

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Муратова Анна Юрьевна

**БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
ПАТОГЕНЕЗА ТРОМБОФИЛИИ У БЕРЕМЕННЫХ
ЖЕНЩИН И ВЛИЯНИЕ НА СИСТЕМУ
ГЕМОСТАЗА НОВОРОЖДЕННЫХ**

03.01.04 – биохимия

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:
доктор медицинских наук,
профессор Бондарь Т.П.
доктор медицинских наук,
профессор Каде А.Х.

Ставрополь

2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. Обзор литературы. Нарушение системы гемостаза и беременность.....	17
1.1. Эпидемиология гемостазиологических нарушений при беременности	17
1.2. Механизм формирования физиологической гиперкоагуляции при нормально протекающей беременности	25
1.3. Этиопатогенез гемостазиологических нарушений при различных видах тромбофилии	38
1.4. Особенности метаболических параметров беременных в условиях гиперкоагулии.....	63
Глава 2. Материалы и методы исследования	73
2.1. Характеристика обследованного контингента.....	73
2.1.1. Проведение выкопировки из историй болезни.....	76
2.1.2. Общая характеристика экспериментального материала и экспериментальна модель гиперкоагуляции.....	82
2.1.3. Клиническая характеристика обследуемых групп.....	86
2.2. Методы исследования	89
2.2.1. Тромбоэластометрия.....	91
2.2.2 Лабораторные методы исследования тромбоцитарного гемостаза.....	94
2.2.3. Исследование агрегации тромбоцитов методом сканирующей зондовой микроскопии	101
2.2.4. Лабораторные методы исследования плазменного гемостаза	104
2.2.5. Биохимические и иммуноферментные методы исследования.....	113
2.2.6. Гистологическое исследование отпечатков паренхиматозных органов.....	116

2.2.7. Молекулярно-генетические методы исследования.....	117
2.2.8. Статистические методы исследования.....	119

Глава 3. Изменение состояния тромбоцитарного гемостаза

в условиях экспериментальной гиперкоагуляции.....	121
3.1. Изменения показателей тромбоцитарного гемостаза крыс и их потомства в условиях физиологически протекающей беременности.....	122
3.2. Изменения показателей тромбоцитарного гемостаза крыс и их потомства в условиях экспериментальной гиперкоагуляции.....	133
3.3. Патогистологические изменения в тканях паренхиматозных органов у лабораторных животных в условиях гиперкоагуляции	143

Глава 4. Взаимосвязь нарушений гемостаза у женщин с

тромбофилией и у их новорожденных детей в динамике раннего неонатального периода.....	148
4.1. Изменение показателей плазменного и тромбоцитарного гемостаза у здоровых женщин и пациенток с тромбофилией.....	148
4.2. Изменение морфофункциональных параметров тромбоцитов детей, родившихся у здоровых женщин и пациенток с тромбофилией.....	159
4.3. Влияние изменений гемостаза матери на морфофункциональные показатели тромбоцитов новорожденных.....	169

Глава 5. Биохимические, генетические и патофизиологические

механизмы развития тромбофилии у беременных.....	175
5.1. Изменение метаболических показателей у беременных женщин при дисморфизме A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.....	177
5.2. Значение полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa в развитии изменений в системе гемостаза во время беременности.....	183

5.3.	Изменение показателей гемостаза новорожденных детей, родившихся у здоровых женщин и пациенток с тромбофилией.....	196
5.4.	Корреляционные взаимосвязи гемостазиологических и биохимических показателей у беременных женщин с тромбофилией.....	209
5.5.	Механизм влияния полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa на формирование гемостазиологических изменений во время беременности.....	214
5.6.	Определение статистической значимости показателей в развитии гемостазиологических и метаболических изменений во время беременности при наличии дисморфизма A ² гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.....	224
Заключение		229
Выводы		264
Практические рекомендации		266
Список сокращений		267
Список литературы		269
Приложения.....		321

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Проблема ранней диагностики и лечения нарушений гемостаза гиперкоагуляционного характера является важнейшей междисциплинарной проблемой, особое значение эта проблема приобретает в акушерстве. В экономически развитых странах в последние десятилетия снизилась частота материнской смертности от кровотечений и сепсиса, а протромботические состояния стали основными в ее структуре (De Swiet M., 2000; Серов В.Н., 2001; Bates S.M., 2008; Nowak-Gottl U. et al., 2008; Баранов А.А., Лапин Ю.Е., 2009; Borch K.H. et al., 2009; Main E.K., 2010; Александров А.А., 2012; Андреев Е.М. и др., 2013; Момот А.П. и др., 2013; Андреева М.Д., 2015).

По мнению ряда авторов, эволюционное значение физиологической гиперкоагуляции состоит в предотвращении значительной кровопотери в родах, однако, в определенных неблагоприятных ситуациях, она может провоцировать развитие тромботических осложнений. Физиологическая гиперкоагуляция во время беременности выражается в повышении общего коагуляционного потенциала крови, проявляющегося в повышении общей активности факторов свертывания крови, усилении агрегационной активности тромбоцитов (Тр), снижении активности фибринолиза при усилении образования продуктов деградации фибрина и снижении активности антитромбина III на фоне незначительного уменьшения его содержания в плазме крови (Сидельникова В.М., Кирющенко П.А., 2004; Бицадзе В.О. и др., 2015).

Протромботические нарушения гемостаза ответственны за развитие большого числа акушерских осложнений, среди них привычное невынашивание беременности, тяжелая преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП), хроническая плацентарная недостаточность, а также синдром задержки внутриутробного развития плода

(СЗВРП). Основой патогенеза этих осложнений являются связанные тромбофилией дефекты имплантации яйцеклетки, инвазии трофобласта на первых этапах гестации и нарушения кровообращения в системе мать-плацента-плод в поздние сроки беременности (Сидельникова В.М., 2005; Robertson L. et al., 2006; Kuttan W.H., Triplett D.A., 2006; Zolt D.A. R et al., 2008; Макацария А.Д. и др., 2010; Фролова О.Г. и др., 2012; Андреева М.Д., 2016).

Следует отметить, что в научной литературе изучению механизмов регуляции параметров гемостаза отводится особое значение как ключевому звену в развитии акушерских осложнений (Greer I.A., 2003; Brenner B., 2005; Ruiz-Quezada S. et al., 2004; Carp H.J., 2006; Стрижаков А.Н., 2007; Макацария А.Д. и др., 2008; Талалаева, И.Н. и др., 2008; Доброхотова Ю.Э. и др., 2010; Сухих Г.Т. и др., 2013; Шалина Р.И., Канзапетов М.Р., 2013; Андреева М.Д., 2015).

Изучение гемостазиологических изменений в процессе гестации имеет важное значение в связи с их важным значением в патогенезе развития осложнений беременности и родов, ассоциированных с тромбофилией. В решении проблемы тромбофилии имеет большое значение изучение этиологии и патогенеза тромботических состояний, а также факторов, оказывающих влияние на развитие данной патологии (D'Elia A.V. et al., 2002; Папаян Л.П. и др., 2004; Kuttan W.H., Triplett D.A., 2006; Момот Г.В. и др., 2009; Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2010; Мазуров А.В., 2011; Makatsariya A.D. et al., 2015).

Одним из приоритетных направлений Российского здравоохранения является увеличение рождаемости, снижение материнской и младенческой смертности, а также предупреждение инвалидизации детей. Необходимо развитие медицинских направлений, позволяющих улучшить качественные характеристики здоровья детей, начиная с периода внутриутробного развития (Баранов А.А., Лапин Ю.Е., 2009; Савельев В.С. и др., 2010; Фролова О.Г. и др., 2012; Момот А.П. и др., 2013; Сухих Г.Т. и др., 2013).

Усиление тромбообразования у пациенток в период гестации является одним из основополагающих моментов развития осложнений беременности,

а часто и потери плода. В этой связи особое значение приобретают вопросы изучения влияния различных патологических процессов со стороны материнского организма на формирование качественных характеристик здоровья ребенка и возможностей раннего выявления отклонений в состоянии здоровья (Шабалов Н.П. и др., 2000; Володин Н. Н., 2007; Макацария А. Д. и др., 2007; Айламазян Э. К. и др., 2010; Плюшкин В. А. и др., 2009; Фролова О.Г. и др., 2012; Андреева М.Д. и др., 2014; Баранов Д.А., 2014).

В связи с вышесказанным представляет значительный интерес изучение гемостазиологических расстройств, в частности, тромбофилии беременных, их влияния на течение гестационного процесса, исходы беременности, а также, что особенно важно, на состояние здоровья детей и их систему гемостаза. Актуальным является изучение коагуляционных изменений, связанных с наличием мутаций и полиморфизмов в генах системы коагуляции, определяющих возникновение тромботических осложнений на разных этапах жизни человека.

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на широкое внимание медицинской науки к проблемам акушерской патологии, ассоциированной с тромбофилией, остается недостаточно изученными механизмы развития коагуляционных нарушений у пациенток с различными видами тромботических осложнений (Макацария А.Д. и др., 2007). Наблюдения за больными показали, что тромбофилия – заболевание, в основе которого лежит не только усилением коагуляционного потенциала крови, но и ряд взаимосвязанных между собой иммунологических, гемостазиологических и метаболических расстройств (Watanabe H. et al., 2002; Aird W.C., 2004; Cattaneo M., 2006; Сидорова И.С. и др., 2010; Бахрева И.В., 2014; Хмилевская С.А. и др., 2015; Муратова А.Ю. и др., 2016). Разработка технологий прогнозирования и диагностики гемостазиологических и эндотелиальных нарушений при ТФ, а также сопутствующих осложнениях подразумевает изучение взаимного

влияния факторов, лежащих в основе патогенеза. Изучение процессов свободно-радикального окисления (СРО), уровня антиоксидантной активности (АОА) крови, развития воспалительных изменений на местном и системном уровне у женщин с тромбофилией имеет решающее значение для расширения наших представлений о патогенезе метаболических расстройств у пациенток с данной патологией. Однако исследования по их комплексной лабораторной оценке до настоящего времени не проводились, не установлены механизмы развития, отсутствует анализ гемостазиологических, воспалительных и метаболических отклонений в организме беременных женщин, имеющие значение для возможности прогнозирования гемостазиологических нарушений у их новорожденных детей. Встречаются единичные работы, в которых отражена взаимосвязь нарушений гемостаза матери, плода и новорожденного (Плюшкин В. А. и др., 2009; Бондарь Т.П. и др., 2012; Рябинина Е.А., 2013).

Вопросы, связанные с изменением состояния здоровья и системы гемостаза детей, родившихся у матерей с генетической тромбофилией, остаются недостаточно изученными. Это может быть обусловлено "техническими" трудностями исследования показателей гемостаза новорожденных, этическими, деонтологическими и правовыми аспектами (Шабалов Н.П. и др., 2000; Суворова А. В. и др., 2010).

Отсутствие работ, включающих описание патофизиологических механизмов развития во время беременности генетически обусловленной тромбофилии и влияния ее на состояние гемостаза их новорожденных детей, стало поводом для проведения настоящего диссертационного исследования.

Цель исследования – раскрыть механизмы развития гемостазиологических нарушений у пациенток с тромбофилией на основе изучения комплекса биохимических и генетических изменений и оценить их влияние на состояние системы гемостаза новорожденных детей.

Задачи исследования:

1. Изучить структуру и частоту встречаемости акушерских осложнений, ассоциированных с тромбофилией, у пациенток в условиях акушерского стационара.
2. Оценить динамику изменений показателей тромбоцитарного гемостаза у лабораторных животных и их потомства в условиях экспериментальной гиперкоагуляции в III триместре беременности и в раннем неонатальном периоде.
3. Выявить особенности системы гемостаза в условиях физиологической беременности и при тромбофилии у матерей и в неонатальном периоде у их новорожденных детей.
4. Выявить изменения показателей гемостаза у матерей и их новорожденных детей при различных вариантах полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.
5. Оценить значение метаболических нарушений, у беременных женщин с генетическим полиморфизмом A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.
6. Определить корреляционные взаимосвязи метаболических и гемостазиологических показателей у женщин с тромбофилией во время беременности при наличии генетического полиморфизма A^2 .
7. Установить механизм формирования гемостазиологических нарушений во время беременности при полиморфизме гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.
8. Выявить статистически наиболее значимые признаки в развитии метаболических и гемостазиологических изменений во время беременности при наличии полиморфизма A^2 .

Научная новизна исследования. Впервые:

- выявлена взаимосвязь морфофункционального состояния Тр потомства лабораторных крыс и параметрами гемостаза самок крыс в условиях фи-

зиологически протекающей беременности и при экспериментальной гиперкоагуляции;

- на основе комплексного исследования проведен анализ гемостазиологических параметров у женщин с физиологически протекающей беременностью и при наличии тромбофилии, а также у их новорожденных детей в раннем неонатальном периоде;

- определено значение метаболических нарушений в формировании гемостазиологических изменений в системе мать – плод при наличии генетически обусловленной тромбофилии;

- доказано влияние полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Тр гликопротеина (GP) IIb/IIIa матерей на состояние системы гемостаза их детей;

- установлен механизм влияния полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa на формировании гемостазиологических нарушений во время беременности;

- выявлены наиболее статистически значимые показатели гемостаза у матерей и их новорожденных в оценке риска развития тромботических осложнений.

Теоретическая значимость исследования. Полученные результаты расширяют сведения о механизмах взаимосвязи системы гемостаза матерей и их новорожденных детей при тромбофилии. Установлены новые данные об изменениях морфо-функциональных параметров тромбоцитов детей, родившихся у пациенток с тромбофилией, наиболее значимыми из которых для теоретической медицины являются: усиление агрегационной активности Тр со всеми индукторами, увеличение количества Тр, их площади, фактора формы и индекса "омоложения" Тр (ИОТр). При этом у беременных женщин, страдающих тромбофилией, ведущую роль в патогенезе играет усиление коагуляционной активности крови, укорочение времени образования фибринового сгустка, снижение фибринолитической активности, тромбинемия, сни-

жение резерва ингибиторов свертывания крови, увеличение объема Тр, увеличение гетерогенности популяции Тр и их функциональной активности. Сделанные на основании анализа клинических данных выводы о состоянии тромбоцитарного гемостаза также были подтверждены экспериментально путем изучения аналогичных показателей тромбоцитарного гемостаза у потомства крыс при физиологически протекающей беременности и моделируемой гиперкоагуляции.

Полученные в исследовании результаты существенно расширяют современные представления о роли генетических факторов в развитии тромбофилии у матерей и их новорожденных, в том числе подтверждают, что при наличии генетического полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa наблюдаются нарушения в работе прооксидантно-антиоксидантной системы: снижение АОА (на 74,6%), усиление реакций СРО (на 110 - 202%), избыточное образование оксида азота (на 55,8%) увеличению выработки провоспалительных цитокинов (на 98 - 114%), которые усугубляют течение гемостазиологических нарушений как у беременных женщин, так и у новорожденных детей, что было подтверждено наличием устойчивых корреляционных связей между рядом биохимических и гемостазиологических показателей ($R_{\text{МДАсыв/АЧТВ}} = 0,51$, $R_{\text{МДАТр/АДФ}} = 0,61$, $R_{\text{АОА/ФФТр}} = 0,57$, $R_{\text{ЦП/АТ III}} = 0,52$, $R_{\text{NO /АЧТВ}} = 0,67$, $R_{\text{ИЛ-6/MPV}} = 0,57$, $R_{\text{ИЛ-8/РФМК}} = 0,49$).

Практическая значимость исследования. Представленная экспериментальная модель гиперкоагуляции для оценки тромбоцитарного гемостаза у лабораторных животных, позволила установить зависимость морфофункционального состояния Тр плодов и потомства от состояния свертывающей системы самок крыс. Основываясь на результатах изучения системы гемостаза у лабораторных животных, разработан алгоритм исследования сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза у женщин и их новорожденных детей. Предложенный алгоритм и методы исследования показателей гемостаза позволяют своевременно выявлять и предупреждать развитие патологиче-

ских изменений в системе гемостаза, что позволит снизить риск развития тромботических осложнений. Полученные данные о нарушениях в работе прооксидантно-антиоксидантной и иммунной систем при тромбофилии являются основанием для научно обоснованной коррекции метаболических нарушений, что позволит целенаправленно осуществлять профилактику осложнений беременности и послеродового периода.

Методология и методы исследования. Работа выполнена в дизайне ретроспективного и проспективного анализа историй родов пациенток с различными видами тромбофилии при сплошной выборке. Получение и анализ клинико-лабораторных данных проводили согласно дизайну исследования, разработанного автором. В работе использованы экспериментальные, биохимические, коагулологические, гематологические, гистологические, молекулярно-биологические и методы статистики.

Положения, выносимые на защиту:

1. У матерей с экспериментальной тромбофилией во время беременности в периферической крови увеличиваются количество и размеры Тр с повышением функциональной активности, уменьшается количество мегакариоцитов в костном с "омоложением" популяции клеток, происходит образование микротромбов в просвете сосудов печени и селезёнке с последующим возникновением участков некроза, аналогичные изменения регистрируются у их потомства во внутриутробном периоде, сохраняющееся в день родов.

2. У беременных женщин с тромбофилией происходит усиление коагуляционной активности крови, увеличение скорости образования фибринового сгустка, снижение фибринолиза, повышение активности тромбоцитарного компонента гемостаза. У их новорожденных детей, в 1 - е сутки после родов, отмечается повышение количественных и функциональных параметров Тр, в сравнении с показателями новорождённых от здоровых матерей.

3. При наличии генетического полиморфизма A^2 у беременных наблюдается гиперкоагуляция, тромбинемия, снижение резерва естественных антикоагулянтов, активности фибринолиза и повышение активности Тр, наиболее выраженные при гомозиготном варианте полиморфизма. У их новорожденных детей отмечается активация тромбоцитарного и плазменного гемостаза.

4. В патогенезе нарушений гемостаза у беременных женщин с полиморфизмом A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa ведущую роль играет формирующаяся эндотелиальная дисфункция, характеризующаяся усилением свободно-радикальных реакций, снижением уровня АОА, увеличением выработки провоспалительных цитокинов, избыточным образованием оксида азота (NO).

5. Наиболее значимыми прогностическими признаками развития метаболических расстройств при полиморфизме A^2 у беременных являются увеличение уровня малонового диальдегида (МДА) в мембране Тр, нитритов, ИЛ-8, снижение АОА, усиление агрегации тромбоцитов с АДФ и повышение ИОТр.

Степень достоверности. Достоверность проведенного исследования определяется достаточным количеством клинических ($n = 816$) и экспериментальных ($n = 391$) случаев, а также данных выкопировки из 21860 историй родов, наличием групп сравнения, использованием современных лабораторных методов диагностики и обработкой полученных результатов современными методами статистического анализа.

Соблюдались правила организации преаналитического этапа исследования в соответствии с Приказом МЗ РФ № 220 от 26.05.2003 г. "Отраслевой стандарт. Система стандартизации в здравоохранении Российской Федерации. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов".

Апробация работы. Материалы диссертационного исследования докладывались на научных конференциях и конгрессах: Первой международной научно-практической конференции "Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине (Санкт-Петербург, 2010); XI международном конгрессе "Здоровье и образование в XXI веке" (Москва, 2010); 55 научно-методической конференции "Университетская наука – региону" (Ставрополь, 2010); XII международном конгрессе "Здоровье и образование в XXI веке" (Москва, 2011); XIX итоговой научной конференции студентов с международным участием (Ставрополь, 2011); 56 научно-методической конференции "Университетская наука – региону" (Ставрополь, 2011); международной виртуальной интернет-конференции "Медицина в XXI веке: тенденции и перспективы" (Казань, 2012); краевой научно-практической конференции педиатров и неонатологов (Ставрополь, 2012); 57 научно-методической конференции "Университетская наука – региону" (Ставрополь, 2012); XVI форуме "Национальные дни лабораторной медицины России – 2012" (Москва, 2012); XVII форуме "Национальные дни лабораторной медицины России – 2013" (Москва, 2013); Научно-практической конференции педиатров, неонатологов и детских хирургов с международным участием "Актуальные вопросы педиатрии, неонатологии и детской хирургии" (Ставрополь, 2014), VII Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии (Москва, 2015); III международной научно-практической конференции "Биотехнология: взгляд в будущее" (Ставрополь, 2017); Международной научной конференции на английском языке "Актуальные вопросы медицины" (Ставрополь, 2017).

Апробация диссертации проведена на объединённом заседании кафедры медицинской биохимии, клинической лабораторной диагностики и фармации ФГАОУ ВО СКФУ, кафедры патологической физиологии и кафедры биотехнологии и клинической биохимии ФГБОУ ВО СтГМУ.

Внедрение результатов исследования в практику. Научные положения диссертационного исследования используются в лекционных курсах и практических занятиях, проводимых на кафедре фундаментальной и клинической биохимии (зав. каф. д.м.н. проф. Быков И.М.), кафедре общей и клинической патологической физиологии (зав. каф. д.м.н. проф. Каде А.Х.) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, кафедре клинической биохимии (зав. каф. д.м.н. проф. Бондарь Т.П.) и кафедре патологической физиологии (зав. каф. д.м.н. проф. Щетинин Е. В.) ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России, кафедре медицинской биохимии, клинической лабораторной диагностики и фармации ФГАОУ ВО СКФУ (зав. каф. к.б.н. доц. Денисова Е.В.). Основные результаты работы внедрены в практику ГБУЗ СК "Краевая клиническая детская больница" г. Ставрополя (главный врач Анисимов И.Н.), ГБУЗ СК "Городская клиническая больница скорой медицинской помощи" г. Ставрополя (главный врач Пучков А.А.), ГБУЗ СК "Городская клиническая больница №3" г. Ставрополя (главный врач Муравьев К.А.).

Публикация результатов исследования. По материалам диссертационного исследования опубликовано 44 печатные работы, из них 18 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, в том числе издана научная монография "Тромбофилии беременных" (Ставрополь, 2016) и учебно-методическое пособие по коагулологии и гемостазиологии для студентов специальности "Медицинская биохимия", врачей-интернов и клинических ординаторов специальности "Клиническая лабораторная диагностика" (Ставрополь, 2011).

Личное участие автора в получении результатов. Автором самостоятельно сформулирована тема диссертационной работы, проведен анализ литературных данных (100%), сформулирована цель и задачи исследования, определен методологический подход (95%). Проанализирована медицинская документация и выполнены лабораторные исследования (88%). Автором проведено экспериментальное исследование по моделированию гиперкоагуляции на лабораторных животных (80%). Проведен анализ экспериментальных данных и клинико-лабораторных показателей, статистический анализ данных (100%). Результаты исследования неоднократно были представлены автором в виде научных статей и материалов научных конгрессов и конференций (83%).

Объем и структура диссертации. Диссертация насчитывает 332 страницы машинописного текста, состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка и приложений, содержит 43 таблицы и 28 рисунков. Библиографический указатель насчитывает 496 источников, из них 281 отечественных авторов и 215 иностранных.

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы Северо-Кавказского федерального университета.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

НАРУШЕНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И БЕРЕМЕННОСТЬ

1.1. Эпидемиология гемостазиологических нарушений при беременности

По данным Всемирной организации здравоохранения, тромбозы различной локализации являются одной из главных причин гибели человека (Lowe G., 2008; Nowak-Gottl U. et al., 2008; Александров А.А., 2012; Андреев Е.М. и др., 2013, Момот А.П. и др., 2013). На территории Европейских государств смертность от венозного тромбоэмболизма (ВТЭ) составляет более 500 тысяч человек в год. По оценке многих ученых, каждый десятый житель земли хотя бы один раз в жизни сталкивается с такими грозными тромботическими осложнениями, как тромбоз глубоких вен, тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт, атеросклероз сосудов и другие проявления артериальных и венозных тромбозов. В экономически развитых странах ежегодно около 1% населения страдают от различных клинических проявления артериальных или венозных тромбозов, значительная часть которых заканчивается инвалидизацией или смертью (Гениевская М.Г., 2000; Бицадзе В.О., Макацария А.Д., 2004; Ageno W. et al., 2006; Баймурадова С.М., 2007; Magee L.A. et al., 2008; Александров А.А., 2012).

В России число регистрируемых венозных тромбозов составляет от 145 до 200 случаев ежегодно в расчете на 100 тысяч человек. И это лишь видимая часть, так как более 2/3 этих тромбозов протекает бессимптомно, не поражая ни пациентов, ни врачей, однако представляет опасность развитием фатальной тромбоэмболии (Момот А.П. и др., 2013).

В последние годы установлено, что тромботические расстройства могут встречаться не только в зрелом, но даже в молодом и детском возрасте (Баранов А.А., Лапин Ю.Е., 2009; Рябина Е.А. и др., 2013).

Для широкого спектра различных заболеваний – актуально исследование взаимного влияния коагуляционных процессов и системного воспалительного ответа, метаболических расстройств, циркуляции антифосфолипидных антител (АФА), наследственных факторов предрасположенности к тромбозам (Баркаган З.С. и др., 2002; Воробьев П.А., 2004; Samama M.M. et al., 2003; Rosendaal F.R., 2005; Кузник Б.И., 2010).

Проблема ранней диагностики и лечения нарушений гемостаза гиперкоагуляционного характера является важнейшей междисциплинарной проблемой. Усиление процессов коагуляции крови является важнейшим патогенетическим звеном заболеваний целого ряда внутренних органов.

Особую роль эта проблема приобретает в акушерской практике. В экономически развитых странах в последние десятилетия снизилась частота материнской смертности от кровотечений и сепсиса, а протромботические состояния стали основными в ее структуре (De Swiet M., 2000; Бачурина Т.В., 2002; Demin G.S. et al., 2005; Bick R.L. et al., 2006; Bates S.M., 2008; Main E.K., 2010; Андреева М.Д., 2016). Опасность развития тромбозов в акушерской практике рассматривается с различных позиций. Одна из них – это риск развития венозных тромбозов. Распространенность ВТЭ, включающего тромбозы глубоких вен (ТГВ) и ТЭЛА, составляет 0,6 - 5,0 случаев на 1000 беременных женщин и имеет тенденцию к дальнейшему росту (Stein P.D. et al., 2004). Учитывая тот факт, что ТГВ в 38% случаев, а ТЭЛА в 22% случаев развиваются уже после выписки пациентки из акушерского стационара (Hirsh J., 2004). Реальная частота возникновения тромботических осложнений беременности и родов, вероятно, еще выше. Однако в абсолютных цифрах этот риск не велик, в сравнении с общепопуляционными данными, но в процессе гестации у женщин того же возраста он увеличивается в 5-10 раз (Bianco-Molina A. et al., 2007; James A.H., 2008).

Протромботические нарушения гемостаза ответственны за развитие большого числа акушерских осложнений, среди них привычное невынашивание беременности, тяжелая преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП), хроническая плацентарная недостаточность, а также синдром задержки внутриутробного развития плода (СЗВРП). Основой патогенеза этих осложнений являются связанные тромбофилией (ТФ) дефекты имплантации яйцеклетки, инвазии трофобласта на первых этапах гестации и нарушения кровообращения в системе мать-плацента-плод в поздние сроки беременности (Сидельникова В.М., 2005; Robertson L. et al., 2006; Kuttan W.H., Triplett D.A., 2006; Zotz D.A. R et al., 2008; Макацария А.Д. и др., 2010; Фролова О.Г. и др., 2012; Андреева М.Д., 2016).

Проблема тромботических осложнений во время беременности и родов является сегодня одной из ключевых на сегодняшний день. При отсутствии своевременной диагностики и, следовательно, при отсутствии адекватного противотромботического лечения ТГВ у пациенток может прогрессировать и приводить к развитию ТЭЛА, летальность при этом составляет 1 - 30% (Stone S.E., Morris T.A., 2005; Andersen A.S., et al., 2010). В то же время своевременная диагностика и адекватная терапия позволяют снизить смертность при этой патологии до 1 - 3% (Chan W.S., 2010; Акиньшина С.В., 2011). Особое внимание к проблеме тромбоэмболических осложнений во время беременности и родов связано также с их отдаленными последствиями, главным из которых является посттромбофлебитическим синдромом и хроническая легочная гипертензия. У 85% пациенток после перенесенного во время беременности ТГВ встречается минимум один признак посттромбофлебитического синдрома, а у 4% формируются трофические язвы (James A.H., 2008). Кроме того, посттромбофлебитический синдром развивается в 80% случаев, при проявлении тромбозов во время беременности, в то время как в общей популяции – в 30 - 40% случаев (McColl M.D. et al., 2000; Greer I.A., 2003). По данным V. De Stefano et al.

(2006), риск возникновения рецидива ВТЭ достигает 15% у пациенток, имеющих тромботические осложнения в предыдущую беременность. Усиление тромбообразования у пациенток в период гестации является одним из основных моментов развития осложнений беременности, а часто и потери плода. Многими учеными доказано существование врожденных и приобретенных факторов развития тромбозов (Баймурадова С.М, 2008; Bates S.M. et al., 2008).

А.Д. Макацария (2006) показал, что тромбозы возникают в условиях сочетания сочетания ТФ с ятрогенными факторами.

Наиболее значимыми внешними факторами риска развития тромботических состояний являются возраст старше 40 лет, ожирение, применение оральных контрацептивов, низкая физическая активность, курение табака. Значительную роль в развитии нарушений микроциркуляции и ТФ играет антифосфолипидный синдром (АФС) (Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2010). Сочетание факторов в значительной степени повышает риск развития акушерских осложнений, связанных с тромбофилией (ТФ).

Развитие гиперкоагуляционного расстройства во время беременности в значительной степени может быть связано с гормональной перестройкой организма женщины. Тенденция к замедлению тока крови в сочетании с усилением коагулянтного потенциала при физиологических изменениях в организме беременных в определенных условиях способствует развитию тромботических и тромбоэмболических расстройств. При наличии наследственной или приобретенной ТФ риск развития акушерских осложнений увеличивается в десятки и сотни раз (Баймуродова С.М, 2006; Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2006). При варикозном расширении вен может наблюдаться снижение активности фибринолиза, и, вследствие изменения структуры сосудов, – замедление тока крови в венах нижних конечностей, что может способствовать возникновению ВТЭ (Heit J.A. et al., 2000).

Известно что, физиологическая гиперкоагуляция, с одной стороны, направлена на снижение кровопотери в родах, но при наличии неблагоприятных условий может стать причиной развития тромбофилических состояний. Установлено, что при наличии экстрагенитальной патологии и других неблагоприятных факторах, способствующих возникновению тромбозов, признаки триады Вирхова значительно усиливаются (Бицадзе В.О., 2004; Акиньшина С.В., 2011; Макацария А.Д. и др., 2011).

По мнению ряда авторов, ТГВ могут развиваться и во время беременности, и после родов, а ТЭЛА чаще наблюдается после в послеродовом периоде (Chan W.S., 2010). A. Gerhard et al. (2003) проанализировали 119 случаев ТГВ во время беременности. У 52% женщин ТГВ развивался до наступления родов, его частота в I триместре составила 23%, во II – 20% и в III триместре – 56%. Риск развития тромбоэмболических осложнений в послеродовом периоде возрастает в 20-30 раз, по сравнению с беременностью. Риск развития тромбоэмболических осложнений значительно увеличивается при развитии септических осложнений, при оперативном, особенно при экстренном, родоразрешении, а также при наличии гестоза, у женщин в возрасте более 35 лет и многорожавших.

В последние годы, благодаря развитию фундаментальных исследований в различных областях медицины, а также внедрению в лабораторную диагностику молекулярно-генетических, иммунологических и гемостазиологических исследований, значительно расширились представления об этиологии и патогенезе значительного числа заболеваний (Серов В.Н. и др., 2002; Hoffmann J. N. et al., 2004; Lissalde-Lavigne G. et al., 2005; Ivanovic Z., 2006; Самбунова Н.В., 2008; Андреева М.Д. и др., 2015). В последние десятилетия были открыты АФС и значительное количество генетических аномалий, способствующих формированию тромботических состояний, такие как, мутация фактора (ф.) V Leiden, генетический дефект протромбина, мутация гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), дефект гена ингибитора актива-

тора плазминогена (РАI) 1-го типа, различные полиморфизмы генов тромбоцитарных рецепторов. Установлены патогенетические механизмы развития тромбозов. В клиническую практику вошло понятие ТФ, характеризующее генетически детерминированное или приобретенное состояние повышенного риска развития тромбозов (Martinelli J. et al., 2000; Bick R.L. et al., 2006; Макацария А.Д. и др., 2007; Middeldorp S., 2008).

По мнению многих исследователей, ТФ – основной этиопатогенетический фактор в развитии как тромботических состояний, так и многих акушерских осложнений, таких как привычное невынашивание беременности, гестоз, ПОНРП, СЗВРП, антенатальная гибель плода (Rai R., 2000; Sarig G. et al., 2002; Tan J.Y., 2002; Brenner B., 2003; Nishiguchi T., Kobayashi T., 2005; Kuttan W.H., Triplett D.A., 2006; Зайнуллин И.А. и др., 2007; Репина М.А. и др., 2008; Блинецкая С.Л., 2009; Пшеничникова Т.Б. и др., 2009).

Доказана роль ТФ в развитии таких акушерских состояний, причиной которых является нарушения кровообращения в сосудах маточно-плацентарной и плодово-плацентарной систем (Grandone E., Margaglione M., 2003; Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2004; 2007; Steegers-Theunissen R.P. et al., 2004; Мхеидзе Н.Э., 2006; Brenner B., 2006; Самбуrowa Н.В., 2008).

Получение новых знаний о причинно-следственных связях при гемостазиологических расстройствах, которые ранее считались вторичные, и акушерской патологией, привело к формированию принципиально нового подхода к проведению диагностических, лечебных и профилактических мероприятий у пациенток с высоким риском развития тромбозов (Laurent, P. et al., 2002; Louise-Wilkins M.D., 2003; Савельева Г.М., 2005; Lindqvist P., 2005; Leonhardt G., 2006; Christiansen O. et al., 2008). Применение противотромботических препаратов (антикоагулянтов и антиагрегантов) позволили значительно снизить осложнения беременности и в большинстве случаев пролонгировать беременность до срока, оптимального для родоразрешения, что еще раз подтвердило роль нарушений гемостаза в формировании указанных ос-

ложнений (Гениевская М.Г., 2002; Долгушина Н.В., 2004; Самбунова Н.В., 2008).

Известно, что в этиологической структуре материнской заболеваемости и смертности значительную роль играет наличие экстрагенитальных заболеваний, таких как, артериальная гипертензия, ожирения, заболевания мочевыводящих и дыхательных путей (Верткин А.Л. и др., 2005; Шехтман М.М. и др., 2005; Медведь В.И., 2007; Magee L.A. et al., 2008; Lowe G., 2008; Вереина Н.К., 2012). Существует мнение, что неблагоприятные исходы беременности и родов связаны с выраженным усилением свертывающей активности крови в сочетании экстрагенитальной патологии и факторами риска (Khare M., Nelson-Piercy C., 2003; O'Riordan M.N., Higgins J.R., 2003; Макаров О.В. и др., 2006; Brenner B., 2006; Рапильбекова Г.К. и др., 2008; Макацария А.Д. и др., 2010; Вереина Н.К., 2012).

В исследованиях K.H. Borch et al. (2009) было показано, что метаболический синдром, представляющий собой сочетание абдоминального ожирения, гипертриглицеридемии, снижения уровня α -холестерина, артериальной гипертензии и инсулинорезистентности, может являться независимым фактором риска развития венозных и артериальных тромбозов. По данным C. Ay et al. (2007), метаболический синдром отражает повышение коагуляционной активности крови и циркуляция маркеров системного воспаления, что способствует тромбообразованию.

У пациенток, имеющих эпизоды ВТЭ в анамнезе, при наличии других неблагоприятных факторов, таких как оперативные вмешательства и длительная иммобилизация, в 5 раз чаще возникали рецидивы тромбозов. (Макацария А.Д. и др., 2011; Е.А. Трифонова и др., 2012). По данным F R. Rosendaal et al. (2005), в течение 2 лет после первого случая развития тромбоза, риск рецидива случался в 18% случаев, в течение последующих 5 лет – в 25% случаев и 30% случаев по истечению 8 лет. Рецидивы в более поздние сроки чаще возникают при развитии опухолевых заболеваний. При этом риск развития рецидивов на фоне хирургического вмешательства

значительно ниже. При беременности высокому риску развития тромботических осложнений подвержены женщины, имеющие эпизоды тромбозов в анамнезе (Pabinger I. et al., 2002; James A.H., 2008). По ретроспективным данным частота рецидивов в последующую беременность может достигать 15% (De Stefano V. et al., 2002), что отражает значение генетических факторов в формировании тромботических состояний во время беременности. По данным P.Brill-Edwards et al. (2000) при обследовании 125 пациенток, имеющих в анамнезе тромботические состояния, рецидив при беременности наблюдался в 2,4% случаев. У женщин, причины тромбозов у которых не были установлены, рецидивы отмечены в 7,7% случаев. У пациенток с ТФ тромбозы рецидивировали в 13,9% при участии временных факторов риска, у пациенток с идиопатическими тромбозами – и в 20% случаев.

Однако, формирование групп риска, наличие взаимосвязи и количественный вклад отдельных факторов в развитие различной акушерской патологии, показания для мониторинга показателей гемостаза и назначения антикоагулянтов являются предметом дискуссии, так как полученные клинические данные по этим вопросам весьма противоречивы, а анализируемые группы гетерогенны (Bahaa M. et al., 2007; Middeldorp S., 2008; Lussana F. et al., 2009; Радзинский В.Е., 2011; Gris J.R., 2011; Вереина Н.К., 2012).

Таким образом, комплексная оценка акушерско-гинекологических заболеваний, независимого вклада экстрагенитальной патологии, молекулярно-генетических, иммунологических и биохимических детерминант в развитие каждого из осложнений беременности представляется крайне важной с точки зрения развития фундаментальной науки и востребованной в практике различных специалистов, включая акушеров-гинекологов и педиатров (Gerhardt A. et al., 2003; Момот А.П., 2006; Медведь В.И., 2007; Christiansen O. et al., 2008; Айламазян Э.К., Зайнулина М.С., 2010; Доброхотова, А.А. Щеголева, 2010; Макария А.Д. и соавт., 2010; Soh M.C., Nelson-Piercy C., 2010). Результаты нашей работы могут использоваться при формировании групп риска развития

тромботических состояний, метаболических расстройств для последующего наблюдения за состоянием пациентов.

1.2. Механизм формирования физиологической гиперкоагуляции при нормально протекающей беременности

Физиологически протекающая беременность и физиологические роды требуют адаптации со стороны системы гемостаза, которая характеризуется определенными качественными сдвигами в различных звеньях данной системы (Ageno W. et al., 2006; Момот А.П. и соавт., 2009; Макацария А.Д. и соавт., 2008; 2011).

Гемостазиологические изменения в организме беременной женщины являются физиологическими и связаны с формированием маточно-плацентарного круга кровообращения. Этот процесс обусловлен многими факторами и является приспособительной реакцией организма на компенсацию затрат в связи с развитием плода и возможной кровопотерей в родах. Функционирование системы гемостаза обеспечивается тесным взаимодействием сосудисто-тромбоцитарного, прокоагулянтного и антикоагулянтного звеньев гемостаза и системы фибринолиза (Choi J.W., Pai S.H., 2002; Brenner B., 2005; Chu A.J., 2005; Holmes V.A., Wallace J.M., 2009).

Многочисленными исследованиями доказано, что в организме беременных возникают условия для развития ДВС-синдрома (Бокарев И.Н., Козлова Т.В., 2000; Воробьев А.И., Буевич Е.И., 2000; Озолина Л.А. и соавт., 2001; Choi J.W., Pai S.H., 2002; Paniccia R, et al., 2002; Ronin-Walknowska E., Sipak-Szmigiel O., 2003). Это выражается в повышении общего коагуляционного потенциала крови, проявляющегося в усилении суммарной активности факторов свертывания, повышении функциональной активности тромбоцитов (Тр), снижении активности фибринолиза при усилении образования продуктов деградации фибрина (ПДФ) и снижении активности антитромбина III (АТ III) при незначительном уменьшении его содержания в плазме крови

(Сидельникова В.М., Кирющенко П.А., 2004). Эти изменения являются компенсаторно-приспособительными и необходимы для физиологического формирования фето-плацентарной системы, и для уменьшения потери крови в процессе родов (Макацария А.Д. и др., 2011).

Повышению коагулянтного потенциала способствуют изменения общей гемодинамики в организме женщины в период гестации. Для нормального функционирования фето-плацентарной системы в условиях усиления коагуляции крови вступают в действие компенсаторно-приспособительные механизмы, проявляющиеся в виде увеличения числа терминальных ворсин хориона среднего и малого диаметра с утолщением стенок периферической локализацией капилляров, снижением плотности синцития, образованием синцитиокапиллярных мембран и синцитиальных узелков (Доброхотова, А.А., 2010; Макацария А.Д. и др., 2011).

Особенности изменений в системе гемостаза во время беременности связаны с перестройкой спиральных артерий матки, в тканях которой происходит инвазия трофобласта в стенку спиральных артерий, замещение внутренней эластичной мембраны и внутренней меди фибриновым слоем. Нарушается целостность эндотелия и происходит обнажение коллагеновых субэндотелиальных структур. В этом процессе важную роль играет разрастание пространства между ворсинами с характерными для него изменениями строения и гемодинамики (Донченко, Л.А., 2004; Лысенков С.П., 2004; Давтян Е.Л., 2006;).

Основное влияние на процесс имплантации оказывает прогестерон, под его воздействием в эндометрии повышается концентрация PAI-1, тканевого фактора и снижение уровня активаторов плазминогена тканевого и урокиназного типов, уменьшение активности металлопротеиназ матрикса и вазоконстриктора эндотелина 1. Эти факторы, регулирующие гемостазиологические процессы, тонус сосудов и состояние экстрацеллюлярного матрикса, предотвращают образование геморрагий при инвазии трофобласта (Макацария А.Д. и др., 2011).

Системы гемостаза матери и плода во время беременности функционируют относительно не зависимо друг от друга, а плацента оказывает на гемостаз матери и плода лишь опосредованное влияние. На тонус спиральных артериол, которые снабжают кровью плаценту, воздействует система гемостаза организма матери, и первую очередь на сосудисто-тромбоцитарное звено. Тромбоциты (Тр) осуществляют регуляцию кровотока в спиральных артериолах путем взаимодействия их тромбоксангенерирующей и простациклингенерирующей систем эндотелия (Шалина Р.И., 2007).

Процессы усиления гемостаза в маточно-плацентарном кровотоке с интра- и экстравазальным отложением фибрина вызывают слабо выраженное потребление факторов свертывания крови. Повышение коагулянтного потенциала во время гестации обеспечивает физиологический гемостаз при отделении плаценты, который вместе с сокращением гладких мышц останавливает кровотечение из сосудов плацентарной площадки. Таким образом, изменения свертывающей активности крови в процессе гестации заключаются в постоянном снижении активности фибринолиза и усилении коагулянтного потенциала крови. Эти изменения являются физиологическими и обеспечивают две основные функции - поддержание нормального функционирования фето-плацентарного комплекса и остановку кровотечения из плацентарной площадки после отделения последа (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004; Ивашкина Е.П. и др., 2006; Сидорова И.С. и др., 2006).

Другими факторами, которые способствуют усилению свертывающей активности крови, является снижение скорости кровотока в венах из-за давления на сосуды беременной матки и снижение тонуса вен в условиях физиологического избыточного содержания прогестерона (Макацария А. Д., Бицадзе В.О., 2003; James A.H., et al., 2006; Серов В.Н., 2003; Сидельникова В.М., 2013). В условиях физиологически протекающей беременности гемостазиологические изменения пропорциональны сроку гестации.

Литературные сведения по изучению гемостаза у беременных неоднозначны. В.М. Сидельниковой и П.А. Кирюшенковым(2004) установлено, что

количество Тр при неосложненном течении беременности остается практически неизменным. В научной литературе существуют данные об уменьшении числа Тр на протяжении гестационного процесса с широким размахом индивидуальных колебаний: от $140 \cdot 10^9/\text{л}$ до $320 \cdot 10^9/\text{л}$ в III триместре беременности, а также отмечено умеренное снижение их агрегационной активности, что подтверждают данные А. Д. Макацария (2007). В исследовании С.П. Лысенкова (2004) установлено незначительное увеличение количества и функциональной активности Тр. Отражением гиперкоагуляции является укорочение хронометрических тестов, так время свертывания крови по Ли-Уайту было достоверно ($p < 0,005$) укорочено с $7,5 \pm 1,4$ мин. у небеременных женщин до $5,5 \pm 0,7$ мин.

Результатом усиления коагуляционного потенциала следует считать увеличение концентрации фибриногена – основного субстрата свертывания крови. Повышение концентрации фибриногена начинается со 2-го триместра и, учитывая повышение объема циркулирующей плазмы, его концентрация к концу гестационного срока увеличивается на 200% в сравнение с данными небеременных женщин (Сидорова И.С., Макаров И.О., 2005; Макацария А.Д. и др., 2007; Момот А.П. и др., 2015). Так по данным Лысенкова С.П. и др. (2004) концентрация фибриногена достоверно ($p < 0,005$) увеличивалась с $2,7 \pm 0,2$ г/л у небеременных женщин до $3,9 \pm 0,5$ г/л во время беременности.

В научной литературе имеются данные о том, что содержание фибриногена в периферической крови выше, чем в маточно-плацентарном кровотоке (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

В процессе родов происходит увеличение уровня фибриногена в плазме. Возвращение к уровню до беременности происходит к 10 - му дню после родов (Айламазян Э.К. и др., 2008).

О.Б. Панина (2003) в условиях эксперимента установила, что концентрация фибриногена увеличивается за счет повышения его синтеза, связанного с усилением утилизации в плаценте.

Изменения концентрации факторов свертывания крови во время беременности представлены в таблице 1.

Во время беременности наблюдается повышение коагулянтного потенциала крови, организм как бы готовится к возможной кровопотере в родах. В многочисленных исследованиях гемостаз во время беременности показано возрастание активности факторов свертывания, за исключением ф.XI и ф.XIII.

Таблица 1 – Концентрация факторов свертывания и их ингибиторов при беременности (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004)

Фактор	В норме	В конце неосложненной беременности
Фибриноген	200-450 мг/мл	400-650 мг/мл
Фактор II	75-125%	100-125%
Фактор V	75-125%	100-150%
Фактор VII	75-125%	150-250%
Фактор VIII	75-125%	200-500%
Фактор IX	75-125%	100-150%
Фактор X	75-125%	150-250%
Фактор XI	75-125%	50-100%
Фактор XII	75-125%	100-200%
Фактор XIII	75-125%	35-75%
Антитромбин-III	85-110%	75-100%
Протеин S	80-120%	60-80%
Протеин C	65-145%	70-150%

При беременности усиливается активность факторов, составляющих как внутренний путь свертывания – в основном ф.VIII, ф.IX, ф.XII, так и внешний путь свертывания – ф.II, ф.V, ф.VII, ф.X. Активность факторов меняется неодинаково. Физиологическая беременность характеризуется состоянием гиперкоагуляции, связанной с прогрессивным увеличением ф.VII (почти на 80%), ф.VIII (на 10%), ф.X (на 80%) и фибриногена (почти на 70%) приблизительно с 20 недели беременности. Содержание протромбина (ф.II), ф.V и ф.IX не меняются или весьма незначительно повышается, тогда как уровень ф.XIII до окончания срока снижается приблизительно на 50% от нормального значения. Это находит отражение в существенном удлинении протромбинового и тромбинового времени при общем неизменном акти-

вированном частичном тромбопластиновом времени (АЧТВ) в 3 триместре беременности (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004; Ивашкина Е.П., 2006; Бондарь Т.П. и др., 2012; Момот А.П. и др., 2015).

