессанты снижают уровень ФСГ и увеличивают концентрацию пролактина в сыворотке. Низкий уровень тестостерона может быть связан с терапией эстрогенами, глюкокортикоидами, гипотиреозом. Гиперпродукцию тестостерона вызывают бромкриптин и рак предстательной железы. Высокий уровень эстрадиола может быть обусловлен гипертиреозом. Гиперпролактинемии часто обнаруживают при стрессе, гипотиреозе и хронических заболеваниях почек.

Определенные трудности возникают при интерпретации результатов. Лабораторный мониторинг пациента желательно осуществлять в одной и той же лаборатории для того, чтобы избежать некорректного сравнения результатов, полученных на разном оборудовании, разными методами с использованием различных реагентов. С осторожностью следует интерпретировать пограничные значения, поскольку любой лабораторный метод имеет свою вариабельность. В ряде случаев даже у здоровых людей выявляются показатели, выходящие за пределы референсных значений.

Современные знания закономерностей функционирования репродуктивной системы позволили не только понять механизмы нарушений генеративного процесса, но и разработать адекватные лабораторные методы их диагностики и мониторинга. Более того, во многих случаях постановка правильного диагноза невозможна без соответствующих лабораторных исследований. Современные технологии предоставляют клиницистам спектр диагностических методов, позволяющих достоверно и быстро решать проблемы выбора эффективной терапии. Затруднения, возникающие при интерпретации результатов исследований, чаще всего связаны с преаналитическим этапом анализа и с упрощенной трактовкой референсных (нормативных) пределов. В настоящее время лабораторная служба практически на всей территории страны имеет возможности для своевременного и достоверного выявления нарушений генеративной функции и мониторинга терапии.

Ссылки на литературные источники сохраняются в издательстве и высылаются по просьбе читателей.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ТРОМБОФИЛИЮ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Т.В. Вавилова,^{1,2} О.В. Сироткина,^{1,3}

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,

² Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России,

³ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова



Вавилова Т.В.,

Северо-Западный государственный
медицинский университет
им. И.И. Мечникова,
Всероссийский центр экстренной
и радиационной медицины
им. А.М. Никифорова МЧС России

Среди сердечно-сосудистой патологии важное место отводится венозным тромбозам и тромбоэмболическим осложнениям (ВТЭО), которые объединяют несколько клинических форм: тромбоз глубоких вен (ТГВ), подкожных вен (тромбофлебит) и тромбоз легочных артерий (ТЭЛА). ВТЭО являются мультифакторными заболеваниями

[1]. Риск их развития связан с комплексом наследственных и приобретенных причин. К сожалению, отчетливых статистических данных, популяционных исследований или регистров в Российской Федерации не существует. Международные исследования и регистры определяют ежегодную частоту возникновения ВТЭО, как 50-70 новых случаев заболевания на 100 000 населения. По другим данным в Северной Америке и Европе возникает 100-160 случаев ТГВ на 100 000 населения в год, 20 случаев симптомной и нефатальной ТЭЛА и 50 случаев фатальной легочной эмболии, найденной на секции [2].

Прогресс в развитии патофизиологии, молекулярной биологии, фармакокинетики и фармакогенетики позволяет говорить о необходимости персонализированного подхода к диагностике и терапии во многих областях медицины, в том числе — ВТЭО [3]. Разумное сочетание применения обобщенных рекомендаций и индивидуальной оценки состояния больного, особенностей его метаболизма, восприятия влияния окружающей среды и индивидуальных факторов риска дает оптимальный эффект

лечения и профилактики. В том случае, если активность факторов, составляющих плазменный гемостаз, повышается, а антикоагулянтная способность системы падает, возникает патологическое тромбообразование в неповрежденных сосудах или безудержный рост тромбов при травматизации сосудистой стенки.

Влияние наследственной предрасположенности к тромбозам активно изучается с конца XX века после открытий R.M. Bertina и B. Dahlbach [4, 5]. Для некоторых мутаций вклад в формирование такой предрасположенности признан несомненным, в отношении других позиций мнения экспертов расходятся, а исследования продолжают.

