

ТРОМБОЗЫ У БОЛЬНЫХ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ГИПОФИБРИНОГЕМИЕЙ

Яковлева Е. В.^{*}, Саломашкина В. В., Сурин В. Л., Селиванова Д. С., Лаврова П. С., Горгидзе Л. А., Соболева Н. П., Зозуля Н. И.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125167, Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. В большинстве случаев у больных наследственным дефицитом фибриногена клинические проявления представлены различными по интенсивности и локализации кровотечениями. Однако клиническая картина наследственного дефицита фибриногена может проявляться и тромбозами.

Цель — охарактеризовать выявленные мутации в генах фибриногена и проанализировать протромботические факторы у больных наследственной гипофибриногенемией и тромбозами.

Методы. Наблюдали 49 больных наследственной гипофибриногенемией, из них у 46 больных в анамнезе не было тромбозов, у 3 больных были тромбозы в анамнезе. Эти 3 больных составили группу исследования.

Результаты. У всех 3 больных в гене гамма-цепи фибриногена (*FGG*) обнаружены гетерозиготные мутации, у одного из них — неописанная ранее делеция *g.2653_2684+211del*, *p. (Asp167Glufs*2)*, удаляющая 32 концевых нуклеотида пятого экзона гена *FGG* и приводящая к образованию стоп-кодона на месте аминокислоты 168. У 2 других больных — миссенс-мутации *c.1140T>A*, *p. (Cys365Ser)* и *c.1114A>T*, *p. (Asp356Val)*, которые могут определять тромбогенные свойства измененной белковой структуры фибриногена. Также выявлены иные протромботические факторы: генетические полиморфизмы низкого тромботического риска, операция, прием комбинированных оральных контрацептивов.

Заключение. Наследственный дефицит фибриногена не играет протекторную роль в отношении развития тромбозов и может явиться причиной развития тромбозов, что связано с его многофункциональной ролью в системе гемостаза. Патогенез развития тромбозов у больных наследственной гипофибриногенемией мультифакторный и может быть связан с характеристиками основного белкового дефекта и сосуществованием наследственных и приобретенных факторов тромботического риска (оперативные вмешательства, прием комбинированных оральных контрацептивов и др.).

Ключевые слова: наследственные коагулопатии, наследственный дефицит фибриногена, гипофибриногенемия, гиподисфибриногенемия, тромбозы

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Яковлева Е.В., Саломашкина В.В., Сурин В.Л., Селиванова Д.С., Лаврова П.С., Горгидзе Л.А., Соболева Н.П., Зозуля Н.И. Тромбозы у больных наследственной гипофибриногенемией. Гематология и трансфузиология. 2022; 67(2): 193–201. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-67-2-193-201>

THROMBOSIS IN PATIENTS WITH HEREDITARY FIBRINOGEN DEFICIENCY

Yakovleva E. V., Salomashkina V. V., Surin V. L., Selivanova D. S., Lavrova P. S., Gorgidze L. A., Soboleva N. P., Zozulya N. I.

National Medical Research Center for Hematology,
125167, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. In most cases, in patients with hereditary fibrinogen deficiency, clinical manifestations are represented by bleeding of varying intensity and localization. However, the clinical picture of hereditary fibrinogen deficiency can also be represented by thrombosis.

Aim — to characterize the detected mutations in fibrinogen genes and to analyze prothrombotic factors in patients with hereditary hypofibrinogenemia and thrombosis.

Materials and methods. Forty-nine patients with hereditary hypofibrinogenemia were observed, of which 46 patients had no history of thrombosis and 3 patients had a confirmed history of thrombosis. These 3 patients made up the study group.

Results. Heterozygous mutations were found in all 3 patients in the fibrinogen gamma chain gene (*FGG*), one of them had a previously undescribed deletion g.2653_2684+211del, p.(Asp167Glufs*2), which removes 32 terminal nucleotides of the fifth exon of the *FGG* gene and leads to the formation of a stop codon in place of amino acid 168. In two other patients, there were missense mutations c.1140T>A, p.(Cys365Ser) and c.1114A>T, p.(Asp356Val), which can determine the thrombogenic properties of the altered protein structure of fibrinogen. Other prothrombotic factors were also identified: genetic polymorphisms of low thrombotic risk, surgery, taking combined oral contraceptives.

Conclusion. Hereditary fibrinogen deficiency does not play a protective role in relation to the development of thrombosis and may cause the development of thrombosis, which is associated with its multifunctional role in the hemostasis system. The pathogenesis of thrombosis in patients with hereditary hypofibrinogenemia is multifactorial and may be associated with the characteristics of the main protein defect and the coexistence of hereditary and acquired thrombotic risk factors (surgical interventions, taking combined oral contraceptives, etc.).

Keywords: congenital bleeding disorders, hereditary fibrinogen deficiency, hypofibrinogenemia, hypodisfibrinogenemia, thrombosis

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Yakovleva E.V., Salomashkina V.V., Surin V.L., Selivanova D.S., Lavrova P.S., Gorgidze L.A., Soboleva N.P., Zozulya N.I. Thrombosis in patients with hereditary fibrinogen deficiency. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (*Gematologiya i transfuziologiya*). 2022; 67(2): 193–201 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-67-2-193-201>

Введение

В большинстве случаев у больных с наследственным дефицитом фибриногена клинические проявления представлены малоинтенсивными или жизнеугрожающими кровотечениями, а при незначительном уменьшении концентрации фибриногена в плазме у них может не быть клинических проявлений [1–5]. Однако клиническая картина наследственного дефицита фибриногена может быть представлена и тромбозами [6–8]. Это определяется многофункциональной ролью фибриногена [8–11]. Прокоагулянтные свойства