При беременности происходит увеличение активности ф.VIII (фактора фон Виллебранда, ФВ) не только у здоровых женщин, но и у пациенток, страдающих гемофилией и болезнью Виллебранда. Однако, при легкой и среднетяжелой степени болезни Виллебранда уровень ФВ может быть практически нормальным (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

В исследовании А.П. Момот и др. (2014) указано на повышение чувствительности Тр к индуктору агрегации аденозиндифосфату (АДФ) (в дозе 0,1 мкМ) у беременных женщин, что сочетается с увеличением ристоцетинкофакторной активности ФВ от исходных значений в 1,19 и 1,42 раза соответственно на 22-24 - й и 34-36 - й неделе беременности. Наиболее выраженная динамика подъема уровня антигена ФВ наблюдалась с 12-13 - й недели гестации.

В литературе также имеются результаты исследования количественного определения активности металлопротеиназы ADAMTS-13 при физиологически протекающей беременности (Хафизова Е.Ю. и др., 2011; Момот А.П. и др., 2015). Функция металлопротеиназы ADAMTS-13 состоит в расщеплении гигантских мультимеров ФВ, которые обладают высокой способностью к связыванию с Тр и стимуляции внутрисосудистой агрегации и формированию тромбов в микроциркуляторном русле. Металлопротеиназа ADAMTS-13 необходима, во-первых, для высвобождения ФВ в плазму, а во-вторых, для ограничения его чрезмерной активности. Снижение ее активности приводит к тяжелому аутоиммунному заболеванию – идиопатической тромбоцитопенической пурпуре. В этом случае мультимеры ФВ остаются «заякоренными» на мембране эндотелиальной клетки, а концентрация ФВ в плазме остается низкой. В свою очередь Тр адгезируются на этих «заякоренных» мультимерах ФВ и в результате в неповрежденном сосуде развивается локальный тромб. А.П.Момот и др. (2014) провели исследование уровня металлопротеиназы

ADAMTS-13 во время физиологически протекающей беременности. В интервале с 6 - й по 13 - ю недели беременности активность и уровень антигена не отличались от показателей, установленных у небеременных женщин. В последующем, начиная с 22-й недели, и до поздних сроков гестации, наблюдалось снижение уровня данного фермента – по активности на 26,4-39,2% и по антигену 28,7-31,7%. В исследованиях, проведенных у женщин во время физиологически протекающей беременности и после родов, коэффициент корреляции Спирмена между активностью ФВ и активностью фермента ADAMTS-13 составил -27 ($p < 0,001$), а между антигенами ФВ и металлопротеиназы ADAMTS-13 был равен -0,32 ($p < 0,001$). Данные исследования активности ADAMTS-13 уточняют механизмы активации Тр и могут быть использованы в качестве ориентировочных значений в рамках исследования системы гемостаза у беременных женщин и формирования групп риска по кровотечениям и тромбозам.

В противоположность общего увеличения факторов свертывания наблюдается некоторое снижение ф.ХІ в конце беременности и более выраженное снижение фибринстабилизирующего фактора (ф.ХІІІ). Физиологическая роль этих изменений пока неясна (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

Помимо этого коагуляционный потенциал крови возрастает в связи с некоторым снижением активности антикоагулянттов. Снижается уровень АТ ІІІ, протеина С и S, при этом протеин С повышается в послеродовом периоде, а протеин S остается значительно сниженным после родов (Макацария А.Д. и др., 2007). В исследованиях С.П. Лысенкова и др. (2004) показана тенденция к снижению АТ ІІІ с $95,4 \pm 9,6\%$ у небеременных до $87,7 \pm 8,3\%$ при неосложненной беременности ($p > 0,05$).

Изменения в звене антикоагулянттов и ингибиторов фибринолиза отражают процессы, происходящие в остальных звеньях системы гемостаза. К основным антикоагулянтам относятся АТ ІІІ, С1-инактиватор, $\alpha 2$ -антиплазмин, α -антитрипсин, протеин С. Ингибиторы свертывания и фибри-

нолиза являются белками, обладающими способностью снижать активность двух или более факторов свертывания и фибринолиза. Наибольшей активностью обладает АТ III. По мере развития беременности происходит постепенное снижение его активности (Макацария А.Д. и др., 2008; Момот А.П. и др., 2015).

При беременности отмечено значительное угнетение фибринолиза во II и, особенно, в III триместре беременности. Снижение фибринолитической активности во время беременности является главным фактором усиления коагуляционной активности (Ивашкина Е.П., 2006; Kithens C.S. et al., 2007).

Количество плазминогена – активатора фибринолиза повышается при беременности, однако тканевой активатор плазминогена нейтрализуется PAI. При беременности основную роль играет плацентарный тип ингибитора (PAI-2), уровень которого возрастает к концу беременности в 25 раз (Evelyne R. et al., 2003; Серов В.Н., 2005).

Концентрация эндотелиального PAI-1 увеличивается с 25 недель гестации. Существует мнение, что PAI-2 играет роль в процессах инвазии трофобласта, а также играет роль в защите от преждевременной отслойки плаценты (Ruiz-Quezada S. et al., 2004).

Согласно данным С.П. Лысенкова и др. (2004) спонтанный фибринолиз у женщин при неосложненной беременности регистрируется на 50% выше, чем у небеременных женщин ($p < 0,05$). Возможно, это является компенсаторно-приспособительной реакцией в ситуации, когда усиливаются процессы коагуляции.

К концу III триместра беременности в сыворотке крови повышается концентрация продуктов деградации фибриногена – ПДФ и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), что отражает усиление внутрисосудистого свертывания крови в маточно-плацентарном кровотоке и отражает степень выраженности процессов образования фибрина.

С 8 недель беременности отмечается повышение концентрации РФМК с $4,6 \pm 0,7$ мкг/мл у небеременных женщин до $16,6 \pm 5$ мкг/мл у беременных

($p < 0,005$), параллельно с повышением содержания фибриногена (Лысенков С.П., 2004). Данные научной литературы о содержании ПДФ противоречивы. L. Robertson et al. (2006) установили, что уровень некоторых фрагментов ПДФ повышается с 16 - й недели беременности и достигает плато в 36 - 40 недель. Но выраженное увеличение уровня ПДФ при беременности является, скорее всего, отражением фибринолитического процесса в связи с активацией процесса внутрисосудистого свертывания.

Учитывая тот факт, что состояние гиперкоагуляции, свойственное нормальному течению гестационного процесса, сопровождается увеличением абсолютных значений молекулярных маркеров ТФ, в нашем обзоре литературы отводится важное место анализу их динамики у пациенток с неосложненным течением беременности и родов.

Комплексная оценка уровней молекулярных маркеров ТФ позволяет прогнозировать риск тромботических осложнений беременности и родов, определить показания к проведению профилактических и противотромботических мероприятий, что позволит улучшить акушерские и перинатальные исходы.

Помимо этого, уровни молекулярных маркеров активации свертывания и агрегационной активности Тр (ААТр) являются важнейшими показателями контроля эффективности и безопасности противотромботической профилактики (Самбунова Н.В., 2008).

Известно, что неосложненное течение беременности сопровождается увеличением коагуляционной активности крови вследствие формирования фето-плацентарного комплекса, под воздействием гестагенов, увеличения объема циркулирующей крови. Однако особенностью физиологического течения гестационного процесса является то, что развитие гиперкоагуляции не связано с внутрисосудистым свертыванием крови и усиленным тромбообразованием с развитием коагулопатии потребления. Адаптационные изменения в системе гемостаза создают лишь потенциальную возможность развития

ДВС-синдрома (Choi J.W., Pai S.H., 2002; Paniccia R. et al., 2002; Самбунова Н.В., 2008; Момот А.П. и др., 2015).

Проведен анализ литературных данных, касающихся изменения уровней молекулярных маркеров ТФ в условиях физиологического течения гестационного процесса.

Так, уровень D-димера, который, по мнению ряда авторов, при беременности не превышает нормальных значений (500 нг/мл), другие же авторы считают, что этот показатель в 2 или даже в 3 раза выше. По данным I. Magee L.A. et al. (2008) пределы колебаний уровня D-димера с 1 - й по 20 - ю неделю и находятся между 43 нг/мл и 211 нг/мл, что не отличается от показателей небеременных женщин, с 21 - й по 30 - ю неделю и с 31 - й по 40 - ю неделю были выше ($p < 0,05$), достигая 685 нг/мл к концу беременности.

В исследовании J.Y. Tan (2002) уровень D-димера в плазме крови небеременных женщин составил 129 ± 36 нг/мл, а во II и III триместрах увеличился до 400 ± 170 нг/мл ($n=25$) и 440 ± 220 нг/мл ($n=22$) соответственно.

По данным J.W. Choi и S.H. Pai (2002), концентрация D-димера в III триместре составляла $123 \pm 4,2$ мкг/мл, что значительно превышало его значения в первом триместре ($34 \pm 1,6$ мкг/мл, $p < 0,01$).

M. Almagor et al. (2013) установили, что у всех пациенток уровень D-димера во время физиологически протекающей беременности выше 1000 нг/мл. В исследовании R.Evelyne et al. (2003) сообщалось, что средний уровень D-димера при неосложненном течении гестационного процесса не превышал 875 нг/мл.

При нормальном течении беременности происходит увеличение уровней тромбин-антитромбинового комплекса (ТАТ) и неактивных фрагментов протромбина, что указывает на увеличение коагулянтной активности крови (Greer I.A., 2003). ТАТ отражают *in vivo* уровень образования тромбина. Комплекс ТАТ образуется в процессе связывания образовавшегося тромбина с АТ III, его количество пропорционально образованию тромбина *in vivo* и является маркером усиления свертывания крови.

Известно, что повышение концентрации факторов свертывания крови и угнетение фибринолитической активности в процессе гестации приводит к усилению коагулянтной активности крови. Маркеры активации гемостаза, такие как ТАТ, неактивные фрагменты протромбина и D-димер, отражают состояние гиперкоагуляции и наряду с определением ААТр могут служить лабораторными маркерами прогнозирования и мониторинга выраженной гиперкоагуляции (Lackwood C.J., 2002; Palareti G. et al., 2003), т.е. методом, который позволит выявить пациенток с риском развития тромботических осложнений беременности и родов.

В исследовании J.Sabadell et al. (2010) сообщалось о том, что показатель молекулярных маркеров ТФ женщин I триместра беременности, соответствовали показателям небеременных женщин. Уровень ТАТ колебался от 2,1 до 3,2 мкг/мл, уровень фрагментов протромбина составил 0,85 - 1,34 нмоль/л, концентрация D-димера – 43 - 485 нг/мл. К началу II триместра беременности, происходило увеличение средних значений показателей молекулярных маркеров ТФ, наиболее выраженное после 20 - й недели беременности. Наиболее выраженные адаптационные изменения показателей гемостаза у женщин при физиологической беременности отмечались в III триместре. Самый высокий показатель D-димера у небеременных и пациенток I триместра беременности не превышал 485 нг/мл, к концу II триместра – 975 нг/мл, а в III триместре – 1498 нг/мл.

В исследовании Н.В. Самбуровой (2008) показано, что ААТр с различными индукторами в I триместре беременности существенно не отличалась от показателей агрегации небеременных женщин ($p > 0,05$) и находились в пределах референсных интервалов. У пациенток в I триместре беременности отмечался большой разброс показателей активности Тр при индуцировании низкими концентрациями агонистов (АДФ 1×10^{-5} М и 1×10^{-7} М), что, возможно, свидетельствует о наличии функциональных особенностей Тр пациенток I - го триместра беременности. У пациенток II триместра беременности ААТр, индуцированная АДФ 1×10^{-3} М и 1×10^{-5} М и коллагеном показала дос-

товерное увеличение в сравнении с показателями небеременных женщин и пациенток в I триместра ($p < 0,05$). Адреналин-индуцированная ААТр увеличивалась за счет интенсивной второй волны агрегатограммы – T_{BA} ($p < 0,05$). Анализ агрегатограмм показал что, при даже при воздействии индуктора АДФ низкой (1×10^{-7} М) и средней (1×10^{-5} М) концентрации наблюдалось преобладание кривых необратимого типа, которые составили от 76% до 100%. В III триместре ААТр также свидетельствовала о высоком гемостатическом потенциале Тр. Максимальная ААТр при индуцировании АДФ 1×10^{-3} М и коллагеном была достоверно выше у всех обследованных пациенток ($p < 0,05$). Анализ кривых агрегатограмм также показал преобладание кривых необратимого типа. Обратимый тип агрегации наблюдался лишь при использовании в качестве индуктора АДФ 1×10^{-7} М.

Исследования уровня молекулярных маркеров ТФ показали, что у большей части пациенток вначале родовой деятельности происходит повышение прокоагулянтной активности плазмы, с последующим постепенным усилением после излития околоплодных вод. В процессе второго периода родов коагуляционная способность крови усиливалась, с постепенным увеличением уровней ТАТ и D-димера. Наибольший уровень молекулярных маркеров ТФ отмечался через 25-30 мин после отделения плаценты. ААТр в начале активного периода родовой деятельности при индуцировании высокими дозами АДФ большинстве исследований имела нормальные значения, которые в среднем составили 42,2%, и только в одном исследовании были получены низкие значения (14%). Индуцированная коллагеном ААТр выше 45% встречалась в 76,9% исследований, при индуцировании адреналином повышенные значения агрегации встречались в 46,2% исследований и составили в среднем 38,6%, при этом двухфазный тип агрегатограммы наблюдался только в 11,5% исследований. При использовании низких концентраций агонистов (АДФ 1×10^{-7} М) в 78% исследований происходило усиление ААТр. Из общего числа исследований в 77% исследований в активный период родов происходило усиление ААТр. В период излития околоплодных вод наблюда-

лось незначительное повышение количества Тр и усиливалась их функциональная активность по данным агрегации до 57%. При использовании коллагена в качестве индуктора агрегации число атипичных типов кривых агрегации увеличивалось до 35%, а средняя ААТр с коллагеном у остальных женщин не превышала референсные значения (45%). Было увеличено количество кривых с однофазной необратимой агрегацией при индукции низкими дозами (АДФ 1×10^{-5} М и 1×10^{-7} М). После родов наблюдалось более быстрое понижение концентрации молекулярных маркеров ТФ у пациенток, роды которых происходили через естественные родовые пути, в сравнении с уровнем пациенток после оперативного родоразрешения (Самбутова Н.В., 2008).

Проведение анализа данных научной литературы, позволило сделать вывод об увеличении прокоагуляционного потенциала крови что при физиологическом течении гестационного периода происходит, которое может сопровождаться повышением уровня молекулярных маркеров ТФ и ААТ, наиболее выраженным в III триместре беременности. Повышения концентрации D-димера до конца I триместра беременности не происходит и соответствует концентрации у небеременных женщин, однако, к концу II триместра может повышаться до 1,0 нг/мл, а к концу III - до 1,5 нг/мл. В процессе родов коагуляционная способность крови усиливается и достигает максимума через 15-20 мин. после отхождения плаценты, также наблюдается повышение молекулярных маркеров ТФ. После родов происходит нормализация концентрации D-димера к 3 - м суткам при физиологических родах и 5 - м суткам при проведении операции кесарева сечения (Самбутова Н.В., 2008; Момот А.П., 2014).

Б. И. Кузник (2010) описал процесс межклеточных взаимодействий в процессе гемостаза. Он указал, что в гранулоцитах в процессе гестации могут синтезироваться лизосомальные ферменты, способствующие усилению синтеза простагландинов и активировать ф.ХIIa, который запускает и внешний и внутренний механизм коагуляции, что приводит к повышению коагуляционного потенциала крови. А также, ф.ХIIa усиливает фибринолитическую ак-

тивность плазмы и калликреин-кининовую систему. Таким образом, гранулоциты усиливают сосудисто-тромбоцитарный гемостаз (через простагландины), коагуляционную и фибринолитическую активность плазмы через ф.ХIIa, а также влияют на тонус сосудов, действуя через простагландины и кининоген-кининовую систему.

В результате усиления коагуляционной активности плазмы крови, усиления функциональной активности Тр при уменьшении их количества, усиления фибринолитической активности с появлением продуктов деградации фибриногена/фибрина, а также снижения активности антикоагулянтов, в процессе гестации наблюдаются изменения, характерные для компенсированного ДВС-синдрома.

Таким образом, физиологическая роль гиперкоагуляции опосредована, с одной стороны, обеспечением иммунологической толерантности материнского организма к растущему в нем плоду, с другой – подготовкой к родовому акту, когда необходима быстрая остановка кровотечения после отделения плаценты.

1.3. Этиопатогенез гемостазиологических нарушений при различных видах тромбофилии

В настоящее время диагностика и лечение акушерской патологии является приоритетной проблемой здравоохранения РФ (Мальцева Л.И. и др., 2005; Савельева Г.М., 2005; Kupferminc M., 2005; Доброхотова Ю.Э. и др., 2006; Кулаков В.И. и др., 2006; Carp H.J., 2006; Robertson L. et al., 2006; Пюрбеева Е.Н., Зайнулина М.С., 2007; Серов В.Н и др., 2007; Middeldorp S., 2008; Айламазян Э.К. и др., 2008; Плюшкин В.А. и др., 2009). В настоящее время известно, что причиной развития осложнений беременности в большинстве случаев являются дефекты в системе гемостаза.

Беременность сопровождается физиологической гиперкоагуляцией, при которой частота тромбозов повышается в десятки раз. Так у небеременных женщин тромбозы возникают в 1 случае на 10000 женщин, а

во время беременности от 0,7 до 13 случаев на 1000 женщин. Решающая роль в механизме реализации тромбогенных состояний во время беременности принадлежит гематогенной ТФ, при наличии которой риск развития тромбозов увеличивается в десятки и сотни раз (Lockwood, C.J., 2002; Gerhardt A. et al., 2003; Zotz R.B. et al., 2003; Brenner B. et al., 2005; Ivanovic Z., 2006; Nicolaides A.N. et al., 2006; Samama C.M., 2006; Андреева М.Д., 2016).

На сегодняшний день с позиции ТФ возможно объяснить причины и механизм развития таких акушерских осложнений, как превычное невынашивание беременности, гестоз, ПОНРП, СЗВРП (Rai R., Regan L., 2000; Arkel Y.S., Ku D.H., 2001; Sarig G. et al., 2002; Tan, J.Y., 2002; Brenner B., 2005; Grandone E., Margaglione M., 2003; Hira B. et al., 2003; Louise-Wilkins, M.D., 2003; Nishiguchi T., Kobayashi T., 2005; Пшеничникова Е.Б. и др., 2006; Kuten W.H., Triplett D.A., 2006; Зайнуллин И.А. и др., 2007; Макацария А.Д. и др., 2007; Репина М.А. и др., 2008; Блинецкая С.В., 2009; Момот А.П. и др., 2009; Трифонова Е.А. и др., 2012).

Ранее нарушения в системе гемостаза у пациенток с осложненным течением гестационного процесса было принято считать вторичными, связанными с развитием ДВС-синдрома. Знания об иницирующих факторах тромбоза основывались на вторичной роли изменений коагулянтного потенциала крови и звена антикоагулянтов по отношению к гестационным осложнениям, патологии фето-плацентарного комплекса и наличия экстрагенитальной патологии в период беременности (Brenner B., 2003; Kithens C.S. et al., 2007; Плюшкин В.А. и др., 2009).

С момента открытия Egeberg (1965) дефицита АТ III взгляды на патогенез тромбозов сильно изменились. А открытие в конце XX века АФС и различных форм генетических дефектов системы гемостаза позволило с поновому оценить патогенез большого числа заболеваний в акушерской и общеклинической практике (Кашежева А.З., Ефимов В.С., 2000; Sotiriadis A. et al., 2007).

Доказано, что в развитии тромбозов основную роль играют генетические и приобретенным ТФ, к которым относятся АФС и генетические дефекты факторов свертывания или генетически обусловленные дефициты антикоагулянтов, а именно мутация ф.V Leiden, генетический дефект протромбина, дефицит антикоагулянтов и др. При предшествующей ТФ риск развития тромботических осложнений повышается в сотни раз (Макацария А.Д. и др., 2007).

Проведенные статистико-популяционные исследования и накопленные клинические данные на сегодняшний день, позволяют выделить ТФ в самостоятельную группу причин тромботических осложнений беременности (Rai R., Regan L., 2000; Pihusch R. et al., 2001; Yamada H. et al., 2001; Untried G. et al., 2002; Hohlagschwandtner M., 2003; Louise-Wilkins, M.D., 2003; Сидельникова В.М., 2005; Lissalde-Lavigne G., 2005; Nishiguchi T., Kobayashi T., 2005; Доброхотова Ю.Э. и др., 2006; Behjati R. et al., 2006; Sotiriadis A. et al., 2007; Рапильбекова Г.К. и др., 2008; Момот А.П. и др., 2009).

По данным R.L. Bick (2005), причинами невынашивания беременности в 7% являются генетические аномалии, а в 55 - 62% обусловлены дефектами сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза. Дефекты генов системы гемостаза вызывают ранние тромбозы сосудов плаценты, являясь причиной потери плода. Тромботическая окклюзия плацентарных сосудов снижает питание и, следовательно, жизнеспособность плода (Reznickoff-Etievan M.F., 2001; Many A. et al., 2002; Sarig G. et al., 2002; Tan J.Y., 2002; Verspyck E. et al., 2003; Мальцева Л.И. и др., 2005; Marpeau L., 2005; Carp H.J., 2006; Coppens M. et al., 2007; Middeldorp S., 2007; Агаркова Т.А., 2010).

АФС как приобретенная (вторичная) иммунная форма ТФ является основной из причин потерь беременности у 65% женщин (Cuadrado M.J., Lopez-Pedrera C., 2003; Nishiguchi T., Kobayashi T., 2005).

В исследованиях А.Д. Макацария (2001) показано, что, по меньшей мере, одна из генетических форм ТФ, таких как мутация ф.V Leiden

[Arg506Gln] и протромбина [20210 G/A], полиморфизм генов MTHFR [Ala222Val], встречается у половины женщин, страдающих различными сосудистыми осложнениями беременности. У пациенток, имеющих ПОНРП в анамнезе одна из вышеуказанных генетических аномалий встречалась в 45% случаев.

По данным B.Brenner (2005), наличие у женщины гетерозиготной мутации ф.V Leiden на 350% увеличивает риск перинотальных потерь, а генетический дефект протромбина G20210A увеличивает этот риск на 220%. Полиморфизм гена MTHFR повышает риск невынашивания беременности на 200% (Макацария А.Д. и др., 2008). M.Wilson et al. (2002) показали наличие положительной корреляционной зависимости мутации ф.V Leiden с развитием гестоза во всем мире. По данным других авторов, мутация ф.V Leiden встречалась у 6 - 26,4% (в среднем – у 19%) пациенток с гестозом (Brenner B., 2005).

Полиморфизм генов, кодирующих MTHFR, является фактором риска для возникновения дисфункции эндотелия. Показано, что полиморфизм гена MTHFR встречается при тяжелых формах гестоза в 77,8% случаев (Доброхотова Ю.Э. и др., 2010). По данным А.Д. Макацария и В.О. Бицадзе (2006), у женщин, имеющих данную мутацию, часто развиваются такие осложнения беременности, как СЗВРП – в 25,8% случаев и антенатальная гибель плода – в 17,5%, ПОНРП в 13,3%.

ТФ способствует возникновению дефектов имплантации плодного яйца, нарушению инвазии трофобласта и плацентации. Это провоцирует нарушение перфузии плаценты и сопровождаются развитием гипоксии и повреждением эндотелия. При этом происходит усиленное микротромбообразование в сосудах фетоплацентарного комплекса с последующим нарушением микроциркуляции. Это приводит к формированию первичной плацентарной недостаточности (Серов В.Н., 2005; Carp, H.J., 2006; Kithens C.S. et al., 2007; Middeldorp S., 2007; Агаркова Т.А., 2010; Трифонова Е.А. и др., 2012).

Патогенетические механизмы большинства гестационных осложнений, таких как привычное невынашивание беременности, гестоз, ПОНРП, СЗВРП, продолжают обсуждаться и включают нарушения в системе гемостаза. Причины нарушений могут быть генетически детерминированными (мутации факторов свертывания, дефекты системы фибринолиза и др.) или приобретенными (АФС). Ими обусловлено нарушение имплантации и инвазии трофобласта и функционирования фето-плацентарного комплекса, что приводит к нарушениям кровообращения в системе мать-плацента-плод, что и определяет то или иное клиническое проявление осложнений (Gandra M.J. et al., 2000; Verspyck E., Marpeau L., 2005; Панина О.В., 2003; Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2006; Bates S.M., et al., 2008; Андреева М.Д. и др., 2015).

Классификацию основных форм ТФ можно представить следующим образом (рисунок 1).

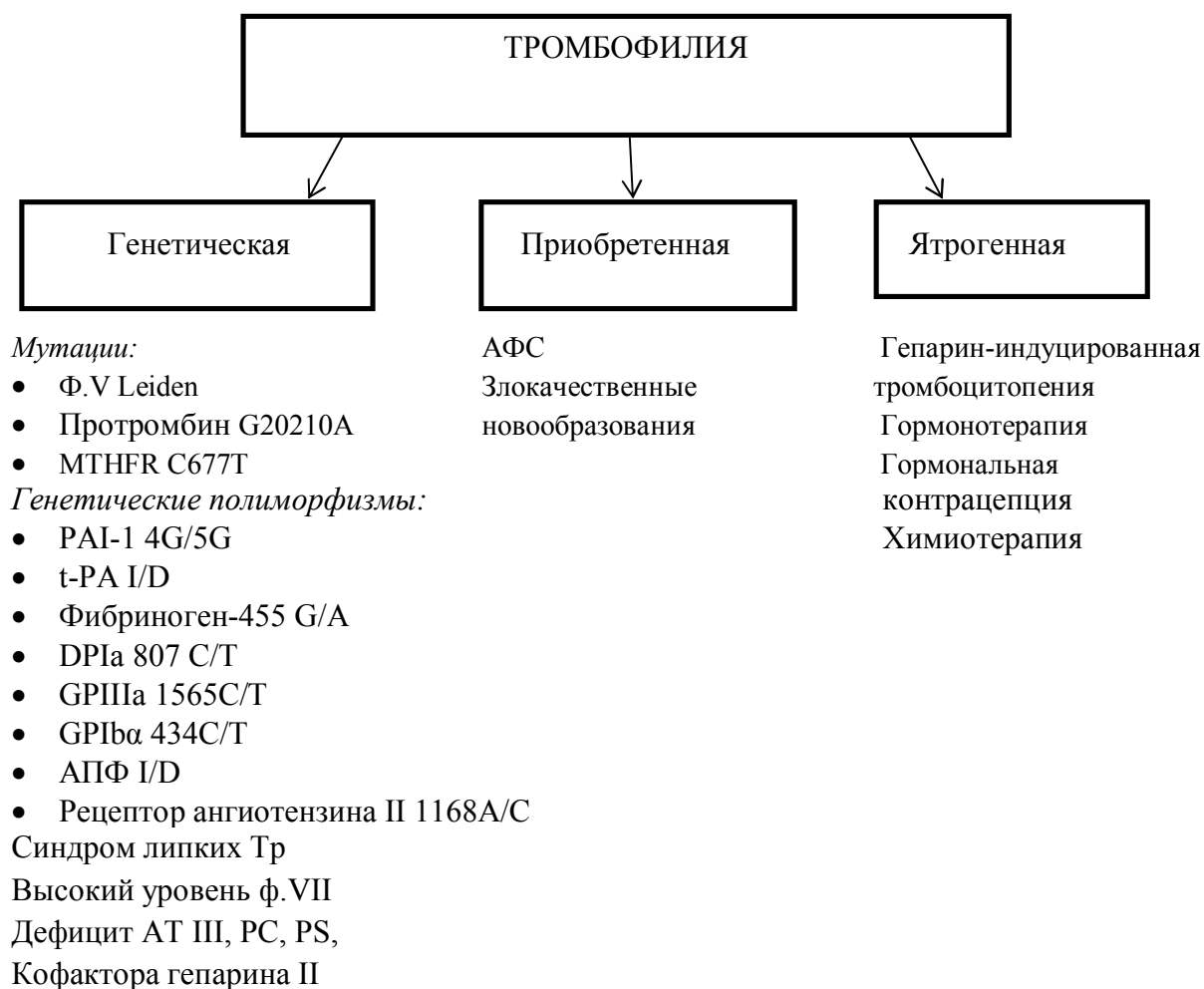


Рисунок 1 – Основные формы тромбофилии
(Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Акиньшина С.В., 2007)

Перинатальные поражения центральной нервной системы (ЦНС), по данным ряда исследователей, являются важнейшей междисциплинарной проблемой педиатрии. Т.Е. Рогалева и др. (2008) считают, что тромботические состояния опосредованно, через плацентарную недостаточность и хроническую внутриутробную гипоксию плода, может приводить к развитию перинатальных энцефалопатий.

Для каждого из видов ТФ присущи нарушения в различных звеньях системы гемостаза. Довольно часто встречаются комбинированные формы ТФ, многим из которых проявляются очень выраженной тромбогенной активностью. При подобных формы патологии зачастую необходимо длительное или же пожизненное проведение антитромботической терапии, в зависимости от наличия генетических дефектов системы гемостаза (Воробьев А.И., 2005; Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2003).

На сегодняшний день одной из основных форм приобретенной ТФ считается АФС. Для постановки диагноза необходимо сочетание лабораторных критериев (наличие АФА) и клинической симптомов – артериальных или венозных тромбозов и акушерской патологии (Gandra M.J. et al., 2000; Neilmann L. et al., 2000; Danoyer-Geindre S. et al., 2003; Макацария А.Д. и др., 2007; Bahaa M. et al., 2007).

АФС – приобретенное аутоиммунное заблуждение. Патогенез АФС основан на образовании в организме большого количества аутоантител против фосфолипидов мембран. Среди мембранных фосфолипидов основными мишенями АФА являются, несущие отрицательный заряд кардиолипид, фосфатидилсерин, фосфатидилнозитол, фосфатидилэтаноламин и фосфатидная кислота, а из белковых компонентов Р2-гликопротеин-1, аннексин V и ф.П (протромбин). Длительно действующие АФА относятся к классам Ig G, Ig M и Ig A. По воздействию АФА происходит блокировка фосфолипидно-белковых комплексов свободных фосфолипидов плазмы крови и лабильных клеточных мембран эндотелиальных клеток, Тр, а также других клеток. При этом

происходит снижение тромбозрезистентности эндотелия и активацией тромбоцитарного компонента гемостаза, а также - дисбалансом в системе плазменного гемостаза (Asherson R.A., Cervera R., 2000; Derksen R.H.M., 2001). Коагуляционный гемостаз характеризуется развитием тромбофилического статуса *in vivo*. При этом происходит активирование ф. Va, ф. Ха и протромбина в сочетании с депрессией противосвертывающих механизмов.

Группа исследователей использовала методику с моноклональными антителами к фосфолипидам и доказала, что при дифференциации и инвазии трофобласта в экстрацеллюлярный матрикс происходит экспонирование фосфолипидов. При этом причиной тромбообразования в сосудах является кофактор-опосредованное воздействие АФА. Основные белки-кофакторы, которые используются в диагностике АФС, представлены β -2-гликопротеинами Ia, аннексином V и протромбином (Soh M.C., Nelson-Piercy C., 2010).

Аннексин V – антикоагулянтный плацентарный протеин-I, сосудистый антикоагулянт α . На сегодняшний день выявлено 27 аннексин - протеинов, обладающих выраженной противосвертывающей активностью. Плацентарный аннексин V, определяет «протективный щит» на фосфолипидной поверхности мембран клеток, при этом блокируется фосфолипидная активация свертывания крови. В процессе циркуляции АФА, подвергается разрушению аннексиновая защита поверхности трофобласта и эндотелиоцитов. АФА связываются с фосфолипидами с высокой аффинностью, или протеин-фосфолипидными комплексами, в которых могут содержаться β -2-гликопротеины Ia, протромбин и другие кофакторы, и снижают способность аннексина V «защищать» поверхность и способствуют увеличению коагуляционного потенциала фосфолипидов. Таким образом, аннексин V является барьером между фосфолипидами мембран и АФА, высокоаффинная связь которых возникает вследствие формирования бивалентных комплексов с β -2-гликопротеинами Ia поверхности фосфолипидов. АФА, связанные с про-

тромбином, имеют выраженную связывающую способность к анионным фосфолипидам мембран, вытесняя при этом аннексин V. Таким образом, основной патогенеза ТФ при АФС является снижение синтеза простациклина, являющегося мощным вазодилататором и естественным ингибитором агрегации Тр, и приводит в дальнейшем к гиперагрегации (Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2006).

Другая группа ученых (Kithens C.S. et al., 2007; Gandra M.J. et al, 2000; Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2010) предположила, что АФА повреждают эндотелиоциты, что провоцирует синтез тканевого фактора с экспозицией анионных фосфолипидов. Циркулирующий β -2-гликопротеин Ia связывается с экспонированными анионными фосфолипидами, к которым в последствии присоединяются АФА и происходит дальнейшее повреждение эндотелия, что способствует. Из поврежденного эндотелиального слоя экспонируются ФВ и фибронектин, что также увеличивает коагуляционный потенциал крови.

АФА могут длительно циркулировать в организме и не приводить к развитию сосудистых осложнений. При наличии триггерных или амплификационных факторов, таких как беременность, длительная иммобилизация, травма, хирургическая операция, послеоперационный и послеродовый период, вирусная инфекция, курение табака, у пациентов с циркуляцией формируется генерализованная микроваскулопатия.

Будучи приобретенной, ТФ обусловленная АФС, может существовать на протяжении многих лет, осложнять течение различных заболеваний, в том числе и беременности. При сочетании циркуляции АФА с наличием генетических дефектов гемостаза прогноз значительно ухудшается. В общей медицинской практике - это патологические процессы, ассоциированные с АФА, такие как аутоиммунные заболевания и патология соединительной ткани (болезнь Крона, системный васкулит и др.), а также бессимптоматическая циркуляция АФА.

АФС проявляется различными клиническими симптомами – вплоть до катастрофического варианта с наличием острой полиорганной недостаточности.

В акушерской практике наличие АФС провоцирует развитие невынашивания беременности, антенатальную гибелью плода, СЗВРП, ПОНРП, HELLP - синдром, способствует неудачным попыткам искусственного оплодотворения, а также развитию послеродового плевропульмонального синдрома.

А.Д. Макацария и В.О. Бицадзе (2010) проанализировали ход течения беременности у 166 пациенток с первичным АФС. Было установлено, что в 32% случаев беременность закончилась выкидышем в I триместре, у 54% – во II триместре, у 12% пациенток установлена антенатальная гибель плода, и только в 2% случаев беременность закончилась физиологическими родами. У обследованных женщин основными клиническими проявлениями были неврологические нарушения (44%), аллергические проявления (34%), синдром Рейно (27%), сетчатое ливедо (16%), геморрагический синдром (14%), тромбозы различных локализаций (10%) (Сердюк Г.В., 2005). У женщин с первичным АФС в 16,9% случаев наблюдалась преэклампсия, а при сочетании с генетической ТФ – в 25,2% случаев (Линников В.И., 2006). У женщин с первичным и вторичным АФС отмечались высокие показатели перинатальных потерь, которые составили 71,43% и 68,97%, соответственно. Частым осложнением беременности была угроза прерывания - 21,74% случаев (Соломонашвили В.Н., 2005). Г.К. Рапильбекова и др. (2008) установили, что беременность у женщин, страдающих гестозом при наличии АФС в 71,4% случаев осложнялась угрозой прерывания беременности, ПОНРП в 9,5% случаев, СЗВРП наблюдался у 24 - 30% женщин, имеющих высокие титры АФА. Новорожденные имели перинатальные поражения ЦНС в 65%. R.A. Asherson и R. Cervera (2000) было установлено, что у детей, родившихся у женщин с синдромом потери плода в 31,4% была отмечена циркуляция АФА.

Термин «наследственная ТФ» является полигенным и отражает тот факт, что в одной семье от одного поколения в другое передается не само заболевание, а предрасположенность к нему. Фенотипические проявления ТФ очень разнообразны. Причина этого заключается в том, что генетическая ТФ является следствием различных компонентов системы гемостаза, а также, следствием множества дефектов и мутаций одного и того же компонента. У пациентов, имеющих гетеро- или гомозиготные варианты генетических дефектов, клиническая симптоматика может отличаться, а также, может зависеть от сочетания с другими генетическими и приобретенными факторами (Dunn J.T., Delange F., 2001; Petrozza J. et al., 2001; Demin G.S. et al., 2005; Макацария А.Д. и др., 2007; Magee L.A. et al., 2008).

В целом, ТФ – это результат ослабления противотромботических защитных факторов организма, усиления протромботических влияний или же их сочетания.

Генетические дефекты в системе естественных антикоагулянтов протеинов C, S и АТ III являются весьма тромбогенными и часто встречаются у женщин с тромботическими осложнениями гестационного процесса.

Наиболее частой генетически обусловленной причиной ТФ считается FV Leiden и состояние резистентности к активированному протеину С (APC). Резистентность к APC встречается у 37% европейского населения, у пациентов с тромбозами – в 20-25% случаев и в 60% случаев у пациентов с рецидивирующими ВТЭ (Davalos I.P. et al., 2005; Segers O., Castoldi E., 2009).

Впервые резистентность к APC, как причина наследственной ТФ, была описана в нескольких семьях (Dahlback B. et al., 1993). Далее R.Bertina et al. в 1994 г. в результате проведения серии исследований установили мутации, ф.V, которая заключалась в замене G→A в положении 506 гена ф.V, которая заключалась в замене аминокислот аргинина на глутамин. Ген ф.V расположен в 1-й хромосоме рядом с геном, кодирующим АТ III. Дефект наследуется аутосомно-доминантно с неполной пенетрантностью. Выявленная точечная мутация была названа мутацией ф.V Leiden. Наличие

этого генетического дефекта приводит к нарушению деградации фактора Va и ф.VIIIa (Goodnight S.H., Hathaway W.E., 2001; Dahlback B., 2005). Фенотип этой мутации проявляется нарушением в функционировании системы протеина C, основного естественного антикоагулянта. В физиологических условиях APC снижает коагуляционную активность посредством расщепления части пептидных связей как в не активном, так и в активированном ф.V (ф.V/ф.Va), а также в ф.VIII. APC-зависимое расщепление ф.Va инициируется протеином S, тогда как для инициативирования ф.VIIIa необходимо участие протеина S и белково модифицированного ф.V при участии APC (D'Elia A.V. et al., 2002; Gerhardt A., 2000; Kitchens K.S. et al., 2002). Протромботический эффект APC-резистентности при ф.V-мутации Leiden имеет, по меньшей мере, два объяснения. Во-первых, отмечается нарушение деградации ф.Va под действием APC, тогда как прокоагулянтный эффект мутировавшего ф.Va сохраняется. Второе объяснение заключается в нарушении в ходе деградации ф.VIIIa, так как нормальный кливаж ф.V в положении Arg 506 является важным для синергичной APC-кофакторной активации ф.V при участии протеина S в деградации ф. VIIIa. Резистентность к APC может иметь место и при других мутациях ф.V (ф.V Cambridge и ф.V Hong Kong), играющий меньшую роль в развитии тромбофилических осложнений (Watanabe H. et al., 2002; Davalos I.P. et al., 2005; Coulam C.B. et al., 2006). Мутация ф.V, являясь генетически детерминированной, обуславливает пожизненный риск возникновения тромбозов. Но в развитии тромботического процесса существенную роль играют дополнительные факторы, чаще, приобретенные, главные из которых –гормональная контрацепция, период беременности, хирургическое вмешательство, иммобилизация и др. Наличие генетического дефекта ф.V повышает риск развития значительного числа тромботических осложнений, таких как потеря беременности на ранних сроках (риск увеличивается в 3 раза), гестоз, фетоплацентарная недостаточность (Demin G.S. et al., 2005; Baksu A., 2006). A. Gerhardt et al. (2000) установили наличие

мутации ф.V у 44% пациенток из 120 обследованных с тромботическими осложнениями гестационного процесса. Проводя обследование 29 беременных женщин с рецидивирующими тромбозами А.Д. Макария и др. (2007) выявили мутацию ф.V Leiden у 41% женщин. В исследованиях Н.Э. Мхеидзе (2006) у беременных с ПОНРП в анамнезе мутация ф.V Leiden встречалась у 14,6% пациенток, а у здоровых беременных женщин – лишь в 2%. В исследовании Г.К. Рапильбековой и др. (2008), генетическая мутация ф.V Leiden встречалась в 9% случаев при обследовании пациенток с синдромом потери плода, а в группе здоровых женщин – только в 3% случаев. При обследовании 84 беременных пациенток с синдромом потери плода в анамнезе А.Д. Макария и др. (2007) установили наличие мутации ф.V в 15% случаев. Проводя обследование 147 женщин с тяжелым гестозом в 13% случаев установлено наличие мутации ф.V Leiden, тогда как в контрольной группе здоровых женщин – только 3% случаев. У пациенток с ПОНРП мутация ф.V выявлена у 14% пациенток, у беременных пациенток без гестоза – только в 3,5%. По результатам мета-анализа 47 статей, посвященных изучению мутации гена ф.V Leiden, аллельного варианта С677Т мутации гена МТНFR и мутации протромбина G20210A, убедительная связь с развитием среднего и тяжелого гестоза была показана только для аллельного варианта 1691A мутации гена ф.V. О наличии генетического дефекта ф.V судят по изменению значений АЧТВ с APC и без него. Если при добавлении APC изменения показателя АЧТВ не значительны, то можно предположить наличие APC - резистентности. Однако у пациенток акушерскими осложнениями АЧТВ может меняться в связи с наличием АФС. Поэтому наиболее точно диагностировать наличие мутации гена методом ПЦР.

Одним из наиболее «тромбогенных» генетических дефектов системы гемостаза является дефицит АТ III. АТ III – естественный антикоагулянт – гликопротеин с молекулярным весом 58 200 и содержанием в плазме 125-150 мг/мл время его полужизни – 3 дня. Первичная структура АТ III состоит из

432 аминокислот. На его долю приходится 75 - 80% всего антикоагулянтного потенциала крови. Наиболее выраженная экспрессия этого гена выявлена в гепатоцитах. АТ III образует комплексы с тромбином, факторами XIIa, XIa, Xa, IXa, снижая их прокоагулянтную активность. В присутствии гепарина эта реакция усиливается более чем в 2000 раз. Дефицит АТ III наследуется ауто-сомно-доминантно. Большинство носителей этого генетического дефекта являются гетерозиготами, гомозиготные носители погибают очень рано от тромбоэмболических осложнений. На сегодняшний день известно более 250 мутаций гена, который располагается на длинном плече I хромосомы (1 q 23 - 25). Частота встречаемости этой патологии варьирует от 0,02% до 0,17%. Среди пациентов с ВТЭ мутации этого гена могут достигать по разным данным от 1 до 8 %. Дефицит АТ III характеризуется либо снижением синтеза белка (I тип), либо нарушением функциональной активности при его нормальной продукции (II тип). Описано 11 мутаций, отвечающих за развитие недостаточности I типа, оно относится к замене одной пары нуклеотидов. Замена Arg29 на стоп-кодон, вызванная транзицией CGA→TGA, приводит к остановке синтеза белка и является наиболее частой. Остальные мутации оказывают влияние на структуру и, следовательно, стабильность АТ III в большей степени, чем на его функциональную активность. К развитию второго типа недостаточности может приводить значительно большее число мутаций и их вариантов. Мутации в стержневой области АТ III могут приводить к синтезу менее стабильной молекулы АТ III при сохраненном в полном объеме секреции и синтеза АТ III. К такой ситуации могут приводить такие замены аминокислот как, Ala382→Thr, Ala384→Ser, Ala384→Pro. Мутации в реактивном центре АТ III могут приводить к потере способности АТ III образовывать комплексы с тромбином. Некоторые варианты мутаций АТ III, например, Ser394→Leu, могут приводить к 480-кратному снижению активности АТ III по отношению к тромбину и ф.Ха. Мутации в области связывания гепарина можно условно разделить на два типа: мутации в области контакта с гепарином, и мутации, способствующие изменению конформации гепарин-связывающего домена АТ III. Описано 11 мутаций

этого вида и они связаны с низким риском развития тромбозов (Макацария А.Д. и др., 2007).

Клинически наследственный дефицита АТ III проявляется тромбозами глубоких вен нижних конечностей, илеофemorальными тромбозами (артериальные тромбозы не типичны для этого генетического дефекта), привычным невынашиванием беременности, мертворождениями, тромбофилическими осложнениями после приема оральных контрацептивов и др. У женщин, не получавших антикоагулянты во время беременности, риск развития тромботических осложнений составляет около 50% (Patnaik M.M., Moll S., 2008).

Дефицит протеина С является важным фактором риска развития рецидивирующих тромбозов. Впервые дефицит врожденного протеина С описан в 1981 г. J.H. Griffen et al. Мутация наследуется аутосомно-доминантно. Введения в клиническую практику метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) упростило проведение скрининга генетических дефектов. На сегодняшний день известно 160 мутаций гена протеина С. Часто наследственный дефицит протеина С сочетается с мутацией ф.V Leiden (Esmon C.T., 2000; Ament L., 2003; Hira B. et al., 2003; Макацария А.Д. и др., 2006).

В плазме взрослого человека в норме уровень протеина С – 65 - 145%. Во время беременности уровень его может повышаться до 150%, значительное повышение происходит в послеродовом периоде. Уровень протеина С при гетерозиготном дефиците составляет от 30 до 60% от нормы. Манифестация ВЭТ происходит в возрасте 20 - 30 лет (Bloomenthal D. Et al., 2002; Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2003; Бокарев И.Н., Попова Л.В., 2005; Esmon C.T., 2004). Протеин С – витамин К - зависимый белок. Его роль основывается на инактивации активированных ф.Va и ф.VIIIa, а также усилении фибринолиза посредством связывания ингибиторов плазминогена (Esmon C.T., 2004; Haywood S. et al., 2005; Kohashi G., et al., 2005). Выделяют два типа дефицита протеина С. Мутации, ответственные за возникновение дефицита I типа изменяют структуру, транспорт и секрецию протеина С.