Современные представления позволяют выделить группы факторов риска, которые ведут к формированию ВТЭО и могут быть определены как приобретенные и врожденные. Классификация факторов риска, которую приводят ведущие специалисты в области изучения венозных тромбозов F.R. Rosendaal и P.H. Reitsma [6], представлена в *Таблице 1*.

Присутствие одного из указанных факторов или их сочетания формирует индивидуальный риск тромбоза и может приводить как к идиопатическим (без видимой причины), так и провоцированным ВТЭО.

Склонность к повышенному тромбообразованию и развитию ВТЭО получила название **тромбофилии**. Причем первоначально этот термин принадлежал именно опасности ВТЭО у лиц с наследственными причинами. Систематический генетический поиск у больных с ТГВ у 25-50% выявляет те или иные генетически обусловленные нарушения факторов свертывающей системы крови. Однако, не все мутации и полиморфизмы строго предрасполагают к ВТЭО. Стойкие изменения генотипа (мутации) встречаются относительно редко — не более чем у 1-5% населения; широко распространенные варианты гена (полиморфизмы) — до 50% населения и необязательно проявляются фенотипически. Гетерозиготное носительство измененного аллеля, как правило, имеет меньшее клиническое значение, так как неповрежденный аллель (аллель «дикого» типа) не дает в полной мере развиться фенотипическим проявлениям данного генотипа.

Под термином наследственная или генетическая тромбофилия понимаются нарушения в генах, кодирующих компоненты системы гемостаза, строго ассоциированные с повышением риска развития ВТЭО. Требуются серьезные исследования и доказательная база степени риска носительства дефекта для того, чтобы причислить его к наследственной тромбофилии. Именно поэтому количество таких генетических дефектов на сегодняшний день строго ограничено следующими [7]:

1. Дефицит естественных антикоагулянтов. Первые описания «семейных» тромбозов относятся к 1965-1984 годам и связаны с обнаружением дефицита антикоагулянтных компонентов плазмы — антитромбина, протеина С и протеина S. К этому же времени относится и первое применение термина «наследственная тромбофилия», т.е. первичная генетически обусловленная склонность к тромбозам, хотя «эссенциальная

Таблица 1. Факторы риска тромбозов (по F.R. Rosendaal и P.H. Reitsma [6]).

Приобретенные факторы риска	Врожденные факторы риска	Смешанные (или неизвестные по принадлежности)
Имобилизация Гипсовая повязка Травма Большие хирургические вмешательства Ортопедические операции Злокачественные новообразования Оральные контрацептивы Гормональная заместительная терапия Антифосфолипидный синдром Миелопролиферативные заболевания Эссенциальная полицитемия Наличие центрального венозного катетера Возраст Ожирение	Дефицит антитромбина Дефицит протеина С Дефицит протеина S Фактор V Лейден Фактор II 20210A Дисфибриногенемия Фактор XIII 34val Фибриноген (G) 10034T Группа крови не 0(I)	Высокий уровень факторов: Фактора VIII Фактора IX Фактора XI Фактора I (фибриногена) TAFI Низкий уровень TFPI aPC-резистентность Гипергомоцистеинемия Высокий уровень ингибитора протеина С (PAI-3)

TAFI — активируемый тромбином ингибитор фибринолиза;

TFPI — ингибитор пути тканевого фактора;

PAI-3 — ингибитор активатора плазминогена 3 типа.

тромбофилия» описана на примере 5 случаев Nygaard KK, Brown GE в 1937 году [8]. В 1965 г. O. Egeberg описал семью с наследственным дефицитом антитромбина [9]. Частота встречаемости этих нарушений в популяции очень мала — менее 1%. Наследственный дефицит антитромбина обнаруживается у 1 на 5 000 населения [7]. Спектр мутаций, вызывающих дефицит антитромбина, протеина С или протеина S, очень широк; только для протеина С их найдено более 160 [10]. Поэтому методом выявления дефицита естественных антикоагулянтов являются функциональные исследования их активности, но не генетический анализ.