фибриногена обусловлены формированием прочного нерастворимого сгустка, антикоагулянтные — действием в качестве антитромбина (антитромбин I) [12–14]. Фибриноген, наряду с тромбином, является регулятором коагуляционного каскада, тромбоцитарного гемостаза, участником фибринолитического процесса. Артериальные и венозные тромбозы разной локализации описаны при различных вариантах наследственного дефицита фибриногена: при афибриногемии (концентрация фибриногена плазмы < 0,1 г/л — следы), гипофибриногемии (концентрация фибриногена

плазмы < 1,8 г/л), гиподисфибриногемии (уменьшение концентрации фибриногена плазмы в сочетании с изменением его структуры) [15–24]. Более того, дисфибриногемия некоторыми авторами рассматривается как тромбофилия, т.к. у 20% больных дисфибриногемия проявляется тромбозами [24, 25]. Основными патогенетическими механизмами тромбообразования при наследственных дефицитах фибриногена предполагаются высокая концентрация циркулирующего тромбина ввиду дефицита субстрата и отсутствие достаточной инактивации тромбина из-за отсутствия несубстратного связывания с сайтами фибрина. Высокая концентрация циркулирующего тромбина приводит к активации и агрегации тромбоцитов, секреции фактора роста гладкомышечных клеток и гиперплазии интимы. Патогенез тромбозов также связан с нарушением процессов полимеризации фибрина, деградации фибрина плазмином и изменением свойств сгустка, приводящих к легкой фрагментации [6, 15].

В связи с таким разнонаправленным разнообразием клинических проявлений комитетом по стандартизации Международной ассоциации по тромбозу и гемостазу в 2018 г. была пересмотрена и принята новая классификация наследственных нарушений образования фибриногена, основанная на клинических и лабораторных данных и включающая формы наследственного дефицита фибриногена, проявляющиеся тромбозами [26]. Такой дифференциальный подход принципиален, так как позволяет быть настоящим врачу в отношении как кровотечений, так и тромбозов, и продумывать тактику лечения этих больных. Однако в развитии тромбозов могут принимать участие и другие наследственные и приобретенные факторы.

Цель настоящего исследования — охарактеризовать выявленные мутации в генах фибриногена и проанализировать протромботические факторы у больных наследственной гипофибриногемией и тромбозами.

Материалы и методы

В отделении коагулопатий ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России под наблюдением состоят 49 больных с наследственным дефицитом фибриногена. Диагноз указанным больным установлен на основании клинических и анамнестических данных, определения концентрации фибриногена клоттинговым методом. Наследственный характер заболевания подтвержден либо генетическим исследованием, либо семейным обследованием, когда у одного из родителей или сиблингов больного также определялось низкое содержание фибриногена в плазме. У 46 из 49 больных анамнез не отягощен тромботическими событиями, тогда как у 3 больных были тромбозы в анамнезе. Эти больные и составили группу исследования.

У больной В. диагноз наследственного дефицита фибриногена установлен в возрасте 31 года на основании клинических данных (кровотечение после лапароскопического гинекологического вмешательства, кровотечение после экстракции зуба), лабораторных данных (уменьшение концентрации фибриногена плазмы), данных семейного обследования (у родного брата также концентрация фибриногена плазмы значительно меньше нормы). Катетер-ассоциированный тромбоз медиальной и латеральной подкожных вен левой верхней конечности случился в возрасте 30 лет при проведении трансфузионной терапии после оперативного вмешательства.

У больной Ш. диагноз наследственного дефицита фибриногена установлен в возрасте 27 лет на основании клинических данных (экхимозы, кровотечение после родов), лабораторных данных (значительное уменьшение концентрации фибриногена плазмы), данных семейного обследования (у родной сестры также концентрация фибриногена плазмы значительно меньше нормы). Тромбоз эмболия легочной артерии (ТЭЛА) диагностирована в возрасте 26 лет.

Больному Б. диагноз наследственного дефицита фибриногена установлен в возрасте 68 лет на основании лабораторных данных (значительное уменьшение концентрации фибриногена плазмы) и данных семейного обследования (у сына концентрация фибриногена плазмы также меньше нормы). Анамнез по кровоточивости у данного больного не отягощен. Тромбоз общей бедренной вены, поверхностной бедренной вены, подколенной вены с обеих сторон состоялся у него в возрасте 60 лет.

Для проведения молекулярно-генетического анализа использовали ДНК, выделенную из ядерных клеток периферической крови, взятой в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА. ДНК выделяли стандартным фенол-хлороформным методом. Определение последовательности ДНК генов альфа-, бета- и гамма-цепей фибриногена (*FGA*, *FGB*, *FGG*) проводили секвенированием по методу Сэнгера и определением первичной структуры всех функционально значимых участков, включающих промоторную область, кодирующие участки, экзон-интронные сочленения и сигнал полиаденилирования. Амплификацию проводили с помощью праймеров, разработанных в лаборатории генной инженерии. Для цепей фибриногена существуют две нумерации, первая из них начинается с первой аминокислоты исходно синтезируемого белка, а вторая — с первой аминокислоты зрелого белка, который образуется после отщепления сигнального пептида; в случае гамма-цепи фибриногена разница между двумя системами нумерации составляет 26 аминокислот. Далее будет использоваться нумерация, начинающаяся с первой аминокислоты исходного белка.