Фенотипически это характеризуется снижением антигенного уровня и активности протеина С, в основе чего может быть замена участка гена протеина С, а также точечной мутации. Мутации II типа не затрагивают секрецию и стабильность молекулу белка, но значительно нарушают его функциональную активность (Макацария А.Д. и др., 2007).

Клинически дефицит протеина С проявляется привычными потерями беременности, мертворождениями. Потери плода при наличии гетерозиготного дефицита составляют до 27,9% (Petrozza J. et al., 2001; Jaaskelainen E. et al., 2006). Венозные тромбозы и тромбоэмболии любых локализаций возникают в молодом возрасте. Часто возникают некрозы кожи и подкожной жировой клетчатки (особенно при терапии непрямыми антикоагулянтами). Применение оральных контрацептивов значительно повышают риск развития тромбозов (Макацария А.Д. и др., 2006; Amer J., 2005, Esmon C.T., 2006).

У новорожденных детей может развиваться синдром неонатальной фульминантной пурпуры, который наблюдается у гомозигот и гетерозигот по типу I и по типу II дефицитов протеина С. Клиническая картина развивается в период новорожденности и проявляется экхимозами, изъязвлениями, очагами некроза кожи, часто тромбозами сосудов мозга. В большинстве случаев заболевание заканчивается летальным исходом. У беременных с дефицитом протеина С тромбозы развиваются в 36% случаев (Petrozza J. et al., 2001).

В клинической практике встречается и приобретенный дефицит протеина С, который развивается на фоне таких патологических состояний как, тромбозы глубоких вен, послеоперационный период, ДВС, ТЭЛА, инфекционные гепатиты, злокачественные заболевания, респираторный дистресс-синдром, тромбоцитопеническая пурпура и др. (Dahm A., 2003; Aird W.C., 2004; Макацария А.Д. и др., 2006; Момот А.П., 2006).

Дефицит протеина S может быть не только наследственно обусловленным, но и приобретенным. Так при клинических проявлениях

дефицита, мутации были найдены только у 44% пациентов. Протеин S - неэнзиматический кофактор протеина C. Он участвует в инактивации ф.Va и ф.VIIIa и обладает несвязанной с протеином C противосвертывающей активностью. Циркулирующий протеин S имеет две формы. Свободный протеин S, обладающий APC-кофакторной активностью, составляет 40% от всего протеина S, 60% составляет протеин S, связанный с C4-связывающим протеином, который не обладает APC-кофакторной активностью. Референсные значения протеина S имеют колебания от 80 до 120%. Во время беременности его активность может быть снижена до 60 - 80%. Более выраженное снижение происходит в послеоперационном периоде (Dahlback B., Villoutreix B.O., 2005; Макацария А.Д. и др., 2007).

Для дефицита протеина S характерно аутосомно-доминантное наследование. В последние десятилетия выявлено более 70 видов мутаций этого гена. Выделяют 3 варианта дефицита протеина S. Для первого варианта характерно снижение антигенного уровня общего и свободного протеина S, а также снижение его активности. Второй характеризуется снижением только функциональной активности протеина S. При третьем варианте мутации снижается только уровень свободного протеина S, при нормальном уровне общего и снижается его активность.

Клинически мутации могут проявляться возникновением спонтанных тромбозов. Частота потерь беременности может достигать 16,5%. Значительно чаще наблюдаются мертворождения (Petrozza J. et al., 2001; Bloomenthal D., 2002).

Мутация протромбина G20210A была впервые выявлена и описана в 1996 году S. Rost и соавт. при обследовании 28 пациентов, имеющих в анамнезе тромбозы. Используя метод ПЦР, ученые выявили наличие мутации гена протромбина G20210A 18% пациентов. При обследовании пациентов контрольной группы данный дефект обнаружился только в 1% случаев (Burzotta F. et al., 2004). Частота обнаружения этой мутации также высока, как и чисто Лейденской мутации. Риск развития тромбозов при этом увеличивается в 4

- 5 раз. Наследуется мутация аутосомно-доминантно. Среди пациентов с ВТЭ мутация гена протромбина встречается в 6-7% случаев (Grandone E. et al., 2002). У трети пациентов с данной патологией могут развиваться цереброваскулярные тромбоокклюзионные заболевания. Примерно у 30% пациентов для развития тромбозов необходимы провоцирующие факторы. Для части пациентов характерно бессимптомное носительство этой мутации. При приеме оральных контрацептивов и беременности риск развития тромбозов может повышаться в сотни раз. Кроме того, возможно развитие тромбозов редких локализаций (Сидельникова В.М., Кирющенко П.А., 2004; Mtiraoui N. et al., 2005; Макацария А.Д. и др., 2007). В 75% случаев при данной мутации впервые ВТЭ развиваются у лиц старше 45 лет, это говорит о том, что изолированная мутация протромбина G20210A является менее тромбогенным фактором риска, чем дефицит протеина С и S, а также АТ III.

Причиной повышения уровня протромбина при данной мутации считается активация транскрипции гена протромбина при наличии аллеля А и повышение стабильности белка. Это приводит к увеличению образования тромбина, что, в свою очередь приводит к активации коагуляционного каскада и стимуляции образования активных ф.Va, ф.VIIIa и ф.XIa. Также тромбин выполняет антикоагулянтную функцию, активируя систему протеина С и взаимодействуя с тромбомодулином. При наличии сочетания мутации гена протромбина с резистентностью к APC не происходит активации ф.Va и ф.VIIIa, которые продолжают стимулировать выработку новых молекул тромбина.

В 40% случаев выявлено сочетание мутации гена протромбина G20210A с мутацией ф.V Leiden. При данном сочетании мутаций рецидивы тромбозов развиваются у 70% пациентов (Пизова Н.В., 2013). Данные, представленные А. Gerhard (2000) о сочетании мутации гена протромбина и ф.V показывают увеличение риска развития тромбозов в 50-80 раз. Также для данного сочетания мутаций характерно манифестирование тромбозов в 20 – 25 лет (Burzotta F. et al., 2004)

В течение последних 25 лет в научной литературе появились данные об участии гипергомоцистеинемии в патогенезе различных заболеваний со склонностью к тромбообразованию в том числе и в акушерстве. Гипергомоцистеинемия является фактором риска развития многих акушерских осложнений. Это генетический дефект ответственен за развитие таких патологических состояний, как таких преждевременное невынашивание беременности, гестоз, ПОНРП, а также артериальных и венозных тромбозов, уродств плода (Ефимов В.С., Кашежева А.З., 2000; Макацария А.Д. и др., 2005; Белобородова Е.В., 2006; Плужникова, Т.А., 2008; Блинецкая С.Л., 2009; Гродницкая Е.Э., 2010).

Гомоцистеин – аминокислота, которая образуется в процессе биосинтеза метионина. Под его воздействием снижается активность тромбомодулина, являющегося стимулятором для протеина С, происходит ингибирование протеинов С и S, тканевого активатора плазминогена, активирует V и VII факторы свертывания и снижает активность АТ III (Решетняк Т.М. и др., 2006; Плужникова Т. А., 2008; Grandone B. et al., 2004; Huang T. et al., 2008).

Даже в низких концентрациях гомоцистеин обладает выраженной цитотоксической активностью в отношении к эндотелиальных клеток, способен ингибировать в них циклооксигеназную активность. В результате этого снижается продукция простациклина и в тоже время усиливается продукция тромбоксана A_2 , а, следовательно, повышается ААТр (Fatini C. et al., 2000; Баркаган З.С. и др., 2002; 2006; McKee S.A. et al., 2002; Белобородова Е.В. и др., 2006).

Эндотелиоциты и синтезируемый ими оксид азота (NO) играют основополагающую роль в обмене гомоцистеина. В физиологических условиях выделяемый эндотелиоцитами избыток гомоцистеина связывается в микроциркуляторном русле с эндотелиальным NO с последующим образованием S-нитрозо-гомоцистеина, который лишен цитотоксического эффекта и обладающего способностью к вазодилатации и качествами антитромбоцитарно-

го агента. В условиях гипергомоцистеинемии наблюдается блокировка эндотелиальной NO-синтазы, снижается образование NO с дальнейшим нарушением синтеза S-нитрозо-гомоцистеина. Гомоцистеин может индуцировать усиление активности 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим-A-редуктазы, которая является кофактором биосинтеза спиртов из соответствующих оксидов. Спирты, в свою очередь, покрывают клетки эндотелия, что приводит к его повреждению (реакции окисления), с дальнейшим снижением синтеза NO, и защитных свойств (Макацария А.Д. и др., 2005; Bick R.L., 2005; Chatterjee A., Catravas J.D., 2008; Huang T. et al., 2008; Мазуров А.В., 2011).

Уровень гомоцистеина в плазме крови зависит от многих факторов. Установлено повышение уровня данной аминокислоты у лиц, употребляющих много кофе, алкоголя и курящих. Имеется выраженная тенденция повышения уровня гомоцистеина с возрастом, у женщин в постменопаузе, у пациентов с артериальной гипертензией, гиперхолестеринемией (Huang T. et al., 2008).

Есть данные о снижении уровня гомоцистеина при физиологической беременности (более 50%). Часто это происходит между первым и вторым триместрами беременности. Повышение уровня гомоцистеина происходит в течение 2 - 4 дней после родов. Снижение концентрации гомоцистеина у беременных является физиологическим и способствует нормальной микроциркуляции в плаценте. Возможно, причиной снижения концентрации гомоцистеина является увеличение уровня эстрогенов (Steegers-Theunissen R.P. et al., 2004; Chatterjee A., Catravas J.D., 2008).

Имеются литературные данные о повышении риска развития тромбозов в 2 - 3 раза на фоне гипергомоцистеинемии (Городницкая Е.Э., 2010; Козлова Т.В., 2005; Cattaneo M., 2006; Eldibany M.M., Caprini J.A., 2007). Механизм развития тромбозов у пациентов с гипергомоцистеинемией до конца не ясен. Большая часть данных литературы основывается на создании экспериментальных моделей, используя высокие концентрации (от 1 до 10 мМ, что в 10 - 100 раз превышает концентрацию в плазме при тяжелой гипергомоцистеинемии).

К генетическим полиморфизмам обуславливающим гипергомоцистеинемию относятся: «С677Т» MTHFR, «66 А/Г» метионинсинтетазы, «2756» метионинсинтетазы, «1958G/A» метилентетрагидрофолатдегидрогеназы, «1298A/C» MTHFR. На сегодняшний день открыто более 20 вариантов мутации MTHFR.

Наиболее частой причиной гипергомоцистеинемии, является аутосомно-рецессивная мутация MTHFR C677T с заменой цитозина на тимин в 677 положении, что приводит к снижению функциональной активности фермента до 35%. В литературе встречаются противоречивые данные о взаимосвязи мутации MTHFR C677T с риском развития ВТЭ. У больных с гомозиготной формой мутации MTHFR уровень гомоцистеина в значительной степени повышается в сочетании с дефицитом фолатов. При нормальном уровне фолатов в крови у этих пациентов, уровень гомоцистеина может соответствовать норме или уровню пациентов с гетерозиготной мутацией. Возможно, связно с различным уровнем потребления витаминов группы В и фолатов в различных странах (Бицадзе В.О., 2004; Davalos I.P. et al., 2005; Den Heijer M. et al., 2005; Naess I.A. et al., 2008). В европейской популяции 10 - 13% являются гомозиготными носителями этого варианта мутации. При субоптимальном потреблении фолатов уровень гомоцистеина у них возрастает на 50% (Jaaskelainen E. et al., 2006; Trabetti E., 2008). Таким образом, данная ситуация является примером того, как риск развития тромбозов при наличии мутации MTHFR C677T зависит от коррекции фенотипического его проявления извне.

Сочетание мутации MTHFR C677T и гипергомоцистеинемии с мутацией ф.V Leiden приводит к повышению риска развития тромбозов и тромбоземболий (Keijzer M.B. et al., 2002). Различные дефекты в системе фибринолиза могут стать причиной развития тромботических осложнений. Среди генетических факторов выделяют дефекты плазминогена, тканевого активатора плазминогена, ф.XII свертывания крови, PAI-1 и повышение уровня ингибиторов фибринолиза – α_2 -антиплазмина, α_2 -макроглобулина, α_1 -антитрипсина.

Активаторы плазминогена играют важную роль в регуляции фибринолитической системы, их дефицит может предрасполагать к развитию тромбозов вследствие снижения уровня активного протеолитического фермента – плазмина. (Ruiz-Quezada S. et al., 2004; Mtiraoui N. et al., 2005).

Чаще других в клинической практике встречается полиморфизм 4-гуаноидина (4G/5G) в промоторе PAI-1. Вследствие этого усиливается активность ингибитора активатора плазминогена 1 типа. При гомозиготном варианте мутации 4G аллеля уровень PAI-1 повышается на 25 - 30%, в сравнении с гетерозиготным вариантом мутации или гомозиготным по аллелю 5G. Этого полиморфизм связан с высоким риском развития тромбозов. Мета-анализ исследований указывает на увеличение риска коронарных нарушений в 1,3 раза при снижении фибринолитической активности в следствии повышения уровня PAI-1 (Wiklund P.G. et al., 2005).

Помимо генетических факторов причинами увеличения PAI-1 в плазме может быть уровень глюкозы, липопротеинов очень низкой плотности и др. Так, при метаболическом синдроме или синдроме X, определяется повышенный уровень PAI-1 в плазме крови с сопутствующей инсулинорезистентностью, характерной для этого патологического состояния. У пациенток с синдромом поликистозных яичников и инсулинорезистентностью достоверно чаще определяется полиморфизм 4G/4G PAI-1 (Макацария А.Д. и др., 2007). ВТЭ наблюдается у 17,7% пациенток со сниженной активностью тканевого активатора плазминогена (Grandone E., Margaglione M., 2003).

Беременность, экстракорпоральное оплодотворение, прием оральных контрацептивов являются провоцирующими факторами тромбоэмболизма у пациенток с генетически обусловленным гипофибринолизом.

Одной из необычных причин дисфибринолиза является дефицит ф.ХII. Наследуется дефицит аутосомно-рецессивно. Впервые был выявлен у пациента Хагемана, который впоследствии умер от ТЭЛА. Интересно, что структура молекулы ф.ХII имеет сходство с молекулами плазминогена и тканевого активатора плазминогена, что опосредует более важную роль ф.ХII для фиб-

ринолиза, чем для коагулянтного ответа. Ф.ХІІ инициирует активацию коагуляционного процесса и катализирует превращение плазминогена в плазмин. Известно, что одной из причин дефицита ф.ХІІ является полиморфизм С46Т. В европейской популяции дефицит ф.ХІІ встречается от 1,5 до 3% населения, а в 9-15% является фактором развития ВТЭ (Carp, H.J. et al., 2003). При наличии дефицита ф.ХІІ значительно увеличивается риск привычного невынашивания беременности, учитывая важную роль фибринолитической системы в процессах инвазии трофобласта (Макацария А.Д. и др., 2007).

В последнее время, в связи с достижениями в области молекулярно-генетической диагностики и доказательством роли рецепторов Тр в процессах тромбообразования внимание ученых привлекли различные генетические полиморфизмы тромбоцитарных гликопротеинов (GP). Генетические дефекты тромбоцитарных рецепторов стали рассматриваться в качестве важнейших факторов риска тромботических осложнений. Значение генетических полиморфизмов различных гликопротеинов Тр в развитии тромбозов неодинаково, но обнаружена взаимосвязь между различными формами полиморфизма генов тромбоцитарных рецепторов и развитием тромботических осложнений (Воронина Е.Н. и др., 2006; Мазуров А.В., 2011).

Большинство гликопротеиновых рецепторов Тр, непосредственно вовлеченных в процесс тромбоцит-опосредованного тромбообразования, являются протеиновыми комплексами, которые состоят из двух или более полипептидных субъединиц, связанных с мембраной Тр. Гены, кодирующие различные гликопротеин, определяют различные клеточные взаимодействия. Часто гены рецепторов Тр могут содержать различные дефекты (т.е. замены нуклеотидов, встречающиеся, как минимум, у 1% общей популяции). Такие генетические полиморфизмы оказывают потенциальное влияние на функциональное состояние тромбоцитарных рецепторов (Воронина Е.Н. и др., 2006).

Полиморфизм нуклеотида, развивающийся в регуляторном участке гена, нарушает матричную РНК или стабильность белка, при этом способен

модулировать уровень экспрессии рецептора на поверхности Тр. Полиморфизм нуклеотида приводит к структурным преобразованиям рецептора и способен изменять его адгезино-агрегационные свойства. Полиморфизм может приводить к образованию новых антигенных детерминант на мембране Тр (Мазуров А.В., 2011).

В настоящее время важная роль отводится «классическому» рецептору фибриногена – комплексу GP IIb/IIIa, который определяет агрегацию активированных Тр и, таким образом, представляет интерес с точки зрения установления патогенетических механизмов развития тромботических осложнений (Coller B.S., 1997; Bojesen, S.E., et al., 2003).

Тромбоцитарный рецептор GPIa/IIIa – имеет сродство к коллагену, являющегося самым тромбогенным субэндотелиальным фактором.

Субъединицы рецептора IIb/IIIa могут содержать различные дисморфизмы аминокислот. Дисморфизм PL^{A1}/PL^{A2} приводит к замене нуклеотида Т на С в положении 1565, что приводит к замене аминокислоты Leu33 на Pro33. Этот дисморфизм встречается в европейской популяции у 15 - 35%.

Замена Leu33→Pro в молекуле GP IIIa вызывает структурные изменения в пределах рецептора. Такие структурные изменения могут нарушать лигандное связывание с конформационно активным GP IIb/IIIa-рецептором. Согласно экспериментальным данным PL^{A2} может ассоциироваться с повышением связывания с «иммобилизированным» фибриногеном, изменением актинового цитоскелета и ретракции сгустка и, таким образом, индуцировать мягкую протромботическую активность (Bojesen, S.E. et al., 2003).

Основным лигандом дефекта С434Т гена GPIba является ФВ. В европейской популяции носительство аллеля «434Т» GPIba встречается у 10 - 15% населения. В ряде исследований показано, что этот генетический вариант часто ассоциируется с возникновением артериального тромбоза, ишемического инсульта, острого инфаркта миокарда (Gresele P. et al., 2002; Michelson A.D., 2002; Воронина Е.Н. и др., 2006). Полиморфизм в гене GP Ia наблюдается у лиц европеоидной расы в 40%. Фенотипически данный поли-

морфизм проявляется повышением плотности основного рецептора коллагена GPIIb/IIIa на мембране Тр с первичным активированием адгезивной активности Тр и рядом реакций, способствующих агрегации Тр (Воронина Е.Н. и др., 2006).

В литературе встречаются данные молекулярно - генетических исследований, свидетельствующих о связи полиморфизма GP Iba Tgpl45-Met с увеличением риска развития тромботических осложнений, хотя эти данные неоднородны. Была выявлена более тесная взаимосвязь полиморфизма GP Iba с развитием инфарктов, инсультов и транзиторных ишемических атак (Gresele P., 2002; Michelson A.D., 2002; Bojesen, S.E., et al., 2003).

В последнее время сложно говорить о роли изолированного полиморфизма гена рецепторов Тр в возникновении тех или иных тромбоцитарно-сосудистых осложнений. Считается, что для их развития необходимо сочетание различных генетических и фенотипических «тромбогенных» факторов или полиморфизмов рецепторов Тр (Баймурадова С.М., 2007; Мазуров А.В., 2011).

В ряде исследований показана роль генетических форм ТФ в генезе репродуктивных потерь у пациенток с потерей беременности, вызванной гестозом тяжелой степени тяжести, антенатальной гибелью плода, СЗВРП, ПОНРП. Почти у половины обследованных пациенток была выявлена генетическая ТФ. Встречались мутации ф.V Leiden, G20210A, MTHFR C677T, дефицит протеина C, S и АТ III (Boianovski B. et al., 2001; Kupferminc M.J. et al., 2002; Behjati R. et al., 2006). Т. Adachi и др. (2005) проводили гистологическое исследование плацент у этих женщин. При проведении гистологического исследования установлено, что у 72% женщин с установленным диагнозом ТФ отмечается множественные участки инфарктов плаценты, а в контрольной группе, без генетических полиморфизмов – только у 39% женщин. Также у большинства женщин с генетической ТФ был описан фибриноидный некроз децидуальных сосудов (Adachi T. et al., 2005).

A. Yalinkaya et al. (2006) обследовали 13 женщин с самопроизвольным прерыванием беременности, преэклампсией, антенатальной гибелью плода. Проведенное ПЦР-исследование показало наличие генетических детерминант ТФ у 77% пациенток. Анализ результатов гистологического исследования плацент показал тромботическое поражение, проявляющиеся тромбозом сосудов фето-плацентарного комплекса с децидуальным депонированием фибрина.

Данные этих двух исследований характеризуют генетическую ТФ как главную причину внутрисосудистых изменений плаценты и репродуктивных потерь. В литературе имеются данные, не подтверждающие вышеописанную связь между результатами гистологического исследования плацент и наличием вышеуказанных тромботических осложнений.

Доказано, что ТФ может стать причиной гестозов, угрозы невынашивания, фетоплацентарной недостаточности и пр. Не всегда однозначные результаты, получаемые исследователями по определенной патологии объяснимы, вероятно, узким спектром изучаемых видов ТФ и не учитываемым возможным влиянием плода в развитии ТФ.

Так как беременность является многоэтапным процессом взаимодействия матери и плода, то со стороны плода, возможно влияние на течение гестационного процесса. W.H. Kuttah и D.A. Triplett (2006) было проведено исследование 233 пациенток с гестационной гипертензией и преэклампсией, СЗВРП на наличие ТФ матери и плода. Данные этого исследования, несмотря на небольшой спектр изучаемых дефектов (ф.V Leiden, протромбина G20210A), показали важную роль фетальной ТФ в возникновении акушерских осложнений беременности.

Подводя итог этого раздела следует отметить высокую актуальность исследования роли наследственных и приобретенных дефектов системы гемостаза в патогенезе развития сосудистых осложнений беременности и патологии фето-плацентарного комплекса.

Усиление коагулянтного потенциала крови у пациенток во время беременности в сочетании с генетическими и приобретенными факторами может быть главной причиной развития акушерской патологии. Доказано, что основное количество данной патологии связано с коагулологическими нарушениями. Частота заболеваемости, опасные осложнения, требуют от акушеров-гинекологов, педиатров, врачей клинической лабораторной диагностики четкого представления об этиологии и патогенезе нарушений свертывания крови. Благодаря успехам молекулярно-генетической диагностики, увеличению научных данных о патогенетических механизмах тромбоэмболических состояний в акушерстве, а также опыту использования новейших антитромботических препаратов, сегодня мы имеем больше данных за то, что разработка алгоритмов обследования и лечения, назначение противотромботических препаратов женщинам из «групп риска» считается патогенетически оправданным и необходимым для профилактики и лечения тромбоэмболических состояний как матери, так и плода.

В связи с вышесказанным, представляет значительный интерес изучение патогенеза гемостазиологических расстройств у женщины в фертильном цикле и во время беременности, в частности, генетической ТФ и их влияния на течение гестационного процесса, а также, что особенно важно, на состояние здоровья детей и их систему гемостаза.

При многочисленности публикаций отсутствуют работы, включающие описание биохимических и патофизиологических механизмов развития генетической ТФ во время беременности и влияния на состояние гемостаза их новорожденных детей.

1.4. Особенности метаболических параметров беременных в условиях гиперкоагуляции

В последние годы отмечается снижение материнской и перинатальной заболеваемости. Однако, отмечается постоянное увеличение числа заболеваний, связанных с морфофункциональными нарушениями в системе «мать-

плацента-плод», прежде всего у женщин с отягощенным соматическим и акушерско-гинекологическим анамнезом, а также осложненным течением беременности (Стрижаков А.Д. и др., 2007; Плюшкин В.А. и др., 2009; Пизова Н.В., 2013). Одной из основных причин осложненного течения гестационного процесса и родов, а также высокой перинатальной заболеваемости и смертности считаются заболевания, ассоциированные с ТФ, такие как фетоплацентарная недостаточность, СЗВРП, умеренная и тяжелая преэклампсия (Сухих Г.Т. и др., 2013; Андреева М.Д., 2016).

Известно, что, в функционировании системы мать-плацента-плод главная роль принадлежит плаценте, способной аккумулировать и синтезировать ряд веществ, необходимых для развития плода. Плацента выполняет эндокринные функции, вырабатывая ряд гормонов: прогестерон, эстроген, хорионический гонадотропин, плацентарный лактоген и др. Плацента осуществляет нервные и гуморальные взаимосвязи между организмом матери и плода. Внеплацентарные гуморальные взаимодействия осуществляются через плодные оболочки и амниотическую жидкость (Оразмурадов А.А., 2003; Момот А.П. и др., 2014).

Нарушения в антиоксидантной, калликреин-кининовой и иммунной системах матери находятся в тесной взаимосвязи с состоянием адаптивно-компенсаторных реакций плода, влияют на полноценность фетоплацентарного комплекса и определяют исход недоношенной беременности (Ветров В.В. и др., 2012).

У пациенток с патологическим течением беременности, в частности, осложненной умеренной преэклампсией (наиболее распространенной степени), в 100% случаев регистрируется нарушение в системе гемокоагуляции. Для этой патологии характерна дезадаптация системы гемостаза и формирование хронического синдрома ДВС крови, что является патогенетическим фоном для возникновения тромбгеморрагических осложнений в родах и послеродовом периоде. Гипоксия в результате спазма сосудов и нарушения микроциркуляции, а также снижение эндогенного антиоксидантного потен-

циала, создают условия для активации процессов свободно-радикального окисления (СРО). Прослеживается взаимосвязь перекисного окисления липидов (ПОЛ) с процессами свертывания крови: активация ПОЛ влечет за собой активацию свертывания крови, а последнее ускоряет ПОЛ. Таким образом фактор, активирующий генерацию тромбина или ПОЛ, инициирует порочный круг, включающий тромбинемия, нарушение микроциркуляции, гипоксию, деструкцию мембран клеток и активизацию ПОЛ (Акуленко Л.В. и др., 2015; Судуткина Л.Н. и др., 2014).

В последние годы оксидативный стресс выступает в качестве одного из патогенетических факторов акушерской и неонатальной патологии. Оксидативный стресс отражается в нарушении между антиоксидантной активностью (АОА) организма и прооксидантами (Siddiqui I.A. et al., 2013). В течение гестационного процесса возникает потребность в увеличении АОА для борьбы с окислительным стрессом (Бахарева И.В., 2014), так как прооксидантные факторы могут превалировать над антиоксидантной буферной активностью материнского организма, и может способствовать развитию апоптотических изменений клеток. Сбой в антиоксидантной системе во время беременности может привести к преждевременному излитию околоплодных вод, преэклампсии, СЗВРП, врожденным порокам развития плода и др. (Бахарева И.В., 2014).

Оксидативный стресс относят к одному из патогенетически важных факторов развития патологии плода в неонатальном периоде (респираторному дистресс-синдрому, ретинопатии, энтероколита и др.) из-за несостоятельности механизмов АОА в период новорожденности (Кузьменко Г.Н., 2011). Свободные радикалы могут инициировать цитотоксическое повреждение белков и липидов мембран клеток. Избыточное содержание прооксидантных компонентов приводит к нарушению эндотелиального слоя сосудов в различных органах и тканях организма, что приводит к разрушению ДНК клетках (Шалина Р.И., 2013; Vykov I.M., Basov A.A., 2015). В протромбогенных

условиях прооксиданты способны приводить к нарушению плацентации и развитию акушерской патологии (Петухова А.В., 2012).

Свободные радикалы при беременности в условиях гиперкоагуляции способны инициировать синтез простагландинов, что приводит к досрочному возникновению родовой деятельности, преждевременным родам, а также способствуют вазоконстрикции, приводящей к преэклампсии, плацентарной недостаточности и СЗВРП) (Бахарева И.В., 2014) Активные формы азота также способны нарушать строение клеточной ДНК и изменять вазодилаторные функции оксида азота (NO) (Tang L. et al., 2014).

Ишемия, гипоксия тканей, наблюдаемые при ряде гиперкоагуляционных осложнений гестационного периода, являются факторами, усиливающими синтез свободных радикалов в тканях (Доброхотова Ю.Э. и др., 2008).

Итогом ПОЛ является образование малонового диальдегида (МДА), ингибирующего простаглантиную активность, усиливая адгезивные и агрегационные свойства Тр и способствует возникновению тромбоза. Параллельно снижению образования простаглантина усиливаются синтез тромбоксанов, повышающих адгезию Тр к эндотелиоцитам, что нарушает микроциркуляцию и способствует тромбообразованию. Перекисному окислению подвергаются липиды и фосфолипиды сосудистой стенки, после чего они распознаются клетками иммунной системы как чужеродные, что приводит к синтезу специфических антител.

Маркером оксидативного стресса при патологической гиперкоагуляции является образование перекисей липидов в плаценте и крови, в частности, увеличение концентрации МДА и одновременное повышение содержания арахидоновой кислоты в плазматической мембране микроворсинок (Демидович Е.О., 2008; Ветров В.В. и др., 2012).

В плаценте и децидуальной оболочке содержание карбонильных групп белков, которые являются продуктами окисления белков увеличено, а показатель антиоксидантной активности (АОА) снижен у пациенток с ТФ в срав-

нении с таковым при физиологически протекающей беременности (Доброхотова Ю.Э. и др., 2008).

Одним из важных ферментов системы антиоксидантов является церулоплазмин (ЦП). ЦП – медьсодержащая оксидаза, относится к альфа-2-глобулиновой фракции плазмы крови человека. Особый интерес вызывают антиоксидантные, иммунорегулирующие, радиопротективные свойства. Благодаря своей высокой феррооксидазной активности ЦП предотвращает неферментативные реакции, дающие начало свободным радикалам и дальнейшему развитию ПОЛ. При физиологических условиях ЦП крови ингибирует ПОЛ на 50%. Подавление ПОЛ достигается за счет перехвата и инактивации супероксидного ион-радикала O_2 (Бахарева И.В., 2014; Акуленко Л.В. и др., 2015).

Выявлено увеличение концентрации ЦП у беременных в сравнении с их значениями у небеременных. Вероятно, данный факт объясняется активацией системы ПОЛ при беременности, приводящей в свою очередь к активации антиоксидантной системы защиты организма. Кроме того, выявлено достоверное снижение активности ЦП в условиях акушерской патологии, ассоциированной ТФ, что может быть объяснено истощением антиоксидантной системы защиты организма в условиях ее напряженного функционирования, вызванного развитием тяжелых осложнений беременности (Шалина Р.И., Казампетов М.Р., 2013).

Таким образом, при патологически протекающей беременности наблюдается дисбаланс в системе ПОЛ–АОА. При активации процессов СРО на фоне снижения антиоксидантной активности риску повышенной окислительной модификации подвергаются не только липиды, но и белки. В связи с этим вызывает интерес изучение показателей перекисного окисления липидов и АОА у пациенток, имеющих тромбофилические осложнения беременности.

Установлено, что в организме беременной женщины происходит усиление гуморальной активности иммунитета и повышение синтеза цитокинов.

Воздействуя на поверхностные рецепторы клеток, провоспалительные цитокины опосредуют развитие дисфункции эндотелия.

Эндотелиоциты являются продуцентами цитокинов и, одновременно, их мишенями (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008). Цитокины принимают участие в коагуляционном процессе. Провоспалительные цитокины стимулируют образование протромбиназы, провоцируя тромботические осложнения, а усиление коагуляционной активности, в свою очередь, стимулирует развитие воспалительной (Сенников С.В. и др., 2015; Шкорик Е.В. и др., 2016).

Прокоагулянты воздействуют на рецепторы протеаз и при участии цитокинов опосредуют взаимосвязь коагуляционных и воспалительных процессов, при этом тромбин вызывает экспрессию интерлейкина (ИЛ)-6. Цитокины ИЛ-6 и ИЛ-8 являются биохимическими маркерами нарушения микроциркуляции при развитии ишемических и реперфузионных расстройств, кроме того, цитокинемия считается маркером системного воспаления (Началов П.В. и др., 2016). В условиях цитокинемии меняется гемостатический баланс на эндотелии, активизируется выход тканевого фактора, а наличие фосфолипидов опосредует усиление коагуляции (Кузьменко Г.Н., 2011; Шкорик Е.В. и др., 2016).

В условиях ишемии и реперфузии происходит усиленное образование оксидантов и свободных радикалов, нарушающих целостность фосфолипидного слоя мембран и усиливающих взаимодействие лейкоцитов и эндотелиоцитов. Лейкоцитарные воздействия нарушают целостность эндотелиального слоя, опосредуя усиление окислительного стресса (Кузьменко Г.Н., 2011; Басов А.А. и др., 2013).

В процессе гестации происходит усиление синтеза цитокинов Т-хелперами 2-го типа (ИЛ-4, ИЛ-10). Под действием ИЛ-10 и высокого уровня эстрогенов и простагландина Е2 снижается активность клеточного иммунитета и синтез цитокинов Т-хелперами 1-го типа (ИЛ-2, ИЛ-12, интерферон- γ). Кроме того, по имеющимся научным сведениям, прогестерон стимулирует

дифференцировку Т-хелперов 0-го типа в Т-хелперы 2-го типа (Петухова А.В., 2012).

В течение гестационного периода происходит активирование реакций Т-хелперов 2-го типа, наряду с цитокиновыми взаимодействиями опосредуют физиологическому течению беременности (Судуткина Л.Н. и др., 2014). В этот период происходит установление взаимосвязей между иммунной системой матери и плода. Иммунные взаимодействия способствуют развитию взаимодействий иммунной и эндокринной системами матери и плода. Цитокины могут негативно воздействовать на развитие беременности (ИЛ-2, интерферон- γ и др.), а также оказывать положительные воздействия (ИЛ-10). Нарушение их взаимодействия может протенцировать развитие акушерской патологии (невынашивание беременности, преэклампсия) (Озолиня Л.А. и др., 2017).

Анализ данных литературы показал, у пациенток, имеющих тромбофилические осложнения беременности и родов наблюдалось увеличение концентрации фактора некроза опухоли (ФНО)- α по сравнению со здоровыми пациентками. В то же время, концентрация противовоспалительного цитокина ИЛ-4 снижалась. Анализ изменений уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при осложненной беременности показал преобладание активности провоспалительных цитокинов (Бахарева И.В. и др., 2014).

По мнению В.В. Ветрова и др. (2012) развитие преэклампсии во время беременности сопровождается выделением первичных цитокинов ИЛ-1 и ФНО- α , которые, в свою очередь, способствуют выбросу вторичных цитокинов и активации биорегуляторных ферментных систем. Указанные процессы реализуются в повышенной сосудистой проницаемости, вазодилатации или ангиоспазме, повреждении эндотелия и гиперкоагулянтном состоянии с исходом в ДВС-синдром, который наряду с гемодинамическими нарушениями и снижением тканевой перфузии лежит в основе ишемии плаценты, обуславливая тем самым развитие плацентарной недостаточности и тканевой гипок-

сии. Это, как правило, приводит к развитию полиорганной недостаточности, являющейся наиболее частой причиной смерти при тяжелой преэклампсии.

По мнению Н.К. Тетруашвили (2008) преобладание активности провоспалительных цитокинов на фоне снижения содержания Th2-цитокинов зачастую предшествует клинической манифестации тромбоза и может служить прогностическим критерием.

Роль цитокинов в развитии гиперкоагуляции на локальном уровне все-сторонне изучена. Однако, у пациенток с генитической ТФ не установлены механизмы развития эндотелиальной дисфункции и нарушения коагуляции на системном уровне.

NO является уникальным медиатором межклеточного взаимодействия и универсальным регулятором вазодилатации, при изменении экспрессии которого на эндотелии развивается эндотелиальная дисфункция (Taylor C.T., Moncada S., 2010, Филимонова М.В. и др., 2015). NO участвует в регуляции дыхания, деятельности сердечной мышцы, агрегации Тр, синтезе АТФ и белков, иммуннологической реактивности. NO обладает антиоксидантным действием, ингибирует адгезию и агрегацию, эндотелиально-лейкоцитарные взаимодействия и миграцию моноцитов (Новиков В.Е. и др., 2012).

Гиперпродукция NO является очень важным фактором в развитии различных патологических процессов. Токсический эффект NO проявляется, прежде всего, в ингибировании митохондриальных ферментов, что приводит к дисфункции митохондрий, снижению продукции АТФ (Кузьменко Г.Н., 2011; Forstermann U., Sessa W.S., 2012; Omar S.A., Webb A.G., 2014).

NO продуцируется несколькими изоформами синтаз NO (индуцибельной, нейрональной и эндотелиальной). Продуцируемый NO в результате активации индуцибельной синтазы NO является фактором неспецифической защиты, а концентрация свидетельствует об активации цитокинового статуса (Tang L. et al., 2014). Повышение уровня NO служит маркером развития системной воспалительной реакции и провоцирует повреждения тканей (Фили-

монова М.В. и др., 2015). Под воздействием цитокинов – интерферона- γ , фактора некроза опухоли- α , бактериальных эндотоксинов, а также ИЛ-6, ИЛ-8, активируется индуцибельная изоформа синтазы NO и синтезируется избыточное количество NO, вызывающее вазодилатацию. NO обеспечивает бактерицидный эффект путем ингибирования ферментных функций бактерий и грибов. Однако данные о провоспалительных и противовоспалительных эффектах NO противоречивы. NO синтезируется в клетках иммунной системы и эндотелиоцитах. Повышение уровня NO служит маркером системной воспалительной реакции и может привести к развитию апоптоза. (Кузьменко Г.Н., 2011). Избыток NO является фактором апоптоза, что провоцирует развитие дисфункции эндотелия. Апоптоз приводит к гибели эндотелиоцитов, снижению антикоагулянтной активности эндотелия (Панова И.В., Дудникова Э.В., 2012).

Окислительный стресс провоцирует проапоптотические механизмы. Избыток NO – один из основных патогенетических моментов развития оксидантного стресса, приводящего к нарушению структурной целостности эндотелиального слоя. При реакции NO с супероксидным радикалом образуется пероксинитрит (ONOO-), высокие концентрации которого усиливают негативное воздействие продуктов СРО. Пероксинитрит подавляет транспорт электронов в митохондриях, является сильным ДНК-расщепляющим агентом и приводит к повреждению клеточных мембран и апоптозу, усиливает агрегационную активность Тр, участвует в процессах эндотоксемии, шока и развитии ДВС-синдрома (Новиков В.Е., Левченкова О.С., 2014). Метаболиты NO и пероксинитрит являются также биомаркерами процессов СРО, окислительного повреждения тирозинсодержащих белков и нитрооксидативного стресса (Пожилова Е.В., Новиков В.Е., 2015).

Образование NO происходит при участии калликреин-кининовой системы. NO снижает ее неблагоприятное воздействие, при этом ФВ способствует адгезии Тр, а NO ее снижает. NO усиливает на фибринолитическую активность крови, путем активации t-РА. Экзогенный NO увеличивает PAI, эн-

догенный – снижает его образование, провоцирует образование D-димера. Блокада синтеза NO у крыс приводила к усилению экспрессии тканевого фактора на эндотелии, повышению PAI 1, снижению фибринолитической активности и развитию тромбофилических осложнений (Новиков В.Е. и др., 2012; Панова И.В., Дудникова Э.В., 2012).

Данные о содержании NO во время беременности, основанные на исследовании его метаболитов, весьма разноречивы. При большом количестве научных сведений, мы не встретили работы посвященные изучению роли концентрации NO в развитии гиперкоагуляционных расстройств у пациенток в акушерской практике.

Таким образом, течение заболевания зависит от комплекса взаимосвязанных между собой биохимических и гемостазиологических нарушений (Сидорова И.С. и др., 2010; Акуленко Л.В. и др., 2015; Муратова А.Ю. и др., 2016). Разработка технологий прогнозирования и диагностики должна включать комплексную оценку всех патогенетически значимых факторов.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика обследованного контингента

Функционирование системы гемостаза может оказывать влияние на течение беременности и родов. Основой патогенеза многих типичных акушерских осложнений являются генетические и/или приобретенные тромботические нарушения, такие как внутриутробная гибель плода, ПОНРП, гестозы первой и второй половины беременности, СЗВРП, привычное невынашивание беременности (Tan, J.Y., 2002; Brenner B., 2003; Grandone E., Margaglione M., 2003; Козлова Т.В., 2005; Nishiguchi T., Kobayashi T., 2005; Kuttan W.H., Triplett D.A., 2006; Зайнуллин И.А. и др., 2007; Макацария А.Д. и др., 2007; Репина М.А. и др., 2008; Блинецкая С.В., 2009; 2011).

Для достижения поставленных в исследовании задач, нами проведено комплексное исследование, включающее проведение выкопировки из 21860 историй родов, создание экспериментальной модели усиления свертывающей активности крови на самках крыс и обследование женщин на сроке гестации 38 - 39 недель, затем в день родов и на пятые сутки после родов, а также их новорожденных детей в период ранней постнатальной адаптации (таблица 2).

Таблица 2 – Дизайн исследования

№п/п	Метод исследования	Цель исследований	Исследуемые показатели	Контингент и количество обследованных
1.	Выкопировка из историй болезни пациентов	Оценка частоты встречаемости ТФ; Разработка критериев отбора пациентов для исследования	Анкета по 63 параметрам	21860 историй родов и 21860 карт новорожденных

2.	Создание экспериментальной модели усиления свертывающей активности крови	Изучение влияние тромботических нарушений на состояние органов и тканей матери и плода		102 самки крыс; 289 потомков крыс
3.	Гематологические	Оценка количественных параметров Тр	PLT MPV PDW PCT	408 женщин, 408 новорожденных детей 102 самки крыс, 289 потомков
		Подтверждение усиления активности сосудистотромбоцитарного гемостаза	Длительность кровотечения по Дюке	102 самки крыс
		Оценка активности тромбоцитопоза	Микроскопия препаратов костного мозга	102 самки крыс
4.	Цитоморфометрические	Оценка морфофункционального состояния Тр Оценка интенсивности тромбоцитопоза	Цитоморфометрия препаратов крови: средний диаметр и площадь клетки, фактор формы, доля синего и красного цвета в препарате, ИОТр	408 женщин 408 новорожденных детей 102 самки крыс, 289 потомков
5.	Коагулологические	Верификация гиперкоагуляционных нарушений	Параметры тромбоэластометрии: CE, CFT, MCF, α -угол, LI 30, LI45	408 женщин
		Определение активности плазменного звена гемостаза	Фибриноген АЧТВ, ППК, МНО Тромбиновое время РФМК, D-димер, АТ III, протеин С Плазминоген, XII-зависимый фибринолиз	408 женщин 408 новорожденных детей

Продолжение таблицы 2

		Подтверждение усиления активности плазменного гемостаза	АЧТВ	102 самки крыс
6.		Оценка функционального состояния Тр	Уровень агрегации Тр с АДФ, коллагеном, ристоцетином	408 женщин, 408 детей
7.	Биохимические	Исследование метаболических, иммунных нарушений, свободно-радикальных реакций и антиоксидантной активности	МДА сыворотки крови МДА Тр Нитриты АОА Церулоплазмин ИЛ-6, ИЛ-8	408 женщин
8.	Иммуно-ферментные	Оценка концентрации регуляторов кроветворения в условиях усиления свертывающей активности крови	Тромбопоэтин	102 самки крыс
9.	Молекулярно-генетические	Оценка частоты встречаемости генетических дефектов системы гемостаза в акушерском стационаре	Аллельные варианты гена C677T и A1298C гена MTHFR, маркер гена протромбина G20210A, мутация в гене ф.V Leiden (полиморфизм G1991A), полиморфизм ингибитора активатора плазминогена типа 1 (аллельный вариант 675 4G/5G), полиморфизм гена фибриногена (G455A), установление полиморфизма гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa	408 женщин

Окончание таблицы 2

10.	Гистологические	Оценка влияния прокоагулянтного состояния на микроциркуляцию в паренхиматозных органах	Микроскопия гистологических препаратов печени и селезенки	49 самок крыс
11.	Сканирующая зондовая микроскопия	Оценка наностоения агрегатов Тр	Длина, ширина, высота тромбоцитарных агрегатов	52 женщины
12.	Статистические	Оценка достоверности полученных данных; получение статистических взаимосвязей	Описательная статистика, Последовательный анализ Вальда, корреляционный анализ	Все полученные данные

2.1.1. Проведение выкопировки из историй болезни

Для оценки частоты встречаемости и структуры тромботических осложнений беременности и родов, а также для разработки критериев отбора пациентов для исследования была проведена выкопировка из индивидуальных историй родов женщин (форма № 096/у), обратившихся за медицинской помощью в родильное отделение ГБУЗ СК «Городской клинической больницы скорой медицинской помощи» г. Ставрополя (главный врач д.м.н. профессор Минаев А.Б.) в период в 2007-2012 гг. Всего за 6 лет проанализировано 21860 историй родов. В 2007 году – 2768 историй родов, в 2008 году – 3059, в 2009 году – 3388, в 2010 году – 3740, в 2011 году – 4153, в 2012 году – 4752.

Из общего числа обследованных историй родов только в 5269 (24,1%) случаях женщины не имели соматических заболеваний и акушерских осложнений беременности и родов, в 16591 истории родов (75,9%) выявлены различные виды акушерских осложнений и / или как минимум, одно соматическое заболевание.

Анализ данных показал, что только экстрагенитальная патология встречалась у 1662 женщины (7,6%). У 9771 (44,7 %) пациенток наблюдалось сочетание акушерских осложнений беременности и родов с экстрагенитальной патологией. Наиболее часто акушерская патология сочеталась с заболеваниями почек, диагностированными у 3519 беременных (16,1% от всех обследованных), с варикозной болезнью – у 1552 пациенток (7,1%), 1945 наблюдались по поводу анемии (8,9%) и 1377 (6,3%) женщин имели ожирение.

Исключительно акушерская патология была выявлена у 5158 пациенток (23,6% случаев). Крупный плод – в 319 случаях (6,18%), СЗВРП встречался у 603 пациенток (11,7%), тазовое предлежание плода – у 350 (6,8%), преэклампсия легкой степени – у 985 женщин (19,1%), преэклампсия тяжелой степени – у 72 женщин (1,4%), многоводие – у 268 пациенток (5,2%), хроническая фето-плацентарная недостаточность наблюдалась у 1831 пациенток (35,5%), хроническая гипоксия плода – у 82 (1,6%), предлежание плаценты – у 15 (0,3%), ПОНРП – 20 (0,4%), угроза преждевременных родов наблюдалась у 1047 женщин (20,3%), ТЭЛА – у 1 пациентки (0,019%), тромбозы глубоких вен – у 3 женщин (0,06%), дискоординация родовой деятельности наблюдалась у 211 пациенток (4,1%), слабость родовой деятельности – у 129 (2,5%), акушерские кровотечения – у 7 (0,13%), изосенсибилизация и конфликт по резус-фактору и по АВО-системе – у 127 (2,47%), инфекции половых органов – у 1351 (26,2%), антенатальная гибель плода – 15 (0,3%), крупный плод – 319 (6,2%), анатомически узкий таз – 557 (10,8%), аномалии развития половых органов – 12 (0,24%), миома тела матки наблюдалась у 75 женщин (1,45%), первые роды в возрасте более 30 лет – у 897 пациенток (17,4%), юных первобеременных было 16 (0,31%).