2. Мутация фактора V — фактор V Лейден [11, 12]. Мутация в гене фактора V вносит существенный вклад в формирование наследственной предрасположенности к тромбозам и связана с развитием резистентности к активированному протеину C. Мутация описана в г. Лейден в 1994 году R.M. Bertina et al. и названа лейденской. В результате генетической поломки происходит замена аминокислоты аргинина на глутамин в 506 положении последовательности белка, что нарушает сайт расщепления фактора V активированным протеином C. Скорость инактивации фактора V Лейден протеином C в 10 раз медленнее, чем у нормального фактора V, что проявляется гиперкоагуляционным состоянием и при определенных условиях может способствовать развитию тромбоза. Частота встречаемости данной мутации в европейской популяции колеблется от 2% до 7%, однако крайне редка в странах Азии и Африки [13]. Относительный риск развития ТГВ у гетерозиготных носителей фактора V Лейден возрастает в 5 раз, а у гомозиготных — в 50 раз. При этом большое значение имеют клинические проявления такого генетического дефекта и семейный анамнез [14]. У лиц со строгой семейной историей тромбозов частота встречаемости ВТЭО до возраста 65 лет у носителей фактора V Лейден составляет 50%; в то время как в отсутствие семейной истории при наличии такого же генетического дефекта риск составляет лишь 25% [15].

3. Протромбин 20210A [16]. Мутация в гене протромбина, связанная с заменой нуклеотида G на A в 20210 позиции 3'-нетранслируемой области (3'-UTR) гена протромбина, ведет к увеличению синтеза белка и повышению уровня протромбина плазмы. Частота мутации протромбина 20210A составляет 1-4% в популяции в целом, но частота встречаемости среди

больных с венозными тромбозами может достигать 20% [17]. Риск развития тромботических осложнений особенно высок при сочетании мутаций протромбина 20210A с фактором V Лейден, увеличиваясь у компаунд-гетерозигот в 20 раз по сравнению с лицами, не имеющими данных генетических нарушений. Кроме того, у пациентов с комбинацией лейденской мутации и мутации в гене протромбина тромбозы развиваются в более молодом возрасте и имеют атипичную локализацию.

Представленные выше наследственные тромбофилические дефекты отмечены в последних рекомендациях по антиромботической терапии [18]. Они же учтены при ведении женщин в период беременности и вспомогательных репродуктивных процедур. *За десятилетия, прошедшие с момента открытий первых тромбофилических наследуемых дефектов, было исследовано значение полиморфизмов генов ферментов фолатного цикла, фибриногена, ингибитора активатора плазминогена, тромбоцитарных рецепторов и многих других на риски патологического тромбообразования. Все они были отнесены к слабым генетическим факторам, влияющим на предрасположенность к тромбозам, которые вносят вклад в этиологию ВТЭО у конкретного больного либо при ярком фенотипическом проявлении (например, повышение уровня гомоцистеина на 50% и более), либо при сочетании с активными внешними средовыми воздействиями [19]. Большая часть выявленных полиморфизмов влияет на артериальное тромбообразование, развитие инфаркта миокарда и ишемического инсульта, но не на ВТЭО.*

Выбор программы лабораторного обследования и отдельных тестов для выявления тромбофилии — непростая клиническая задача. В любом случае диагностика начинается с тщательного сбора анамнеза и осмотра больного. Важно обратить внимание на анамнез данного заболевания, анамнез жизни, включая гинекологический у женщин, и на семейную историю ранних тромбозов и эмболий, инфарктов и ишемических инсультов.