Определение фибриногена по Клауссу проводили клоттинговым методом на анализаторе «Sysmex CA-600» согласно инструкции производителя (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Германия) с помощью реагента «Dade Thrombin Reagent», содержащего лиофилизированный бычий тромбин. Результат рассчитывается анализатором путем определения концентрации фибриногена в плазме (г/л) по калибровочной кривой и времени свертывания разведенной эталонной плазмы. Наличие фибриногена в плазме также определяли с помощью метода иммунофиксации в геле агарозы с использованием моноспецифической антисыворотки (тест-система «Hydragel 4IF», Sebia, Франция); антисыворотки «Anti-Human Fibrinogen» (Dako Inc, Дания). Ориентировочную оценку количества фибриногена проводили по результатам электрофореза плазмы с выделением фракции фибриногена и последующей денситометрией (тест-система «Capillarys Protein (E) 6», Sebia, Франция).

Поиск протромботических факторов включал сбор анамнестических данных с учетом сопутствующих заболеваний, перенесенных операций, гормональной терапии, вредных привычек, а также проведение лабораторных исследований: определение активности естественных антикоагулянтов (антитромбина III (АТ III), протеина С, протеина S), волчаночного антикоагулянта (ВАК), концентрации антифосфолипидных антител (антител классов G и M к кардиолипину, бета-2-гликопротеину, фосфолипидам, аннексину V, фосфатидилсерину), концентрации гомоцистеина, генетических маркеров тромбофилии.

С целью проведения тестов для определения активности АТ III, протеина С, протеина S, ВАК и концентрации гомоцистеина в плазме использовали реактивы Hemosil (IL), анализ проводили на приборе «ACL TOP 700» (Werfen). Активность АТ III и протеина С в плазме определяли хромогенным методом. Активность протеина S и концентрацию гомоцистеина в плазме определяли иммунотурбидиметрическим методом. ВАК оценивали с использованием клоттинговых тестов, основанных на применении яда гадюки Рассела и кварцевого активатора. Антитела к бета-2-гликопротеину и кардиолипину классов M и G определяли хемилюминесцентным двухстадийным иммуноферментным методом на приборе «ACL AcuStar II» с использованием оригинальных реактивов.

Результаты

Молекулярное исследование позволило выявить изменение первичной структуры в гене гамма-цепи фибриногена (*FGG*) у всех исследуемых больных. У больной В. найдена делеция *g.2653_2684+211del, p.(Asp167Glufs*2)*, удаляющая 32 концевых нуклеотида пятого экзона гена *FGG* и приводящая к образованию стоп-кодона на месте аминокислоты 168. У больной Ш.

обнаружена миссенс-мутация *c.1140T>A, p.(Cys365Ser)*. У больного Б. выявлена миссенс-мутация *c.1114A>T, p.(Asp356Val)*. У всех троих больных найденные мутации являются гетерозиготными.

Концентрация фибриногена в плазме у больной В. составила 1 г/л (норма — 1,8–4,0 г/л), у больной Ш. — 0,21 г/л, у больного Б. — 0,57 г/л.

При иммунофиксации у больной В. определено наличие в плазме следового количества фибриногена. По результатам электрофореза с денситометрией концентрация фибриногена у больной Ш. составила около 1 г/л. У больного Б. данное исследование не проводилось.

Дальнейший лабораторный анализ включал поиск наследственных и приобретенных протромботических факторов. Дефициты естественных антикоагулянтов были исключены у всех больных. У больной В. активность АТ III в плазме составила 101% (референсные значения — 80–128%), активность протеина С — 91% (референсные значения — 70–140%); у больной Ш.: АТ III — 118%, активность протеина С — 136%; у больного Б.: активность АТ III — 116%, активность протеина С — 124%. Определение антител к бета-2-гликопротеину, кардиолипину, фосфолипидам было выполнено у всех больных; определение антител к аннексину V и фосфатидилсерину выполнено у 1 больной. Исследование на ВАК проведено у 2 больных. Данные обследования на антифосфолипидный синдром (АФС) представлены в таблице 1.

Поиск генетических предрасполагающих тромботических факторов включал определение полиморфизмов, ассоциированных с высоким и низким риском развития тромбозов (табл. 2).

У всех больных отсутствовали функциональные полиморфизмы в генах *F2 (20210 G>A)* и *F5 (1691 G>A)*, ассоциированные с высоким риском развития тромбозов. У 2 больных выявлен гетерозиготный полиморфизм *FGB (-455 G>A)*. У 2 больных выявлены гетерозиготные полиморфизмы генов *ITGA2 (807 C>T)* и *ITGB3 (1565 T>C)*. У 2 больных выявлен гетерозиготный полиморфизм *PAI-1 (-675 5G/5G)*. При анализе мутаций генов фолатного цикла (*MTHFR, MTR, MTRR*) у 3 больных обнаружены гетерозиготные полиморфизмы *MTHFR (677 C>T)*, *MTHFR (1298 A>C)* и *MTR (2756 A>G)*. Последующий анализ определения концентрации гомоцистеина у 2 больных показал его нормальные значения (табл. 3).

Анализ анамнестических данных позволил выявить, что у больной В. катетер-ассоциированные тромбозы медиальной и латеральной подкожных вен левой верхней конечности состоялись при проведении трансфузионной терапии после выполнения гистероскопии и отдельного диагностического выскабливания. Данное оперативное вмешательство у больной проводили в связи планированием беременности.