В процессе проведения выкопировки из когорты историй родов пациенток с акушерской патологией мы вычленили группу из 1686 (32,6%) историй родов пациенток, имеющих одно или несколько акушерских осложнений, причиной которых могло быть тромбофилитическое состояние. Структура этих осложнений была представлена умеренной и тяжелой преэклам-

псией, которая в настоящую беременность имела место у 811 пациенток (48,1%), преждевременными родами – у 141 (8,4%), СЗВРП – у 318 женщин (18,8%), ПОНРП – у 271 женщин (16,1%), фето-плацентарной недостаточностью – 547 женщин (32,4%). Эти истории родов и стали объектом нашего исследования.

Из выборки были исключены истории болезни пациенток, перенесших инфекционные заболевания во время беременности.

Сравнение клинико-лабораторных показателей проводили с данными 526 историй родов соматически здоровых женщин с физиологическим течением беременности, нормальным течением родов и послеродового периода, у которых отсутствовали лабораторные признаки нарушений системы гемостаза.

При ретроспективной оценке данных историй настоящей беременности и родов пациенток большое значение при обследовании историй родов уделялось тщательному анализу личного, семейного, акушерского - гинекологического и тромботического анамнеза пациенток.

Наиболее частыми осложнениями гинекологического анамнеза у пациенток с тромбофилитическими осложнениями являлись медицинские аборт – у 440 женщин (26,1%), инфекции, передающиеся половым путем – 266 пациенток (15,8%), эктопия шейки матки у 301 (17,9%) , воспалительные заболевания органов малого таза у 104 женщин (6,2%). У здоровых пациенток гинекологические заболевания встречались реже, но достоверных отличий не выявлено.

Среди осложнений предыдущих беременностей и родов у пациенток с ТФ следует отметить бесплодие – 452 (26,8%), неразвивающаяся беременность – 327 (19,4%), преембрионические потери – 238 (14,1%), самопроизвольные аборт в 283 случаях (16,8%), неудачи ЭКО – 408 (24,2%), преждевременные роды – 109 (6,5%), СЗВРП – 118 (7,6%), ПОНРП – 120 (7,1%), средние и тяжелые гестозы – у 334 (19,8%), фето-плацентарная недостаточность в предыдущей беременности наблюдалась у 482 женщин (28,6%).

Акушерский анамнез пациенток с ТФ по данным выкопировки из историй родов представлен на рисунке 2.

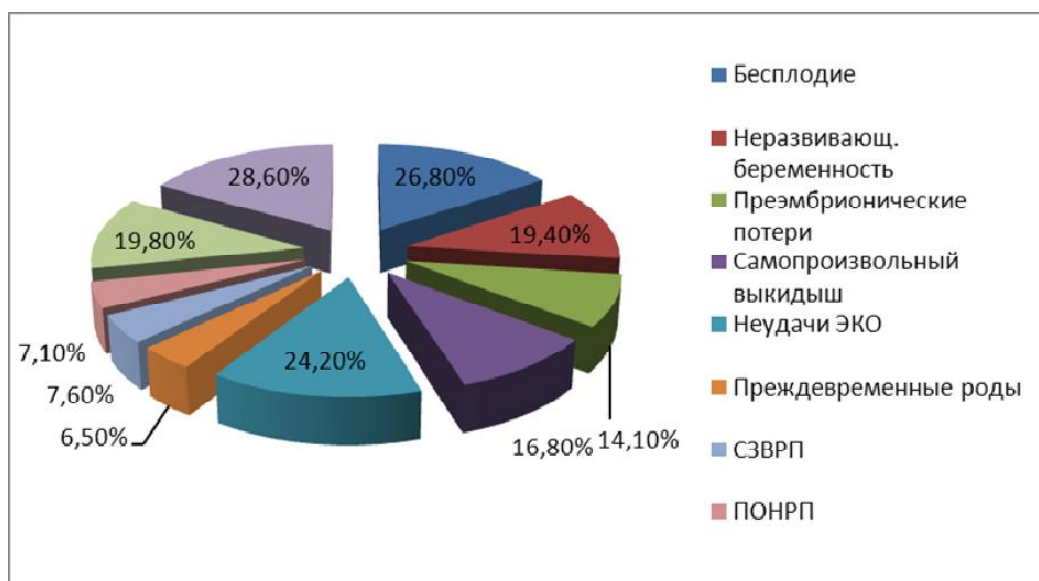


Рисунок 2 – Акушерский анамнез у пациенток с тромбофилией

Тромбозы глубоких вен во время предыдущей беременности – у 23 (1,4%).

При оценке семейного тромботического анамнеза у 276 пациенток (16,4%) по линии отца и/или матери отмечались ишемические и геморрагические инсульты, ишемическая болезнь сердца, тромботические эпизоды в возрасте до 50 лет.

По данным анамнеза предыдущих беременностей и родов здоровых женщин самопроизвольный выкидыш произошел в 16 случаях (3,03%), 4 случая (0,7%) умеренной и тяжелой преэклампсии, 11 случаев (2,2%) ПОНРП, тромбозы во время предыдущих беременностей – 3 случая (0,5%). У 21 (3,9%) женщины зафиксированы случаи тромбозов у близких родственников до 50 лет.

По данным историй родов возраст женщин с ТФ колебался 23 до 42 лет ($29,3 \pm 2,8$ лет). Первобеременными были 563 женщины, повторнобеременными – 1123. У 1327 (78,7%) пациенток беременность закончилась срочными родами, у 359 (21,3%) женщин преждевременными, что является косвенным

подтверждением высокого тромбогенного риска. Из 1686 пациенток операция кесарево сечение была проведена 258 женщинам (15,3%), роды через естественные родовые пути – у 1428 пациенток (84,7%).

Среди женщин, родоразрешенных путем кесарева сечения преобладали пациентки с гестозом (25,4%). Тяжесть течения гестоза в большинстве случаев являлась показанием к оперативному родоразрешению. Среди методов родоразрешения настоящей беременности предпочтение отдавалось естественному пути, так как хирургическая операция увеличивает риск развития тромбозов у пациенток с ТФ в десятки раз (Акиньшина С.В., 2011).

По данным историй родов здоровых пациенток возраст колебался 23 до 36 лет ($25,3 \pm 2,7$ лет). Первобеременными были 319 женщины, повторнобеременными – 207. У всех пациенток этой группы беременность закончилась срочными родами. Из 526 пациенток оперативным путем были родоразрешены 65 женщин (12,3%), через естественные родовые пути – у 461 женщин (87,6%). Основным показанием к оперативному родоразрешению был клинически узкий таз (46,7%).

Важным свидетельством тяжести состояния наблюдавшихся пациенток явилась частота неблагоприятных исходов для детей. В группе женщин с ТФ перинатальная смертность составила 13%. В группе здоровых женщин – 0%.

В результате сравнения гемостазиологических параметров у женщин с клиническими проявлениями ТФ выявлено достоверное увеличение концентрации фибриногена, которая у пациенток с ТФ составила в среднем 6,51 г/л, а у здоровых женщин – 5,0 г/л, а также достоверное увеличение процента активности протромбина по Квику (ППК) и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) в плазме крови по сравнению с данными здоровых женщин. Показатель АЧТВ составил 25,2 с и 22,1 с, соответственно, ППК – 124% и 102%, соответственно.

Также достоверно изменились показатели агрегационной активности Тр. Так агрегация с АДФ, коллагеном и ристоцетином у здоровых женщин составила 47,0%, 42,1% и 47,5%, соответственно. У пациенток с акушерски-

ми осложнениями, ассоциированными с ТФ – 77,6%, 66,4% и 85,8%, соответственно.

Таким образом, по данным историй родов, у пациенток с тромботическими осложнениями отмечен крайне отягощенный акушерско-гинекологический анамнез и семейный тромботический анамнез, представленный синдромом потери плода, тяжёлыми гестозами, СЗВРП, тромбозами у близких родственников и др. Обращает на себя большое внимание частота преждевременного завершения беременности (самопроизвольные аборты, неразвивающаяся беременность, преждевременные роды), что, вероятно, является следствием выраженных патологических изменений системы гемостаза.

Анализ данных общеоценочных тестов системы гемостаза указывал на активизацию внешнего и внутреннего путей гемостаза, а также усиления функциональной активности Тр.

В процессе проведения выкопировки из историй родов нами была изучена частота встречаемости и структура тромбофилитических осложнений беременности и родов в акушерском стационаре. На основании анализа типичных анамнестических и клинико-лабораторных признаков, встречающихся при тромбофилитических осложнениях беременности и родов, нами были разработаны критерии отбора беременных женщин для дальнейшего исследования (см. приложение 1).

Основными критериями отбора для исследования явились данные личного и семейного анамнеза, указывающие на тромботические осложнения у пациенток и их близких родственников. Неудачные попытки ЭКО в анамнезе, наличие в предыдущих беременностях случаев внутриутробной гибели плода неясного генеза, СЗВРП, умеренной и тяжелой преэклампсии, ПОНРП, случаев привычного невынашивания беременности, тромботических осложнений беременности и родов. Критерием включения являлся так же семейный анамнез – тромбоэмболии в возрасте до 50 лет у близких родственников, случаи венозных и/или артериальных тромбозов до 40 лет.

Наличие соматических заболеваний при беременности явилось критерием исключения из дальнейшего исследования, так как неблагоприятные исходы могут быть связаны с выраженным усилением физиологического гиперкоагулянтного состояния на фоне сочетания экстрагенитальной патологии с другими факторами риска.

Также критерием исключения был факт курения пациенткой во время беременности или отказа от курения менее чем за 6 месяцев до наступления настоящей беременности. Из дальнейшего исследования были исключены пациентки, которые принимали оральные контрацептивы менее чем за 10 месяцев до наступления настоящей беременности. Так как, данные факторы могут усиливать прокоагулянтную активность крови (Макацария А.Д. и др., 2007).

2.1.2. Общая характеристика экспериментального материала и экспериментальная модель гиперкоагуляции

Для достижения поставленных в исследовании задач объектом исследования были выбраны белые крысы линии Вистар, полученные из питомника в Рапполово (Санкт-Петербург).

Выбор крыс линии Вистар для проведения экспериментального исследования обусловлен их высокой устойчивостью как к эндогенным, так и к экзогенным факторам по сравнению с другими представителями, простотой содержания и кормления, а также большим количеством потомства. Кроме того, важнейшим фактором при выборе экспериментальных животных явилась наиболее близкая гемохориальная плацентация этих грызунов к плацентации человека (Воробьев А.И., Бувеч Е.И., 2000).

При проведении нашего эксперимента мы соблюдали требования Приказа МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики», Приказа МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», а также Приказа № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использова-

нием экспериментальных животных». Схема распределения лабораторных животных по группам в ходе проведения эксперимента представлена на рисунке 3.

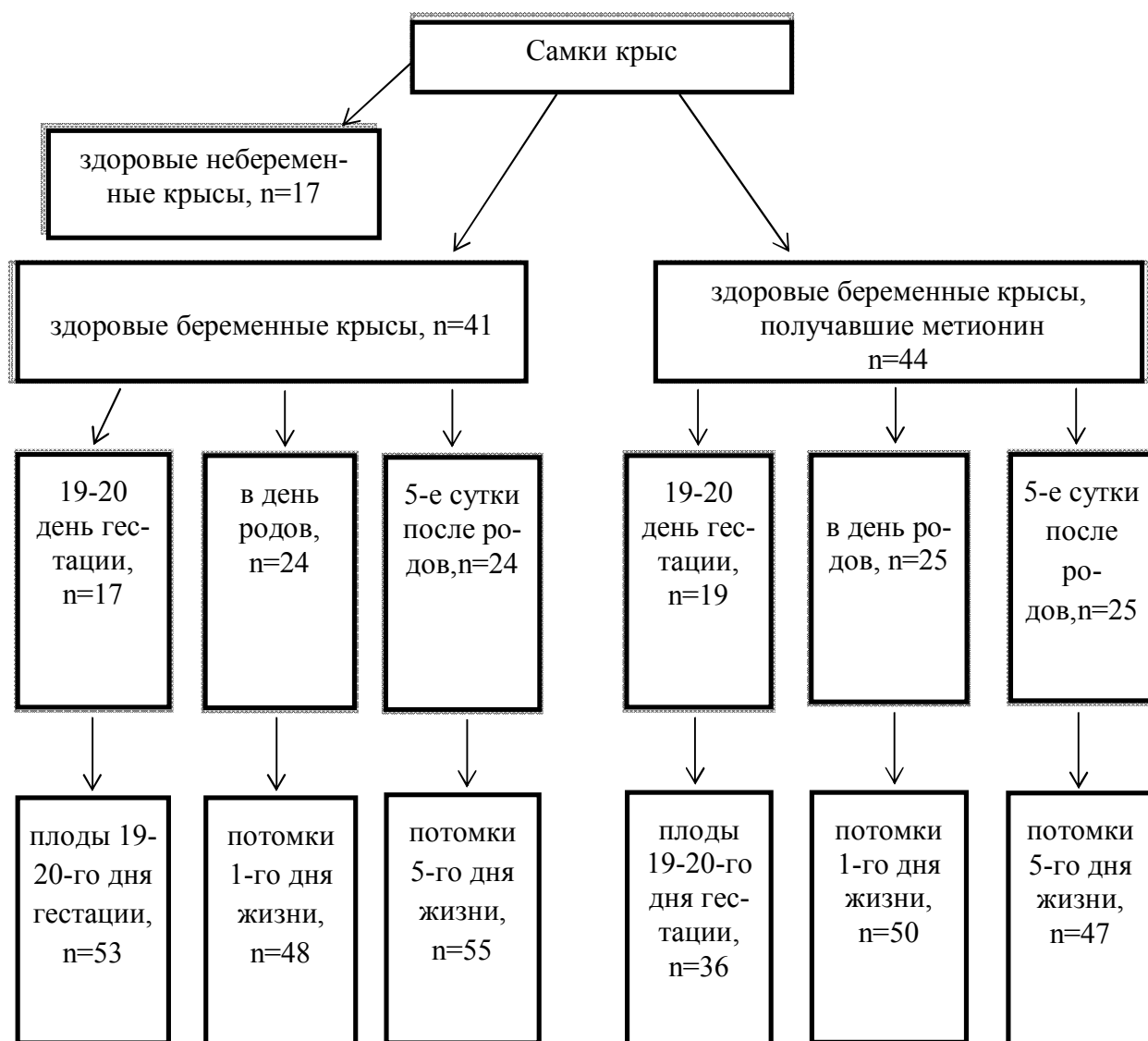


Рисунок 3 – Схема распределения лабораторных животных по группам

В ходе проведения эксперимента использовано 102 взрослых самки крыс, 89 плодов 19 - 20 - го дня гестации и 200 новорожденных крысят, из которых 98 были использованы в 1 – й день жизни, 102 – в 5 - й день жизни. На 85 взрослых лабораторных животных поставлен основной эксперимент. Контрольной группой служили 17 самок крыс.

Экспериментальные животные содержались в хорошо освещенных и вентилируемых помещениях, при температуре 20-22 °С.

Животные были разделены на группы. В первую (контрольную) группу вошли 17 здоровых небеременных самок крыс, которые находились на обычном рационе питания и свободном питьевом режиме.

Вторую группу составили крысы с физиологически протекающей беременностью и родами – 41 взрослая самка. Животные получали сбалансированное питание без ограничения потребления жидкости.

В третью группу отобрано 44 взрослых здоровых крысы линии Вистар с установленной беременностью. Для создания экспериментальной модели гиперкоагуляции лабораторным животным был назначен метионин «рег ос» в дозе 0,6-0,7 мг/сутки, являющейся терапевтической. Для снижения выведения мочи животным питьевой режим был уменьшен до 28-30 мл в сутки. Также мы ограничили поступление с пищей продуктов, содержащих флаты и витамины группы В.

Наличие беременности у взрослых самок крыс устанавливали кольпоскопическим методом на 3 - 4 - й день после спаривания.

Лабораторное обследование беременных самок крыс впервые проводили в 19 - 20 - й день гестации, в течении первых суток после родов и на 5 - е день после рождения потомства. Исследование показателей потомков крыс проводили на 19 - 20 - й день гестации, в день родов и на 5 - е сутки жизни.

Кровь у взрослых животных брали из хвостовой вены, а у крысят после декапитации собирали в общую пробирку, для получения необходимого количества крови.

В качестве препарата, способствующего активации сосудистотромбоцитарного гемостаза, был выбран метионин, продуктом превращения которого является гомоцистеин. Даже в невысоких концентрациях гомоцистеин обладает выраженной цитотоксической активностью в отношении к эндотелиальных клеток, способен ингибировать в них циклооксигеназную активность. В результате этого снижается продукция простациклина и в тоже время усиливается продукция тромбоксана A_2 , что приводит к усилению аг-

регационной активности Тр (Баркаган З.С. и др., 2002; McKee S.A. et al., 2002; Белобородова Е.В. и др., 2006; Наумов А.В. и др., 2012).

Клетки эндотелия и продуцируемый ими NO имеют важное значение в метаболизме гомоцистеина. В норме продуцируемый клетками избыток гомоцистеина связывается в системе микроциркуляции с NO, продуцируемым эндотелиоцитами с последующим образованием S-нитрозо-гомоцистеина, не обладающим цитотоксическим и тромбогенным эффектом и имеющим способность к вазодилатации. При повышении уровня гомоцистеина происходит блокирование эндотелиальной NO-синтетазы, снижается синтез NO и нарушается процесс образования S-нитрозо-гомоцистеина. Кроме того, гомоцистеин усиливает активность 3-гидрокси-3-метилглутарил-КОА-редуктазы, катализирующей переход оксидов в соответствующие спирты, которые и откладываются на эндотелиоцитах с дальнейшим их повреждением и снижением синтеза NO (Макацария А.Д. и др., 2005; Bick R.L., 2005).

Уровень гомоцистеина в крови экспериментальных животных составил $23,81 \pm 2,28$ мкмоль/л, тогда как у здоровых беременных крыс – $5,06 \pm 0,42$ мкмоль/л ($p \leq 0,001$), подтверждает наличие гипергомоцистеинемии в экспериментальной группе.

Для подтверждения факта усиления внутрисосудистого свертывания крови у экспериментального животного определяли длительность кровотечения по Дюке. Принцип метода состоит в определении длительности кровотечения из поверхностных микрососудов хвоста животного после нарушения их целостности с помощью скарификатора. В качестве реактивов применяли 96% раствор этанола (этиловый спирт). Производили прокол кожи хвоста (глубиной 3,5 мм и длиной линейного прокола 3 мм) и немедленно включали секундомер. Выступающие капли крови промокали каждые 30 с фильтровальной бумагой, не прикасаясь к ранке и дожидаясь момента, когда в течение следующих 30 с капля крови уже не выделяется. По окончании этих 30 с секундомер останавливали и в последующем их вычитают из времени, зафиксированного на секундомере. Для большей точности тест выполняют

дважды и выводят среднее значение. Референсные значения находятся в пределах от 2 до 5 мин. Также для подтверждения усиления прокоагулянтного потенциала плазмы крови определяли показатель АЧТВ (Walfish M. et al., 2009).

Принципы методов исследования тромбоцитарных и плазменных показателей гемостаза изложены в разделе 2.2.

2.1.3. Клиническая характеристика обследуемых групп

Настоящая работа является патобиохимическим и патофизиологическим исследованием, основанным на изучении результатов клинических и лабораторных данных 408 женщин и их новорожденных детей, обследование и лечение которых проводилось в родильном доме ГБУЗ СК «Городской клинической больницы скорой медицинской помощи» г. Ставрополя (главный врач д.м.н. профессор Минаев А.Б.) в 2012-2014 гг. Работа проводилась совместно с НОЦ «Фундаментальные проблемы диагностической медицины» ФГАОУ ВО Северо-Кавказский федеральный университет, ГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет.

С целью изучения механизмов изменений в системе гемостаза при физиологически протекающей беременности и родах и при наличии тромботических осложнений, а также для оценки влияния гемостаза матери на систему гемостаза новорожденных нами обследовано 408 пар мать-новорожденный ребенок. Взятие крови впервые проводилось при поступлении в стационар на сроке 38 - 39 недель до начала родовой деятельности, в день родов и на 5 - е сутки после родов. Обследование проводили с письменного согласия пациенток для обследования и лечения, также соблюдали правила проведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований. Также нами обследовано 408 новорожденных в условиях отделения новорожденных. Все исследования проведены детям при наличии информированного согласия матери. Взятие крови детям проводили в первый день жизни и на 5 - е сутки.

Из нашего исследования были исключены многоплодные беременности. Контингент обследованных представлен на рисунке 4.

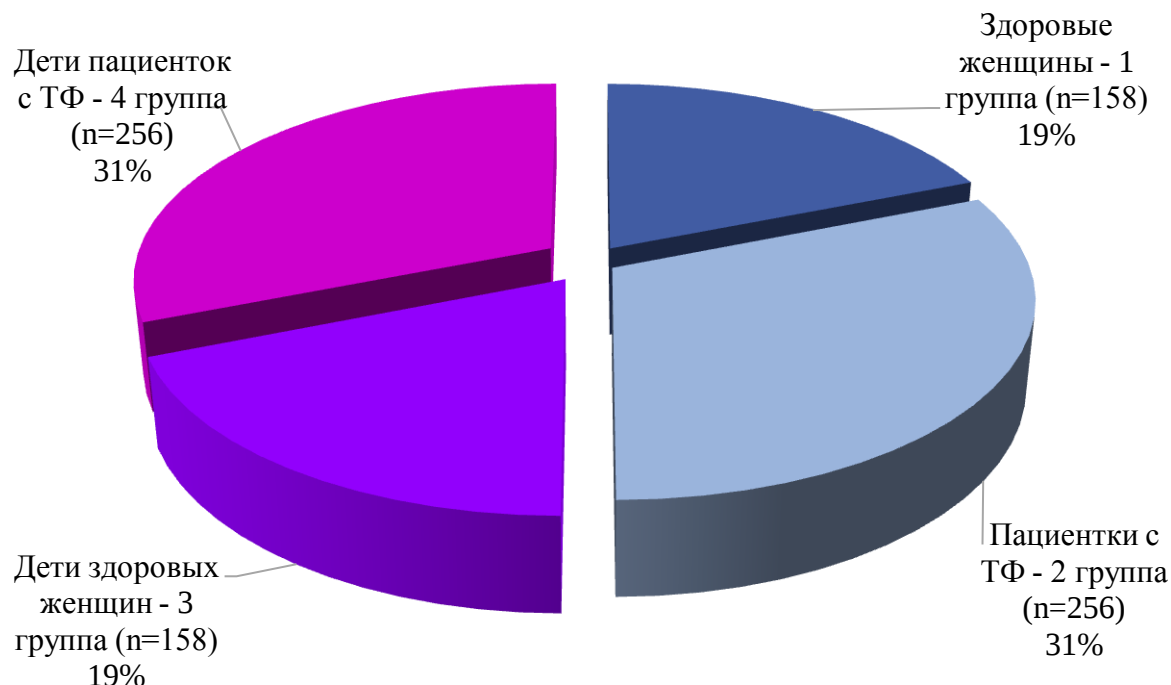


Рисунок 4 – Группы обследованных пациентов

1 группа (n=152) – соматически здоровые пациентки с физиологическим течением беременности, нормальным течением родов и послеродового периода, у которых отсутствовали лабораторные признаки нарушения системы гемостаза. Возраст пациенток первой группы колебался от 20 до 28 лет, в среднем – $25,2 \pm 0,6$ лет.

Пациентки с тромботическими осложнениями в анамнезе были включены во 2 группу (n=256). Критериями включения в эту группу являлись данные личного семейного анамнеза, разработанные нами в процессе проведения выкопировки из историй болезни. В предыдущих беременностях у пациенток 2 группы встречались случаи внутриутробной гибели плода неясного генеза, умеренная и тяжелая преэклампсия, ПОНРП, СЗВРП. В эту группу были включены женщины с привычным невынашиванием беременности, не-

удачными попытками ЭКО в анамнезе. Все обследованные пациентки были повторнобеременными. В настоящую беременность у пациенток этой группы установлены гиперкоагуляционные нарушения, которые были верифицированы до развития акушерских осложнений и сохранялись после беременности. Возраст пациенток второй группы – от 20 до 35 лет, в среднем – $28,9 \pm 0,7$ лет.

Из нашего исследования были исключены женщины, имеющие, сопутствующую экстрагенитальную патологию, инфекционные заболевания половых органов, воспалительные заболевания органов малого таза.

При поступлении в отделение патологии беременности всем женщинам проводилось объективное исследование по органам и системам, акушерское и клинико-лабораторное обследование. Состояние пациенток оценивалось совместно с терапевтом, при необходимости, врачами других специальностей (нефрологом, кардиологом, невропатологом, окулистом, эндокринологом).

Всем пациенткам проводилось расширенное исследование параметров гемостаза, тромбоэластометрию, включающее гемостазиограмму, оценку активности звена естественных антикоагулянтов, маркеров тромбинемии, активности фибринолиза и параметров тромбоцитарного гемостаза.

Противотромботическая коррекция гестационных осложнений, имевших место в анамнезе, обследуемым женщинам в течение настоящей беременности не проводилась, так как не были установлены убедительные данные усиления коагуляционного потенциала крови. По данным историй родов, 48 женщинам проводилась комплексная профилактическая подготовка к беременности, которая определялась характером генетического дефекта и результатов исследования системы гемостаза.

Родоразрешение всех обследованных пациенток проходило через естественные родовые пути.

У 408 обследуемых женщин родились 408 новорожденных, которые были обследованы в первые и пятые сутки после рождения.

Дети здоровых пациенток составили 3 группу обследованных ($n=152$),

а дети женщин, имеющих тромботические осложнения беременности и родов в анамнезе составили 4 группу обследованных ($n=256$).

Обследование новорожденных проводилось по стандартным алгоритмам и включало оценку по шкале Апгар при рождении, антропометрических данных, оценку дыхательной функции по шкале Доунса.

У пациенток первой группы родилось 156 детей, из которых 153 (98%) доношенных, 2 ребенка (1,2%) были недоношенными и один (0,6%) – с признаками переносимости. У женщин второй группы родилось 256 детей, из которых доношенными были 235 (91,7%), недоношенными – 21 (8,2%). Половой состав обследуемых групп существенно не отличался.

При анализе антропометрических данных выявлено, что масса тела детей, рожденных женщинами с ТФ составила в среднем 2495 г и была достоверно ($p<0,01$) ниже в сравнении с новорожденными матерей 1 группы (2601 г).

Анализ данных обследования новорожденных по шкале Апгар продемонстрировал, что дети женщин второй группы достоверно ($p<0,01$) чаще имели оценку 6-7 баллов по сравнению с новорожденными третьей группы. Не было ни одного случая потери плода. Ранний неонатальный период проходил без особенностей.

2.2. Методы исследования.

Комплексное исследование системы гемостаза является необходимым моментом мониторинга течения беременности, позволит прогнозировать развитие тромботических и геморрагических осложнений беременности, родов и послеродового периода, и будет способствовать снижению перинатальной и материнской заболеваемости и смертности. До наступления беременности очень важно исследование гемостаза перед назначением приема гормональных контрацептивов, гормональной заместительной терапии. Этот аспект диагностики особенно важен у пациенток с отягощенным акушерским анамнезом (Шалина Р.И. и др., 2007; Макацария А.Д. и др., 2011).

Одним из важнейших стратегических направлений развития лабораторной службы РФ на 2008 - 2015 годы является реализация мер по повышению качества выполняемых лабораторных исследований. Преаналитический этап клинических лабораторных исследований имеет огромную значимость для обеспечения качества исследований, так как именно на этой этапе происходит более 80% всех ошибок (Долгов В.В., Меньшиков В.В., 2012). Преаналитический этап был организован в соответствии с Приказом МЗ РФ № 220 от 26.05.2003 г. «Отраслевой стандарт. Система стандартизации в здравоохранении Российской Федерации. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов».

Взятие капиллярной крови для исследования общего анализа и показателей морфометрии Тр организовано в соответствии с общими правилами проведения гематологических исследований (Козинец Г.И. и др., 2002).

Для проведения исследования количественных параметров Тр методом автоматического анализа, компьютерной цитоморфометрии Тр (КЦТр), а также, для определения генотипа по полиморфизму PI^{A1}/PI^{A2} брали 0,25 мл капиллярной крови в микроветы, содержащие напыление КЗ ЭДТА.

Использование КЗ ЭДТА необходимо для предотвращения агрегации Тр в препратах крови. После прокола пальца первые три капли крови вытирали марлевым тампоном. Препараты для КЦТр готовили на предметных стеклах. Для получения препаратов оптимальной толщины, когда бы клеточные элементы располагались достаточно плотно, но в один слой, и не соприкасались бы друг, использовали пластиковые шпатели для растяжки мазков на предметном стекле. Фиксированные 95% этиловым спиртом окрашивали по методу Романовского-Гимзы в течение 15-20 минут.

Для изучения показателей плазменного гемостаза и агрегационной активности Тр использовались пробы венозной крови. Взятие крови у пациентов проводили утром натощак, пункцией иглой локтевой вены. Для преду-

преждевения образования сгустка использовали вакутейнеры, содержащие 3,8% раствор трехзамещенного цитрата натрия. При этом первые несколько капель крови удалялись, для предупреждения попадания в пробы тканевого тромбопластина и возникновения так называемого «пробирочного» ДВС-синдрома (Сидоркина А.Н., 2008). Пробы крови с признаками гемолиза и хилеза не исследовались. Исследование всех показателей гемостаза проводилось не позднее 2 часов после взятия крови у пациента.

Для обеспечения высокого качества проводимых исследований использовалась только одноразовая пластиковая посуда. Плазму, обогащенную Тр, получали путем центрифугирования образцов крови при 500 об/мин. в течение 10 мин. Для получения бедной Тр плазмы образец центрифугировали повторно при 3000 об/мин. в течение 20 мин. Супернатант использовался в качестве бедной Тр плазмы и для исследования параметров коагуляционного гемостаза (Луговская С.А. и др., 2002).

В комплекс обследований были включены современные методы исследования тромбоцитарного и плазменного компонентов гемостаза с использованием новейших автоматических методик и минимального объема исследуемого образца.

2.2.1. Тромбоэластометрия

В настоящее время в клинической лабораторной диагностике имеется значительное количество тестов контроля состояния системы гемостаза. В практической медицине чаще используются хронометрические методы, такие как АЧТВ и МНО, % активности протромбина по Квику, концентрация фибриногена, антитромбин III, а также Хагеман-зависимый фибринолиз. Однако, перечисленные тесты позволяют оценить лишь отдельные этапы коагуляции. Для визуализации и численной оценки гемстаза в целом необходимо использовать интегральные методы оценки, такие как, тромбоэластография, тромэластометрия, тест генерации тромбина, тромбодинамика.

На сегодняшний день наиболее широкое применение нашли тромбоэластография и тромбоэластометрия (аналог классической тромбоэластографии) (рисунок 5).

Исполозование метода тромбоэластографии и тромбоэластометрии позволяет оценить процесс гемостаза в целом и провести дифференциальную диагностику различных нарушений. Тест позволяет получить информацию о состоянии всех основных процессов коагуляции, образования фибринового сгустка, ретракции сгустка и фибринолиза и позволяет оценить механическую стабильность и упругость сгустка, кинетику стабилизации сгустка и его растворения в результате взвимодействия всех плазменных факторов, ингибиторов, Тр, факторов фибринолиза.

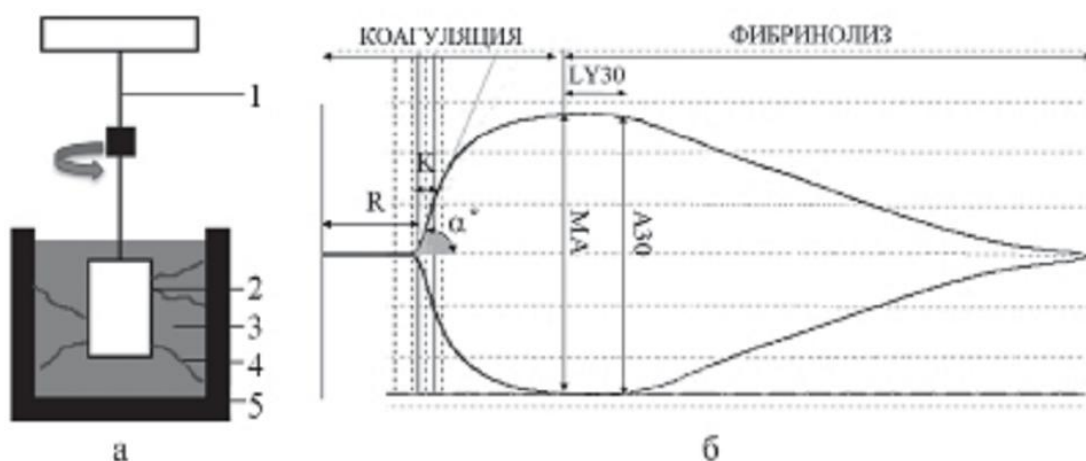


Рисунок – 5 Технические и методологические принципы тромбоэластометрии (Баринов С.В. и др., 2014)

а. Принцип работы тромбоэластографа: 1 – торсионная нить; 2 – стержень; 3 – кровь; 4 – нити фибрина; 5 – чашечка тромбоэластометра. б. Нормальная тромбоэластограмма: R – время коагуляции; K – время образования сгустка; угол α – скорость образования фибринового сгустка; MA – максимальная амплитуда; LY30 – процент 30-минутного лизиса сгустка.

Исследование основных процессов коагуляции методом тромбоэластометрии основывается на изучении вязко-эластических свойств образующегося сгустка крови. В результате компьютерной обработки данных процессы коагуляции и фибринолиза отражаются в виде графика.

Для его расшифровки используется более 20 параметров. Основными являются: СТ – момент начала полимеризации фибрина образования фибринового сгустка, CFT – длительность образования фибринового, угол α – кинетика формирования сгустка, MCF – максимальная амплитуда (отражает максимальную плотность сгустка), LI 30, LI45 – степень лизиса сгустка в различные периоды исследования. Первые три параметра отражают, в основном, состояние системы образования тромба. При этом они точно соответствуют основным фазам, описанным в «клеточной теории» гемостаза (рисунок 6). Показатель СТ отражает фазу инициации тромбообразования, CFT – фазу усиления (амплификации), а угол α – отражает фазу распространения (пролонгации) (Hoffman M., 2001).

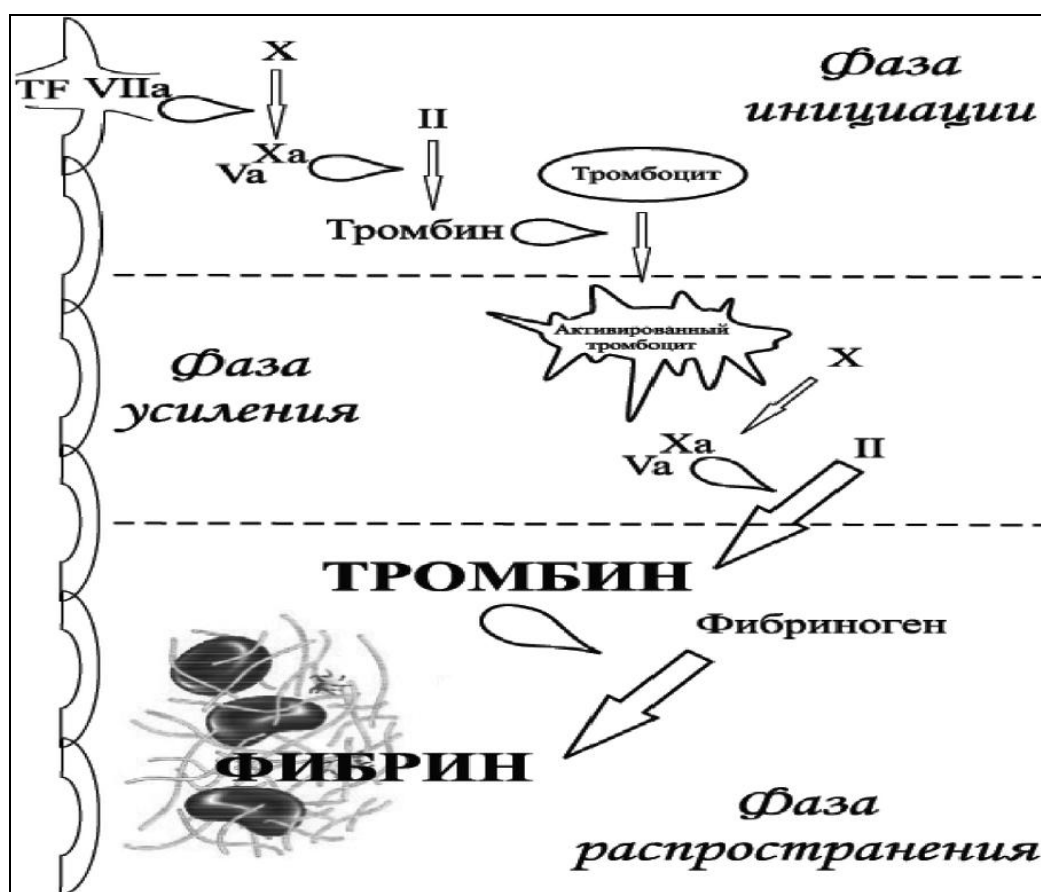


Рисунок 6 – Модель «клеточной теории» гемостаза (Буланов А.Ю., 2011)

В своей работе для оценки функционального состояния гемостаза мы использовали метод ротационной тромбоэластометрии. Исследование проводили на 4-х канальном тромбоэластометре ROTEM Gamma (режим NATEM).

Для исследования использовали пробы цельной крови пациенток, которые сразу же исследовались в условиях акушерского отделения патологии беременности.

2.2.2. Лабораторные методы исследования тромбоцитарного гемостаза

Основной функцией сосудисто-тромбоцитарного гемостаза является образование тромбоцитарного тромба. После повреждения сосуда происходит их первичный спазм, благодаря этому кровотечение в первые секунды может прекратиться. Первичный спазм сосудов обусловлен выбросом в кровоток адреналина и норадреналина и длится не более 10 - 15 с. В дальнейшем наступает вторичный спазм сосудов, обусловленный активацией Тр и поступлением в кровь сосудосуживающих агентов – серотонина, тромбоксана A^2 и адреналина. Повреждение сосуда сопровождается немедленной активацией Тр, что обусловлено повышением концентрации АДФ и обнажением субэндотелия, коллагеновых и фибриллярных структур. В результате создаются условия для адгезии агрегации Тр (Луговская С.А. и др., 2002; Дуткевич И.Г. и др., 2014).

Адгезия обусловлена наличием в плазме и Тр фактора Виллебранда (ФВ), который связывается с рецепторами Тр, субэндотелием и коллагеновыми волокнами. Таким образом, Тр с помощью ФВ оказывается «подвешенным» к травмированной поверхности сосуда (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

Одновременно с адгезией Тр наступает их агрегация, осуществляемая с помощью фибриногена – белка, содержащегося в плазме и Тр и образующего между ними связующие мостики, что и приводит к появлению тромбоцитарного тромба (Шиффман Ф.Д., 2007).

На настоящее время высокий уровень выполнения гематологических исследований обеспечивается использованием автоматических гематологических анализаторов. Для оценки состояния тромбоцитарного компонента гемостаза проводят подсчет общего количества Тр и тромбоцитарных индексов использовали автоматический гематологический анализатор «Advia 2120i» фирмы «Simens» (Германия). Внедрение в лабораторную практику автоматического анализа клеточных элементов сделало возможным максимально точное определения количества Тр (PLT) и тромбоцитарных индексов, таких как MPV, PDW и PCT.

PLT – общее количество Тр в периферической крови. Нормальные значения Тр составляют от $180,0$ до $320,0 \cdot 10^9/\text{л}$. MPV – средний объём Тр, нормальные значения этого показателя имеют колебания от $7,4$ до $10,4$ фл. Средний объём клеток увеличивается с возрастом: у детей 1 – 5 лет составляет от $8,6$ до $8,9$ фл, а у лиц старше 70 лет – от $9,5$ до $10,6$ фл. Более молодые клетки имеют больший объём, и при усилении тромбоцитопоза этот показатель повышается. PDW - ширина распределения Тр по объёму. Это показатель количественно отражает гетерогенность популяции Тр по объёму (степень анизоцитоза Тр). Нормальные значения PDW составляют от $10,0$ до $20,0\%$. PCT - тромбокрит – показатель, отражающий долю объёма цельной крови, занимаемую Тр. Нормальные значения – от $0,15$ до $0,40\%$ (Мазуров А.В., 2011).

Контроль качества определения показателей проводили с использованием контрольных сывороток фирмы «Simens» (нормального и патологического уровня).

Подсчет и дифференцировка клеток крови проводится кондуктометрическим методом. Объём крови для анализа составляет 12 мкл (Казинец Г.И. и др., 2002).

Важную информацию об изменении количественных параметров Тр дают графики-гистограммы распределения клеток по объёму, которые иллюстрируют распределение клеток по объёму, что позволяет выявить

аномальные популяции клеток, их микроформы, макроформы, а также оценить степень гетерогенности. Анизоцитоз Тр при обычном посчете препарата не всегда различим. (Луговская С.А. и др., 2002).

Функциональную активность Тр оценивали по изменению скорости и степени агрегации. Оценка функциональной активности Тр осуществляется на основании изменения скорости и длительности агрегации, размеру агрегатов клеток, изменению их формы. Отражением уровня функциональной активности Тр является график снижения оптической плотности плазмы крови в процессе потребления Тр в агрегаты, образующиеся под влиянием индукторов агрегации (Долгов В.В., Свиринов П.В., 2005).

В нашей работе оценка функциональной активности Тр проводили методом Born G. V. R. с регистрацией агрегационных графиков на лазерном агрегометре Тр БИОЛА LA230 (Россия) в богатой Тр плазме (Долгов В.В., Свиринов П.В., 2005).

Кровяные пластинки находятся в условиях, которые приближаются к физиологическим, при постоянной температуре 37°C и стандартной скорости перемешивания, моделирующей кровоток. Оптическая плотность раствора обогащенной Тр плазмы после добавления агониста агрегации принималась за 0%, бедной Тр плазмы этого же пациента – за 100%.

При максимальной агрегации, при которой происходит потребление в агрегаты всех Тр (100% агрегация), в кювете прибора фактически образуется плазма, бедная Тр. При использовании низких концентраций индукторов определяется минимальный порог, на который реагируют кровяные пластинки пациента. Чем ниже этот порог, тем ниже антиагрегационный потенциал исследуемой плазмы, а функциональная активность Тр выше. В ответ на введение низкой концентрации индуктора происходит изменение формы Тр, набухание (shape change), переход из дискоидной формы в сферическую. В это время на экране агрегометра может отмечаться кратковременное увеличение оптической плотности. После набухания Тр

происходит первичная агрегация, которая вызывается индуктором. Кривизна смещается в сторону уменьшения оптической плотности, после чего крутизна агрегационной кривой понижается (lag phase). В это время из α -гранул Тр высвобождаются биологически активные вещества (АДФ, серотонин, тромбоксаны и пр.), которые вызывают вторичную агрегацию. В тех случаях, когда вторая волна не четко выражена, ранняя дезагрегация свидетельствует о низком уровне собственных эндогенных агонистов или нарушением реакции высвобождения. Началу агрегации Тр может предшествовать непродолжительный латентный период. Главными агонитами, активирующими Тр, являются коллаген, находящийся в субэндотелии, АДФ, высвобождающийся при ртравмировании эндотелиоцитов и ристоцетин, агрегация с ним не сопровождается изменением метаболизма Тр (Каприщенко А.И., 2013).

В качестве агонистов агрегации мы в своей работе использовали коллаген (0,2%), АДФ (0,2 мМ/л), ристоцетин (5 мкМ/мл) (Дуткевич И.Г. и др., 2014)

Индуктор коллаген взаимодействует с гликопротеином Ia мембраны Тр, не провоцирует быструю агрегацию Тр. Только спустя несколько секунд, после lag-фазы, под воздействием коллагена происходит максимальная агрегация Тр, в результате их внутреннего активирования. В момент фазы запаздывания на графике слегка отображается линия, отклонившиеся от оси времени, что отражает скрытую активацию Тр (Луговская С.А. и др., 2002).

Индуктор АДФ может способствовать агрегации без обязательной де-грануляции Тр и экзоцитоза, и в низких концентрациях способствует развитию лишь обратимой агрегации (Сидельникова В.М., Кирющенко П.А., 2004). При индукции высокими дозами АДФ Тр полностью активизируется, что приводит к более сильной, но короткой необратимой агрегации. В связи с этим, в нашей работе для получения объективной информации мы использовали раствор АДФ низкой концентрации – 0,2 мМ/л.

Агрегация под действием индуктора ристоцетина не сопровождается

изменением метаболизма Тр. Агрегация под его воздействием происходит путем ассоциации с гликопротеином Ib мембраны Тр, активируя его для связывания ФВ. В связи с этим, при индукции ристоцетином, ФВ соединяет Тр в крупные агрегаты. При наличии жизнеспособных Тр, агрегация с ристоцетином приводит к активированию клеток и выделению из них эндогенных гранул. При отсутствии ФВ активирования Тр не происходит (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

Наиболее полную информацию об особенностях архитектоники Тр сегодня можно получить, используя метод КЦТр. Этот метод позволяет получать данные о наноструктуре Тр, что способствует повышению точности анализа. Метод КЦТр является более объективным, по сравнению обычным микроскопическим исследованием препарата крови, так как обеспечивает сведение к минимуму влияние субъективной оценки исследователя. В основе метода КЦТр лежат принципы автоматической или полуавтоматической машинной дифференциации Тр, когда определение формы и размеров клеток происходит по единым математическим алгоритмам (Коробова Д.А. и др., 2000).

Для оценки геометрических и цветоярких параметров Тр в мазках крови методом автоматизированной КЦТр использовали компьютерный морфометрический микроскоп МЕКОС-Ц (ЗАО «Медицинские компьютерные системы», Россия) (Козинец Г.И. и др., 2002). Принцип работы прибора заключается в том, что изображение клетки, полученное при микроскопировании препарата, вводится телекамерой в программу, отцифровывается и сохраняется, а затем подвергается обработке (устраняются различные шумы, повышается резкость изображения). Далее происходит автоматический замер параметров клеток, находящихся в кадре с получением ряда геометрических и оптических параметров и построением гистограмм распределения клеток по параметрам.

В нашем исследовании анализировались следующие основные морфометрические параметры Тр: площадь и средний диаметр клетки, , фактор формы, оптическая плотность в красном и синем спектре.