Молекулярно-генетический скрининг на тромбофилию в настоящее время не считается целесообразным [20]. Большинство экспертов поддерживают идею исследования на наследственную тромбофилию только выборочно в отдельных группах больных и только по 2 генетическим позициям с дополнительным включением 3-х функциональных исследований — антиромбин, протеин С и протеин S [21]. Показания к такому тестированию разработаны профессиональными сообществами — Американской Ассоциацией патологов (CAP) и Американской Ассоциацией Медицинских Генетиков (AMCG) [22]. Анализ должны подвергаться следующие группы [20]:

- имеющие повторные тромбозы и эмболии в анамнезе,
- при первом эпизоде тромбоза или эмболии лица в возрасте моложе 50 лет,
- пациенты с необычной анатомической локализацией тромбоза (вены верхних конечностей, селезеночная вена и др.),
- случаи, когда первый эпизод тромбоза или эмболии связан с беременностью, родами, приемом оральных контрацептивов, гормональной заместительной терапией
- женщины с самопроизвольным прерыванием беременности на втором или третьем триместре неясной этиологии.

На практике только 51%-65% больных, имеющих соответствующие показания, подвергаются данному исследованию [21], и наоборот, часть обследованных соответствующих показаний не имеют.

В настоящее время общепринятым является мнение, что знание о наличии тромбофилического дефекта не должно влиять на тактику и длительность антикоагулянтной терапии тромбоза [23]. Это мнение основывается на том факте, что

гетерозиготное носительство мутации фактора V (Leiden) или фактора II (G20210A) не увеличивает достоверно риск повторных эпизодов. Если в отношении дефицита естественных антикоагулянтов, особенно антиромбина, на вопрос об опасности повторных эпизодов ответ положительный — да, опасность высока, то мутации фактора V и фактора II продолжают изучаться. В мета-анализе, предпринятом в 2006 году (10 исследований для фактора V Лейден и 9 исследований для фактора II, всего 6 007 пациентов), было показано, что гетерозиготное носительство лейденской мутации встречается у лиц с первым эпизодом тромбоза в 21,4% и увеличивает риск повторного тромбоза в 1,41 раза [22]. Для гетерозиготной мутации фактора II эти значения составили 9,7% и 1,72, соответственно, демонстрируя более редкую встречаемость, но большую опасность повтора. Необходимость продленной терапии после первого эпизода остается неясной. Решение принимается индивидуально с учетом всех факторов, имеющих у данного пациента, и пересматривается каждые 6 месяцев на фоне продолжающейся терапии.

Эти рассуждения не касаются гомозиготных носителей мутаций фактора V Лейден и фактора II или сочетания двух дефектов в гетерозиготном варианте. Наличие гомозиготной ситуации или компаунд-гетерозигот существенно ухудшает ситуацию и требует пролонгированной профилактики. При выявлении таких факторов терапия непрямыми антикоагулянтами проводится неопределенно долго (пожизненно) [18]. Однако, в настоящее время ведение больных меняется на основании генетического тестирования только в 20% случаев [22].

Выявление генетических дефектов у родственников пациента, не имевших в анамнезе тромбозов (бессимптомные родственники первой линии), не влечет за собой обязательной фармакологической профилактики. Рекомендуется избегать ситуаций риска, а при их возникновении (операция, травма, беременность и др.) вопрос о профилактике решается индивидуально и в пользу самых активных действий. Женщинам этой группы не рекомендуется прием эстроген-содержащих препаратов, а первая беременность должна быть обязательно выношена.

Семейное тестирование рассматривается как одна из важнейших проблем в генетическом исследовании на тромбофилию. Потенциальная польза выявления генетических дефектов 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.

Закключение

Диагноз наследственной тромбофилии должен основываться на анамнестических и лабораторных данных, которые включают комплекс функциональных и генетических лабораторных исследований с выявлением строго предрасполагающих факторов — дефицита антиромбина, протеинов С и S, мутации фактора V Лейден и мутации гена протромбина G20210A. Такой подход обоснован доказательной базой и является наиболее рациональным в определении тактики ведения больного и консультировании членов его семьи.

Ссылки на литературные источники сохраняются в издательстве и высылаются по просьбе читателей.