Таблица 1. Лабораторные параметры АФС у больных с наследственным дефицитом фибриногена и тромбозами
Table 1. Laboratory parameters of antiphospholipid syndrome in patients with hereditary fibrinogen deficiency and thrombosis

| Параметр Parameter | Больная В. Patient V. | Больная Ш. Patient Sh. | Больной Б. Patient B. |
|---|---|---------------------------|--------------------------|
| ВАК/LAC | отрицательный negative | отрицательный negative | нд/nd |
| Анти-β 2GPI (IgG, IgM, IgA), ед/мл (норма < 10) Anti-β 2GPI (IgG, IgM, IgA), U/mL (normal range < 10) | 3,6 | 10 | 2 |
| АКЛ, МЕ/мл (норма < 12) ACA, IU/mL (normal range < 12) | IgG, IgM, IgA 2,3 | IgG – 1,4 IgM – 2,0 | IgG – 1,08 IgM – 1,13 |
| Антитела к фосфолипидам, ед./мл, (IgG норма < 10; IgM норма < 12) Antiphospholipid antibodies, U/mL (IgG normal range < 10; IgM normal range < 12) | IgG – 0,5 IgM – 0,5 | IgG – 2,37 IgM – 2,66 | IgM – 1,0 IgG – 1,3 |
| Антитела к аннексину V, ед./мл (IgG норма < 10), Antiannexin V antibodies, U/mL (IgG normal range < 10) | IgG – 1,0 IgM – не выявлены not found | нд/nd | нд/nd |
| Антитела к фосфатидилсерину, ед./мл (IgG норма < 10; IgM норма < 10) aPS, U/mL (IgG normal range < 10; IgM normal range < 10) | IgG – 2,2 IgM – 0,9 | нд/nd | нд/nd |

Примечание: ВАК – волчаночный антикоагулянт, анти-β2GPI – антитела к бета-2-гликопротеину 1, АКЛ – антитела к кардиолипину, нд – нет данных.

Note: LAC – lupus anticoagulant, Anti-β2GPI – anti-beta-2-glycoprotein 1 antibodies, ACA – anti-cardiolipin antibodies, aPS – antiphosphatidylserine antibodies, nd – no data

Таблица 2. Генетические маркеры тромбофилии у больных с наследственным дефицитом фибриногена и тромбозами
Table 2. Genetic markers of thrombophilia in patients with hereditary fibrinogen deficiency and thrombosis

| Полиморфизм Polymorphism | Больная В. Patient V. | Больная Ш. Patient Sh. | Больной Б. Patient B. |
|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| F2 (20210 G>A) | G/G | G/G | G/G |
| F5 (1691 G>A) | G/G | G/G | G/G |
| FGV (-455 G>A) | G/A | G/A | G/G |
| ITGA2 (807 C>T) | C/C | C/T | C/T |
| ITGB3 (1565 T>C) | T/T | T/C | T/C |
| PAI-1 (-675 5G/5G) | 5G/5G | 5G/4G | 5G/4G |
| MTHFR (677 C>T) | C/T | C/C | C/T |
| MTHFR (1298 A>C) | A/A | A/C | A/C |
| MTR (2756 A>G) | A/G | нд/nd | нд/nd |
| MTRR (66 A>G) | A/A | нд/nd | нд/nd |

Примечание: нд – нет данных.

Note: nd – no data.

Таблица 3. Концентрация гомоцистеина в плазме крови больных
Table 3. The concentration of homocysteine in the blood plasma of patients

| Параметр Parameter | Больная В. Patient V. | Больная Ш. Patient Sh. | Больной Б. Patient B. |
|--|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Гомоцистеин, мкмоль/л (норма 5–15) Homocysteine, μmol/L (normal range 5–15) | 11,5 | нд/nd | 13,6 |

Примечание: нд – нет данных.

Note: nd – no data.

Сопутствующими заболеваниями больная не страдает, комбинированные оральные контрацептивы (КОК) не использовала, курение отрицала. Анамнестические данные больной Ш. свидетельствовали о приеме КОК, назначенных после родов. ТЭЛА состоялась через год на фоне приема КОК. У больной не было в анамнезе хронических заболеваний или оперативных вмешательств. Анамнез больного Б. отягощен хроническими заболеваниями: сахарным диабетом 2-го типа, гипертонической болезнью. Однако указанные забо-

левания дебютировали после состоявшегося тромбоза. Оперативное вмешательство по поводу острого аппендицита случилось за 7 лет до тромботического случая.

Обсуждение

Генетическое исследование при дефиците фибриногена в России в настоящее время не является рутинным. Оно позволяет подтвердить наследственный характер заболевания, верифицировать тот или иной молекулярный дефект, который вызвал количественное

или качественное изменение фибриногена. Накопление генетических данных представляет особый интерес в контексте выявления корреляции между определенными генетическими дефектами в генах *FGA*, *FGB*, *FGG* и клиническими проявлениями: кровотечениями, тромбозами или их сочетанием. Это является важным для прогнозирования течения заболевания и подбора терапии. По данным Human Gene Mutation Database (HGMD) [27], в гене *FGA* выявлено 142 генетических дефекта, в *FGB* — 90, а в гене *FGG* — 131. Накопленные данные о структуре фибриногена как белка, а также о клинических проявлениях, к которым приводят те или иные мутации, позволили выделить участки белка, наиболее важные для его функционирования. В частности, это так называемые β- и γ-узелки, формируемые соответствующими цепями фибриногена и кодируемые экзонами 5–8 гена *FGB* и экзонами 5–9 гена *FGG*. Анализ базы генетических данных Groupe d'Etude sur l'Hémostase de la Thrombose (GENT) [15] показал, что из 294 мутаций в этих экзонах 108 ассоциировались с кровотечением, 42 — с тромбозами, 23 — и с кровотечениями, и с тромбозами.