Площадь Тр является важным наглядным геометрическим показателем. Как и средний объем Тр при проточной цитофлюориметрии, площадь свидетельствует об истинном размере Тр. Показатели площади и диаметра Тр имеют характер логарифмального распределения. Установлено, что увеличение показателей диаметра и площади свидетельствует об активизации мегакариоцитарного роста кроветворения..

Показатель фактора формы Тр отражает изрезанность краев мембраны Тр, т.е. образование псевдоподий, что свидетельствует о степени реактивности Тр – их способности к адгезии и агрегации.

Удельная оптическая плотность в синем и красном спектре отражает степень насыщенности Тр гранулами, что свидетельствует об их функциональной активности. Увеличение доли синего в препарате отражает «омоложение» популяции клеток. Тр. В старых Тр преобладает красный цвет.

Сведения об изучении морфометрических показателей Тр весьма разрозненны. В научной литературе встречаются единичные исследования показателей морфометрии при некоторых заболеваниях: хроническом мегакариоцитарном лейкозе, геморрагической тромбоцитемии, сахарном диабете.

При этом, у здоровых добровольцев значения среднего диаметра клеток находились в пределах 2,11 - 3,11 мкм, площади клеток – 4,95 - 7,22 мкм², показатель фактора формы – от 12,37 до 14,75 у.е., поляризации – от 0,147 до 0,280 у.е., доля синего цвета в препарате – от 0,272 до 0,329 у.е., доля красного цвета в препарате – от 0,396 до 0,414 у.е. (Коробова Д.А. и др., 2000; Казинец Г.И. и др., 2002).

Вероятно, причина такого разброса данных морфометрии Тр – исследование параметров Тр без учета соединительнотканного статуса обследуемого.

Для оценки степени «омоложения» Тр в препаратах крови мы рассчитывали индекс омоложения Тр (ИОТр) – отношение оптической плотности в синем спектре к оптической доле красного спектра (Бондарь Т.П. и др., 2004). У здоровых доноров ИОТр составляет 0,73 - 0,79 у.е., повышение этого показателя говорит об увеличении количества «молодых» Тр, а снижение – увеличении «старых» Тр.

Для получения максимально достоверной информации при цитоморфометрии необходимо проводить подсчет не менее 500 клеток на один препарат. Среднее значение каждого показателя рассчитывается с использованием автоматизированных алгоритмов и представляется в виде таблиц с данными статистического анализа: минимальным и максимальным значениями, стандартным отклонением, коэффициентом вариации, (Козинец Г.И. и др., 2002).

Метод КЦТр позволяет получить наиболее точные данные об изменении геометрических и оптических свойств Тр, и может служить диагностическим критерием при оценке сосудисто-тромбоцитарного компонента гемостаза и коррекции антиагрегантной терапии (Бондарь Т.П. и др., 2004; Коробова Д.А. и др., 2000; Муратова А.Ю., 2004). Данные КЦТр здорового человека представлены на рисунке 7.

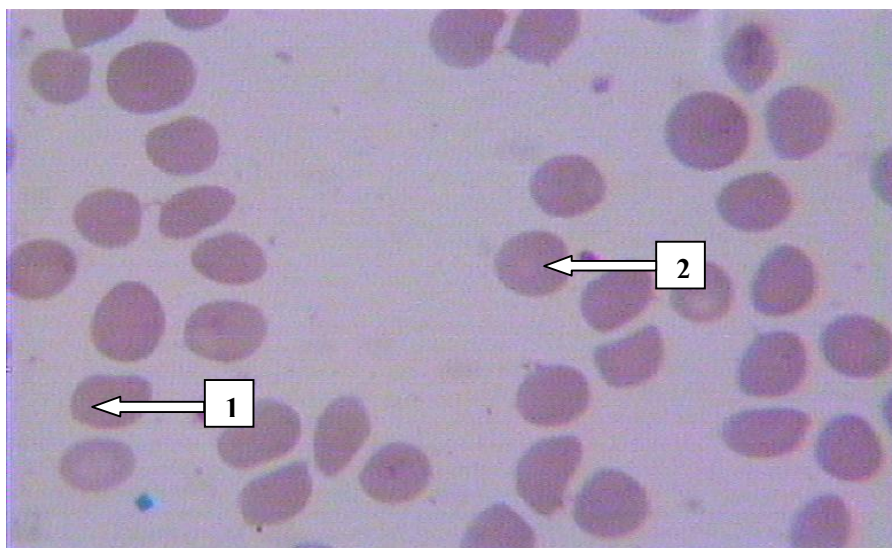


Рисунок 7 – Микрофотография Тр здоровой небеременной женщины
(1, 2 – тромбоциты)

Для оценки влияния гиперкоагуляции на тромбоцитопоз, мы производили подсчет общего количества мегакариоцитов в костном мозге у лабораторных животных. Для этого проводили забор костного мозга из эпифиза бедренной кости, шприцом набирали материал и наносили на предметное стекло с помощью пластикового шпателя, далее препараты окрашивали по методу Романовского-Гимзы.

Анализ данных миелограммы позволяет судить о процессах пролиферации и дифференцировки ростков кроветворения, происходящих в костном мозге, о его клеточном составе и функциональном состоянии (Луговская С.А. и др., 2002; Воробьев А.И., 2005).

Подсчет мегакариоцитов проводили в счетной камере Фукс-Розенталя. Перед посчетом производили 20-ти кратное разведение пунктата 3% раствором уксусной кислоты. Подсчитывали все мегакариоциты в камере. Расчет количества мегакариоцитов в 1 мл производили по формуле 1:

$$X = \frac{N \cdot 20}{3,2} \quad (\text{формула 1}), \text{ где}$$

X – количество мегакариоцитов в 1 мкл,

N – количество мегакариоцитов во всей камере,

20 – степень разведения пунктата,

3,2 – объем камеры Фукс-Розенталя.

Миелограмма является отражением процентного соотношения всех клеточных элементов костного мозга. Учитывая высокую полиморфность костного мозга, подсчет производили на 1000 клеток.

2.2.3. Исследование агрегации тромбоцитов методом сканирующей зондовой микроскопии

Метод сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) может быть использован с большей степенью надежности. Для проведения фундаментальных исследований морфофункциональных свойств Тр и их агрегатов в различных экспериментальных моделях нами использован метод СЗМ.

Сканирующий зондовый микроскоп исследует микрорельеф поверхности с помощью микрозондов. В СЗМ используется зонд, сканирующий поверхность образца. Таким образом, в СЗМ образец «ощупывается», осуществляется поточечное считывание степени взаимодействия зонда с поверхностью. Для исследования структуры на основе органических материалов и биологических объектов применяется колебательный (полуконтактный) метод атомно-силовой (сканирующей) микроскопии, который считывает силы межатомного взаимодействия между атомами зонда и атомами образца.

Сканирующий зондовый микроскоп состоит из следующих основных компонентов: зонда, пьезоэлектрических приводов для перемещения зонда по X, Y, Z над поверхностью исследуемого образца, цепи обратной связи и компьютера для управления процессом сканирования и получением изображения. В качестве твердого зонда используется микробалка в виде упругой пластинки, на свободном конце которой располагается острие из твердого материала (нитрида кремния, кремния) с кантилевером на свободном конце. Одно из основных требований к кантилеверу - его острие должно быть предельно острым: заканчиваться единичными атомами. Измерение угла наклона балки регистрируется с помощью чувствительного датчика (лазер - фотодиод). Рабочая часть таких зондов (острие) имеет размеры порядка двадцати нанометров. Характерное расстояние между зондом и поверхностью образцов в зондовых микроскопах по порядку величин составляет 0,1-10 нм.

С помощью специальной системы детекции регистрируется перемещение зонда вдоль поверхности отклонения кантилевера. Атомно-силовой микроскоп позволяет измерять не только профиль поверхности, но и локальные силы трения, величину адгезии, упругие и вязкие свойства поверхности с нанометровым пространственным разрешением. Использование встроенной системы видеонаблюдения с разрешением до 1 мкм позволяет наблюдать за процессом сканирования в реальном времени (Миронов В.Л., 2005).

Изучение наностроения агрегатов тромбоцитов периферической крови пациентов проводилось при помощи СЗМ «Интегра Прима» в НОЦ «Фунда-

ментальных проблем диагностической медицины» СКФУ.

Перед тем как образец помещается в зондовый микроскоп, его предварительно исследуют на оптическом микроскопе при увеличении 40х0,65. При нахождении на стекле участка с агрегатом, для помещения его на предметный столик СЗМ, с помощью стеклореза выделяют интересующую зону 10х10 мм. Далее участок сканируется в различных режимах, выводится изображение и производится его изучение (рисунок 8).

С помощью СЗМ стало возможным получить двухмерное и трехмерное изображение агрегатов.

При исследовании агрегатов тромбоцитов, в каждом мазке исследовалось от 10 до 25 агрегатов. Конечные результаты сканирующей зондовой микроскопии агрегатов включали в себя: анализ их геометрических параметров (измерение высоты, длины и ширины) и статистическая характеристика.

Таким образом, при использовании сканирующей зондовой микроскопии анализ тромбоцитарных агрегатов проводился на фиксированных окрашенных мазках плазмы крови (сделанных методом спонтанной агрегации тромбоцитов), что позволило получить основную информацию о геометрическом состоянии тромбоцитарных агрегатов.

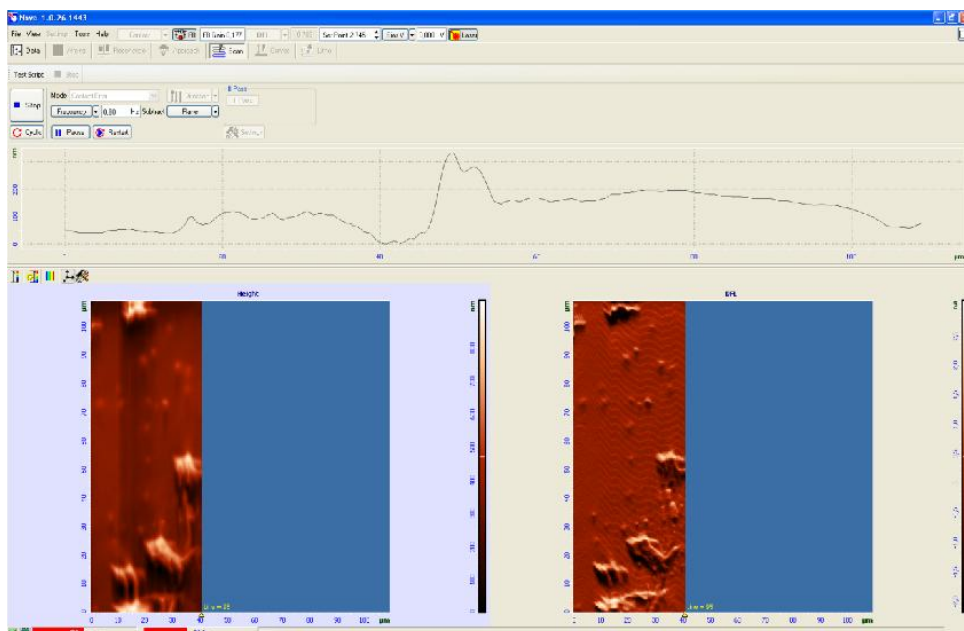


Рисунок 8 – Изображение сканированного участка препарата периферической крови

2.2.4. Лабораторные методы исследования плазменного гемостаза

Одновременно с образованием тромбоцитарного тромба происходит активация плазменных факторов свертывания и запускается коагуляционный гемостаз, в процессе которого на основе агрегата Тр формируется фибриновый сгусток, который на завершающем этапе подвергается уплотнению и сжатию (ретракции). Таким образом, первичный гемостатический, представляющий собой рыхлый тромбоцитный агрегат, превращается во вторичный или окончательный гемостатический тромб, в котором тромбоцитный агрегат консолидируется фибрином и подвергается дополнительному уплотнению в процессе спонтанного сокращения сгустка крови. Плазменный гемостаз обеспечивает полную остановку кровотечения из вен, артериол и артерий. Коагуляционный гемостаз, протекает в течение нескольких минут и представляет собой каскад реакций между плазменными белками и заканчивается образованием нитей фибрина. Благодаря этому процессу останавливается кровотечение из крупных сосудов и предотвращается его возобновление (Шиффман Ф.Д., 2007).

Показатели плазменного гемостаза исследовались на автоматическом коагулометре ACL TOP 500 фирмы Instrumentation Laboratory (США). Для оценки коагуляционного звена гемостаза и прогнозирования риска развития тромботических осложнений у обследуемых групп пациентов были исследованы такие показатели как активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) по Саен, активированного времени рекальцификации (АВР) по методу Л.И. Идельсон (Сидоркина А.Н. и др., 2008), международное нормализованное отношение (МНО), процент активности протромбина по Квику (ППК) с тромбопластином (Долгов В.В., Свирин П.В., 2005), концентрация фибриногена в плазме по методу Клаусса, тромбиновое время – по методу R.M. Biggs и R.G. Macfarlane (Сидоркина А.Н. и др., 2008), определение растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) ортофенантролиновым методом, D-димер – методом D.B. Rylatt et al. (Луговская С.А. и др., 2002),

определение концентрации плазминогена с применением хромогенного субстрата методом В.М. Степанова (Долгов В.В., Свирин П.В., 2005).

Для лабораторной оценки звена естественных антикоагулянтов использовали определение активности АТ III и протеина С с использованием хромогенных методов.

При исследовании плазменного гемостаза первоначально оценивали конечные этапы свертывания крови, так как при их нарушении искажаются результаты остальных коагуляционных тестов (Момот А.П., 2006). Для этого проводили определение тромбинового времени и концентрации фибриногена.

Фибриноген – фактор свертывания крови, превращающийся под действием тромбина в нерастворимый фибрин и является структурной основой тромба. Для определения использовали метод Клаусса (Луговская С.А., 2002). Принцип метода основан на особенностях кинетики реакции фибриноген-тромбин, когда исследуемую плазму крови разбавляют в 10 раз с целью снижения влияния ингибиторов тромбина (АТ III и др.). В этих условиях при высоких концентрациях тромбина и низких концентрациях фибриногена время образования сгустка зависит только от количества фибриногена (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

Метод Клаусса (Луговская С.А., 2002) очень прост в исполнении, определяет только активный фибриноген, метод точен и стандартен, широко применяется за рубежом.

Единственный недостаток метода - невозможность работы ручным методом, т.к. образуемый сгусток плохо различим визуально. Однако любые механические или оптико-механические коагулометры позволяют получить точные и воспроизводимые результаты исследования фибриногена по Клауссу. В плазме доноров содержание фибриногена колеблется от 1,8 до 3,5 г/л (Камышников В.С., 2014). Для работы на оптических коагулометрах в инкубационную смесь вносят специально разработанный мелкодисперсный каолин.

Тромбиновое время определяли по методу R.M. Biggs и R.G. Macfarlane (Сидоркина А.Н. и др., 2008). Для этого использовали стандартный объем тромбина, добавляемый к равному объему исследуемой плазмы. Этот тест отражает функциональную активность фибрина, при снижении концентрации фибриногена до 75 - 100 мг/мл происходит удлинение тромбинового времени. Это может быть связано с гипо- и дисфибриногенемиями, содержанием ПДФ, обладающих антитромбиновым действием, избытком в крови гепарина, при введении стрептокиназы и урокиназы. У здоровых людей тромбиновое время составляет от 13 до 17 с (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

Для оценки внутреннего пути коагуляции применяли оценку АЧТВ и АВР.

Определение АЧТВ проводили по методу J.Саen и соавт. (Сидоркина А.Н. и др., 2008). АЧТВ – наиболее информативный скрининговый тест для оценки коагуляционных нарушений внутреннего пути коагуляции, для определения присутствия антикоагулянтов, проведения мониторинга при гепаринотерапии. Основой этого теста является определение времени образования сгустка при добавлении ионов кальция и активатора контактной фазы коагуляции – инертного вещества коалина, а также фосфолипида кефалина, являющегося частью тканевого тромбопластина, лишённого апопротеина III. За счет этого достигается высокая стандартизация метода, так как концентрация ионов кальция, количество коалина и готового реагента кефалина в реакционной смеси легко дозируется. Поэтому АЧТВ является высоко стандартизированной коагуляционной пробой, чувствительной к плазменным дефектам свертывания крови, и, особенно, к дефициту факторов внутреннего пути коагуляции, а также к избыточному содержанию антикоагулянтов в плазме. Укорочение АЧТВ свидетельствует о гиперкоагуляционном сдвиге и рассматривается как фактор риска тромбозов. Нормальный уровень АЧТВ в среднем составляет 35 - 45 с (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

АВР выполнялось хронометрическим методом в реакции богатой тромбоцитами плазмы в смеси с коалином. Метод используется для характе-

ристики не только плазменных факторов свертывания крови, но и 3 тромбоцитарного фактора. У здоровых людей АВР плазмы богатой Тр составляет 50-70 с. Укорочение АВР наблюдается при активации тромбоцитарных и плазменных факторов свертывания. При нормальном значении АЧТВ удлинение АВР свидетельствует о нарушениях только в тромбоцитарном звене гемостаза (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

Такая информация, полученная при одновременном исследовании этих показателей, является важным дифференциально-диагностическим тестом для выявления нарушений сосудисто-тромбоцитарного или коагуляционного гемостаза (Момот А.П., 2006).

Основными методами оценки внешнего пути коагуляции являются определение протромбинового времени (ПВ) и протромбинового индекса (ПТИ).

Определение ПВ свертывания плазмы проводили по методу A.J.Quick (Сидоркина А.Н. и др., 2008). Принцип метода заключается в определении времени образования сгустка при добавлении к цитратной плазме тканевого тромбопластина и хлористого кальция. Тканевой тромбопластин в комплексе с ф.VIIa и ионом кальция непосредственно активируют ф.X. Поэтому результаты ПВ зависят от активности ф.VII и ф.X и факторов, участвующих в образовании тромбина (ф.V и ф.II). Перечисленные факторы составляют протромбиновый комплекс, активность которого определяется данным методом (Камышников В.С., 2014).

В нашей работе мы определяли ПТИ путем сопоставления времени свертывания образца плазмы пациента с временем свертывания плазмы донора. ПТИ вычисляли по формуле 2:

$$\text{ПТИ} = \frac{\text{время свертывания исследуемой плазмы}}{\text{время свертывания донорской плазмы}} \times 100\% \quad (\text{формула 2})$$

В норме ПТИ составляет 90 - 105%. Данный тест отражает содержание в крови ф.VII, ф.X, ф.V, и ф.II., при недостатке любого из них наблюдается удлинение теста. Показатель удлиняется при использовании непрямых антикоагулянтов (антагонистов витамина К), при нарушениях биосинтеза витамина К, при ДВС-синдроме в фазе гипокоагуляции (Луговская С.А. и др., 2002).

Информацию об уровне тромбина в кровотоке и активации образования фибрина и лизиса сгустка дает тест определения уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК). Для определения уровня РФМК в плазме крови использовали набор «РФМК-тест» (Россия). При нарастании уровня тромбина из фибриногена образуется большое количество мономеров фибрина, часть из них не образует полимеры, а при соединении с фибриногеном образуют макромолекулярные фибринмономерные комплексы. РФМК не коагулируются тромбином. У здоровых лиц образования продуктов паракоагуляции не происходит, или они образуются не раньше, чем на 70 - 150 сек. Уровень РФМК при этом не превышает нормальных значений – $3,5 - 4,0 \cdot 10^{-2}$ /л. Образование частиц паракоагуляции в течение 50 с свидетельствует о высоком уровне РФМК в плазме крови пациента и является отражением усиления коагуляционной активности крови (Камышников В.С., 2014).

При усилении свертывающей активности крови, в крови появляются специфические маркеры, отражающие степень усиления коагуляции (Шиффман Ф.Д., 2007). Одним из них и является D-димер, как маркер активации коагуляционного каскада. Это связано с участием в его образовании как тромбина, образующегося при активации системы гемокоагуляции, так и плазмина - основного действующего компонента системы фибринолиза. Для определения концентрации использовали метод D.B. Rylatt et al. (Сидоркина А.Н. и др., 2008). D-димер обладает антигенными свойствами. Принцип заключается в агглютинации D-димеров со специфическими моноклональными антителами. К преимуществам определения D-димера, специфического продукта расщепления поперечносшитого (нерастворимого) фибрина плазмином, относится отсутствие влияния техники взятия крови и примеси Тр. Кро-

ме того, D-димер имеет длительный период жизни, около 6 часов, что позволяет определять его уровень с высокой точностью. У здоровых людей концентрация D-димера не превышает 0,5 мг/л. Исследование D-димера является наиболее чувствительным неспецифичным маркером венозного тромбоза (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

Продукты деградации фибрина являются маркерами первичного и вторичного фибринолиза при развитии синдрома ДВС. Этот тест также появляется при некоторых тромбофилических осложнениях беременности, при венозных тромбозах, в послеоперационном периоде, при инфарктах. Необходимо учитывать тот факт, что слегка увеличенный уровень ПДФ, так же как и РФМК, наблюдается в конце неосложненной беременности (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

Для исследования фибринолитической системы крови широкое применение нашли тесты, основанные на определении лизиса эуглобулина, такие как XIIa - калликреинзависимый фибринолиз. Определение проводили по методу Еремина Г.Ф. и Архипова А.Г. (Сидоркина А.Н. и др., 2008). Тест основан на определении времени лизиса сгустка эуглобулиновой (солерастворимой) фракции белков плазмы крови после контактной активации XII фактора коагином, следствием чего является ускорение образования плазмينا из плазминогена и, следовательно, лизис этого сгуска. В норме данный показатель составляет 4 - 12 мин. Замедление лизиса указывает на недостаточность внутреннего механизма фибринолиза – ТФ, наличие ДВС-синдрома, различных аутоиммунных заболеваний. Существует также ряд модификаций метода лизиса эуглобулинового сгустка, а также возможно непосредственное определение уровня плазминогена, его активаторов и ингибиторов (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

Плазминоген определяли методом с использованием хромогенного субстрата по методу В.М. Степанова в интерпретации З.С. Баркагана и А.П. Момота (Сидоркина А.Н. и др., 2008). Плазминоген – предшественник плазмина, который играет ведущую роль в системе фибринолиза. Плазминоген

может активироваться в плазмин различными путями, наиболее важным из которых является активация природным тканевым активатором, который синтезируется и высвобождается эндотелиальными клетками. Активировать плазминоген могут такие внешние активаторы, как стрептокиназа из гемолитического стрептококка и урокиназа, природный активатор из почек. Плазмин, активный фермент, принимающий участие как в первичном, так и во вторичном фибринолизе. Антиплазминовым действием обладают АТ III, альфа-1-антитрипсин, альфа-2-антиплазмин, альфа-2-макроглобулин и др. Ингибиторы находятся в крови в избытке и способны образовывать обратимые комплексы с плазмином. Потребление плазминогена наблюдается как при первичном, так и при вторичном фибринолизе. Вторичный фибринолиз, связанный с ДВС, является наиболее важной причиной потребления плазминогена. С другой стороны первичный фибринолиз, включающий только фибринолитический механизм, также вызывает быстрое потребление циркулирующего фермента (Каприщенко А.И., 2013).

Исследование плазминогена проводится при лечении пациентов с ДВС-синдромом, при диагностике ТФ, для контроля за лечением тромболитиками (при тромбозах, тромбоэмболиях, инфарктах). О концентрации плазминогена судят по изменению оптической плотности анализируемого образца плазмы пациента в сравнении оптической плотностью контрольной плазмы. Концентрацию плазминогена у пациента выражают в процентах от его концентрации в контрольной плазме. Нормальные значения составляют 75% до 135% (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

К наиболее важным физиологическим антикоагулянтам, при дефиците которых развиваются тяжелые, рецидивирующие тромбозы, зачастую являющиеся непосредственной причиной смерти пациентов молодого возраста, относятся АТ III, функционирующий в комплексе с гепарином, протеины С и S – так называемые первичные антикоагулянты (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

Для оценки звена естественных ингибиторов свертывания крови использовали определение АТ III и протеина С методом хромогенных субстратов. АТ III синтезируется в печени и эндотелиальных клетках сосудов, за счет чего эндотелий обладает высокой антикоагулянтной активностью и у здоровых лиц абсолютно атромбогенен. Кроме того, синтезированный АТ III поступает в кровь. При этом эндотелиоциты являются главным источником АТ III в организме. АТ III - универсальный ингибитор сериновых протеаз и важнейший физиологический регулятор системы гемостаза, поддерживающий кровь в жидком состоянии. На долю АТ III приходится до 80% всей антикоагулянтной активности плазмы (Каприщенко А.И., 2013).

В настоящее время расшифрована первичная структура многих ферментов, что позволило искусственно синтезировать пептиды с аминокислотной последовательностью, аналогичной участкам субстратов, расщепляемых тромбином, плазмином и другими ферментами свертывающей системы крови. Сериновые протеазы свертывающей системы обладают достаточно узкой специфичностью в отношении белковых субстратов. Поэтому удалось синтезировать достаточно простые пептиды-субстраты и присоединить к конечным аминокислотным группам этих пептидов различные красители. Когда синтетический пептид, названный «хромогенным субстратом» взаимодействует со специфическим ферментом, краситель высвобождается, и его количество можно измерить фотометрически. Таким образом, с помощью хромогенных субстратов можно измерить активность многих протеаз, участвующих в свертывании крови (Долгов В.В., Свирин П.В., 2005).

Метод определения активности АТ III основан на способности АТ III нейтрализовать тромбин в присутствии гепарина. Активность АТ III определяли в плазме, добавляя к ней избыток тромбина. При этом происходило ингибирование тромбина комплексом АТ III - гепарин пропорционально количеству АТ III в плазме. Оставшееся количество тромбина катализировало отщепление пара-нитроанилина (pNA) от синтетического хромогенного суб-

страта. Абсорбция свободного pNA, определялась при 405 нм, была обратно пропорциональна активности АТ III.

Процесс проходил по следующей схеме:

АТ III + гепарин (избыток) → АТ III-гепарин.

АТ III - гепарин + тромбин (избыток) → АТ III-гепарин-тромбин + тромбин (остаток).

Субстрат-pNA + тромбин (остаток) → Пептид + pNA.

Определение активности АТ III имеет важное значение в диагностике ДВС-синдрома, а также как мониторинга гепаринотерапии. В норме активность АТ III составляет 80 - 125%, снижение активности АТ III до 40 - 60% может сопровождаться развитием у пациентов спонтанных тромбозов (Сидоркина А.Н. и др., 2008).

Протеин С - естественный ингибитор свертывания крови, К-зависимый гликопротеин, синтезируется в клетках печени неактивной форме. При взаимодействии с тромбомодулин переходит в активное состояние. Активированный протеин С протеолитически инактивирует ф.Va и ф.VIIIa и является регулятором активности тромбина на эндотелии. Нормальные значения в плазме здорового человека находятся в пределах от 70% до 145% (Камышников В.С., 2014).

Активность протеина С исследовали при помощи набора «Реахром-Протеин С» (Россия). Метод основан на способности активированного протеина С гидролизовать пептидный хромогенный субстрат. Количество высвобождаемого при этом pNA прямо пропорционально активности протеина С в образце плазмы. Протеин С плазмы активируется при добавлении к ней очищенного экстракта яда *Agkistrodon contortrix contortrix*. Процесс идет по следующей схеме:

Протеин С+активатор (избыток) → Активированный протеин С

Активированный протеин С + Пептид-pNA → Пептид + pNA (желтый).

2.2.5. Биохимические и иммуноферментные методы исследования

В нашей работе проводилась оценка показателей, характеризующих состояние эндотелия сосудистой стенки, параметров цитокинемии, показателей антиоксидантной активности, нитритемии, гипергомоцистеинемии, а также оценивался уровень регулятора тромбоцитопоза – тромбопоэтина. Оценка интенсивности тромбинообразования – главного эффектора состояния эндотелия сосудистой стенки, благодаря способности тромбина регулировать его проницаемость, ангиогенные и адгезивные функции, проводилась по данным гемостазиограмм.

Определение концентрации ФВ проводили на приборе «STA Compact» фирмы «Diagnostica Stago» (Франция) с иммунотурбидиметрическим методом.

Для оценки состояния эндотелия сосудистой стенки нами был использован спектрофотометрический метод определения нитрит-иона, основанный на реакции нитритов с реактивов Гисса, который представляет собой смесь равных объёмов водного раствора 0,05 % N-нафтилэтилендиамина и 1 % раствора сульфаниламида в уксусной кислоте. Данный метод количественного определения нитрит-ионов основан на способности первичных ароматических аминов в присутствии азотистой кислоты образовывать интенсивно окрашенные диазосоединения (Доценко В.П., 2006).

Для оценки стимулирующего влияния на эндотелий маркеров системного воспаления – посредников усиления коагуляции, оценивали уровень провосполительных цитокинов ИЛ-8 и ИЛ-6 иммуноферментным методом со специфическими антителами с последующим измерением интенсивности окрашивания при длине волны 450 нм. Определение концентрации цитокинов проводилось по стандартной калибровочной кривой (Демьянов А.В. и др., 2003).

Система цитокинов является единой сетью, нарушения в которой приводят к срыву саморегуляции, изменению направленности иммунного отве-

та, что играет особую роль на ранних этапах развития эмбриона. Поэтому чрезвычайно важно, чтобы все параметры цитокинов были в пределах нормы накануне наступления беременности. Физиологическая беременность определяется взаимным участием иммуностимулирующих и иммуносупрессорных механизмов в эндометрии, трофобласте, и на более поздних сроках, в плаценте, регуляция которых непосредственно зависит от функционирования системы цитокинов (Сидельникова В.М., 2013).

Уровень липоперекисных процессов осуществляли путем определения концентрации МДА в сыворотке крови – одного из конечных продуктов липопероксидации, использовали метод Jagi Y. с тиобарбитуровой кислотой.

Для оценки влияния оксидантного стресса на функциональное состояние Тр исследовали показатель МДА в мембранах Тр. Использовали спектрофотометрическую методику определения МДА по J. Smith (Smith J. et al., 1975). Основой методики является реакция между МДА и тиобарбитуровой кислотой, в процессе которой происходит образование окрашенного триметинового комплекса, содержащего одну молекулу МДА и две молекулы тиобарбитуровой кислоты. Оптическую плотность раствора регистрировали при длине волны 532 нм на фотоэлектроколориметре КФК-3 (Россия). У здоровых доноров значения МДА в мембранах Тр составляют от 1,5 до 3,6 мкмоль/10⁹Тр (Горожанская Э.Г. и др., 2003).

Для оценки состояния антиоксидантной системы использовали показатель АОА плазмы крови. АОА плазмы (сыворотки) крови – это интегральный показатель, отражающий ее способность противодействовать развитию свободнорадикальных реакций (Галимова О.И. и др., 2007). Основными компонентами тест-систем для определения АОА плазмы крови являются: система генерации радикалов и субстрат, который подвергался свободнорадикальному окислению. Добавление в модельную систему плазмы крови, содержащей различные водо- и жирорастворимые антиоксиданты, приводит к уменьшению образования радикалов и торможению окисления субстрата. Изменение

параметров окисления субстрата в присутствии плазмы крови регистрировали на спектрофотометре UNICO 2100 (США) (Басов А.А., Быков И.М., 2013).

Определение уровня церулоплазмينا выполняли реактивами AssayMax Human Ceruloplasmin ELISA (США) на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе Tecan (Австрия). Метод основан на конкурентном иммуноферментном анализе. Поликлональные антитела, специфичные к церулоплазмину, сорбированы в лунках 96-луночного микропланшета. Церулоплазмин, присутствующий в образцах плазмы пациентов и стандартах, конкурирует с биотинилированным церулоплазмином за иммобилизованные антитела, а последний связывается с конъюгатом стрептавидинпероксидаза. Все несвязавшиеся материалы удаляются при промывке, затем в лунки вносятся ферментный субстрат. Развитие окрашивания останавливают и измеряют его интенсивность при длине волны 450 нм (Доброхотова Ю.Э. и др., 2008).

Определение гомоцистеина проводили в сыворотке крови крыс методом конкурентного иммунохимического анализа с использованием конъюгированного аденозилгомоцистеина и иммуноспецифических антител на автоматическом иммунохемилюминисцентном анализаторе ACCESS 2 компании Beckman Coulter (США). Методика позволяет определить свободный и связанный с белком гомоцистеин (Решетняк Т.М. и др., 2006).

Для определения уровня тромбopoэтина в сыворотке крови лабораторных крыс использовали количественный твердофазный иммуноферментный анализ с использованием иммуноспецифичных реактивов (Rat.Thrombopoietin, TPO Elisa kit) иммуноферментном анализаторе «Sunrise» (Tecan, Австрия) (Ogilvie M., 2000). На микропланшете иммобилизованы специфические моноклональные антитела к тромбopoэтину. В ходе проведения исследования в лунки планшета вносятся стандарты и образцы сыворотки лабораторных животных. Присутствующий в пробах тромбopoэтин связывается с иммобилизованными антителами. После проведения промывки все не связавшиеся компоненты раствора удаляются, а в ячейки микропланшета добавляется конъюгат поликлональных антител к тромбopoэтину. По-

сле второй промывки в лунки вносится субстратный раствор, который взаимодействует с комплексом антиген-антитело с образованием окрашенного комплекса. Увеличение показателя оптической плотности прямо пропорционально увеличению концентрации тромбopoэтина в образце сыворотки. Интенсивность окрашивания измеряется фотометрически на длине волны 450 нм.

2.2.6. Гистологическое исследование отпечатков паренхиматозных органов

Для оценки влияния экспериментального усиления свертываемости крови на состояние микроциркуляции в паренхиматозных органах были использованы унифицированные методики приготовления гистологических препаратов.

Для гистологического исследования отбирались образцы печени и селезенки величиной около 1 см³. Затем, для сохранения тканевых структур, их подвергали фиксации. В качестве фиксирующего раствора использовали 10% раствор формалина, которым заполнялась посуда с образцами (Smith S.A., 2009). В дальнейшем, образцы высушивались и заливались парафином. Приготовленные препараты подвергались послойной нарезке толщиной 5-10 мкм. Для нарезки использовали микротом MC 2 (Россия). Затем срезы перемещали на предметные стекла для дальнейшего окрашивания (Uszynski M. et al., 2001).

Перед окрашиванием препаратов проводилась депарафинизация (удаление уплотняющей среды). Окрашиванием достигалась контрастность клеточных структур. Для окрашивания использовали основной краситель - гематоксилин и кислый эозин. Окраску производили сначала гематоксилином, а потом эозином. После чего проводили микроскопию препаратов на световом микроскопе при увеличении в 200 и в 400 раз.

2.2.7. Молекулярно-генетические методы исследования

Наследственные ТФ могут быть ассоциированы с наличием полиморфизма в гене GP IIb/IIIa (Fray U.H. et al., 2003).

Определение полиморфизма гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa проводили амплификационно-рестрикционным методом по Bojesen S.E. (2003). Для выделения ДНК использовали пробы венозной крови пациенток, взятые в вакутейнеры с 6% раствором ЭДТА (1:20). Выделение ДНК проводили сорбционным способом с использованием набора для выделения ДНК из образцов цельной крови «ДНК-сорб В». Амплификационные смеси готовили на с использованием универсального набора реагентов для ПЦР «Ампли Сенс-200-1» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

Праймеры синтезировались в НПО «Литех» (Россия) в соответствии с последовательностями описанными Bojesen S.E. et al. (2003).

Реакционная смесь общим объемом 25 мкл включала праймеры 0,5 мкМ каждый, 0,2 мМ dNTP каждого, 0,1 ед./мкл Taq ДНК-полимеразы, 1,5 мМ MgSO₄, 5 мкл пятикратного буфера для ПЦР и 10 мкл пробы ДНК.

Амплификацию проводили в термоциклере «DNA Mastercycler 22331» фирмы Eppendorf (Германия) по следующей программе: предварительная денатурация 95 °С 5 мин, затем 40 циклов (95 °С - 20 сек, 60 °С - 20 сек, 72 °С - 20 сек) и заключительная элонгация – 72 °С – 2 мин.

Наличие амплификации специфического фрагмента ДНК размером 268 п.н. контролировали при помощи электрофореза в 1,5% агарозном геле. Рестрикцию ампликона осуществляли при воздействии эндонуклеазы MspI. Продукты рестрикции анализировали методом электрофоретического разделения в 2 % агарозном геле с бромистым этидием при напряжении 120-140 В в течение 40 мин. Детекцию пробуктов амплификации проводили в ультрафиолетовом свете с использованием трансиллюминатора Vilber Lourmat (Франция).

Идентифицировали рестрикционные фрагменты ДНК путем сравнения их размеров с эталонными коммерческими маркерами молекулярных

размеров фрагментов ДНК. Аллели генотипов определяли в соответствии с наборами рестрикционных фрагментов ДНК (рисунок 9) , описанных S.E. Bojesen et al. (2003).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

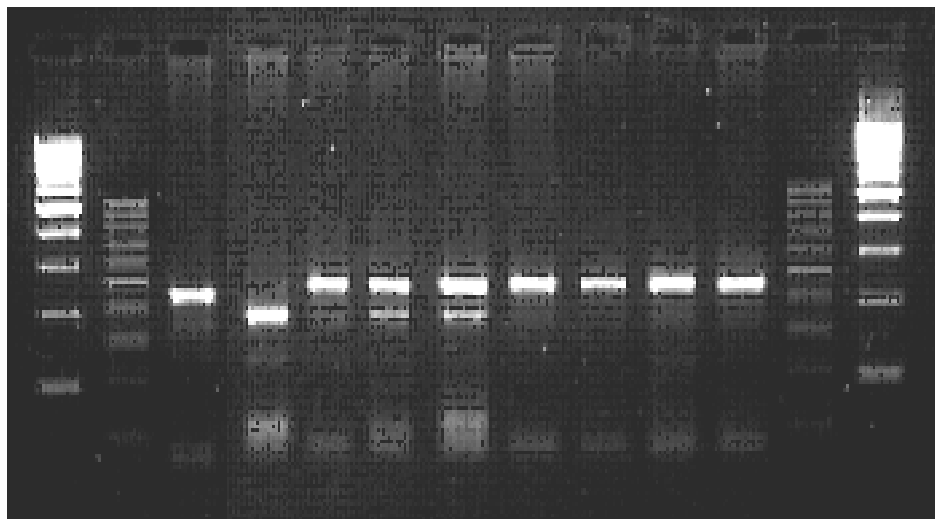


Рисунок 9 – Электрофореграмма рестрикционных фрагментов специфических ампликонов

1,13 – Ladder 100, 2,12 – Ladder 50, 3-11 – рестрикционные фрагменты

Примечание: ДНК соответствующие аллелям: 3, 5, 8, 9,10, 11 – PI^{A1}/PI^{A1} ;
4 – PI^{A2}/PI^{A2} ; 6,7 – PI^{A1}/PI^{A2}

Молекулярно-генетическое тестирование образцов крови пациенток на наличие основных дефектов генов системы гемостаза проводили на амплификаторе Аипли-4 (Россия) с использованием реактивов фирмы НПО «Литех» (Россия). На первом этапе из лейкоцитов цельной крови пациенток провели выделение ДНК с использованием реагентов «ДНК-экспресс» (Россия), проамплифицированы соответствующие полиморфные локусы с последующей рестрикцией с участием специфических эндонуклеаз. Продукты амплификации и рестрикции анализировали методом электрофоретического разделения в 3% агарозном геле, окрашенным бромистым этидием. Детекцию проводили при помощи трансиллюминатора Vilber Lourmat (Франция). Условия генотипирования описаны С.А. Dalmas et al. (2006).

Изучен аллельный ДНК-полиморфизм основных генов, кодирующих различные компоненты звеньев системы гемостаза: аллельные варианты гена C677T и A1298C гена MTHFR, маркер гена протромбина G20210A, определение мутации в гене ф.V Leiden (полиморфизм G1991A) и полиморфизм ингибитора активатора плазминогена типа 1 (аллельный вариант 675 4G/5G), полиморфизм гена фибриногена (G455A).

Для выделения геномной ДНК были использованы образцы венозной крови пациенток. Выделение ДНК проводили с использованием набора ДНК-сорб-В фирмы «Ампли Сенс» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Определение полиморфизмов генов проводили методом ПЦР в режиме «реального времени» с использованием наборов реактивов фирмы «Ампли Сенс» ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Детекция результатов осуществлялась на автоматическом амплификаторе Rotor-Gene 6000 (Австралия). Анализ результатов обеспечивался программным обеспечением прибора Rotor-Gene 6000.

2.2.8. Статистические методы исследования

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Microsoft Excel 2010, Statistica 6.1. По большинству анализируемых параметров отмечено нормальное распределение в выборке, поэтому применялся параметрический метод анализа. Достоверность различия средних показателей определяли по критерию Стьюдента (t). Статистически достоверными считали различия, для которых уровень достоверности составлял $p < 0,05$.

Для выявления взаимосвязи различных показателей использовали метод корреляционного анализа с вычислением парных коэффициентов корреляции Пирсона.

Для выявления наиболее значимых показателей и предварительного суждения о влиянии генетического полиморфизма A^2 на развитие метаболических и коагуляционных изменений данные анализировали с использовани-

ем последовательного анализа Вальда (Гублер Е.В., 1978). Получали диагностический коэффициент каждого признака, и для суждения о вероятности влияния, полученные коэффициенты суммировали. Цифровое значение алгебраической суммы соответствовало определенному проценту ошибки предположения (таблица 3).

Таблица 3 – Вероятность ошибки в зависимости от суммы диагностических коэффициентов

Пороговая сумма	Ошибка в %
30	0,1
27	0,2
24	0,5
20	1
18	2
15	3
13	5
11	7
10	10
6	20

Чем меньше величина ошибки в %, тем выше вероятность влияния признака. При величине ошибки более 5% предположение маловероятно.

Таким образом, используемый комплекс методов позволил нам не только оценить состояние гемостаза беременных женщин с ТФ и их новорожденных детей, но и выявить наиболее значимые факторы, влияющие на механизмы развития нарушений гемостаза.

ГЛАВА 3

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ

По данным различных исследований протромботические нарушения гемостаза ответственны за развитие большого числа акушерских осложнений, среди которых тяжелая преэклампсия, ПОНРП, хроническая плацентарная недостаточность, а также СЗВРП, кроме того тромботические состояния могут быть причиной различной неонатальной патологии и даже стать непосредственной причиной смерти в этот период (Баймурадова С.М., 2008; Айламазян Э.К., 2010; Фролова О.Г. и др., 2012; Андреева М.Д., 2016).

В научной литературе нет однозначных данных о влиянии изменений свертывающей системы матери на гемостаз плода и новорожденного. Это связано с тем, что моделирование патологических процессов на беременных женщинах и новорожденных детях и связанное с этим многократное взятие биологического материала не корректно, а обследование плода - невозможно. В научной литературе имеются сведения о схожей системе гемохориальной плацтации грызунов и человека (Воробьев А.И., Бувич Е.И., 2000). В связи с этим актуальным было создание экспериментальной модели гиперкоагуляции на беременных самках белых крыс линии Вистар.

В данной главе представлен анализ динамики количественных и морфо-функциональных характеристик Тр 68 самок крыс, из которых 17 здоровых небеременных животных были контрольной группой, 41 самка – с физиологически протекающей беременностью и у 44 самки беременность и роды протекали на фоне экспериментальной гиперкоагуляции. Исследование проводилось на 19 - 20 - й день гестационного периода, в день родов и на 5 - е сутки после родов. В исследовании также использовано 200 новорожденных крысят (98 – 1 - го дня жизни и 102 – 5 - го дня жизни) и 89 плодов (19 - 20 - го дня гестации). Показано влияние гиперкоагуляции на тромбоцитопоз и

возникновение патогистологических изменений паренхиматозных органов у лабораторных животных.

Для подтверждения усиления коагулянтного потенциала крови у лабораторных животных исследовался показатель АЧТВ и длительность кровотечения по Дьюке.

3.1. Изменения показателей тромбоцитарного гемостаза крыс и их потомства в условиях физиологически протекающей беременности

Известно, что беременность всегда сопровождается усилением свертывающей активности крови, а в III триместре становится важнейшим фактором адаптации системы гемостаза к родам. При этом ключевую роль играют Тр, в гранулах которых содержатся тромбопластические и антигепариновые факторы, фибриназа, фибринолитические агенты, сократительные белки, необходимые для адгезии, агрегации и реакции высвобождения Тр (Michelson A.D., 2002; Долгов В.В., Свирин П.В., 2005; Бондарь Т.П., Муратова А.Ю., 2012). В связи с этим, оценку состояния тромбоцитарного звена гемостаза производили у самок крыс и их потомков при физиологическом протекании гестационного процесса и родов.

Одним из показателей нормального протекания беременности являлось количество плодов в помете, а также их физическое состояние. В группе здоровых лабораторных животных в условиях физиологически протекающей беременности среднее количество жизнеспособных плодов в помете составило 6 шт. Масса новорожденных крысят составила $5,1 \pm 0,1$ г. При визуальной оценке крысят не выявлено уродств и аномалий развития.

Для оценки особенностей тромбоцитопоза и Тр периферической крови во время физиологически протекающей беременности всем лабораторным животным проводилось автоматический подсчет Тр и тромбоцитарных индексов, исследование агрегации Тр, КЦТр, подсчет мегакариоцитов костного мозга.

При проведении анализа данных гемостаза крыс установлено достоверное укорочение АЧТВ в плазме крови животных с физиологически протекающей беременностью, которое составило в среднем $18,7 \pm 0,5$ с, а группе здоровых небеременных самок крыс – $23,6 \pm 0,6$ с ($p \leq 0,001$). Время кровотечения по Дьюке также было укорочено у беременных крыс и составило в среднем 6 мин. 1 сек., тогда как в группе небеременных животных – 6 мин. 50 с. Полученный материал свидетельствует об усилении свертываемости крови во время физиологически протекающей беременности.

Для выявления изменений показателей Тр лабораторных животных в перинатальном периоде проводилось обследование здоровых небеременных и здоровых беременных самок крыс. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Изменение показателей Тр крови в группах беременных и небеременных здоровых самок крыс ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Показатели, ед. измерения	Контрольная группа, n=17	Здоровые беременные крысы, n=41		
		До родов, n=17	День родов, n=24	5 - й день после родов, n=24
PLT, $10^9/\text{л}$	$416,1 \pm 12^2$	$449,2 \pm 15$	$508,2 \pm 18^4$	$468,4 \pm 14^3$
MPV, фл	$6,7 \pm 0,2^2$	$6,9 \pm 0,2$	$7,6 \pm 0,3$	$7,3 \pm 0,2$
PCT, %	$0,33 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,02$
Агрегация с АДФ, %	$14,3 \pm 0,9^2$	$15,2 \pm 0,8$	$16,9 \pm 1,1$	$14,6 \pm 0,7^5$
ристоцетином, %	$10,33 \pm 0,21^{1,2}$	$11,06 \pm 0,23$	$12,01 \pm 0,28^4$	$10,64 \pm 0,13^5$
коллагеном, %	$6,34 \pm 0,11^{1,2}$	$6,79 \pm 0,08$	$6,98 \pm 0,14$	$6,44 \pm 0,09^5$

Примечание: достоверность различия в группах: 1 - контрольной группы и крыс до родов; 2 - контрольной группы и крыс в день родов; 3 - контрольной группы и крыс на 5 - й день после родов; 4 - крыс до родов и в день родов; 5 - крыс в день родов и на 5 - й день после родов

Из приведенных данных видно что, статистически значимые различия тромбоцитарных параметров у животных контрольной группы и самок крыс в дородовой период наблюдался только при агрегационной активности с ристоцетином (5 мкМ/мл) и коллагеном (0,2 мг/мл), которая составила 11,06% и

6,79%, соответственно. У крыс до родов и в день родов достоверно изменялось количество Тр ($508,2 \cdot 10^9/\text{л}$) и агрегационная активность, индуцированная ристоцетином, которая составила в среднем 12,01%.

Обращает на себя внимание достоверное увеличение количества и объема Тр, а также усиление агрегационной активности Тр со всеми индукторами в день родов.

На 5 - й день после родов все тромбоцитарные показатели практически приближаются к результатам аналогичных показателей здоровых небеременных крыс, достоверно увеличенным оставалось только количество Тр ($468,4 \cdot 10^9/\text{л}$). Показатели агрегационной активности Тр достоверно снижались по сравнению с показателем в день родов. Так агрегация Тр, индуцированная АДФ снижалась на 13,6%, ристоцетином – на 12%, а коллагеном – на 7,7%.

В послеродовом периоде рассматриваемые выше показатели приближались к дородовым, но сохранялась тенденция к усилению тромбоцитарной активности.

Выявленные изменения показателей свидетельствуют об усилении функциональной активности Тр в период родов.

Применение метода компьютерной цитоморфометрии позволило исследовать некоторые морфо-функциональные характеристики Тр, описание и оценка которых у экспериментальных животных в доступной нам литературе не встречалось. Результаты исследования здоровых самок крыс представлены в таблице 5.

Увеличение среднего диаметра и средней площади Тр в окрашенном препарате крови в сочетании с увеличением образования псевдоподий (фактор формы) отражает уровень активности Тр. Об усилении функциональной активности Тр свидетельствует также увеличение ИОТр. Повышение оптической плотности по синей компоненте свидетельствует о появлении в периферической крови молодых активных форм, насыщенных гранулами Тр.

Приведенные данные иллюстрируют повышение всех морфометрических параметров Тр беременных крыс в перинатальном периоде в сравнении с аналогичными в контрольной группе лабораторных животных.

Таблица 5 – Изменение геометрических и цветояркостных показателей Тр в группах здоровых беременных и небеременных самок крыс ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Показатели, ед. измерения	Контрольная группа, n=17	Здоровые беременные крысы, n=41		
		До родов, n=17	День родов, n=24	5 - й день после родов, n=24
Средний диаметр, мкм	$1,71 \pm 0,04^2$	$1,73 \pm 0,02^4$	$1,96 \pm 0,03$	$1,74 \pm 0,01^5$
Площадь Тр, мкм	$2,34 \pm 0,04^{1,2,3}$	$2,49 \pm 0,04^4$	$3,11 \pm 0,03$	$2,58 \pm 0,03^5$
Фактор формы, у.е.	$12,6 \pm 0,25^2$	$13,34 \pm 0,31^4$	$14,8 \pm 0,366$	$12,9 \pm 0,23^5$
Доля синего цвета, у.е.	$0,313 \pm 0,012^{2,3}$	$0,344 \pm 0,010^4$	$0,411 \pm 0,018$	$0,359 \pm 0,011^5$
Доля красного цвета, у.е.	$0,391 \pm 0,012^2$	$0,365 \pm 0,009$	$0,356 \pm 0,007$	$0,375 \pm 0,010$
ИОТр, у.е.	$0,794 \pm 0,027^{1,2,3}$	$0,942 \pm 0,031^4$	$1,145 \pm 0,045$	$0,957 \pm 0,034^5$

Примечание: достоверность различия в группах: 1 - контрольной группы и крыс до родов; 2 - контрольной группы и крыс в день родов; 3 - контрольной группы и крыс на 5 - й день после родов; 4 - крыс до родов и в день родов; 5 - крыс в день родов и на 5 - й день после родов

В день родов у лабораторных животных в крови отмечалось увеличение размеров Тр. Средний диаметр Тр достигал значений $1,96 \pm 0,03$ мкм, определялось усиленное образование псевдоподий по данным фактора формы, в этот период он имел максимальное значение – $14,8 \pm 0,36$ у.е. Увеличение удельной оптической плотности по синей компоненте до $0,411 \pm 0,018$ у.ед. и ИОТр свидетельствует о повышении содержания в крови молодых форм Тр с повышенной реактивностью.

К 5-му дню после родов происходило достоверное снижение морфометрических параметров Тр, которые практически достигали дородовых значений.

Известно, что у матери и плода имеется единая система кровообращения, поэтому состояние здоровья матери, безусловно, влияет на развитие плода, но в последнем триместре внутриутробного развития у плода имеются и достаточно активно функционируют собственные очаги кроветворения (Добровольский А.Б. и др., 2006). Оценка влияния гемостазиологических изменений матери на морфо-функциональное состояние Тр плода определила необходимость изучения Тр крови крысят в последнем триместре беременности (19 - 20 - й день внутриутробного развития), в 1 - й день жизни и на 5 - й день после рождения. Результаты исследования количественных и функциональных показателей Тр в группах здоровых крысят, представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Изменение показателей Тр в группах здоровых крысят ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Показатели, ед. измерения	Контрольная группа, n=17	Крысята, n=156		
		19-20-й день гестации, n=53	День родов, n=48	5-й день жизни, n=55
PLT, $10^9/\text{л}$	$416,1 \pm 12^2$	$403,7 \pm 9,0$	$524,2 \pm 19^2$	$431,1 \pm 11$
MPV, фл	$6,7 \pm 0,2^2$	$7,0 \pm 0,3$	$7,7 \pm 0,3$	$7,4 \pm 0,2$
PCT, %	$0,33 \pm 0,02^2$	$0,33 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02^4$	$0,31 \pm 0,02^5$
Агрегация с АДФ, %	$14,3 \pm 0,9^{1,2,3}$	$3,9 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,4^4$	$4,3 \pm 0,3^5$
ристоцетином, %	$10,33 \pm 0,21^{1,2,3}$	$5,16 \pm 0,13$	$6,45 \pm 0,19^4$	$5,29 \pm 0,17^5$
коллагенном, %	$6,34 \pm 0,11$	-	-	-

Примечание: достоверность различия в группах: 1 - контрольной группы и плодов 19-20 - го дня гестации; 2 - контрольной группы и потомков в день родов; 3 - контрольной группы и потомков 5 - го дня жизни; 4 - плодов 19-20 - го дня гестации и потомков в день родов; 5 - потомков в день родов и 5 - го дня жизни

Приведенные результаты статистического анализа данных исследования Тр в крови плодов и новорожденных крысят здоровых животных позво-

лили установить, что на 19-20-й день внутриутробного развития в крови достоверно снижается количество Тр с тенденцией к увеличению MPV. Эти показатели остаются достоверно ($p \leq 0,01$) увеличенными после рождения, а в день родов достигают максимального значения ($524,2 \pm 19 \cdot 10^9/\text{л}$ и $7,7 \pm 0,3$ фл). Агрегационная активность Тр в крови потомков с индукторами АДФ и ристоцетином достоверно ($p \leq 0,01$) становится более низкой в сравнении с контрольной группой, а с коллагеном не определяется во все исследуемые периоды перинатального развития потомства, что свидетельствует о снижении способности Тр новорожденных к агрегации, и особенно ярко выражено у недоношенных детей и соответствует данным других авторов (Момот А.П. и др., 2006). Однако в 1-й день жизни отмечается усиление агрегационной активности Тр периферической крови крысят с последующим достоверным ($p \leq 0,01$) снижением к 5-му дню.

Можно предположить, что и выявленные изменения параметров Тр и их размах у крысят в различные периоды перинатального развития являются физиологическими, чем обеспечивается адаптация к внеутробной жизни.

Результаты статистической оценки морфометрических параметров Тр плодов, обследованных на 19 - 20 - й день внутриутробного развития, в день родов и на 5 - е сутки жизни представлены в таблице 7.

Установлено, что геометрические и оптические показатели Тр в перинатальный период у здоровых крысят характеризуются достоверными различиями в сравнении с показателями контрольной группы. При этом статистически значимое увеличение среднего диаметра и площади кровяных пластинок определяется в день родов, а также на 5 - й день жизни.

Кроме того, установлено достоверное повышение фактора формы во всех группах крысят в сравнении с аналогичными показателями контрольной группы, что подтверждает усиление реактивности Тр за счет образования псевдоподий и увеличение изрезанности краев клеток в перинатальном периоде и, особенно, в день родов.

Таблица 7 – Изменение морфометрических параметров Тр в группах здоровых крысят ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Показатели, ед. измерения	Контрольная группа, n=17	Крысята, n=156		
		19-20-й день гестации, n=53	1-й день жизни, n=48	5-й день жизни, n=55
Средний диаметр, мкм	$1,72 \pm 0,03^{2,3}$	$1,77 \pm 0,02^{4,5}$	$2,13 \pm 0,05$	$1,93 \pm 0,03^6$
Площадь Тр, мкм	$2,33 \pm 0,04^{1,2,3}$	$2,52 \pm 0,06^{4,5}$	$4,10 \pm 0,10$	$3,07 \pm 0,08^6$
Фактор формы, у.е.	$12,6 \pm 0,25^{1,2,3}$	$13,81 \pm 0,32^4$	$15,7 \pm 0,42$	$13,9 \pm 0,33^6$
Доля синего цвета, у.е.	$0,313 \pm 0,012^{1,2,3}$	$0,227 \pm 0,008$	$0,211 \pm 0,007$	$0,253 \pm 0,010^6$
Доля красного цвета, у.е.	$0,391 \pm 0,012^{1,2,3}$	$0,259 \pm 0,007$	$0,289 \pm 0,009$	$0,284 \pm 0,011$
ИОТр, у.е.	$0,792 \pm 0,027^{1,3}$	$0,821 \pm 0,041$	$0,730 \pm 0,037$	$0,890 \pm 0,029^6$

Примечание: достоверность различия в группах: 1 - контрольной группы и плодов 19-20 - го дня гестации; 2 - контрольной группы и потомков в день родов; 3 - контрольной группы и потомков 5 - го дня жизни; 4 - плодов 19-20 - го дня гестации и потомков в день родов; 5 - плодов 19-20 - го дня гестации и потомков 5-го дня жизни; 6 - потомков в день родов и 5 - го дня жизни

Приведенные данные указывают на статистически значимое снижение доли синего и красного цвета в препаратах крови потомков по сравнению с результатами контрольной группы. Однако к 5 - му дню жизни отмечается достоверное оптической плотности по синей компоненте и ИОТр в сравнении с показателями в день родов. Полученные данные свидетельствуют о снижении количества гранул с биологически активными веществами в цитоплазме Тр у плодов и новорожденных в сравнении с данными взрослых крыс, и постепенном их увеличении у 5 - му дню жизни.

Для изучения изменений в клеточном звене гемостаза у здоровых лабораторных животных в системе мать - плод проведено сравнение некоторых тромбоцитарных показателей периферической крови самок крыс и их потомства одновременно в разное время перинатального периода.

При анализе полученных данных установлено, что количество Тр у потомства достоверно ($p \leq 0,01$) ниже на 19 - 20 - й день внутриутробного развития и на 5 - й день жизни, чем в тех же группах у самок крыс. При этом наблюдается достоверное ($p \leq 0,01$) увеличение количества Тр крови у крысят в 1-й день после родов по сравнению с данными у самок в аналогичный период.

Сравнительный анализ агрегационной активности Тр показал ее достоверное ($p \leq 0,01$) снижение у потомков с индукторами АДФ (0,2 мМ/л) и ристоцетином (5 мкМ/мл) в сравнении с данными у взрослых самок, однако наибольшее усиление агрегации отмечено в день родов как у самок, так у их новорожденных.

Сравнение динамики данных морфометрии Тр показывает, что средняя площадь Тр и фактор формы Тр у потомства во все исследуемые периоды выше, чем у взрослых животных. Однако эта тенденция наиболее выражена у крысят в день родов, что графически можно выразить как «пик первого дня». Результаты исследований представлены на рисунке 10. Для наглядности соотношения изменений геометрических показателей данные самок крыс приняты за 100%.

Сравнительный анализ показателей оптической плотности синего и красного цвета в препаратах лабораторных животных позволил выявить следующие закономерности. Так у самок крыс отмечаются динамические изменения, указывающие на увеличение количества молодых и активных Тр периферической крови лабораторных животных.

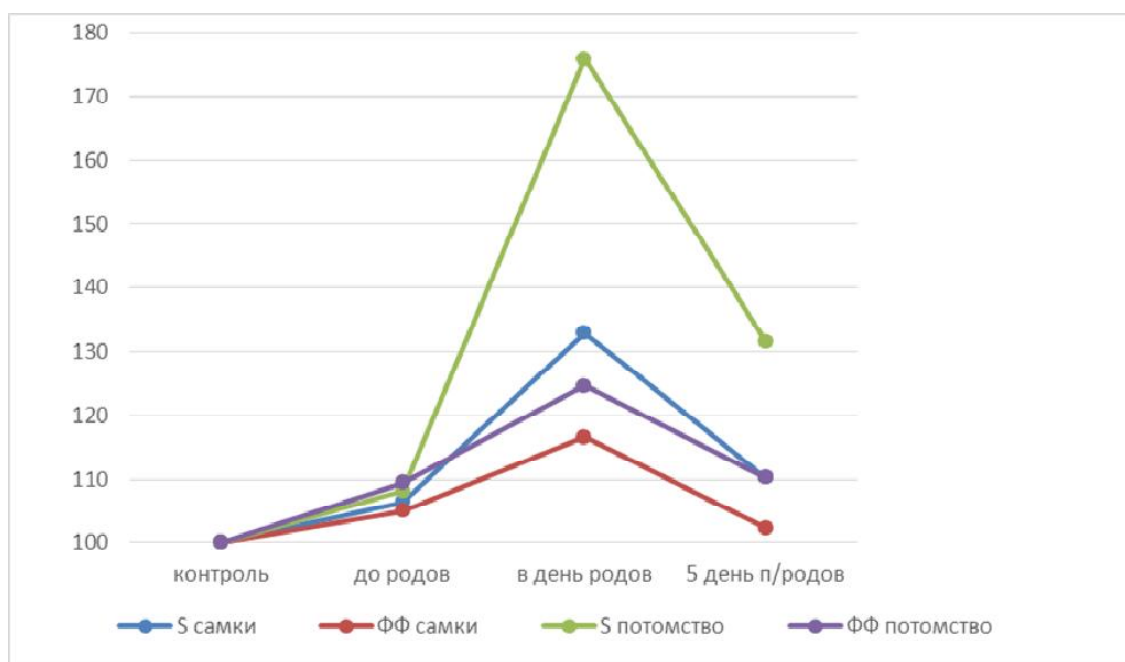


Рисунок 10 – Динамика изменения геометрических показателей Тр в всех группах у крыс и их потомства в разное время перинатального периода (s – площадь Тр, ФФ – фактор формы Тр)

В крови потомства изменения цветоярких показателей Тр свидетельствуют о снижении количества гранул в цитоплазме Тр в период внутриутробного развития и в день родов и постепенном увеличении их в постнатальном периоде, что согласуется с данными научной литературы о снижении количества органелл Тр, содержащих биологически активные вещества в указанные периоды (Кузник Б.И., 2010). Это подтверждается аналогичным изменением ИОТр.

Установленные изменения тромбоцитарного гемостаза в целом, и изменение количественных, морфологических и функциональных параметров Тр послужили поводом для проведения исследования тромбоцитарного компонента костного мозга лабораторных животных в условиях физиологически протекающей беременности.

Анализ данных миелограммы позволяет судить о процессах пролиферации и дифференцировки ростков кроветворения, происходящих в костном мозге, о его клеточном составе и функциональном состоянии

Для получения пунктата мы проводили забор костномозговой жидкости из эпифиза бедренной кости с последующим цитологическим анализом окрашенных мазков.

У всех лабораторных животных при физиологически протекающей беременности пунктат костного мозга богат клеточными элементами и является полиморфным.

Состояние мегакариоцитарного ростка костного мозга здоровых беременных крыс характеризовалось наличием большого числа зрелых полиморфноядерных мегакариоцитов, активно отшнуровывающих Тр, что является признаком уиления функциональной активности мегакариоцитарного ростка. Встречались единичные очень крупные клетки (до 2-3 в препарате) различной степени созревания. Обнаружено значительное количество полиплоидных мегакариоцитов с полиморфными, полисегментированными ядрами (более 6-7 сегментов). Встречались клетки с ядрами причудливой формы, в виде корзиночек. Ядерно-цитоплазматическое соотношение у большинства мегакариоцитов сдвинуто в сторону цитоплазмы, но встречались клетки (единичные в препарате) с гигантскими ядрами и скудной цитоплазмой, утраченной, по-видимому, в процессе отшнуровки Тр. Подсчет количества мегакариоцитов проводился в камере Фукса-Розенталя.

Установлено достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение доли мегакариоцитов у здоровых беременных крыс до $6,0 \pm 0,01$ % в сравнении с данными у животных контрольной группы – $5,5 \pm 0,01$ %. Выявленное у здоровых беременных крыс увеличение количества мегакариоцитов, расширение мегакариоцитарного ростка и полиплоидия мегакариоцитов свидетельствует об усилении активности мегакариоцитарного ростка кроветворения в процессе физиологически протекающей беременности.

Проведенная компьютерная визуализация препаратов костного мозга здоровой беременной крысы, позволила иллюстрировать полученные

данные. На рисунке 11 снимок препарата костного мозга здоровой беременной крысы.

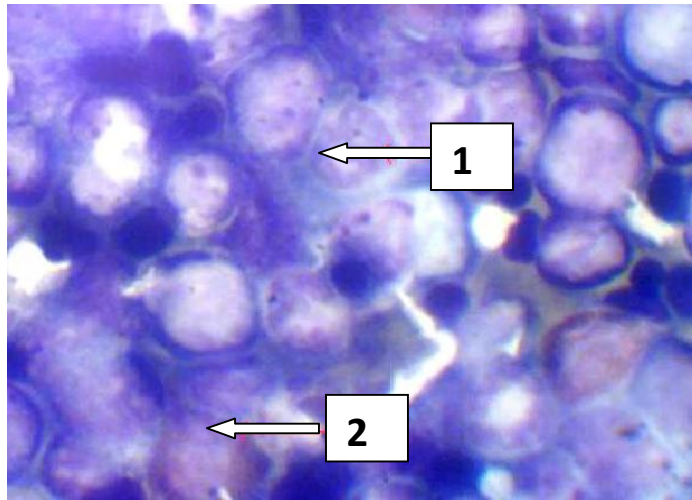


Рисунок 11 – Компьютерный снимок клеток костного мозга здоровой беременной крысы; окраска по Романовскому-Гимзе; объектив 100х окуляр К10х (1 – миелобласт эозинофильный, 2 – мегакариоцит)

Известно, что основным регулятором созревания Тр является тромбопоэтин, обеспечивающий пролиферацию в костном мозге клеток мегакариоцитарного ряда. При этом его синтез зависит от количества циркулирующих Тр в периферической крови.

Концентрация тромбопоэтина в сыворотке крови лабораторных животных в условиях физиологически протекающей беременности составила $0,52 \pm 0,02$ пг/мл, тогда как в крови небеременных животных – $0,55 \pm 0,02$ пг/мл. Известно, что снижение концентрации тромбопоэтина может быть причиной некоторого увеличения количества Тр в периферической крови и, соответственно, увеличения клеточных с-MPI рецепторов, участвующих в присоединении тромбопоэтина к Тр.

Таким образом, у здоровых взрослых крыс во время беременности установлены признаки гиперкоагуляции, проявляющиеся в виде укорочения АЧТВ и времени кровотечения по Дьюке, а также, увеличении количественных параметров Тр периферической крови и усилении их активности, по данным морфометрического анализа, и их агрегационной активности.

У самок крыс и их потомства отмечено усиление тромбоцитарной активности в день родов – «пик первого дня».

Наиболее чувствительными тестами, подтверждающими усиление функциональной активности Тр стали агрегация Тр с АДФ и ристоцетином, а также геометрические параметры Тр, полученные с помощью компьютерной цитоморфометрии.

Для потомства, родившегося от здоровых самок, в период ранней адаптации к внеутробной жизни характерна транзиторная гиперкоагуляция. При исследовании функционального состояния Тр в день родов получены убедительные данные их активации.

В пунктате костного мозга отмечается увеличение клеток-предшественников тромбоцитарного ростка. Можно предположить, что в период физиологической беременности происходит усиление активности мегакариоцитарного ростка костного мозга с компенсаторным образованием новых клеток для поддержания баланса в системе гемостаза и тканях материнского организма и плода.

При этом наблюдается компенсаторное снижение на 5,5% основного регулятора тромбоцитопоэза – тромбопоэтина.

3.2. Изменения показателей тромбоцитарного гемостаза крыс и их потомства в условиях экспериментальной гиперкоагуляции

Известно, что усиление тромбогенного потенциала крови может стать причиной различных осложнений в акушерской практике. Нарушения развития фетоплацентарного комплекса – одна из причин невынашивания беременности и бесплодия в результате дефектов имплантации плодного яйца (Trabetti E., 2008). В поздние сроки гестации в результате микротромбообразования в сосудах фето-плацентарного комплекса приводят к развитию хронической плацентарной недостаточности и внутриутробной гипоксии плода. Вследствии этого дети рождаются с низкой массой тела и низким функциональным резервом всех органов и систем, что приводит к развитию целого

ряда патологических процессов перинатального периода. Развитие приобретенной ТФ может быть связано с гипергомоцистеинемией, недостатком витаминов В₆, В₁₂ и фолиевой кислоты (Гродницкая Е.Э., 2010).

Для создания модели гиперкоагуляции отобрана 44 взрослых здоровых крысы линии Вистар с установленной беременностью. Лабораторным животным назначалось пероральное введение метионина в суточной дозе 0,6-0,7 мг, что соответствовало терапевтической дозе. Для снижения выведения мочи животным питьевой режим был уменьшен до 28-30 мл в сутки. Также мы ограничили поступление с пищей продуктов, содержащих флаты и витамины группы В.

Для оценки динамических изменений морфофункционального состояния Тр в крови матерей, плодов и новорожденных крысят тромбоцитарные показатели в группах лабораторных животных определяли на 19 - 20 - й день гестации, в 1 –й день после родов и на 5 - е сутки после родов.

Уровень гомоцистеина в крови экспериментальных животных составил $23,81 \pm 2,28$ мкмоль/л, тогда как у здоровых беременных крыс – $5,06 \pm 0,42$ мкмоль/л ($p \leq 0,001$), подтверждает наличие гипергомоцистеинемии в экспериментальной группе.

Доказательством усиления свертываемости крови у крыс служило достоверное ($p \leq 0,001$) уменьшение длительности кровотечения по Дьюке (5 мин. 15 с), а также укорочение АЧТВ до $15,7 \pm 0,3$ с, по сравнению со здоровыми беременными крысами в день родов ($18,7 \pm 0,4$ с).

В группе крыс, беременность которых протекала в условиях экспериментальной гиперкоагуляции родилось, в среднем, $4,1 \pm 0,2$ шт., а у животных в условиях физиологической беременности – $6,4 \pm 0,5$ шт. Средняя масса новорожденных крысят от экспериментальных животных составила $4,8 \pm 0,2$, тогда как при физиологической беременности – $5,1 \pm 0,2$ г. У двух животных отмечались преждевременные роды на 17 - 18 - й день беременности, осмотреть потомство этой самки не удалось.

В результате статистического анализа результатов исследования количественных и функциональных показателей Тр беременных экспериментальных самок крыс по сравнению с данными здоровых беременных животных установлено достоверное ($p \leq 0,001$) увеличение количества Тр и агрегационной активности во все периоды обследования. Полученные результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Изменение показателей Тр в группах здоровых беременных самок крыс и при экспериментальной гиперкоагуляции ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Показатели, ед. измерения	Здоровые беременные крысы, n=17	Беременные крысы, получавшие метионин, n=44		
		До родов, n=19	В день родов, n=25	5-е сутки после родов, n=25
PLT, $10^9/\text{л}$	449,2 $\pm$ 15	519,3 $\pm$ 17 ¹	588,1 $\pm$ 15 ^{2,4}	546,9 $\pm$ 12 ^{3,5}
MPV, фл	6,9 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,2 ¹	8,3 $\pm$ 0,2 ^{2,4}	6,9 $\pm$ 0,2
PCT, %	0,35 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,02 ¹	0,44 $\pm$ 0,02 ²	0,39 $\pm$ 0,02
Агрегация с АДФ, %	15,2 $\pm$ 0,8	19,1 $\pm$ 0,9 ¹	25,7 $\pm$ 0,8 ^{2,4}	21,1 $\pm$ 0,7 ^{3,5}
ристоцетином, %	11,06 $\pm$ 0,23	12,61 $\pm$ 0,20 ¹	13,27 $\pm$ 0,29 ²	12,14 $\pm$ 0,26 ^{3,5}
коллагеном, %	6,79 $\pm$ 0,08	7,74 $\pm$ 0,11 ¹	8,01 $\pm$ 0,12 ²	7,96 $\pm$ 0,13 ³

Примечание: достоверность различия в группах: 1 - здоровых беременных крыс и до родов; 2 - здоровых беременных крыс и в день родов; 3 - здоровых беременных крыс и на 5 - й день после родов; 4 - до родов и в день родов; 5 - в день родов и на 5 - й день после родов

На 19-20 день беременности и в день родов были увеличены средний объем клетки и тромбоцит ($p \leq 0,001$). При проведении анализа лабораторных показателей у крыс, получавших метионин, в день родов отмечено достоверное ($p \leq 0,001$) увеличение PLT, MPV и агрегации с АДФ по сравнению с аналогичными здоровых беременных животных. На 5-е сутки после родов количество Тр и агрегационная активность, индуцированная АДФ и ристоцетином, достоверно ($p \leq 0,001$) снижались в сравнении с данными в день родов. Остальные параметры также имели тенденцию к снижению.

У экспериментальной группы крыс в сравнении с группой здоровых беременных лабораторных животных по данным гематологического анализа

и агрегационной активности отмечено увеличение функциональной активности Тр. Выявлено достоверное ($p \leq 0,001$) усиление агрегации, индуцированной АДФ, ристоцетином и коллагеном, в перинатальном периоде. При этом у крыс, получавших метионин, повышение показателей агрегации с АДФ (0,2 мМ/л) в день родов достоверно ($p \leq 0,001$) различается с данными исследования на 19-20-й день беременности и на 5-й день после родов. Оценка агрегатограмм с АДФ указывает на усиление обратимой и необратимой у экспериментальных крыс с гиперкоагуляцией в сравнении с данными здоровых беременных животных.

Анализ данных компьютерной цитоморфометрии продемонстрировал увеличение среднего диаметра площади Тр у лабораторных крыс, получавших метионин в перинатальном периоде ($p \leq 0,001$).

У экспериментальных животных, получавших метионин, отмечено достоверное ($p \leq 0,01$) увеличение фактора формы Тр в день родов, в сравнении с данными здоровых беременных лабораторных животных. До родов и на 5-е сутки после родов этот показатель также имел тенденцию к увеличению. Так как фактор формы характеризует изрезанность мембраны Тр, т.е. способность к образованию псевдоподий, что является отражением реактивности кровяных пластинок, то полученный материал свидетельствует об активации Тр в перинатальный период в условиях моделирования усиления свертываемости крови.

В препаратах крови экспериментальной группы крыс выявлена тенденция к повышению доли синего цвета и показателя ИОТр, в наибольшей степени достоверно ($p \leq 0,01$) выраженная в день родов. Достоверное увеличение интегрального у крыс при моделировании гиперкоагуляции в сравнении с данными здоровых беременных животных подтверждает активацию Тр в перинатальном периоде. Результаты представлены в таблице 9.

Известно, что изменения функционирования системы гемостаза при беременности опосредованы развитием фето-плацентарного кровообращения (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

Таблица 9 – Изменение показателей Тр в группах здоровых беременных самок крыс и при экспериментальной гиперкоагуляции ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Показатели, ед. измерения	Здоровые беременные крысы, n=17	Беременные крысы, получавшие метионин, n=44		
		До родов, n=19	Роды, n=25	5 - е сутки после ро- дов, n=25
Средний диаметр Тр, мкм	1,74±0,02	2,79±0,02 ¹	2,63±0,03 ^{2,4}	1,93±0,02 ^{3,5,6}
Площадь Тр, мкм	2,48±0,04	4,04±0,05 ¹	4,41±0,05 ^{2,4}	3,93±0,03 ^{3,6}
Фактор формы, у.е.	13,3±0,31	14,1±0,31	15,2±0,36 ²	13,8±0,29
Доля синего цвета, у.е.	0,344±0,01	0,351±0,011	0,384±0,01 ²	0,358±0,011
Доля красного цвета у.е.	0,365±0,009	0,367±0,014	0,359±0,01	0,373±0,012
ИОТр, у.е.	0,942±0,031	0,956±0,031	1,069±0,03 ²	0,959±0,032

Примечание: достоверность различия в группах: 1 - здоровых беременных крыс и до родов; 2 - здоровых беременных крыс и в день родов; 3 - здоровых беременных крыс и на 5 - й день после родов; 4 - до родов и в день родов; 5 - до родов и на 5 - й день после родов; 6 - в день родов и на 5 - й день после родов

Можно предположить, что при моделировании гиперкоагулянтного состояния у самок крыс, изменение активности тромбоцитарного звена гемостаза может наблюдаться и у их потомства. Статистический анализ результатов обследования плодов 19-20 - го дня гестации, и крысят 1 – го и 5 – го дня жизни позволил обнаружить некоторые закономерности (таблица 10).

Количество Тр периферической крови в группах потомства экспериментальных животных достоверно выше его во все сроки перинатального периода по сравнению с данными крысят здоровых животных 5 - х суток жизни. При этом наибольшее количество Тр отмечается в группе крысят в 1-й день жизни ($552,9 \pm 21 \cdot 10^9/\text{л}$).

На 5 - е сутки жизни количество Тр снижается, что может быть связано с прекращением действия метионина и адаптацией новорожденных к внеутробной жизни. Средний объем Тр и тромбокрит в крови потомков от крыс с

гиперкоагуляцией достоверно отличался у плодов 19 - 20 дня гестации ($p \leq 0,01$).

Таблица 10 – Изменение показателей Тр в группах потомства экспериментальных животных ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Показатели, ед. измерения	Потомство экспериментальных лабораторных животных, n=133		
	19-20-го дня гестации, n=36	1-е сутки жизни, n=50	5-е сутки жизни, n=47
PLT, $10^9/\text{л}$	$493,7 \pm 12^1$	$552,9 \pm 21$	$483,8 \pm 18^{3,4}$
MPV, фл	$7,9 \pm 0,2^1$	$7,9 \pm 0,3$	$7,5 \pm 0,2$
PCT, %	$0,39 \pm 0,01^1$	$0,43 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,02^4$
Агрегация с АДФ, %	$4,9 \pm 0,4$	$9,2 \pm 0,6^2$	$5,1 \pm 0,3^4$
ристоцетином, %	$4,26 \pm 0,15^1$	$8,52 \pm 0,18^2$	$6,03 \pm 0,16^{3,4}$
Средний диаметр, мкм	$2,23 \pm 0,04^1$	$2,43 \pm 0,05^2$	$2,02 \pm 0,04$
Площадь Тр, мкм	$3,79 \pm 0,09^1$	$4,25 \pm 0,11$	$3,14 \pm 0,08^4$
Фактор формы, у.е.	$14,8 \pm 0,26^1$	$16,6 \pm 0,12^2$	$14,1 \pm 0,35^4$
Доля синего цв., у.е.	$0,266 \pm 0,013^1$	$0,342 \pm 0,01^2$	$0,267 \pm 0,012^4$
Доля красного цв., у.е.	$0,301 \pm 0,012^1$	$0,305 \pm 0,01$	$0,296 \pm 0,009$
ИОТр, у.е.	$0,883 \pm 0,035$	$1,083 \pm 0,02^2$	$0,902 \pm 0,02$

Примечание: достоверность межгрупповых различий: 1 – плодов 19-20 дня гестации; 2 – крысят в 1-е сутки жизни; 3 – крысят на 5-е сутки жизни; 4 – крысят 1-го и 5-го дня жизни.

При оценке активности агрегации Тр, индуцированной АДФ (малой концентрации – 0,2 мМ/л) и ристоцетином (5 мкМ/мл), у потомков экспериментальных животных отмечается достоверное увеличение на всех этапах исследования. К 5 - м суткам жизни наблюдается достоверное ($p \leq 0,01$) снижение агрегационной активности Тр в сравнении с показателями в 1-й день жизни..

Изменения геометрических и оптических показателей Тр, полученных с помощью компьютерной цитоморфометрии, подтверждают повышение их функциональной активности в крови животных в условиях эксперимента. Сравнение среднего диаметра и средней площади Тр в периферической крови в группах потомков крыс, получавших метионин, показывает достоверное ($p \leq 0,01$) увеличение размеров клеток на 19 - 20-й день внутриутробного развития плодов и в день родов в сравнении с данными потомков здоровых жи-

вотных в аналогичные периоды обследования. На 5 - е сутки жизни геометрические показатели Тр периферической крови практически не отличаются от размеров Тр крысят, рожденных от здоровых крыс. Аналогичные изменения в группах характерны и для фактора формы Тр, характеризующего усиление образования псевдоподий. При оценке цветоярких показателей Тр установлено, что у потомков экспериментальных животных достоверно изменяются оптическая плотность по синей и красной компоненте и ИОТр. Эти показатели увеличиваются в 1 - й день жизни, а затем снижается, и к 5 - му дню жизни приближаются к показателям Тр потомства, рожденного от здоровых крыс.

Полученные результаты исследования количественных и морфофункциональных характеристик Тр крысят, рожденных от крыс, беременность которых протекала в условиях эксперимента, демонстрируют влияние усиления коагулянтного потенциала крови самок крыс на реактивность Тр их потомства.

При проведении сравнения показателей PLT в группах экспериментальных крыс и их плодов 19 - 20-го дня гестации и крысят 1 - го дня жизни не отмечено существенных различий, однако, они значительно превышали показатели потомков здоровых крыс. На 5 - й день после родов у взрослых крыс, продолжавших получать метионин, количество Тр оставалось достоверно ($p \leq 0,01$) более высоким по сравнению с показателем PLT потомства ($546,9 \pm 12 \cdot 10^9/\text{л}$ против $483,8 \pm 18 \cdot 10^9/\text{л}$; $p \leq 0,01$). Можно предположить, что это связано с адаптационными изменениями гемостаза к внеутробной жизни и прекращению поступления метионина из кровотока самки, учитывая, что средний период циркуляции Тр – 4 – 6 суток.

Сравнение динамики данных морфометрии Тр показывает, что динамика изменения фактора формы и площади Тр крыс экспериментальной группы и их потомства в дородовой период и в день родов не различаются (рисунок 12).

На рисунке данные самок крыс для наглядности приняты за 100%, что показывает соотношение изменений геометрических показателей.

На 5 - й день после родов в крови самок крыс, продолжавших получать метионин, размеры Тр остаются высокими, а у новорожденных отмечается значительное уменьшение средней площади Тр.

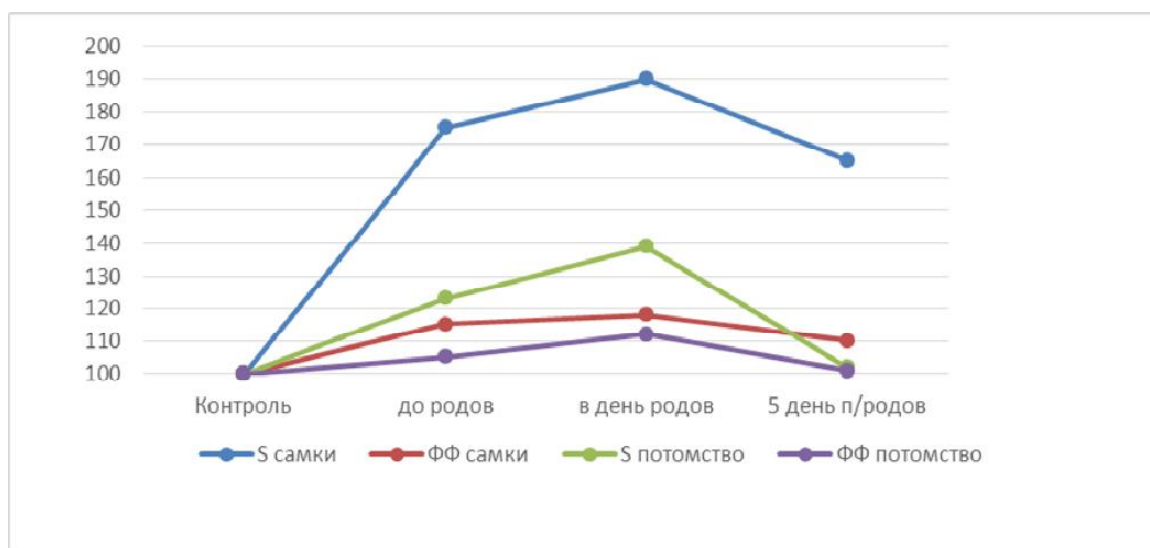


Рисунок 12 – Динамика изменения геометрических показателей Тр в группах экспериментальных самок крыс и их потомков в перинатальном периоде (s – площадь Тр, ФФ – фактор формы Тр)

У лабораторных животных при моделировании экспериментальной гиперкоагуляции пунктат костного мозга богат клеточными элементами и полиморфный. Однако отмечается снижение количества некоторых клеточных элементов в сравнении с данными здоровых беременных крыс. Данные представлены в таблице 11.

Так у экспериментальных животных в препаратах костного мозга достоверно снижено количество палочкоядерных нейтрофилов до $18,1 \pm 0,8$ ($p < 0,05$), эозинофилов и лимфоцитов (до $6,3 \pm 0,02$ и $13,1 \pm 0,1$, соответственно), а также полихроматофильных нормобластов до $10,7 \pm 0,06$ ($p < 0,05$).

Состояние мегакариоцитарного ростка костного мозга лабораторных животных, беременность которых проходила в условиях экспериментальной

Клеточные элементы костного мозга, (%)	Здоровые беременные крысы (n=41)	Беременные крысы, получавшие метионин (n=44)	Достоверность различия, p
Недифференцированные бласты	0,8±0,06	0,7±0,03	p>0,1
Промиелоциты	5,2±0,7	4,4±0,2	p>0,1
Миелоциты	6,2±0,4	5,6±0,6	p>0,1
Метамиелоциты	5,1±0,02	4,9±0,1	p>0,05
Палочкоядерные нейтрофилы	20,1±0,3	18,1±0,8	p<0,05
Сегментоядерные нейтрофилы	23,5±0,7	21,7±0,7	p>0,05
Эозинофилы всех генераций	6,9±0,05	6,3±0,02	p<0,001
Лимфоциты	14,8±0,06	13,1±0,1	p<0,001
Моноциты	9,1±0,7	10,6±0,4	p>0,05
Эритроциты	0,7±0,1	0,5±0,1	p>0,1
Пронормобласт	5,1±0,1	5,2±0,4	p>0,1
Нормобласты оксифильные	2,6±0,04	2,6±0,02	p>0,1
базофильные	1,6±0,2	2,1±0,1	p>0,1
полихроматофильные	12,6±0,07	10,7±0,06	p<0,05
Мегакариоциты	6,0±0,01	4,0±0,08	p<0,001
Плазматические клетки	0,1±0,03	0,1±0,01	p>0,1

При подсчете мегакариоцитов костного мозга лабораторных животных, получавших метионин, их количество составило $4,0 \pm 0,3\%$, что свидетельствует о достоверном ($p \leq 0,001$) снижении активности мегакариоцитопоэза как

в сравнении с показателями крыс с физиологически протекающей беременностью, так и в сравнении с контрольной группой животных.

Можно предположить, что угнетение тромбоцитопоэза связано с адаптацией к гиперкоагуляции и свидетельствует о компенсаторном угнетении его активности при усилении тромбогенного потенциала крови.

На рисунке 13 представлено компьютерное изображение мазка костного мозга крысы линии Вистар, получавшей во время беременности метионин. Обращает на себя внимание, что мегакариоцит имеет только два сегмента в ядре.

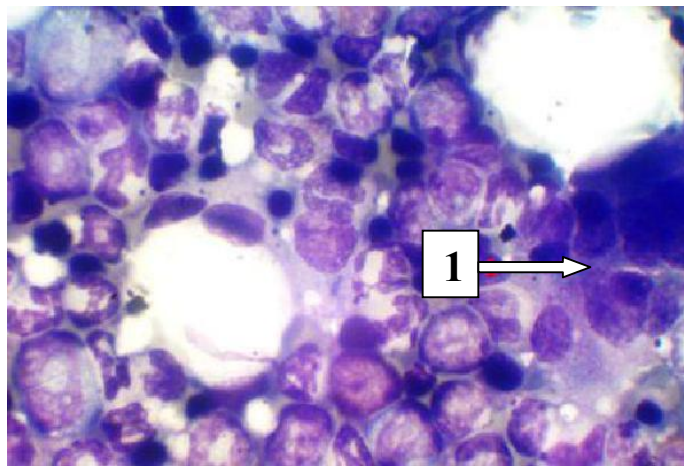


Рисунок 13 – Компьютерный снимок мазка костного мозга беременных крыс, получавших метионин; окраска по Романовскому-Гимзе; объектив 100х; окуляр К10х (1 - мегакариоцит)

Исследование концентрации тромбопоэтина в сыворотке крови экспериментальных животных показало его достоверное ($p \leq 0,001$) снижение ($0,43 \pm 0,02$ пг/мл) как в сравнении с контрольной группой (на 21,8%), так и с показателем здоровых беременных крыс (на 17,3%).

Изменения наблюдались при значительном повышении количества Тр в крови и повышении клеточных с-MPI рецепторов, принимающих непосредственное участие в присоединении регулятора к Тр периферической крови.

Изучение динамики тромбоцитарных показателей лабораторных животных в перинатальном периоде позволило установить, что ряд количественных, функциональных и цветоярких характеристик у эксперимен-

тальных лабораторных крыс, достоверно ($p \leq 0,001$) изменены в сравнении с данными здоровых беременных крыс, что характерно для усиления функциональной активности Тр в условиях эксперимента.

Таким образом, у лабораторных животных во время беременности при экспериментальной гиперкоагуляции, развивается состояние, характерное для ТФ, характеризующейся увеличением количественных характеристик Тр, усилением их функциональной активности по данным агрегации и морфометрического анализа.

Влияние гемостазиологических изменений у самок крыс в условиях гиперкоагуляции на морфо-функциональное состояние Тр плода проявляется во внутриутробном периоде и сохраняется в день родов. Это выражается в усилении реактивности Тр у плодов 19 - 20 - го дня гестации и крысят в 1 – й день жизни. На 5 - е сутки жизни у крысят отмечается нормализация функциональных свойств Тр (средняя продолжительность жизни Тр - 4-6 дней), что может быть связано с адаптацией системы гемостаза к внеутробной жизни и прекращением поступления метионина из кровотока матери.

На модели экспериментальной гиперкоагуляции показано достоверное ($p \leq 0,001$) снижение популяций палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов и полихроматофильных нормобластов, а также угнетение активности мегакариоцитопоэза.

Отмечено также достоверное ($p \leq 0,001$) снижение продукции регулятора тромбоцитопоэза – тромбопоэтина.

3.3. Патогистологические изменения в тканях паренхиматозных органов у лабораторных животных в условиях гиперкоагуляции

В настоящее время доказано непосредственное участие печени и селезенки в функционировании системы свертывания крови и тромбоцитопоэза. Это участие опосредовано синтезом множества биологически активных веществ и гормонов (Куркина И.А., 2012).

Для изучения патогистологических изменений в паренхиматозных органах у лабораторных животных и их потомков использовались стандартные методы взятия, фиксации, приготовления срезов и окраски гистологических препаратов.

Микроскопическое исследование гистологических препаратов печени здоровых беременных и небеременных лабораторных животных показало отсутствие в полученных образцах признаков патологических процессов. На рисунке 14 представлен гистологический препарат печени здорового животного. Отмечается равномерное кровоснабжение кровеносных сосудов, гепатоциты имеют светлые округлые ядра.

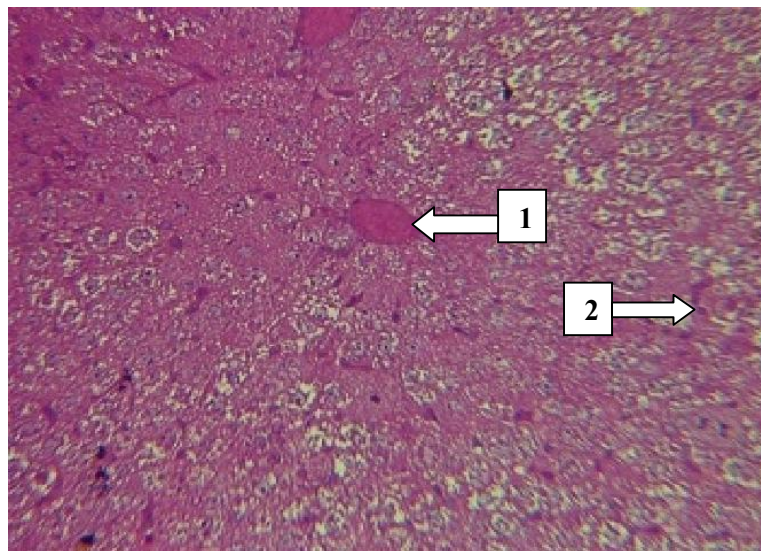


Рисунок 14 – Гистологический препарат печени. Интактная печень крысы (1 - кровеносный сосуд, 2 - гепатоцит; окраска гематоксилином-эозином; объектив апо-20х окуляр К10х)

На рисунке 15 представлен гистологический препарат селезенки здоровой лабораторной крысы.

На гистологических препаратах селезенки здоровых небеременных и беременных животных видно, что трабекулярные артерии и вены, артерии лимфоидного узелка (центральная), кисточковые артериолы не изменены. Лимфоидные узелки распределены по всей толще пульпы. В узелках отчет-

ливо наблюдаются герминативные центры, мантийный слой и маргинальная зона.