Согласно настоящему исследованию, у больной В. выявлена делеция в гене *FGG*, которая приводит к обрыву синтеза γ-цепи фибриногена. Она не была описана ранее, однако ее расположение в середине гена позволяет предполагать количественный дефект фибриногена, поскольку одна из двух копий гена у больной фактически отсутствует. В двух других случаях были выявлены миссенс-мутации, которые описаны ранее другими исследователями. Замена р.(Cys365Ser), выявленная у больной Ш., описана у женщины с отягощенным анамнезом по кровоточивости и отсутствием тромботических эпизодов [28]. Цистеин в этой позиции необходим для формирования правильной структуры фибриногена, а его замена на серин приводит к синтезу белка с аномальной подвижностью в лабораторных условиях [29]. Замена р.(Asp356Val), выявленная у больного Б., также была описана ранее [30] и упоминалась как фибриноген Ale's [31] и Milano I [32]. В одном из случаев гетерозиготная мутация не привела к каким-либо клиническим проявлениям [32]; в другом [31] в семье из четырех человек двое гетерозиготных носителей и одна гомозиготная носительница были асимптомны, а в другом случае у гомозиготного носителя произошло два артериальных тромбоза при отсутствии каких-либо кровотечений. Также описано наблюдение гетерозиготного носительства у женщины, у которой в послеродовом периоде развились гематокальпоз и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания [30]. Замена этой аминокислоты приводит к нарушению полимеризации фибрина.

У 2 больных выявленные мутации сочетаются с гетерозиготным полиморфизмом *FGB* (-455 G>A). В общей

популяции этот полиморфизм в регуляторной области гена *FGB* приводит к повышенной экспрессии белка, что определяет протромботические риски. Гены *FGG*, в которых были найдены мутации у обследованных больных, и *FGB*, на экспрессию которого влияет полиморфизм -455 G>A, находятся рядом на хромосоме, но синтезируются независимо друг от друга. Поэтому сложно оценить, как могут взаимодействовать эффекты выявленных мутаций и полиморфизма *FGB* (-455 G>A).

Дифференциальный диагноз гипофибриногенемии и гиподисфибриногенемии сложен и требует проведения двух лабораторных исследований — клоттингового теста и теста, основанного на определении антигена фибриногена иммунологическими методами. Первый тест определяет функциональную активность фибриногена, второй — концентрацию фибриногена по его антигену. Расхождение результатов тестов свидетельствует о качественных нарушениях структуры фибриногена, то есть о дисфибриногенемии. Соотношение функционального фибриногена к антигену фибриногена менее 0,7 является лабораторным критерием дисфибриногенемии [33–35]. Ввиду отсутствия возможности определения антигена фибриногена, в настоящей работе был использован метод электрофореза с иммунофиксацией с целью подтверждения наличия фибриногена в плазме и ориентировочной оценки его содержания. У больной В. низкие значения концентрации фибриногена в клоттинговом тесте соответствовали следовому количеству фибриногена при проведении иммунофиксации. У больной Ш. содержание фибриногена по данным денситометрии значительно превышало таковое при проведении клоттингового теста, что позволило заподозрить гиподисфибриногенемию. Такие результаты согласуются с результатами генетического анализа, поскольку у больной В. одна из копий гена *FGG* полностью нефункциональна, в то время как у больной Ш. найдена аминокислотная замена, не приводящая к полному отсутствию синтеза белка.

Анализ анамнестических факторов показал у одной больной наличие взаимосвязи тромбоза с оперативным вмешательством и катетеризацией периферической вены, у другой больной — с приемом КОК. У третьего больного отягощающие заболевания дебютировали через несколько лет после состоявшегося тромбоза, а оперативное вмешательство случилось задолго до него.

При лабораторном исследовании ни у одного из больных не подтвердился АФС, не выявлены мажорные генетические мутации в генах *F2* (20210 G>A) или *F5* (1691 G>A). Наиболее распространенными генетическими маркерами тромбофилии в этой группе оказались гетерозиготные полиморфизмы в генах *FGB* (-455 G>A), *ITGA2* (807 C >T) и *ITGB5* (1565 T>C), *PAI-1* (-675 5G/5G), *MTHFR* (677 C >T, 1298 A>C), *MTR* (2756 A>G).

Таким образом, наследственный дефицит фибриногена не оказывает протекторного действия в отношении развития тромбозов. Более того, наследственный дефицит фибриногена может являться причиной развития тромбозов, что связано с его многофункциональной ролью в системе гемостаза. Патогенез развития

тромбозов у больных с наследственным нарушением образования фибриногена многофакторный и может быть связан с определенными специфическими характеристиками основного белкового дефекта и сосуществованием наследственных и приобретенных факторов тромботического риска.