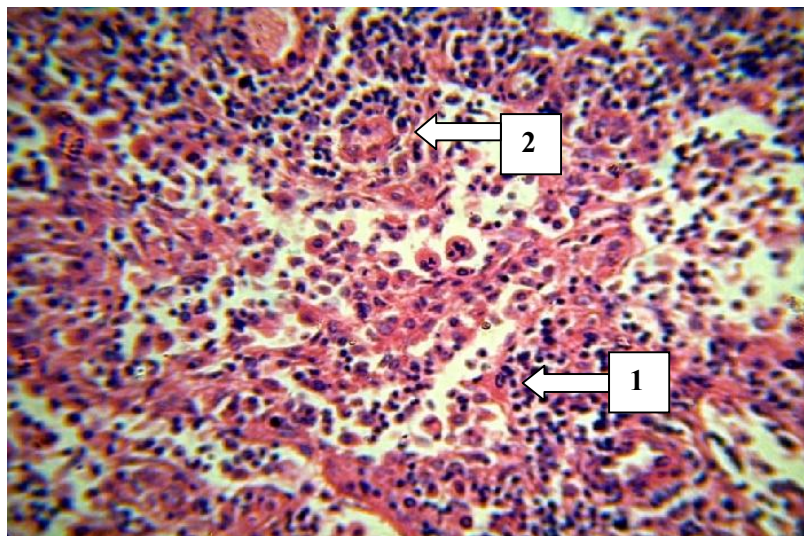


Рисунок 15 – Гистологический препарат селезёнки. Интактная селезёнка крысы (1 - лимфатический фолликул, 2 - кровеносный сосуд; окраска гематоксилин-эозин; объектив апо-20х; окуляр К10х)

Гистологические препараты экспериментальных лабораторных животных характеризуются наличием в ткани печени фрагментов набухания гепатоцитов, дистрофии и некротических изменений (рисунок 16).

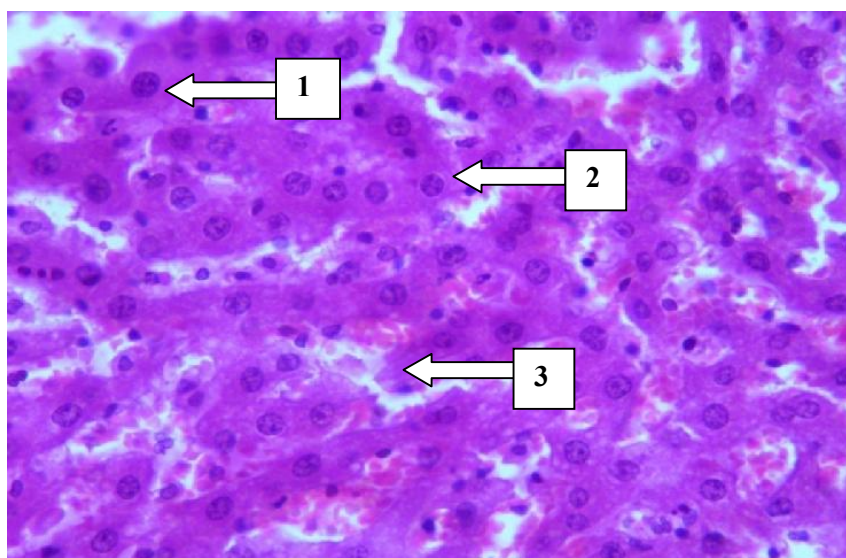


Рисунок 16 – Микроскопический препарат ткани печени при экспериментальной модели гиперкоагуляции (1 - нормальный гепатоцит, 2 - зернистость в цитоплазме гепатоцита, 3 – «сладж» эритроцитов; окраска гематоксилином-эозином; объектив 40х; окуляр К10х)

В препаратах ткани селезёнки наблюдались участки инфаркта, лейкоцитарная инфильтрация. В сосудах селезенки обнаружено множество мелких тромбов, приводящих к застою в венах. В ядрах гепатоцитов отмечен кариопикноз и карioreксис. В некротических массах встречаются глыбки распавшегося хроматина. В цитоплазме гепатоцитов имеет место коагуляция белка. В процессе вышеуказанных изменений в центре долек на месте разрушенных клеток печени образуется жиробелковый детрит. По периферии описанных изменений (во II зоне ацинуса) встречаются клетки, имеющие признаки дистрофии ядра и цитоплазмы.

В условиях экспериментальной гиперкоагуляции обнаружено не только появление зернистости, но и исчезновение гликогена из цитоплазмы гепатоцитов. В демаркационной зоне наблюдается полнокровие капилляров, кровоизлияния и лейкоцитарная инфильтрация.

Установлено, что усиление коагуляционной активности крови способствует развитию гипоксически-ишемических нарушений в гепатоцитах, которые локализуются преимущественно в центре долек. Кратковременная гипоксия приводит к обратимым дистрофическим изменениям гепатоцитов, тогда как длительная – к необратимым изменениям – центрлобулярным некрозам в ткани печени.

В селезенке при синдроме гиперкоагуляции образуются микротромбы, способствующие спазму микрососудов. В связи с этим, что в селезенке отсутствуют участки с взаимоперекрывающим типом артериального кровоснабжения и коллатеральные сосуды недостаточностью развиты, при тромбозе ветвей селезеночной артерии возникают инфаркты. Микроскопически инфаркты селезенки серовато-белого цвета, конусовидной формы с четко очерченными краями (рисунок 17).

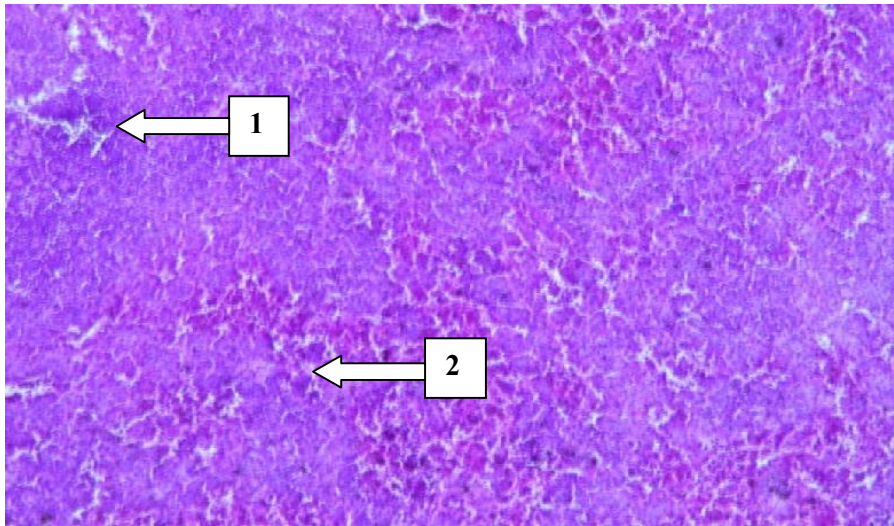


Рисунок 17 – Микроскопический препарат селезёнки при гиперкоагуляции. Демаркационная зона по периферии инфаркта селезёнки (1 – участок инфаркта селезёнки, 2 - демаркационная зона; окраска гематоксилин-эозин; объектив апо-20х; окуляр К10х)

Инфаркты селезенки имеют ишемически-коагуляционный характер. Они развиваются в процессе обтурирующего тромбоза ветвей селезеночной артерии. Вне зоны инфаркта в селезенке отмечается малокровие красной пульпы.

Механизм повреждения селезенки ишемически-гипоксический. В его основе лежат те же механизмы, что и при повреждении печени: накопление молочной кислоты вследствие анаэробного гликолиза и активация процессов липопероксидации.

Механизм повреждения в условиях экспериментальной гиперкоагуляции опосредован повышением вязкости крови и усилением ее коагуляционных свойств, при этом гистологическая картина печени и селезенки имеет ряд существенных особенностей: в сосудах микроциркуляторного русла паренхиматозных органов установлено наличие микротромбов, в ткани селезенки обнаружены очаги инфарктов и лейкоцитарная инфильтрация, в клетках печени отмечается выраженное снижение гликогена.

ГЛАВА 4

ВЗАМОСВЯЗЬ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА У ЖЕНЩИН С ТРОМБОФИЛИЕЙ И У ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ В ДИНАМИКЕ РАННЕГО НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА

Изменения в системе гемостаза во время беременности и родов приводят к гемодинамическим реакциям и матери, и плода. По данным В.М. Синельниковой и П.А. Кирющенко (2004), риск антенатальной гибели плода у женщин с тромботическими осложнениями беременности и родов, возрастает в несколько раз. При этом, по мнению А.Д. Макацария (2003), среди причин синдрома потери плода тромботические состояния матери занимают 40 - 70% (Макацария А.Д., 2003).

Анализ данных научной литературы указывает на то, что, тромбофилические нарушения являются частыми причинами акушерских осложнений, тяжелых форм неонатальной патологии и могут быть причиной смерти новорожденных в этот период. Четкой оценки влияния изменений гемостаза матери на состояние тромбоцитарного гемостаза новорожденных практически не встречаются в научной литературе.

В данной главе представлены результаты изучения особенностей гемостаза в перинатальном периоде у новорожденных и их матерей при физиологически протекающей беременности и при ТФ.

4.1. Изменение показателей плазменного и тромбоцитарного гемостаза у здоровых женщин и пациенток с тромбофилией

На современном этапе развития научных знаний, не смотря на значительный прогресс в изучении проблемы выявления и профилактики тромбофилических состояний во время беременности, в этом вопросе остается множество неопределенного. Так, недостаточно изучены механизмы тромбообразования на протяжении всей беременности и родов у пациенток с сопутст-

вующими дефектами свертывающей системы, не установлены ранние предикторы тромбогенных осложнений, не разработаны методы скрининга коагуляционных нарушений.

С целью изучения механизма изменений системы гемостаза в условиях физиологически протекающей беременности и родах и при наличии тромботических осложнений обследовано 408 пациенток родильного дома Городской больницы г. Ставрополя, из которых 152 – соматически здоровые, а у 256 в предыдущую беременность установлены акушерские осложнения, причиной которых могла стать ТФ, также, у пациенток этой группы установлены гиперкоагуляционные нарушения, которые были верифицированы до развития акушерских осложнений и сохранялись после беременности.

Для оценки влияния гемостаза матери на систему гемостаза новорожденных нами обследовано 408 новорожденных детей. Дети здоровых пациенток составили 3 группу обследованных ($n=152$), а дети пациенток с ТФ составили 4 группу обследованных ($n=256$).

Для верификации гиперкоагуляционных расстройств у пациенток 2 группы использовали метод ротационной тромбоэластометрии ROTEM (режим NATEM). В основе этого теста графическая регистрация изменений вязко-эластических параметров крови в ходе полимеризации фибрина и образования сгустка, и, таким образом, отражает кинетику всех этапов формирования тромба, его стабильность и плотность, а также активность фибринолиза.

Оценивали следующие параметры тромбоэластометрии: СТ – момент начала полимеризации фибрина образования фибринового сгустка, CFT – длительность образования фибринового сгустка, угол α – кинетика формирования сгустка, MCF – максимальная амплитуда (отражает максимальную плотность сгустка), LI 30, LI45 – степень лизиса сгустка в различные периоды исследования.

В результате анализа параметров тромбоэластометрии у беременных пациенток с тромбофилией получены убедительные данные усиления коагу-

ляционной активности крови в сравнении с данными здоровых беременных пациенток (таблица 12).

Таблица 12 – Изменение показателей тромбоэластограммы в группах пациенток ($X \pm m$; $p < 0,001$)

Показатель	1 группа (n=152)	2 группа (n=256)
СТ,с	983 $\pm$ 0,82	488 $\pm$ 0,9*
CFT,с	166 $\pm$ 0,65	81 $\pm$ 0,82*
Угол α , $^{\circ}$	41 $\pm$ 0,63	74 $\pm$ 0,71*
MCF,мм	56 $\pm$ 0,62	78 $\pm$ 0,74*
LI 30, %	91 $\pm$ 1,02	96 $\pm$ 1,05*
LI 45, %	75 $\pm$ 0,87	81 $\pm$ 0,99*

Примечание: *- различия достоверны в сравнении с 1 группой ($p \leq 0,001$).

Так установлено 2-х кратное укорочение времени СТ, свидетельствующее об интенсификации образования первых нитей фибрина в образце крови пациенток с ТФ ($p \leq 0,001$). Этот показатель характеризует энзиматическую часть коагуляционного каскада. Также установлено снижение показателя CFT ($p \leq 0,001$), свидетельствующее об укорочении времени образования сгустка до максимального уровня его прочности и отражающее кинетику увеличения плотности тромба. Этот показатель у пациенток с ТФ составил 81 с (у здоровых беременных – 166 с). У пациенток с ТФ отмечается увеличение угла α на 80%, в сравнении с показателем у здоровых беременных женщин, что свидетельствует об увеличении скорости роста фибриновой сети, усилении полимеризации фибрина и увеличении прочности сгустка. Увеличение показателя MCF у пациенток с ТФ до 78 мм свидетельствует о максимально прочном соединении фибрина с Тр, что способствует высокой плотности сгустка при оценке его механических свойств. Показатель качества сгустка зависит от агрегационной активности Тр и качества образовавшегося фибрина. Оценка площади под кривой тромбоэластометрии в течение следующих

30 и 45 минут после достижения максимальной амплитуды указывают на снижение фибринолитической активности крови у женщин с тромбофилией. Показатели лизиса сгустка на 30 и 45 минуте составили 96 и 81%, тогда как у здоровых женщин – 91 и 75%, соответственно ($p \leq 0,001$).

Анализ данных тромбоэластометрии подтверждает усиление всех основных процессов гемостаза – коагуляции, образования фибринового сгустка и снижение активности фибринолиза у пациенток с ТФ.

С позиции «клеточной теории гемостаза» (Hoffman M., 2001), выявленные изменения иллюстрируют сокращение стадии инициации, интенсификацию амплификации и пролонгации у пациенток с ТФ, и, как результат, более выраженные показатели «тромбинового взрыва».

В ряде исследований установлена взаимосвязь между параметрами тромбоэластометрии, и риском развития венозных тромботических осложнений у пациентов с различной патологией (Гриневич Т.Н., 2010), что может быть использовано для разработки принципов профилактики и оценке риска развития осложнений в акушерской практике. Использование метода тромбоэластометрии в условиях акушерского стационара позволит выявить протромботическое состояние (гиперкоагуляционную настороженность) у пациенток и своевременно начать проведение профилактических мероприятий.

Далее нами были получены и проанализированы показатели динамического изменения плазменного звена гемостаза в группах беременных женщин в норме и при ТФ (таблица 13).

Как видно из представленных данных, у здоровых беременных отмечается незначительное снижение МНО и повышение ППК в 1-е и 5-е сутки после родов в сравнении с показателями до родов в III триместре беременности.

Сравнение показателей плазменного гемостаза у женщин с ТФ выявило на всех этапах обследования достоверное ($p < 0,001$) увеличение ППК и снижение МНО в сравнении со здоровыми беременными.

Таблица 13 – Показатели плазменного гемостаза в группах здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ ($X \pm m$; $p < 0,001$)

Показатель	Здоровые женщины (n=152)			Женщины с ТФ (n=256)		
	до родов	1 сутки	5 суток	до родов	1 сутки	5 суток
АЧТВ, с	27,9 $\pm$ 0,6	25,2 $\pm$ 0,39	26,7 $\pm$ 0,52	23,9 $\pm$ 0,24*	22,1 $\pm$ 0,2*	23,6 $\pm$ 0,34*
АВР, с	62,2 $\pm$ 0,64	59,0 $\pm$ 0,67	61,0 $\pm$ 0,57	57,5 $\pm$ 0,33*	53,2 $\pm$ 0,49*	54,6 $\pm$ 0,4*
МНО	1,01 $\pm$ 0,02	0,95 $\pm$ 0,02	1,01 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,02*	0,85 $\pm$ 0,02*	0,88 $\pm$ 0,02*
ППК, %	99,8 $\pm$ 0,6	106,8 $\pm$ 0,6	104,5 $\pm$ 0,7	109,4 $\pm$ 0,9*	126,5 $\pm$ 0,9*	119,2 $\pm$ 0,7*

Примечание: * - степень достоверности различий между показателями плазменного гемостаза здоровых беременных и пациенток с ТФ

До родов в III триместре беременности у женщин с ТФ показатель ППК был выше на 9,6%, а МНО снижено на 10% по отношению к показателям здоровых женщин. В 1 - й день после родов эти показатели отличались на 18% и 11 %, соответственно, а на 5 сутки ППК был выше на 14 %, а МНО снижено на 13%. Изменения ППК и МНО свидетельствуют об усилении активности факторов внешнего пути коагуляции.

Активность факторов внутреннего пути коагуляции крови определяли при помощи показателей АЧТВ и АВР. Изучаемые показатели не выходили за референсные пределы, но у женщин с ТФ отмечалось их достоверное укорочение ($p < 0,001$), свидетельствующее об усилении коагулянтного потенциала крови, что можно считать причиной развития протромботического состояния. Снижение АВР отражает усиление активности плазменного и/или тромбоцитарного гемостаза. В 5 - е сутки после родов эти показатели незначительно удлинялись, но не достигали таких значений, как в группе здоровых беременных женщин.

С целью оценки количественных показателей Тр беременных женщин обследованных групп использовали данные общего клинического анализа крови. Данные обследования беременных представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Изменение количественных показателей Тр в группах здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ ($X \pm m$; $p < 0,05$)

Показатели	⁹ PLT, 10^9 /л	MPV, фл	PDW, %
Здоровые женщины (n=152)			
До родов	247,9 $\pm$ 7,2	9,06 $\pm$ 0,18	17,23 $\pm$ 0,16
1 сутки	276,7 $\pm$ 8,1 ¹	9,38 $\pm$ 0,19	17,68 $\pm$ 0,18
5 сутки	256,9 $\pm$ 6,9	9,26 $\pm$ 0,16	17,41 $\pm$ 0,19
Женщины с ТФ (n=256)			
До родов	251,3 $\pm$ 10,3	10,20 $\pm$ 0,26 ³	17,49 $\pm$ 0,15
1 сутки	308,8 $\pm$ 11,8 ^{1,4}	10,99 $\pm$ 0,26 ^{1,4}	18,02 $\pm$ 0,15 ¹
5 сутки	262,4 $\pm$ 9,9 ²	10,23 $\pm$ 0,23 ^{2,5}	17,48 $\pm$ 0,12 ²

Примечание: 1 - достоверность внутригрупповых различий показателей до родов и в 1 - е сутки после родов; 2 - достоверность внутригрупповых различий показателей в 1 - е и 5 - е сутки после родов; 3 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ до родов; 4 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ в 1 - е сутки после родов; 5 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ в 5 - е сутки после родов

Известно, что в автоматический гематологический анализ крови входит несколько показателей, таких как PLT в периферической крови и тромбоцитарные индексы PDW и MPV.

Анализ полученных данных свидетельствует о наличии особенностей показателей Тр периферической крови у здоровых беременных и пациенток с ТФ. Внутригрупповой анализ динамики изменений показателей PLT, MPV, и PDW у здоровых беременных женщин не выявил существенных отличий, тем не менее, отмечается достоверно высокое значение количества Тр в 1 - е сутки после родов (PLT 276,7* 10^9 /л) в сравнении с дородовым периодом. Однако, несмотря на отсутствие достоверных отличий среди всех вышеуказанных показателей, в группе женщин без патологии гемостаза прослеживается тенденция к повышению значений анализируемых показателей к 1 - м суткам после родов и дальнейшему снижению к 5 - м суткам.

У беременных с ТФ выявлены изменения изучаемых показателей, так, к 1 - м суткам после родов отмечается достоверное повышение PLT,

($p<0,001$) MPV ($p<0,05$) и PDW ($p<0,01$). Кроме того, отличия вышеуказанных показателей Тр являются достоверными в 1 - е и 5 - е сутки после родов (PLT $p<0,05$; MPV $p<0,05$; PDW $p<0,01$).

Изменение количественных параметров Тр послужило поводом для изучения их функциональных свойств. Результаты изучения агрегационной активности клеток в перинатальном периоде представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Изменение функциональных показателей Тр в группах здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ ($X\pm m; p < 0,05$)

Показатели	Агрегация с АДФ, %	Агрегация с коллагеном, %	Агрегация с ристоцетином, %
Здоровые женщины (n=152)			
До родов	$57\pm 0,69$	$48\pm 0,83$	$57,5\pm 0,73$
1 сутки	$61\pm 0,68^1$	$54\pm 0,91^1$	$69,3\pm 0,71^1$
5 сутки	$59,5\pm 0,74^{2,3}$	$49,7\pm 1,26^{2,3}$	$59,7\pm 0,78^{2,3}$
Женщины с ТФ (n=256)			
До родов	$69,5\pm 3,77^4$	$63,8\pm 3,61^4$	$82,6\pm 6,98^4$
1 сутки	$76,1\pm 3,63^5$	$69,6\pm 2,71^5$	$88,8\pm 5,69^5$
5 сутки	$73,3\pm 3,28^6$	$65,6\pm 2,94^6$	$83,6\pm 5,68^6$

Примечание: 1- достоверность внутригрупповых различий показателей до родов и в 1 - е сутки после родов; 2 - достоверность внутригрупповых различий показателей до родов и на 5 - е сутки после родов; 3 - достоверность внутригрупповых различий показателей в 1 - е и 5 - е сутки после родов; 4 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ до родов; 5 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ в 1 - е сутки после родов; 6 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ в 5 - е сутки после родов

В результате оценки функциональной активности Тр в группе женщин с ТФ и физиологическим течением беременности выявлены следующие особенности: агрегационная способность Тр с АДФ, коллагеном и ристоцетином в группе женщин без патологических изменений гемостаза имеет достоверно высокое значение (61%, 54% и 69,3%) в 1 сутки после родов по сравнению с дородовым периодом и 5 сутками после родоразрешения. К 5 - м суткам после родов наблюдается снижение функциональной активности Тр со всеми

индукторами в сравнении с 1 - ми сутками, однако показатели остаются достоверно более высокими по сравнению с дородовым периодом.

Такая тенденция иллюстрирует максимальное напряжение компенсаторных механизмов системы гемостаза в родах и в дальнейшем включение компенсаторно-приспособительных реакций, направленных на снижение функциональной активности в послеродовой период.

В группе женщин с ТФ прослеживается аналогичная тенденция максимальной функциональной активности Tr в 1 - е сутки после родоразрешения. Агрегация с АДФ увеличивается с 69,5% в дородовом периоде до 76,1% в 1 - е сутки после родов, с индуктором коллагеном – с 63,8% до 69,6%, а с ристотетином - с 82,6% до 88,8%.

Межгрупповое сравнение функциональной активности Tr показало достоверное повышение агрегации со всеми индукторами в течение всего изучаемого периода у пациенток с ТФ.

Интересным, на наш взгляд, представилось изучение межгрупповых отличий показателя PLT и тромбоцитарных индексов у здоровых женщин и у женщин с ТФ. Так, в группе женщин с ТФ отмечается достоверно высокий показатель PLT в 1 - е сутки после родов по сравнению с аналогичным показателем у здоровых беременных. В группе женщин с патологией гемостаза прослеживается аналогичная тенденция изменений MPV до родов, в 1 - е и 5 - е сутки после родов по сравнению с данными здоровых беременных женщин.

Наличие достоверных изменений количественных параметров Tr у женщин при неосложненной беременности и при ТФ послужило поводом для проведения КЦТр для получения более детальной информации о морфометрических характеристиках Tr у обследуемых пациенток. Результаты морфометрического анализа Tr женщин в динамике представлены в таблице 16.

Отличительной особенностью морфометрических параметров Tr в группах беременных женщин в динамике перинатального периода была тенденция к повышению всех показателей в 1 - е сутки после родов, как в норме,

так и при ТФ. «Пик первого дня» наиболее ярко выражен в группе женщин с ТФ.

У женщин в условиях физиологического течения гестационного процесса отмечается достоверное повышение геометрических и оптических характеристик Тр в 1 - е сутки по сравнению с аналогичными показателями до родов. Активация тромбоцитарного звена гемостаза в группе здоровых женщин в родах проявляется достоверным увеличением геометрических параметров (диаметр, площадь и фактор формы Тр), а также цветояркостных (оптическая плотность по синей компоненте, ИОТр).

Таблица 16 – Изменение морфометрических характеристик Тр в группах здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ ($X \pm m$; $p < 0,05$)

Показатели	Средний диаметр Тр, мкм	Площадь Тр, мкм ²	Фактор формы, у.е.	Доля синего цвета, у.е.	Доля красного цвета, у.е.	ИОТр, у.е.
Здоровые женщины (n=152)						
До родов	1,87±0,06	2,57±0,13	11,69±0,22	0,30±0,01	0,37±0,01	0,83±0,05
1 сутки	2,17±0,08 ₁	3,84±0,28 ₁	12,96±0,12 ₁	0,34±0,01 ₁	0,35±0,01 ₁	0,99±0,05 ₁
5 сутки	1,97±0,05	3,04±0,12 _{2,3}	11,23±0,10 _{2,3}	0,32±0,01	0,35±0,01 ₁	0,89±0,03
Женщины с ТФ (n=526)						
До родов	2,43±0,04 _{4,4}	4,39±0,06 ₄	13,11±0,07 ₄	0,43±0,01 ₄	0,32±0,01 _{1,4}	1,35±0,04 ₄
1 сутки	2,56±0,04 _{1,5}	5,47±0,19 _{1,5}	14,16±0,06 _{1,5}	0,46±0,01 _{1,5}	0,28±0,01 _{1,1,5}	1,63±0,04 _{1,5}
5 сутки	2,39±0,02 _{3,6}	4,75±0,14 _{2,3,6}	13,90±0,06 _{2,3,6}	0,44±0,01 ₆	0,33±0,01 ₁	1,36±0,03 _{3,6}

Примечание: 1 - достоверность внутригрупповых различий показателей до родов и в 1 - е сутки после родов; 2 - достоверность внутригрупповых различий показателей до родов и на 5 - е сутки после родов; 3 - достоверность внутригрупповых различий показателей в 1 - е и 5 - е сутки после родов; 4 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ до родов; 5 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ в 1 - сутки после родов; 6 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых женщин и с ТФ в 5 - е сутки после родов

К 5 - м суткам послеродового периода выявляется тенденция к снижению вышеуказанных параметров Тр до исходного уровня. Так, в группе здоровых беременных женщин площадь Тр, оптическая плотность по синему спектру и ИОТр не имеют достоверных отличий до родов и на 5 -е сутки. В то же время показатели диаметра клетки, фактора формы и средней площади достоверно снижаются к 5 - м суткам, в сравнении с данными 1 - х суток после родов.

У пациенток с ТФ обращает на себя внимание максимальное значение геометрических и цветоярких характеристик клеток в 1 - е сутки после родов. Так, достоверно высокие значения имеют средний диаметр, площадь и фактор формы Тр в 1 - е сутки по сравнению с аналогичными показателями до родов, что свидетельствует о появлении в периферическом кровотоке крупных Тр с изрезанными краями, свидетельствующих о повышении реактивных свойств кровяных пластинок. Активацию тромбоцитопоеза иллюстрируют достоверно более высокие значения ИО Тр и доли синего цвета в препарате, которые указывают на повышение количества молодых форм клеток в периферической крови женщин с ТФ.

Нам было интересно выявление межгрупповых особенностей морфометрических показателей Тр у беременных женщин. Данные, представленные в таблице 16, иллюстрируют у пациенток с ТФ достоверно ($p < 0,001$) более высокие показатели геометрических и оптических показателей Тр во всех контрольных точках перинатального периода.

Полученные результаты сравнения динамических изменений оптических и геометрических показателей Тр в группе беременных женщин с нарушениями системы гемостаза и беременных женщин без патологии представлены на рисунке 18.

Рисунок наглядно иллюстрирует повышение морфометрических показателей Тр в группе женщин с патологическими изменениями системы гемостаза в сравнении данными здоровых беременных.

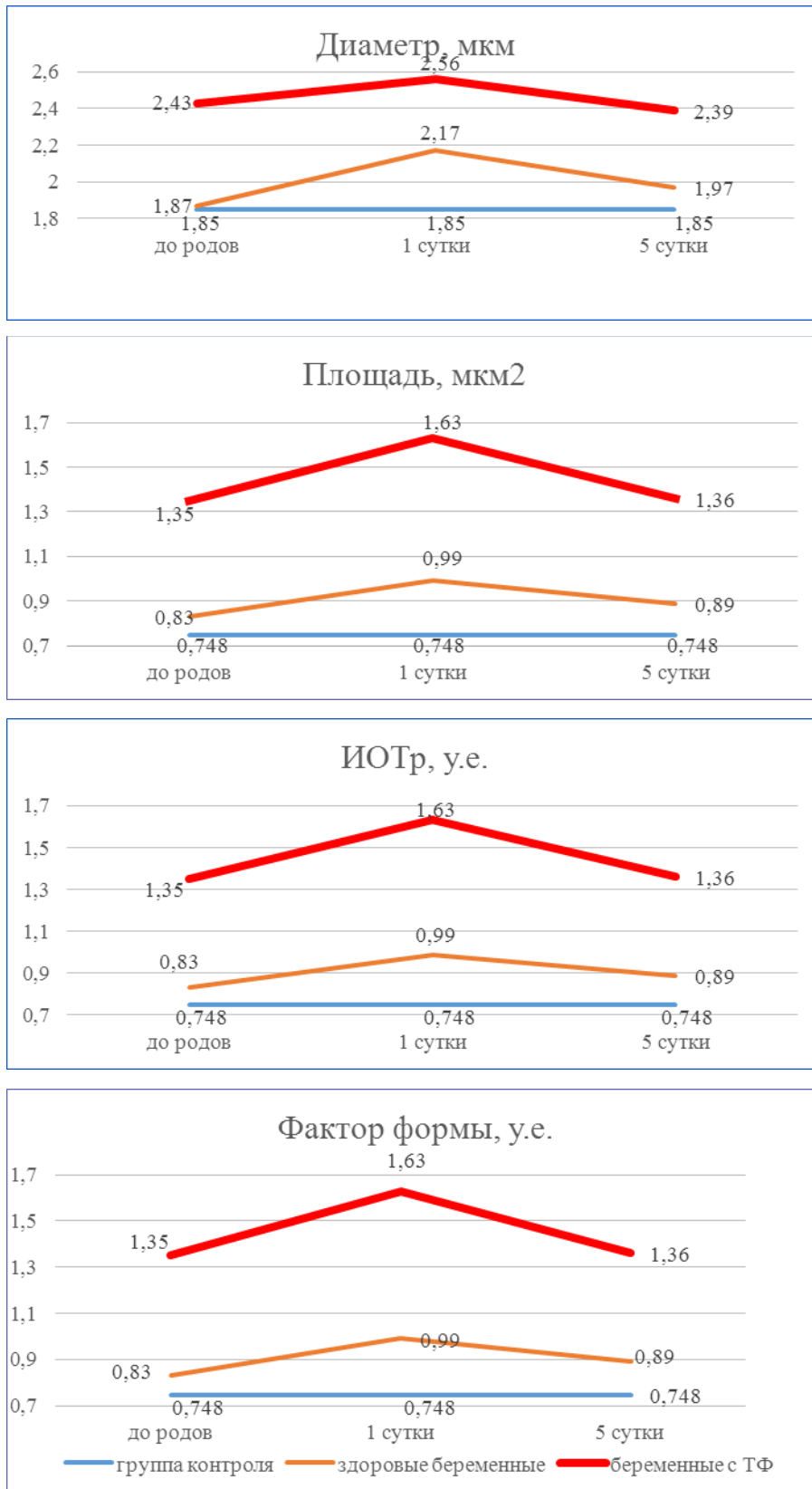


Рисунок 18 – Динамика изменений площади (а), среднего диаметра (б), ИОТр (в) и фактора формы (г) в группах женщин до родов, в 1 и 5 сутки после родов

Установлено, что у пациенток с ТФ в 1-е и 5-е сутки тромбоцитарные показатели остаются на существенно более высоком уровне по сравнению с группой здоровых, что указывает на достаточно высокий тромбогенный потенциал системы гемостаза в вышеуказанный период и снижение компенсаторно-приспособительных механизмов. Вышеуказанные особенности свидетельствуют об активации тромбоцитарного звена гемостаза в родах у женщин с физиологическим течением беременности и с ТФ, причем у последних тромбогенная направленность свертывающей системы выражена интенсивнее.

Анализ данных морфометрии свидетельствует о наличии «пика первого дня».

Таким образом, у женщин с ТФ активация системы гемостаза более выражена, наблюдается повышение показателей плазменного компонента свертывающей системы, увеличиваются количественные, оптические и геометрические характеристики Tr , а также агрегация, индуцированная АДФ, Коллагеном и ристоцетином, в сравнении с параметрами гемостаза здоровых беременных женщин. Динамическое наблюдение свидетельствует о наличии «пика первого дня» при динамической оценке тромбоцитарных параметров у женщин в условиях физиологически протекающей беременности и у пациенток с ТФ. Однако у женщин с тромботическими осложнениями к 5-м суткам показатели не возвращаются к нормальным значениям.

4.2. Изменение морфофункциональных параметров тромбоцитов детей, родившихся у здоровых женщин и пациенток с тромбофилией

На сегодняшний день патология системы гемостаза является частой причиной осложнений в акушерстве и неонатологии. В процессе адаптации к внеутробной жизни в системе гемостаза новорожденного происходят динамические изменения, которые у здорового ребенка не должны выходить за физиологические пределы, так как выход за эти границы способен вызвать раз-

витие как тромбозов, так и кровотечений. Другими словами, внутри самой системы должно сохраняться равновесие. При этом важное клиническое значение имеет склонность плодов и новорожденных к быстрому развитию разнонаправленных гемостазиологических расстройств в сравнении с более старшими детьми и взрослыми. И чем младше ребенок и чем выше степень его недоношенности, тем значительнее риск развития у него тромбогеморрагических осложнений (Шабалов Н.П. и др., 2000; Третьякова О. С., 2010).

Нами проведено комплексное изучение показателей тромбоцитарного звена гемостаза новорожденных, родившихся у здоровых матерей и матерей с тромбоцистическими осложнениями беременности и родов в динамике раннего перинатального периода.

Данные изменения количественных параметров Тр новорожденных в динамике раннего неонатального периода представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Изменение количественных показателей Тр новорожденных в динамике раннего неонатального периода ($X \pm m$; $p < 0,05$)

Показатели	PLT, $10^9/\text{л}$	MPV, фл	PDW, %
Дети здоровых женщин (n=152)			
1 сутки	$277,0 \pm 13,28$	$9,41 \pm 0,21$	$17,25 \pm 0,21$
5 сутки	$243,9 \pm 11,52$	$9,09 \pm 0,16$	$17,03 \pm 0,18$
Дети пациенток с ТФ (n=256)			
1 сутки	$347,7 \pm 12,17^2$	$10,58 \pm 0,20^2$	$17,95 \pm 0,14^2$
5 сутки	$314,5 \pm 10,86^{1,3}$	$10,21 \pm 0,17^3$	$17,52 \pm 0,13^{1,3}$

Примечание: 1 - достоверность внутригрупповых различий показателей новорожденных в 1 - е и 5 - е сутки; 2 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых новорожденных и новорожденных женщин с ТФ в 1 - е сутки; 3 - уровень достоверности межгрупповых различий показателей здоровых новорожденных и новорожденных от женщин с ТФ в 5 - е сутки жизни

Анализ данных позволил нам, нами выявить закономерности изменений количественных показателей Тр новорожденных в 1 - е и 5 - е сутки жизни. В группе новорожденных от женщин с физиологическим течением бере-

менности и родов отмечается снижение PLT на 13%, MPV – на 3% и PDW – на 1% на 5 - е сутки после родов по сравнению с показателями в 1 - е сутки.

Аналогичная тенденция отмечена и в группе новорожденных от женщин с ТФ. Отмечается достоверно высокое значение PLT ($347,76 \cdot 10^9/\text{л}$) и PDW (17,95%) в 1 - е сутки с дальнейшей тенденцией к снижению на 5 - е сутки ($314,57 \cdot 10^9/\text{л}$ и 17,52%, соответственно).

По данным гематологического анализа отмечаются достоверные межгрупповые различия в динамике раннего неонатального периода. В группе новорожденных от матерей с ТФ достоверно увеличивается количество и средний объем Тр, а также показатель гетерогенности популяции клеток в 1 - е и 5 - е сутки раннего неонатального периода.

Таким образом, показатели Тр новорожденных максимально повышаются в 1 - е сутки жизни с последующим снижением, но у новорожденных от матерей с ТФ данная особенность наиболее выражена, показатели PLT, MPV и PDW у них достоверно выше на всех этапах обследования.

Результаты изучения функциональной активности Тр детей, родившихся у женщин с ТФ и без патологии гемостаза представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Изменение показателей агрегации Тр новорожденных в динамике раннего неонатального периода ($X \pm m$; $p < 0,01$)

Показатели	Агрегация с АДФ, %	Агрегация с коллагеном, %	Агрегация с ристоцетином, %
Дети здоровых женщин (n=152)			
1 сутки	$4,8 \pm 0,26$	$1,1 \pm 0,18$	$21,6 \pm 0,42$
5 сутки	$6,5 \pm 0,08^1$	$3,3 \pm 0,09^1$	$26,2 \pm 0,81^1$
Дети пациенток с ТФ (n=256)			
1 сутки	$6,8 \pm 0,24^2$	$1,9 \pm 0,18^2$	$27,2 \pm 0,41^2$
5 сутки	$7,4 \pm 0,32^3$	$3,2 \pm 0,20^1$	$30,7 \pm 0,52^{1,3}$

Примечание: 1 - достоверность внутригрупповых различий показателей новорожденных в 1 - е и 5 - е сутки; 2 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых новорожденных и новорожденных пациенток с ТФ в 1 - е сутки; 3 - уровень достоверности межгрупповых различий показателей здоровых новорожденных и новорожденных пациенток с ТФ на 5 - е сутки жизни

В группе детей, родившихся у женщин с физиологическим течением беременности отмечается тенденция к повышению функциональной активности Тр на 5 - е сутки по сравнению с 1 - ми сутками раннего неонатального периода, что находит отражение в достоверном усилении агрегации с АДФ, коллагеном и ристоцетином. У детей пациенток с ТФ наблюдается аналогичная тенденция: степень агрегации с коллагеном достоверно ($p<0,01$) увеличивается с 1,93% до 3,23% и ристоцетином - с 27,21% до 30,74% на 5 - е сутки после рождения ($p<0,01$).

При оценке межгрупповых отличительных особенностей в 1 - й день жизни в группе новорожденных, матери которых страдали ТФ, установлены более высокие цифры агрегации Тр, в сравнении с данными новорожденных от женщин без патологии гемостаза ($p<0,01$). На 5 - й день жизни сохраняется аналогичная тенденция.

Интересным нам представлялось проведение КЦТр в 1 - е и 5 - е сутки после рождения у детей от матерей с нормальным течением гестационного процесса и детей, родившихся у женщин с ТФ. Данное исследование согласно изученной литературе ранее не выполнялось. Результаты КЦТр представлены в таблице 19.

Анализ данных исследования продемонстрировал однонаправленность изменения цитометрических показателей Тр детей, родившихся у здоровых пациенток и женщин с ТФ. Так, у детей родившихся у женщин без патологии гемостаза выявлены высокие геометрические показатели, такие как средняя площадь и диаметр клетки, в 1 - е сутки раннего неонатального периода по сравнению с 5-м днем жизни. Увеличение фактора формы в 1 - е сутки, что свидетельствует о повышенной способности Тр к образованию псевдоподий ($p<0,01$).

Анализ цветояркостных характеристик Тр продемонстрировал максимальное увеличение ИОТр и доли синего цвета в препарате в 1 - е сутки после рождения по сравнению с 5 - м днем жизни детей, родившихся у женщин без патологии гемостаза, причем вышеуказанные различия носят достовер-

ный ($p<0,01$) характер и указывают на более высокое содержание молодых и активных форм Тр в вышеуказанный период, что впервые было показано на лабораторных животных.

Таблица 19 – Изменение морфометрических показателей Тр новорожденных в динамике раннего неонатального периода ($X\pm m$; $p<0,05$)

Показатели	Средний диаметр Тр, мкм	Площадь Тр, мкм ²	Фактор формы, у.е	Доля синего цвета, у.е.	Доля красного цвета, у.е.	ИОТр, у.е.
Дети здоровых женщин (n=152)						
1 сутки	2,25±0,10	4,17±0,37	15,13±0,50	0,29±0,01	0,38±0,01	0,77±0,01
5 сутки	2,12±0,09	3,61±0,25	13,79±0,44 ₁	0,26±0,01 ₁	0,37±0,01 ₁	0,72±0,02 ₁
Дети пациенток с ТФ (n=256)						
1 сутки	3,31±0,05 ₂	10,70±0,36 ²	20,25±0,47 ₂	0,40±0,01 ₂	0,32±0,01 _{1²}	1,24±0,02 ₂
5 сутки	2,55±0,06 _{1,3}	5,76±0,18 _{1,3}	16,24±0,19 _{1,3}	0,36±0,01 _{1,3}	0,36±0,01 _{1¹}	1,01±0,02 _{1,3}

Примечание: 1 - достоверность внутригрупповых различий показателей новорожденных в 1 - е и 5 - е сутки; 2 - достоверность межгрупповых различий показателей здоровых новорожденных и новорожденных к пациенток с ТФ в 1 - е сутки; 3 - уровень достоверности межгрупповых различий показателей здоровых новорожденных и новорожденных пациенток с ТФ на 5 - е сутки жизни

В группе новорожденных от матерей с ТФ оптические и геометрические параметры Тр имеют тенденцию к увеличению в 1 - е сутки после рождения и снижаются к 5-му дню. Достоверное ($p<0,01$) повышение среднего диаметра на 23%, средней площади – на 47%, а также фактора формы на 20% в 1 - е сутки раннего неонатального периода по сравнению с 5 - ми сутками. Установлены достоверные ($p<0,01$) различия при сравнении оптических параметров Тр в неонатальном периоде в группе новорожденных от женщин с ТФ, при этом отмечается достоверное ($p<0,01$) увеличение всех оптических характеристик Тр в 1 - е сутки после родов.

При рассмотрении межгрупповых отличий морфометрических показателей Тр у здоровых новорожденных и детей, родившихся у женщин с клиническими проявлениями ТФ, обращает на себя внимание достоверное повышение всех геометрических и оптических характеристик тромбоцитарного звена гемостаза у детей, родившихся от матерей с ТФ по сравнению новорожденными пациенток 1 группы во все изучаемые периоды после рождения.

Результаты представлены на рисунке 19, где для наглядности данные обследования здоровых новорожденных приняты за 100%, что показывает соотношение изменений морфометрических параметров Тр.

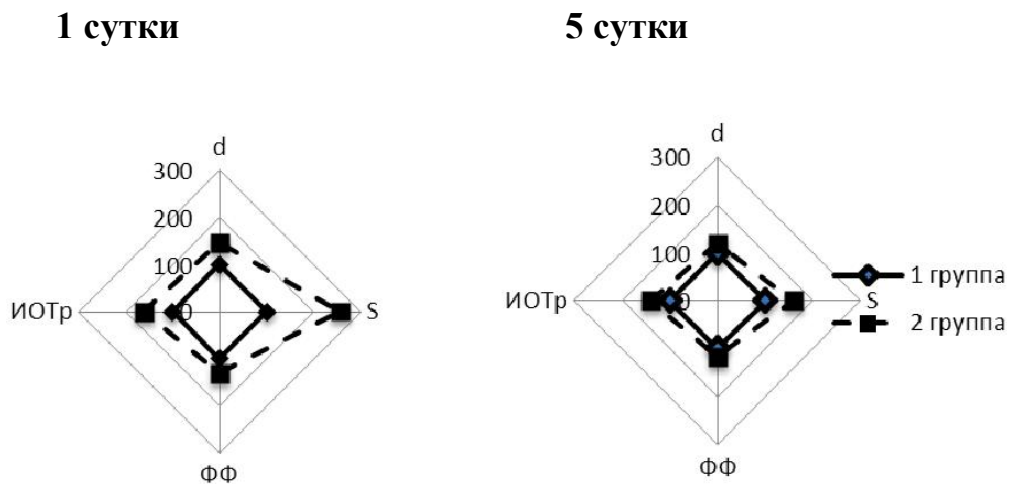


Рисунок 19 – Морфометрические параметры Тр новорожденных в 1 - е и 5 - е сутки жизни

Примечание: 1 группа - новорожденные от матерей с физиологически протекающей беременностью и родами; 2 группа - новорожденные от матерей с ТФ (d – средний диаметр Тр, s – площадь Тр, ФФ – фактор формы Тр, ИОТр – индекс омоложения Тр)

Морфометрические показатели Тр новорожденных от матерей с ТФ демонстрируют тенденцию к повышению как в 1 сутки раннего неонатального периода, так и на 5 сутки. Обращает на себя внимание значительное повышение средней площади Тр во всех изучаемых периодах у новорожденных, матери которых страдали ТФ, что является свидетельством активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза.

Таким образом, анализ количественных, морфометрических и функциональных показателей Тр новорожденных в динамике раннего неонатального периода указывает на изменение адаптационно-приспособительных реакций у новорожденных, матери которых имели тромбофилические осложнения беременности и родов, в сравнении с детьми, родившимися у здоровых матерей. Показатели Тр демонстрировали наличие «пика первого дня», наиболее выраженного у детей, чьи матери страдали ТФ. Так изменение количественных и морфометрических показателей отражает максимальное усиление активности сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у детей в 1 - й день жизни с последующим снижением параметров к 5 - му дню. Однако эта тенденция была в большей степени выражена у детей, родившихся у женщин с ТФ на всех этапах обследования. Агрегационная активность Тр с агонистами увеличивалась к 5 - му дню жизни в обеих группах, но при индуцировании АДФ и ристоцетином была достоверно выше и в 1 - е и в 5 - е сутки жизни у детей, матери которых страдали ТФ.

В клинической практике для определения функциональной активности Тр принято использовать методы определения агрегации Тр, индуцированной коллагеном, АДФ, ристоцетином и другими индукторами. Ранее применялись методы изучения спонтанной агрегации Тр, позволяющие в условиях приближенных к естественным изучать их функциональные свойства. Однако, существующие методы трудны в исполнении и оценке полученных результатов. В связи с чем, поиск новых методов определения спонтанной агрегации представляет большой практический и научный интерес.

Преимуществом сканирующей зондовой микроскопии (СЗМ) можно считать получение информации о микро- и наноархитектонике поверхности клетки, а также структур субмембранных слоев, включая цитоскелет (Бондарь Т.П., Мельченко Е.А, 2013).

Отсутствие работ, включающих описание формы, размера и поверхностной архитектуры Тр у пациенток с тромбофилией послужило основанием для изучения показателей функциональной активности Тр.