Литература

1. Franchini M., Marano G., Pupella S., et al. Rare congenital bleeding disorders. *Ann Transl Med.* 2018; 6(17): 331. DOI: 10.21037/atm.2018.08.34.
2. Palla R., Peyvandi F., Shapiro AD. Rare bleeding disorders: Diagnosis and treatment. *Blood.* 2015; 125(13): 2052–61. DOI: 10.1182/blood-2014-08-532820.
3. Mumford A.D., Ackroyd S., Alikhan R., et al. Guideline for the diagnosis and management of the rare coagulation disorders: United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization guideline on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2014; 167(3): 304–26. DOI: 10.1111/bjh.13058.
4. Acharya S.S., Dimichele D.M. Rare inherited disorders of fibrinogen. *Haemophilia.* 2008; 14(6): 1151–8. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01831.x.
5. Shetty S., Shelar T., Mirgal D., et al. Rare coagulation factor deficiencies: A countrywide screening data from India. *Haemophilia.* 2014; 20(4): 575–81. DOI: 10.1111/hae.12368.
6. Neerman-Arbez M., Casini A. Clinical consequences and molecular bases of low fibrinogen levels. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(1): 192. DOI: 10.3390/ijms19010192.
7. Ruiz-Sáez A. Thrombosis in rare bleeding disorders. *Hematology.* 2012; 17(Suppl 1): S156–8. DOI: 10.1179/102453312X13336169156690.
8. Яковлева Е.В., Сурин В.Л., Селиванова Д.С. и др. Наследственная афибриногенемия: обзор литературы и клинические наблюдения. *Терапевтический архив.* 2016; 88(12): 120–5. DOI: 10.17116/terarkh20168812120-125.
9. Mosesson M.W. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(8): 1894–904. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01365.x.
10. Weisel J.W., Litvinov R.I. Fibrin formation, structure and properties. *Subcell Biochem.* 2017; 82: 405–56. DOI: 10.1007/978-3-319-49674-0_13.
11. Vilar R., Fish R.J., Casini A., Neerman-Arbez M. Fibrin(ogen) in human disease: Both friend and foe. *Haematologica.* 2020; 105(2): 284–96. DOI: 10.3324/haematol.2019.236901.
12. Ariëns R.A. Fibrin(ogen) and thrombotic disease. *J Thromb Haemost.* 2013; 11(Suppl 1): 294–305. DOI: 10.1111/jth.12229.
13. Mosesson M.W. Update on antithrombin I (fibrin). *Thromb Haemost.* 2007; 98(1): 105–8.
14. Mosesson M.W. Antithrombin I. Inhibition of thrombin generation in plasma by fibrin formation. *Thromb Haemost.* 2003; 89(1): 9–12.
15. Simurda T., Brunclikova M., Asselta R., et al. Genetic variants in the FGB and FGG genes mapping in the beta and gamma nodules of the fibrinogen molecule in congenital quantitative fibrinogen disorders associated with a thrombotic phenotype. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(13): 4616. DOI: 10.3390/ijms21134616.
16. Gallastegui N., Kimble E.L., Harrington T.J. Resolution of fibrinogen deficiency in a patient with congenital afibrinogenemia after liver transplantation. *Haemophilia.* 2016; 22(1): e48–51. DOI: 10.1111/hae.12802.
17. Takasugi Y., Shiokawa Y., Kajikawa R., et al. Mesenteric venous thrombosis in a patient with congenital afibrinogenemia and diffuse peritonitis. *Ann Hematol.* 2005; 84(2): 129–30. DOI: 10.1007/s00277-004-0958-4.
18. Sartori M.T., Milan M., de Bon E., et al. Thrombosis of abdominal aorta in congenital afibrinogenemia: Case report and review of literature. *Haemophilia.* 2015; 21(1): 88–94. DOI: 10.1111/hae.12507.

References

1. Franchini M., Marano G., Pupella S., et al. Rare congenital bleeding disorders. *Ann Transl Med.* 2018; 6(17): 331. DOI: 10.21037/atm.2018.08.34.
2. Palla R., Peyvandi F., Shapiro AD. Rare bleeding disorders: Diagnosis and treatment. *Blood.* 2015; 125(13): 2052–61. DOI: 10.1182/blood-2014-08-532820.
3. Mumford A.D., Ackroyd S., Alikhan R., et al. Guideline for the diagnosis and management of the rare coagulation disorders: United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organization guideline on behalf of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2014; 167(3): 304–26. DOI: 10.1111/bjh.13058.
4. Acharya S.S., Dimichele D.M. Rare inherited disorders of fibrinogen. *Haemophilia.* 2008; 14(6): 1151–8. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01831.x.
5. Shetty S., Shelar T., Mirgal D., et al. Rare coagulation factor deficiencies: A countrywide screening data from India. *Haemophilia.* 2014; 20(4): 575–81. DOI: 10.1111/hae.12368.
6. Neerman-Arbez M., Casini A. Clinical consequences and molecular bases of low fibrinogen levels. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(1): 192. DOI: 10.3390/ijms19010192.
7. Ruiz-Sáez A. Thrombosis in rare bleeding disorders. *Hematology.* 2012; 17(Suppl 1): S156–8. DOI: 10.1179/102453312X13336169156690.
8. Yakovleva E.V., Surin V.L., Selivanova D.S., et al. Hereditary afibrinogenemia: A literature review and clinical observations. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2016; 88(12): 120–5. DOI: 10.17116/terarkh20168812120-125. (In Russian).
9. Mosesson M.W. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost.* 2005; 3(8): 1894–904. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2005.01365.x.
10. Weisel J.W., Litvinov R.I. Fibrin formation, structure and properties. *Subcell Biochem.* 2017; 82: 405–56. DOI: 10.1007/978-3-319-49674-0_13.
11. Vilar R., Fish R.J., Casini A., Neerman-Arbez M. Fibrin(ogen) in human disease: Both friend and foe. *Haematologica.* 2020; 105(2): 284–96. DOI: 10.3324/haematol.2019.236901.
12. Ariëns R.A. Fibrin(ogen) and thrombotic disease. *J Thromb Haemost.* 2013; 11(Suppl 1): 294–305. DOI: 10.1111/jth.12229.
13. Mosesson M.W. Update on antithrombin I (fibrin). *Thromb Haemost.* 2007; 98(1): 105–8.
14. Mosesson M.W. Antithrombin I. Inhibition of thrombin generation in plasma by fibrin formation. *Thromb Haemost.* 2003; 89(1): 9–12.
15. Simurda T., Brunclikova M., Asselta R., et al. Genetic variants in the FGB and FGG genes mapping in the beta and gamma nodules of the fibrinogen molecule in congenital quantitative fibrinogen disorders associated with a thrombotic phenotype. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(13): 4616. DOI: 10.3390/ijms21134616.
16. Gallastegui N., Kimble E.L., Harrington T.J. Resolution of fibrinogen deficiency in a patient with congenital afibrinogenemia after liver transplantation. *Haemophilia.* 2016; 22(1): e48–51. DOI: 10.1111/hae.12802.
17. Takasugi Y., Shiokawa Y., Kajikawa R., et al. Mesenteric venous thrombosis in a patient with congenital afibrinogenemia and diffuse peritonitis. *Ann Hematol.* 2005; 84(2): 129–30. DOI: 10.1007/s00277-004-0958-4.
18. Sartori M.T., Milan M., de Bon E., et al. Thrombosis of abdominal aorta in congenital afibrinogenemia: Case report and review of literature. *Haemophilia.* 2015; 21(1): 88–94. DOI: 10.1111/hae.12507.

19. Simsek I., de Mazancourt P., Horellou M.H., et al. Afibrinogenemia resulting from homozygous nonsense mutation in A alpha chain gene associated with multiple thrombotic episodes. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2008; 19(3): 247–53. DOI: 10.1097/MBC.0b013e3282f564fd.
20. Dupuy E., Soria C., Molho P., et al. Embolized ischemic lesions of toes in an afibrinogenemic patient: Possible relevance to in vivo circulating thrombin. *Thromb Res*. 2001; 102(3): 211–9. DOI: 10.1016/s0049-3848(01)00247-x.
21. De Moerloose P., Boehlen F., Neerman-Arbez M. Fibrinogen and the risk of thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 2010; 36(1): 7–17. DOI: 10.1055/s-0030-1248720.
22. Fuchs R.J., Levin J., Tadel M., Merritt W. Perioperative coagulation management in a patient with afibrinogenemia undergoing liver transplantation. *Liver Transpl*. 2007; 13(5): 752–6. DOI: 10.1002/lt.21164.
23. Ozdemir M.A., İşik B., Patiroglu T., et al. A case of congenital afibrinogenemia complicated with thromboembolic events that required repeated amputations. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2015; 26(3): 354–6. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000200.
24. Ruiz-Saez A. Occurrence of thrombosis in rare bleeding disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2013; 39(6): 684–92. DOI: 10.1055/s-0033-1353391.
25. Acharya S.S., Dimichele D.M. Rare inherited disorders of fibrinogen. *Haemophilia*. 2008; 14(6): 1151–8. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01831.x.
26. Casini A., Undas A., Palla R., et al. Subcommittee on factor XIII and fibrinogen. Diagnosis and classification of congenital fibrinogen disorders: Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018; 16(9): 1887–90. DOI: 10.1111/jth.14216.
27. HGMD. URL: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>
28. Brennan S.O., Laurie A., Smith M. Novel FGG variant (γ339C→S) confirms importance of the γ326-339 disulphide bond for plasma expression of newly synthesised fibrinogen. *Thromb Haemost*. 2015; 113(4): 903–5. DOI: 10.1160/TH14-10-0849.
29. Zhang J.Z., Redman C. Fibrinogen assembly and secretion. Role of intrachain disulfide loops. *J Biol Chem*. 1996; 271(47): 30083–8. DOI: 10.1074/jbc.271.47.30083.
30. Chinni E., Tiscia G., Favuzzi G., et al. Identification of novel mutations in patients with fibrinogen disorders and genotype/phenotype correlations. *Blood Transfus*. 2019; 17(3): 247–54. DOI: 10.2450/2018.0123-18.
31. Lounes K.C., Soria C., Mirshahi S.S., et al. Fibrinogen Ale's: A homozygous case of dysfibrinogenemia (g-Asp3303Val) characterized by a defective fibrin polymerization site "a". *Blood*. 2000; 96(10): 3473–9.
32. Reber P., Furlan M., Henschen A., et al. Three abnormal fibrinogen variants with the same amino acid substitution (gamma 275 Arg----His): Fibrinogens Bergamo II, Essen and Perugia. *Thromb Haemost*. 1986; 56(3): 401–6.
33. Hayes T. Dysfibrinogenemia and thrombosis. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126(11): 1387–90. DOI: 10.5858/2002-126-1387-DAT.
34. Krammer B., Anders O., Nagel H.R., et al. Screening of dysfibrinogenemia using the fibrinogen function versus antigen concentration ratio. *Thromb Res*. 1994; 76(6): 577–9. DOI: 10.1016/0049-3848(94)90287-9.
35. Cunningham M.T., Brandt J.T., Laposata M., Olson J.D. Laboratory diagnosis of dysfibrinogenemia. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126(4): 499–505. DOI: 10.5858/2002-126-0499-LDOD.
19. Simsek I., de Mazancourt P., Horellou M.H., et al. Afibrinogenemia resulting from homozygous nonsense mutation in A alpha chain gene associated with multiple thrombotic episodes. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2008; 19(3): 247–53. DOI: 10.1097/MBC.0b013e3282f564fd.
20. Dupuy E., Soria C., Molho P., et al. Embolized ischemic lesions of toes in an afibrinogenemic patient: Possible relevance to in vivo circulating thrombin. *Thromb Res*. 2001; 102(3): 211–9. DOI: 10.1016/s0049-3848(01)00247-x.
21. De Moerloose P., Boehlen F., Neerman-Arbez M. Fibrinogen and the risk of thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 2010; 36(1): 7–17. DOI: 10.1055/s-0030-1248720.
22. Fuchs R.J., Levin J., Tadel M., Merritt W. Perioperative coagulation management in a patient with afibrinogenemia undergoing liver transplantation. *Liver Transpl*. 2007; 13(5): 752–6. DOI: 10.1002/lt.21164.
23. Ozdemir M.A., İşik B., Patiroglu T., et al. A case of congenital afibrinogenemia complicated with thromboembolic events that required repeated amputations. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2015; 26(3): 354–6. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000200.
24. Ruiz-Saez A. Occurrence of thrombosis in rare bleeding disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2013; 39(6): 684–92. DOI: 10.1055/s-0033-1353391.
25. Acharya S.S., Dimichele D.M. Rare inherited disorders of fibrinogen. *Haemophilia*. 2008; 14(6): 1151–8. DOI: 10.1111/j.1365-2516.2008.01831.x.
26. Casini A., Undas A., Palla R., et al. Subcommittee on factor XIII and fibrinogen. Diagnosis and classification of congenital fibrinogen disorders: Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018; 16(9): 1887–90. DOI: 10.1111/jth.14216.
27. HGMD. URL: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>
28. Brennan S.O., Laurie A., Smith M. Novel FGG variant (γ339C→S) confirms importance of the γ326-339 disulphide bond for plasma expression of newly synthesised fibrinogen. *Thromb Haemost*. 2015; 113(4): 903–5. DOI: 10.1160/TH14-10-0849.
29. Zhang J.Z., Redman C. Fibrinogen assembly and secretion. Role of intrachain disulfide loops. *J Biol Chem*. 1996; 271(47): 30083–8. DOI: 10.1074/jbc.271.47.30083.
30. Chinni E., Tiscia G., Favuzzi G., et al. Identification of novel mutations in patients with fibrinogen disorders and genotype/phenotype correlations. *Blood Transfus*. 2019; 17(3): 247–54. DOI: 10.2450/2018.0123-18.
31. Lounes K.C., Soria C., Mirshahi S.S., et al. Fibrinogen Ale's: A homozygous case of dysfibrinogenemia (g-Asp3303Val) characterized by a defective fibrin polymerization site "a". *Blood*. 2000; 96(10): 3473–9.
32. Reber P., Furlan M., Henschen A., et al. Three abnormal fibrinogen variants with the same amino acid substitution (gamma 275 Arg----His): Fibrinogens Bergamo II, Essen and Perugia. *Thromb Haemost*. 1986; 56(3): 401–6.
33. Hayes T. Dysfibrinogenemia and thrombosis. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126(11): 1387–90. DOI: 10.5858/2002-126-1387-DAT.
34. Krammer B., Anders O., Nagel H.R., et al. Screening of dysfibrinogenemia using the fibrinogen function versus antigen concentration ratio. *Thromb Res*. 1994; 76(6): 577–9. DOI: 10.1016/0049-3848(94)90287-9.
35. Cunningham M.T., Brandt J.T., Laposata M., Olson J.D. Laboratory diagnosis of dysfibrinogenemia. *Arch Pathol Lab Med*. 2002; 126(4): 499–505. DOI: 10.5858/2002-126-0499-LDOD.

Информация об авторах

Яковлева Елена Владимировна*, кандидат медицинских наук, научный сотрудник, врач-гематолог отдела коагулопатий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: hemophilia2012@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6991-7437>

Саломашкина Валентина Валерьевна, ведущий специалист лаборатории генной инженерии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: prodoljenie-banketa@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5669-3948>

Сурин Вадим Леонидович, старший научный сотрудник лаборатории генной инженерии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: vadsurin@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Селиванова Дарья Сергеевна, научный сотрудник лаборатории генной инженерии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: dahin@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6043-6568>

Лаврова Полина Сергеевна, врач клинко-диагностической лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: lavrova.ps@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6251-331X>

Горгидзе Лана Анзоровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Экспресс-лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: lana380@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5235-2356>

Соболева Наталья Павловна, врач клинко-диагностической лаборатории, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: nsoboleva@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1903-2446>

Зозуля Надежда Ивановна, доктор медицинских наук, заведующая отделом коагулопатий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
e-mail: zozulya.n@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 21.01.2022

Принята в печать: 16.02.2022

Information about the authors

Elena V. Yakovleva*, Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Coagulopathies Department, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: hemophilia2012@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6991-7437>

Valentina V. Salomashkina, Researcher, Laboratory of Genetic Engineering, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: prodoljenie-banketa@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5669-3948>

Vadim L. Surin, Senior Researcher, Laboratory of Genetic Engineering, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: vadsurin@mail.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1890-4492>

Daria S. Selivanova, Researcher, Laboratory of Genetic Engineering, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: dahin@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6043-6568>

Polina S. Lavrova, Physician, Central Clinical Diagnostic Laboratory, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: lavrova.ps@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6251-331X>

Lana A. Gorgidze, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Express Laboratory, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: lana380@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5235-2356>

Natalia P. Soboleva, Physician, Central Clinical Diagnostic Laboratory, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: nsoboleva@list.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1903-2446>

Nadezhda I. Zozulya, Dr. Sci. (Med.), Head of Coagulopathies Department, National Medical Research Center for Hematology,
e-mail: zozulya.n@blood.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7074-0926>

* Corresponding author

Accepted 21.01.2022

Received 16.02.2022