Анализ агрегатов проводился на фиксированных препаратах обогащенной Тр плазмы, с использованием метода СЗМ. Это позволило получить основную информацию об изменении морфологических показателей тромбоцитарных агрегатов у женщин с физиологически протекающей беременностью и при ТФ (таблица 20).

Таблица 20 – Изменение геометрических показателей тромбоцитарных агрегатов (длины) у обследованных женщин ($X \pm m$; $p < 0,001$)

Мин.	1 группа (n=152), мкм	2 группа (n=256), мкм
5	16,19 $\pm$ 0,68	22,85 $\pm$ 0,68*
10	24,67 $\pm$ 1,03	37,39 $\pm$ 1,33*
15	37,47 $\pm$ 2,76	53,61 $\pm$ 2,85*
20	45,74 $\pm$ 1,29	74,97 $\pm$ 2,42*
25	57,32 $\pm$ 2,67	84,02 $\pm$ 2,41*
30	87,54 $\pm$ 2,03	94,24 $\pm$ 1,83*

Примечание: * - достоверность различия показателей в группах здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ

В результате статистического анализа полученных данных выявлено, что показатели длины агрегатов Тр беременных женщин с ТФ достоверно ($p < 0,001$) выше показателей здоровых беременных на всех этапах проведения эксперимента. Это увеличение может отражать процессы усиления свертывающего потенциала крови, имеющего место при ТФ. Наглядно это иллюстрируют рисунки 20-21. На изображении обращает на себя внимание увеличение ширины, высоты и плотности агрегатов Тр у пациенток с ТФ. Изменения в наибольшей степени выражены на этапе инкубации 15 и 30 минут.

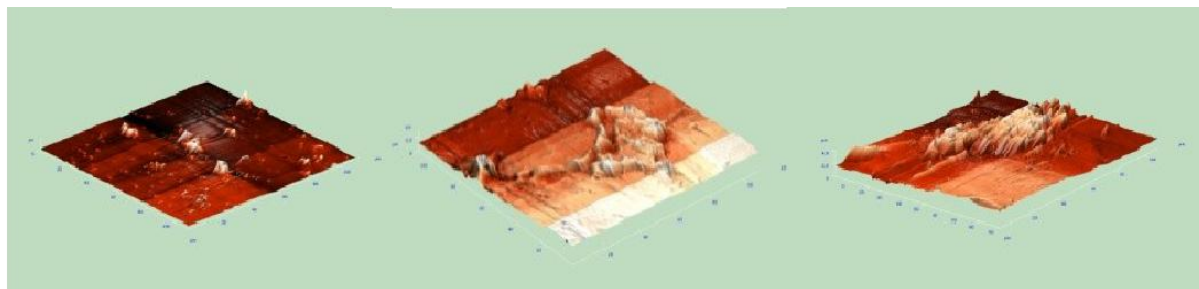


Рисунок 20 – 3D изображение агрегатов Тр здоровых беременных женщин (спонтанная агрегация на 5 мин., на 15 мин., на 30 мин.)

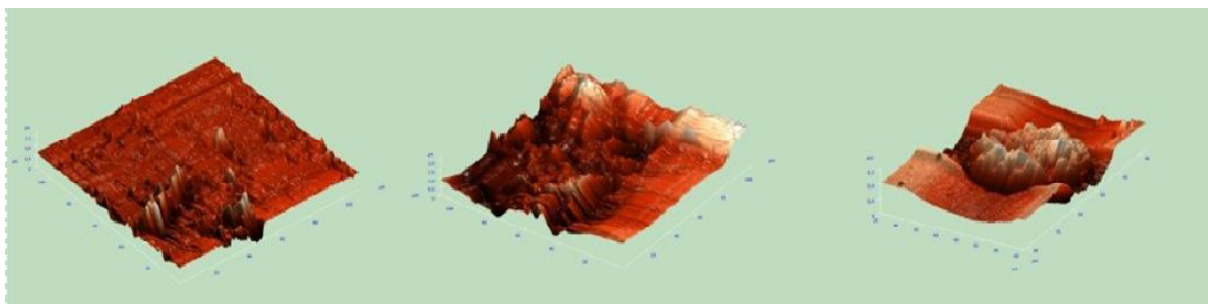


Рисунок 21 – 3D изображение агрегатов Тр беременных с тромбофилией (спонтанная агрегация на 5 мин., на 15 мин., на 30 мин.)

При проведении сравнительного анализа показателей ширины тромбоцитарных агрегатов выявлены достоверные различия в группах обследуемых женщин. Так у здоровых беременных женщин имели меньший диаметр в сравнении с показателями пациенток с ТФ (таблица 21).

Таблица 21 – Изменение геометрических показателей тромбоцитарных агрегатов (ширины) у обследованных женщин ($X \pm m$; $p < 0,001$)

Мин.	1 группа (n=152), мкм	2 группа (n=256), мкм
5	12,49±0,44	16,22±0,38*
10	17,62±1,53	24,64±1,11*
15	24,25±1,45	33,01±1,64*
20	27,26±1,59	36,32±2,07*
25	38,94±2,72	63,32±3,71*
30	66,24±2,61	77,89±2,39*

Примечание: * - достоверность различия показателей в группах здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ

Исследовали также высоту тромбоцитарных агрегатов. При сравнении результатов были выявлены достоверные отличия в группах (таблица 22).

Исследование препаратов с использованием сканирующего зондового микроскопа показало, что количество агрегатов у здоровых женщин и пациенток с ТФ существенно не отличалось. Данные о количестве были подтверждены с помощью традиционной методики исследования агрегационной активности Тр методом Born G. V. R. (Долгов В.В., Свирин П.В., 2005). Однако при исследовании геометрических показателей различных экспозиций выяв-

лено, что чем дольше проходила инкубация проб в термостате, тем сильнее различались геометрические показатели агрегатов (такие как высота, длина и ширина).

Таблица 22 – Изменение геометрических показателей тромбоцитарных агрегатов (высота) у обследованных женщин ($X \pm m$; $p < 0,001$)

Мин.	1 группа (n=152), мкм	2 группа (n=256), мкм
5	0,961 $\pm$ 0,017	1,07 $\pm$ 0,02*
10	1,044 $\pm$ 0,017	1,18 $\pm$ 0,02*
15	1,072 $\pm$ 0,019	1,21 $\pm$ 0,02*
20	1,096 $\pm$ 0,025	1,34 $\pm$ 0,04*
25	1,161 $\pm$ 0,036	1,21 $\pm$ 0,04*
30	1,282 $\pm$ 0,034	1,43 $\pm$ 0,02*

Примечание: * - достоверность различия показателей в группах здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ

Анализ полученных данных показал, что геометрические параметры агрегатов Тр у женщин с тромботическими осложнениями беременности и родов достоверно ($p < 0,001$) отличаются от показателей здоровых беременных женщин. Это может быть следствием усиления свертывающего потенциала крови при ТФ.

Таким образом, наличие тромботических осложнений способствует снижению порога для тромбоцитарного ответа и усиливают функциональную активность Тр.

Проведенное исследование показало, что использование метода сканирующей зондовой микроскопии позволяет оценить естественную функциональную активность Тр. Визуализация агрегатов убедительно доказывает и иллюстрирует увеличение скорости образования агрегатов при тромботических осложнениях беременности. Метод СЗМ может быть использован с большей степенью надежности для фундаментальных исследований морфофункциональных свойств Тр, а также в клинко-лабораторной диагностике тромботических состояний различного генеза.

4.3. Влияние изменений гемостаза матери на морфофункциональные показатели тромбоцитов новорожденных

Одним из приоритетных направлений Российского здравоохранения является увеличение рождаемости, снижение материнской и младенческой смертности, а также предупреждение инвалидизации детей. Необходимо развитие медицинских направлений, позволяющих улучшить качественные характеристики здоровья детей, начиная с периода внутриутробного развития (Баранов А.А., Лапин Ю.Е., 2009; Савельев В.С. и др., 2010; Фролова О.Г. и др., 2012; Момот А.П. и др., 2013; Сухих Г.Т. и др., 2013).

Усиление тромбообразования у пациенток в период гестации является одним из основополагающих моментов развития осложнений беременности, а часто и потери плода. В этой связи особое значение приобретают вопросы изучения влияния различных патологических процессов со стороны материнского организма на формирование качественных характеристик здоровья ребенка и возможностей раннего выявления отклонений в состоянии здоровья (Шабалов Н.П. и др., 2000; Володин Н. Н., 2007; Макацария А. Д. и др., 2007; Айламазян Э. К. и др., 2010; Плюшкин В. А. и др., 2009; Фролова О.Г. и др., 2012; Андреева М.Д. и др., 2014; Баранов Д.А., 2014).

В связи с вышесказанным представляет значительный интерес изучение гемостазиологических расстройств, в частности, ТФ беременных, их влияния на течение гестационного процесса, исходы беременности, а также, что особенно важно, на состояние здоровья детей и их систему гемостаза.

Для оценки влияния гемостазаологических изменений в организме матери на морфо-функциональные параметры Тр новорожденных мы провели сравнительный анализ вышеуказанных показателей в системе мать-плод. Мы отобрали 108 пар мать-новорожденный, из них 52 пары, в которых женщины не имели патологии свертывающей системы, а 56 пар, в которых женщины имели тромботические осложнения беременности и родов. Цифровые значе-

ния показателей матерей в 1 - й после родов были приняты за 100%. Результаты исследования иллюстрирует таблицы 23 и 24.

Таблица 23 – Влияние состояния свертывающей системы матерей на параметры Тр 1 - го дня жизни

Показатель	Здоровые женщины			Пациентки с ТФ		
	мать (n=52)	новорож- денный (n=52)	R, %	мать (n=56)	новорож- денный (n=56)	R, %
$PLT, 10^9 /л$	276,73±8,18	277,01±13,2	+0,1%	308,86±11,86	347,76±12,1	+12,6%
Средний диаметр Тр, мкм	2,17±0,08	2,25±0,1	+3,7%	2,56±0,04	3,31±0,05	+29,3%
Площадь Тр, мкм ²	3,84±0,28	4,17±0,3	+8,6%	5,47±0,19	10,70±0,3	+95,6%
Фактор формы, у.е.	12,96±0,12	15,13±0,5	+16,8%	14,16±0,06	20,25±0,4	+43,1%
ИОТр, у.е.	0,99±0,05	0,77±0,01	-22,2%	1,63±0,04	1,24±0,0	-23,9%
Агрегация с АДФ, %	61,03±0,68	4,80±0,2	-92,1%	76,18±3,63	6,87±0,2	-91,0%
Агрегация с коллагеном, %	54,05±0,91	1,18±0,1	-97,8%	69,66±2,71	1,93±0,2	-97,2%
Агрегация с ристоцетином, %	69,33±0,71	21,66±0,4	-68,8%	88,82±5,69	27,21±0,4	-69,4%

Примечание: R - различия в показателях в группе новорожденных по сравнению с данными их матерей

Из представленных данных видно, что в 1 - й день после родов у здоровых женщин и их детей практически не выявляются отличия количества Тр, разница составляет всего 0,1%, тогда как у детей пациенток с ТФ, количество Тр на 12,6% выше, чем у их матерей.

В парах мать-новорожденный установлено значительное увеличение геометрических параметров морфометрии у детей, родившихся у пациенток с ТФ. Так показатели среднего диаметра, площади и фактора формы Тр отличались на 29,3%, 95,6%, и 43,1%, соответственно. В парах мать-

новорожденный, где женщины были здоровы не выявлено столь ярких различий геометрических показателей.

Таблица 24 – Влияние состояния свертывающей системы матерей на параметры Тр 5 - го дня жизни

Показатель	Здоровые женщин			Пациентки с ТФ		
	мать (n=52)	новорожденный (n=52)	R, %	мать (n=56)	новорожденный (n=56)	R, %
$PLT, 10^9 / л$	256,93±6,98	243,93±11,5	-5,1%	262,42±9,9	314,57±10,8	+19,9%
Средний диаметр Тр, мкм	1,97±0,05	2,12±0,09	+7,6%	2,39±0,02	2,55±0,06	+6,7%
Площадь Тр, мкм ²	3,04±0,12	3,61±0,2	+18,8%	4,75±0,14	5,76±0,2	+21,3%
Фактор формы, у.е.	11,23±0,10	13,79±0,4	+22,8%	13,90±0,06	16,24±0,2	+16,8%
ИОТр, у.е.	0,89±0,03	0,72±0,02	-19,1%	1,36±0,03	1,01±0,02	-25,7%
Агрегация с АДФ, %	59,52±0,74	6,59±0,08	-88,9%	73,30±3,28	7,45±0,3	-89,7%
Агрегация с коллагеном, %	49,76±1,26	3,39±0,09	-93,2%	65,63±2,9	3,23±0,2	-95,1%
Агрегация с ристоцетином, %	49,76±1,26	26,26±0,8	-47,2%	83,64±5,6	30,74±0,5	-63,3%

Примечание: R - различия в показателях в группе новорожденных по сравнению с данными их матерей

Показатель ИОТр у детей оказался ниже, чем у их матерей. Эта разница в группе здоровых женщин и их детей составила –22,2%, в группе пациенток с ТФ и их детей – 23,9%. Увеличение показателя ИОТр у женщин в день родов отражает уровень усиления функциональной активности Тр. Анализ показателей агрегационной активности ак Тр указывает на разнонаправленные изменения в парах мать-ребенок. Наибольшая степень различий в парах установлена при индукции коллагеном, в парах здоровых женщин разница составила –97,8%, а в парах женщин с ТФ – 97,2%. Аналогичные показатели различий получены и при оценке агрегации с АДФ и ристоцетином, разницу

составила 92,1% и 68,8%, соответственно, со знаком «минус», в парах здоровых мам и их детей, а в парах пациенток с ТФ разница составила с АДФ – 91%, с ристоцетином – 69,4%.

Снижение агрегации у новорожденных в сравнении с показателями матерей отмечалось в обеих группах. Нами установлены особенности влияния гемостаза матери на тромбоцитарные показатели новорожденных на 5 - й день после родов. Так, количество Тр в парах мать-ребенок к 5 - м суткам в норме у детей становится ниже, чем у матерей на 5,1%, а в группах с патологией гемостаза у детей данный показатель выше на 19,9%. Морфофункциональные показатели Тр в парах мать-ребенок имеют схожие различия в группах как с физиологическим течением беременности, так и в с патологией свертывающей системы.

Разнонаправленность различий в показателях гемостаза новорожденных в сравнении с показателями матерей в 1 - е и 5 - е сутки после родов представлены на рисунках 22 и 23.

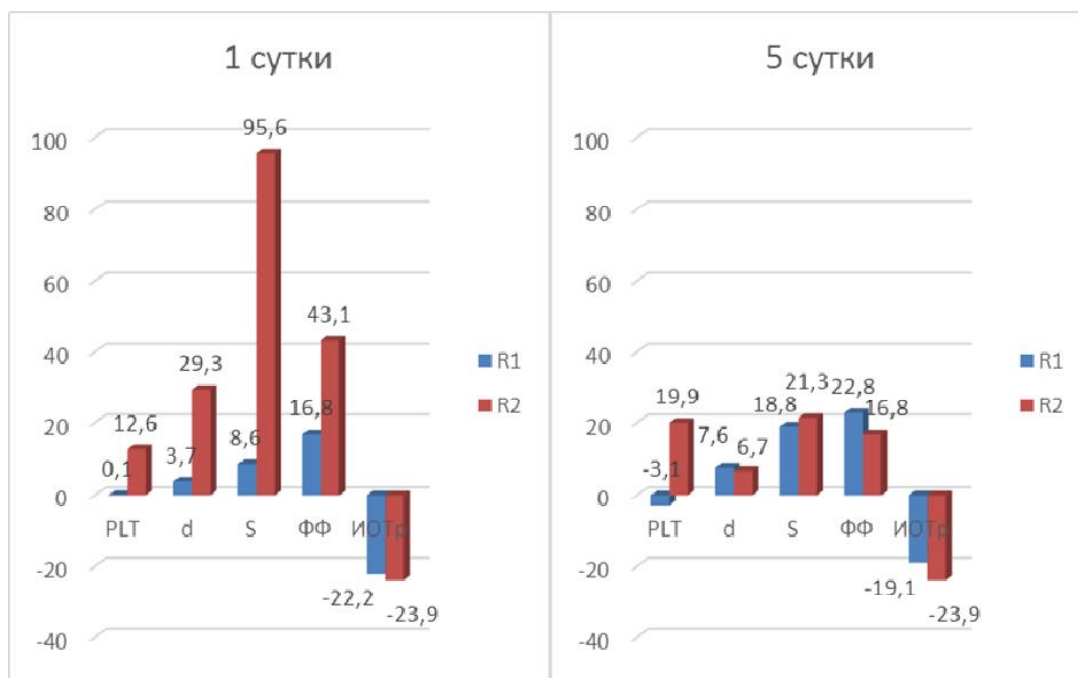


Рисунок 22 – Влияние гемостаза матери на количественные и морфометрические показатели Тр новорожденных в норме и при ТФ в 1 - е и 5 - е сутки жизни

Примечание: R1 – различия показателей в группе здоровых женщин и их детей; R2 – различия в показателях в группе детей пациенток с ТФ и их детей

Рисунок 22 иллюстрирует различия в тромбоцитарных параметрах новорожденных и матерей с ТФ, которые носят ярко выраженный характер по сравнению с аналогичными показателями в группах новорожденных, родившихся у здоровых женщин. Выраженное повышение в 1 - е сутки жизни значений геометрических показателей Тр (среднего диаметра, площади и фактора формы Тр) у детей, матери которых страдали ТФ, что свидетельствует о наличии в кровотоке большого количества крупных форм Тр с большим количеством псевдоподий. Однако к 5 - м суткам жизни столь значительная разница нивелируется, что связано с включением адаптационно-приспособительных механизмов, хотя в группе женщин с ТФ и их новорожденных с разницей показателя количества Тр остается на достаточно высоком уровне (19,9%).

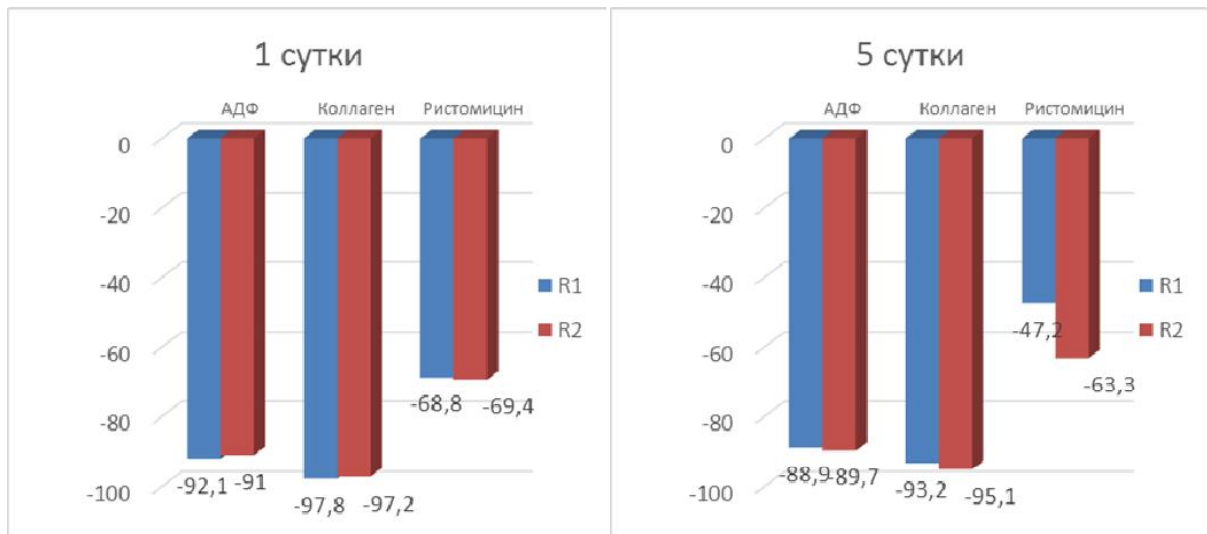


Рисунок 23 – Влияние гемостаза матери на функциональные показатели Тр новорожденных в норме и при ТФ в 1 - е и 5 - е сутки жизни.

Примечание: R1 – различия показателей в группе здоровых женщин и их детей; R2 – различия в показателях в группе детей пациенток с ТФ и их детей

Данные, представленные на рисунке 23, свидетельствуют о наличии различий функциональных показателей в группах мать–новорожденный в норме и при ТФ в 1-е сутки. При этом они носят однонаправленный характер. Так, у новорожденных обеих групп отмечается выраженное снижение агрегационной способности Тр со всеми индукторами по сравнению с пока-

зателями их матерей. Однако к 5 - м суткам обращает на себя внимание нарушение компенсаторно-приспособительных механизмов в группе с патологией гемостаза, что проявляется в наибольшем различии агрегационной способности Тр с ристоцетином. В парах мать-новорожденный с ТФ вышеуказанная разница составляет 63,3% со знаком минус, у здоровых – 47,2%.

Анализ влияния состояния гемостаза матери на количественные, морфо-функциональные параметры Тр ребенка позволил установить следующие закономерности. Отмечается выраженная разница между показателями геометрических показателей в парах мать - ребенок, где женщина страдала ТФ в 1 - й день жизни в сравнении с парами, где мать была здорова. К 5 - м суткам жизни разница в тромбоцитарных параметрах обследуемых пар в норме и при ТФ нивелируется, но, в парах, где мать страдала ТФ, разница показателей выражена сильнее, чем в парах здоровых женщин и детей. Разница в агрегационных параметрах установлена на 5 - е сутки при индукции коллагеном в парах с ТФ в сравнении с нормой.

ГЛАВА 5

БИОХИМИЧЕСКИЕ, ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ТРОМБОФИЛИИ У БЕРЕМЕННЫХ

В настоящее время доказано, что в 80 - 90% случаев причиной возникновения тромботических состояний являются генетические дефекты генов гемостаза. У 20% пациентов с тромбозами выявлена мутация FV Leiden, у 22% – установлены аномалии генов системы антикоагулянтов (дефицит АТ III, дефицит протеина С и S), у 14% пациентов – синдром липких Тр (Kitchens K.S. et al., 2002). В современной литературе встречаются разрозненные данные о связи генетического полиморфизма гена GP IIb/IIIa с развитием тромбозов, но сведения о связи данного полиморфизма с развитием типично акушерской патологии весьма противоречивы (Макацария А.Д. и др., 2007).

S.E. Bojesen et al. (2003) установлено, что замена Leu33→Pro в молекуле GP IIIa вызывает множественные изменения структурные мембраны в пределах GP IIb/IIIa-рецептора. Такие структурные изменения могут ассоциироваться с повышением связывания с «иммобилизированным» фибриногеном, изменением актинового цитоскелета и ретракции сгустка и, таким образом, индуцировать мягкую протромботическую активность.

Для оценки частоты встречаемости различных генетических дефектов системы гемостаза у обследуемых женщин проводилось скрининговое исследование ДНК-полиморфизмов основных генов системы гемостаза: аллельные варианты гена C677T и A1298C гена MTHFR, маркер гена протромбина G20210A, определение мутации в гене ф.V Leiden (полиморфизм G1991A) и полиморфизм ингибитора активатора плазминогена типа 1 (аллельный вариант 675 4G/5G), полиморфизм гена фибриногена (G455A) и молекулярно-

генетическое исследование полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa.

По результатам исследования из 256 пациенток с тромботическими осложнениями наблюдалось носительство нормального генетического варианта рецептора Тр GP IIb/IIIa ($P1^{A1}/P1^{A1}$) у 163 женщин (63,6% случаев), гетерозиготная мутация ($P1^{A1}/P1^{A2}$) – у 54 пациенток (21% случаев), гомозиготная мутация $P1^{A2}/P1^{A2}$ – у 39 пациенток (15,2% случаев). Из 163 женщин с нормальным вариантом гена рецепторов Тр у 27 пациенток выявлены мутации в генах плазменного гемостаза (10,5% случаев). У 15 – изолированная гетерозиготная мутация в гене MTHFR, аллельный вариант C677T (5,8% случаев). Мутации в гене MTHFR в сочетании с гетерозиготной мутацией Leiden в гене ф.V наблюдалась у 12 женщин (4,6% случаев).

У 29 женщин выявлено сочетание генетического дефекта MTHFR с мутацией FV Leiden и гетерозиготным полиморфизмом A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa (11,3% случаев).

Из 152 здоровых беременных женщин только у 24 выявили наличие гетерозиготного варианта полиморфизма GP IIb/IIIa (15,7% случаев). Нормальный генотип наблюдался у 128 женщин (84,3 % случаев). Гомозиготный вариант полиморфизма в группе здоровых женщин не встречался.

Таким образом, выявлено, что носительство генетического вариант A^1 Тр GP IIb/IIIa у женщин с физиологическим течением беременности на 20,7% выше, чем в группе женщин с ТФ. Наличие гетерозиготной мутации ($P1^{A1}/P1^{A2}$) в группе 2 было выше на 5,3%. Гомозиготный вариант ($P1^{A2}/P1^{A2}$) встречался только в группе женщин с клиническими проявлениями ТФ.

С целью оценки изменений биохимических и гемостазиологических показателей женщин, имеющих различные виды генетического полиморфизма GP IIb/IIIa, пациентки отделения патологии беременности были разделены на восемь групп:

1 – здоровые женщины, имеющие нормальный генетический вариант субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa (A^1/A^1) (n=128);

- 2 – здоровые женщины, имеющие гетерозиготный полиморфизм A^2 (n=24);
- 3 – пациентки с ТФ, имеющие нормальный генетический вариант A^1/A^1 (n=136);
- 4 – пациентки с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом $P1^{A^1}/P1^{A^2}$ (n=35);
- 5 – пациентки с ТФ и гомозиготным полиморфизмом $P1^{A^2}/P1^{A^2}$ (n=39);
- 6 – пациентки с ТФ и изолированной гетерозиготной мутацией в гене MTHFR (n=15);
- 7 – пациентки с ТФ и сочетанием гетерозиготной мутации гена MTHFR и гена ф.V (n=12);
- 8 – пациентки с ТФ и сочетание генетического дефекта MTHFR с мутацией ф.V Leiden и гетерозиготным полиморфизмом A^2 (n=19).

В процессе проведения анализа структуры акушерских осложнений в предыдущие беременности установлено, что тяжелая преэклампсия встречалась достоверно чаще ($p < 0,01$) у женщин с ТФ 5 и 8 групп в сравнении с пациентками остальных групп. У 24 женщин 5 группы наблюдалось сочетание тяжелой преэклампсии с СЗВУР, а у 7 пациенток этой группы умеренная преэклампсия сочеталась с тромбозами глубоких вен во время беременности и хроническая плацентарная недостаточность. У женщин 3 группы наблюдалась компенсированная плацентарная недостаточность, умеренная преэклампсия. В 4 группе встречались 1 случай тяжелой преэклампсии и 8 случаев декомпенсированной хронической плацентарной недостаточности. В группах пациенток, имеющих дефекты генов плазменного гемостаза случаи умеренной и тяжелой преэклампсии встречались только в 8 группе женщин, а в 5 случаях наблюдалось сочетание тяжелой преэклампсии с ПОНРП.

5.1. Изменение метаболических показателей у беременных женщин при дисморфизме A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa

При действии на организм повреждающих факторов физической, химической, биологической и другой природы формируются патологические

системы. При этом в целом организме складываются противодействующие взаимодействия двух тенденций: с одной стороны, патологическая, создающая нарушения нормальных физиологических функций, с другой – компенсаторная деятельность физиологических функциональных систем, направленная на ликвидацию патологического процесса. Свойства и особенности формирования патологических систем подробно изучены (Крыжановский, Г. Н., 2011; Басов А.А. и др., 2013).

В процессе изучения изменений гемостаза у женщин с ТФ, нами установлено убедительное усиление коагулянтного потенциала и функциональной активности Тр матерей и их новорожденных детей.

Тромбофилитические осложнения беременности и родов в настоящее время рассматриваются с позиции развития синдрома полиорганной недостаточности, в основе которого лежит системная воспалительная реакция, характеризующаяся активированием макрофагов, нейтрофилов, эндотелиальных клеток, гранулоцитов и Тр (Медвинский И.Д., 2000). Результатом стимуляции макрофагов является повышение уровня цитокинов, являющихся связующим звеном между иммунной системой, гемопоэзом, системой гемостаза, ангиогенезом и факторами неспецифической резистентности организма (Кузник Б.И., 2010).

Представленные механизмы взаимосвязи коагуляции, ангиопатии и системной воспалительной реакции с позиций современных представлений и их нарушение у пациенток с генетической ТФ не исследованы. Дефекты гена GP IIb/IIIa приводят к усилению функциональных свойств Тр, способствуют повышению тромбогенных свойств эндотелия (Bojesen, S.E. et al., 2003).

Эффект взаимодействия опосредуется оптимальным сочетанием противоапоптотических факторов: АТ III, протеин С, церулоплазмин, оптимальные концентрации NO, описание которого у пациенток с генетической ТФ не встречается в научной литературе. Не выяснены также взаимосвязи свободно-радикального окисления (СРО), иммунных изменений, коагуляции и эндотелиальной дисфункции.

Вышесказанное побудило нас провести комплексную оценку биохимических, метаболических и иммунных нарушений, выраженности свободно-радикальных реакций, а также показателя антиоксидантной активности у беременных женщин с генетическим полиморфизмом A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa.

Для этого мы исследовали биохимические показатели в тех группах где пациенток, которые имели генетический дисморфизм A^2 в сравнении со здоровыми женщинами 1 группы.

В исследовании приняли участие следующие группы пациенток:

- 1 – здоровые женщины, имеющие генотип A^1/A^1 ($n=128$) – контрольная группа;
- 2 – здоровые женщины, имеющие полиморфизм $P1^{A^1}/P1^{A^2}$ ($n=24$);
- 3 – женщины с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом $P1^{A^1}/P1^{A^2}$ ($n=35$);
- 4 – пациентки с ТФ и гомозиготным полиморфизмом $P1^{A^2}/P1^{A^2}$ ($n=39$).

Усиление свободно-радикальных реакций является универсальным патогенетическим механизмом повреждения клеточных структур (Меньщикова Е.Б., 2006). Неконтролируемое усиление липопероксидации приводит к снижению трансмембранного потенциала клетки, изменению степени олигомеризации мембранных белков, нарушению белково-липидных взаимодействий, а также увеличению проницаемости мембран для воды и ионов. Генерализация процесса нарушения микроциркуляции в сочетании с накоплением продуктов ПОЛ может привести к развитию синдрома эндогенной интоксикации. Продукты ПОЛ представляют опасность только в случае нарушения функционирования антиоксидантной системы или истощения ее резервов.

Об изменениях в системе СРО – АОА у женщин свидетельствовали изменения показателей МДА в сыворотке крови и Тр, значениям нитритемии, церулоплазмينا и показателя АОА сыворотки крови. Данные изменения метаболических показателей представлены в таблице 25.

При сравнительном анализе данных выявлено, что у здоровых женщин 1 и 2 группы метаболические параметры не превышали референсных преде-

лов, но, у пациенток с гетерозиготным полиморфизмом выявлено достоверное повышение уровня МДА Тр ($p<0,001$), NO ($p<0,05$), ИЛ-6 и ИЛ-8 ($p<0,01$ и $p<0,05$ соответственно).

Анализ данных пациенток с ТФ выявил усиление перекисных процессов в сыворотке и тромбоцитах у всех женщин в сравнении с показателями контрольной группы.

Таблица 25 – Гуморальные показатели в группах обследуемых женщин ($X\pm m$; $p\leq 0,05$)

Показатели, единицы измерения	Группы беременных женщин			
	1 (n=128)	2 (n=24)	4 (n=35)	5 (n=39)
МДА сыворотки, мкмоль/л	3,29±0,15	3,31±0,24	5,17±0,28*	6,91±0,37*
МДА Тр, мкмоль/ 10^9 Тр	1,82±0,09	2,61±0,19*	3,7±0,16*	5,5±0,29*
Нитриты, мкмоль/мл	7,97±0,38	8,99±0,24*	10,02±0,23*	12,42±0,28*
АОА, усл.ед.	0,65±0,02	0,66±0,02	0,64±0,03	0,34±0,02*
Церулоплазмин, мг/дл	14,53±0,22	15,1±0,21	12,41±0,25*	10,11±0,24*
ИЛ-6, пг/мл	6,21±0,17	7,33±0,11*	9,62±0,24*	12,31±0,25*
ИЛ-8, пг/мл	5,42±0,18	6,15±0,12*	9,37±0,25*	11,62±0,24*
ФВ, %	112,6±2,34	116,9±2,54	148,7±2,73*	212,6±2,27*

Примечание: * – достоверность различий по сравнению с 1 группой пациенток

В наибольшей степени был изменен показатель МДА Тр у женщин с гомозиготным вариантом полиморфизма $P1^{A2}/P1^{A2}$. Разница этого показателя в сравнении с 1 группой составила 202%. Показатель МДА сыворотки был увеличен на 110%. В группе женщин с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом показатели МДА сыворотки и Тр были выше на 57,1% и 103%, соответственно. У здоровых женщин с гетерозиготным полиморфизмом также отмечено достоверное ($p<0,001$) увеличение показателя МДА Тр.

У женщин с полиморфизмом A^2 выявлены достоверное повышение уровня NO, но степень достоверности была различной. В группах больных

женщин с гетеро- и гомозиготным дефектом повышение составило 25,7% и 55,8 %, соответственно ($p<0,001$). У здоровых пациенток с гетерозиготным дисморфизмом также отмечено увеличение уровня нитритов до 8,99 мкмоль/мл ($p<0,05$).

Показатель АОА достоверно ($p<0,05$) измененным оказался только в 5 группе пациенток, а показатель церулоплазмينا, который также обладает антиоксидантной активностью, достоверно ($p<0,05$) снижался в группах женщин с ТФ.

На рисунке 24 представлены показатели ПОЛ и АОА в группах обследуемых женщин. Обращает на себя внимание наибольшее увеличение показателей МДА сыворотки и Тр, а также АОА в группе женщин, имеющих гомозиготный вариант дикого гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa P1 A². Для наглядности значения показателей контрольной группы пациенток приняты за 100%.

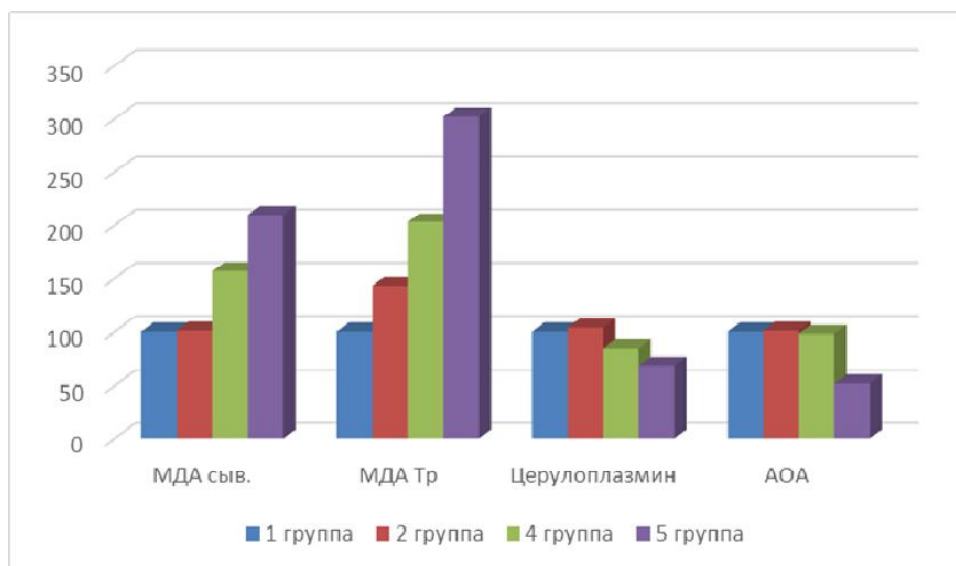


Рисунок 24 – Изменение показателей ПОЛ и АОА у пациенток, имеющих полиморфизм A², в сравнении с показателями контрольной группы

Также у пациенток с ТФ достоверно ($p<0,001$) повышенными оказались уровни провоспалительных цитокинов. У здоровых женщин с полиморфизмом P1^{A1}/P1^{A2} отмечено повышение уровней ИЛ-6 и ИЛ-8, но степень достоверности была ниже ($p<0,01$ и $p<0,05$, соответственно).

Уровень ФВ, маркера дисфункции эндотелия, достоверно отличался только у пациенток с ТФ и дисморфизмом A^2 ($p < 0,001$). Наибольшие изменения этого показателя отмечены у 5 группы женщин. От показателя 1 группы он отличался на 88,8% (рисунок 25).

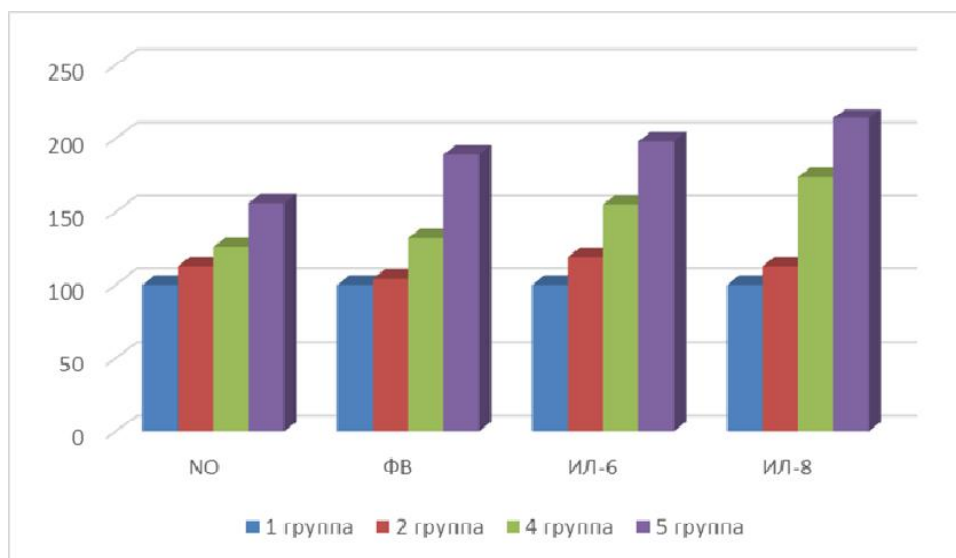


Рисунок 25 – Изменение показателей NO, ФВ и цитокинов у пациенток, имеющих полиморфизм A^2

Полученные данные отражают повышение уровня маркеров эндотелиальной дисфункции, увеличение выработки провоспалительных цитокинов, усиление свободно-радикальных реакций, снижение антиоксидантной активности у женщин с ТФ и дисморфизмом A^2 , в совокупности свидетельствует о комплексном характере гуморальных расстройств.

О важной роли полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Tr GP IIb/IIIa в реализации эндотелиальной дисфункции говорит то, что наиболее яркие изменения параметров наблюдаются в группе женщин с гомозиготным полиморфизмом этого гена.

Достоверные изменения показателей у здоровых беременных женщин 2 группы указывают участие дисморфизма A^2 в развитии признаков эндотелиальной дисфункции даже без наличия клинических проявлений ТФ. Это может свидетельствовать о высокой чувствительности к наличию генетического дефекта.

Таким образом, наличие дисморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa у беременных женщин приводит к активации эндотелия, развитию воспаления и иммунных нарушений в организме беременных женщин.

5.2. Значение полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa в развитии изменений в системе гемостаза во время беременности

Известно, что GP IIb/IIIa – один из «главных» рецепторов фибриногена на поверхности Тр. Взаимодействие фибриногена и ФВ активным GP IIb/IIIa важно для стабильной адгезии Тр к поврежденному эндотелию сосуда в условиях кровотока, и для когезии связанных с субэндотелием Тр с другими Тр и роста тромба.

С целью оценки влияния мутаций генов гемостаза на состояние тромбоцитарного гемостаза проводили исследование общего количества Тр в периферической крови и тромбоцитарных индексов (MPV, PCT, PDW). Количественные показатели представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Изменение количественных тромбоцитарных параметров здоровых беременных женщин и пациенток с тромбофилией ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы пациенток	Показатели, единицы измерения			
	PLT, $10^9/\text{л}$	MPV, фл	PCT, %	PDW, %
1 (n=128)	265,7 $\pm$ 7,6	9,2 $\pm$ 0,18	0,25 $\pm$ 0,008	16,9 $\pm$ 0,17
2 (n=24)	271,8 $\pm$ 7,9	9,5 $\pm$ 0,20	0,24 $\pm$ 0,008	16,8 $\pm$ 0,18
3 (n=136)	282,6 $\pm$ 9,8	10,4 $\pm$ 0,25*	0,26 $\pm$ 0,008	18,2 $\pm$ 0,16*
4 (n=35)	289,8 $\pm$ 11,8	10,9 $\pm$ 0,25*	0,25 $\pm$ 0,007	18,2 $\pm$ 0,17*
5 (n=39)	234,1 $\pm$ 12,3*	11,2 $\pm$ 0,27*	0,25 $\pm$ 0,008	18,4 $\pm$ 0,17*
6 (n=15)	284,5 $\pm$ 9,9	9,7 $\pm$ 0,25	0,26 $\pm$ 0,008	18,9 $\pm$ 0,18*
7 (n=12)	292,3 $\pm$ 11,1	10,1 $\pm$ 0,26	0,24 $\pm$ 0,008	18,7 $\pm$ 0,19*
8 (n=19)	279,6 $\pm$ 10,1	10,7 $\pm$ 0,25*	0,25 $\pm$ 0,007	18,7 $\pm$ 0,19*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

При проведении анализа данных обнаружено, что показатели PLT, MPV и PDW у здоровых беременных 1 и 2 группы не имели выраженных отличий.

Сравнивая показатели пациенток, имеющих нормальный генетический вариант рецептора Tr GP IIb/IIIa (т. е. группы 1 и 3), установлено, количество Tr и тромбоцитарные индексы не выходят за референсные пределы, однако показатели MPV и PDW у женщин 3 группы превышали таковые у женщин 1 группы ($p \leq 0,01$).

Проведение анализа количества Tr и тромбоцитарных индексов у здоровых женщин и нормальным генетическим вариантом рецепторов Tr GP IIb/IIIa и пациенток, имеющих гетерозиготный дефект гена ($P1^{A1}/P1^{A2}$) – группа 4, установлено достоверное увеличение среднего объема Tr и показателя гетерогенности Tr, значения которых составили 10,9 фл и 18,2%, соответственно ($p \leq 0,01$).

У женщин, имеющих гомозиготный генетических дефект гена Tr GP IIb/IIIa ($P1^{A2}/P1^{A2}$) изменения количества Tr и тромбоцитарных индексов выражены ярче всего. Отмечено снижение значений PLT до $234,1 \pm 12,3 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p \leq 0,05$), увеличение показателя MPV до $11,2 \pm 0,27$ фл и показателя гетерогенности Tr до $18,4 \pm 0,16\%$ в сравнении с данными здоровых родильниц 1 группы ($p \leq 0,001$).

Сравнивая показатели Tr женщин, имеющих дефекты генов плазменного гемостаза, выявлено достоверное ($p \leq 0,001$) увеличение показателя анизоцитоза Tr у пациенток 6 - 8 групп, что косвенно отражает усиление их функциональных свойств. У женщин 8 группы отмечено достоверное ($p \leq 0,01$) увеличено среднего объема Tr. Необходимо также отметить, что параметры клеток у пациенток 6 - 7 групп практически не отличались от показателей у пациенток 3 группы, имеющих клинические проявления ТФ и генотип $P1^{A1}/P1^{A1}$. Отмечена тенденция к увеличению среднего объема Tr у женщин, имеющих сочетание мутаций генов гемостаза с полиморфизмом $P1^{A1}/P1^{A2}$, в сравнении с показателями пациенток 6 и 7 групп.

Изменение количественных параметров Тр в группах беременных женщин послужило основанием для изучения их функциональной активности.

Оценку функциональной активности проводили путем исследования агрегации с индукторами АДФ (0,2 мМ/л), коллагеном (0,2 мг/мл) и ристоцетином (5 мкМ/мл). Анализируя данные агрегации здоровых женщин установили усиление АДФ-индуцированной агрегации у пациенток 2 группы ($p \leq 0,01$), также у них отмечена тенденция к усилению агрегации с коллагеном и ристоцетином. Данные изменения агрегационной активности Тр в группах пациенток представлены в таблице 27.

Проведение сравнения агрегационных показателей женщин с ТФ в сравнении с 1 группой позволило выявить усиление агрегационной активности Тр с агонистами ($p \leq 0,001$). Наибольшее увеличение наблюдалось у женщин с гетерозиготным полиморфизмом $P1^{A1}/P1^{A2}$ в гена рецепторов Тр в сочетании с гетерозиготными мутациями ф.V и MTHFR, а наиболее низкие – у женщин с нормальным генотипом.

Таблица 27 – Изменение агрегационной активности Тр здоровых беременных женщин и пациенток с тромбофилией ($X \pm m$; $p \leq 0,01$)

Группы пациенток	Показатели, единицы измерения		
	АДФ, %	Коллаген, %	Ристоцетин, %
1 (n=128)	46,0 $\pm$ 0,69	42,0 $\pm$ 0,83	47,5 $\pm$ 0,74
2 (n=24)	51,1 $\pm$ 1,71*	45,0 $\pm$ 1,96	51,2 $\pm$ 1,82
3 (n=136)	77,6 $\pm$ 1,93*	66,4 $\pm$ 1,76*	85,8 $\pm$ 1,42*
4 (n=35)	78,4 $\pm$ 2,97*	65,3 $\pm$ 2,74*	86,3 $\pm$ 2,36*
5 (n=39)	79,4 $\pm$ 3,68*	68,0 $\pm$ 2,77*	89,1 $\pm$ 2,11*
6 (n=15)	80,2,4 $\pm$ 3,74*	67,1 $\pm$ 2,75*	88,9 $\pm$ 3,9*
7 (n=12)	81,3 $\pm$ 3,59*	66,8 $\pm$ 2,79*	86,3 $\pm$ 3,84*
8 (n=19)	85,3 $\pm$ 3,88*	70,2 $\pm$ 2,84*	89,1 $\pm$ 3,11*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

У женщин, имеющих генотип A^1A^1 отмечено усиление агрегационной активности Тр при индукции АДФ на 65%, при индукции ристоцетином – на

80%, коллагеном – на 58%, в сравнении с данными агрегации женщин 1 группы. У пациенток, имеющих гетерозиготный полиморфизм имелось усиление агрегации Тр с индуктором АДФ на 66%, с индуктором ристоцетином – на 81%, коллагеном – на 55%, по сравнению с данными агрегации 1 группы. В 5 группе пациенток, имеющих полиморфизм PI^{A2}/PI^{A2} агрегация, с агонистами АДФ, ристоцетином и коллагеном, усиливалась на 68%, 87% и 61%, соответственно. У пациенток, имеющих мутации факторов плазменного гемостаза отмечено значительное усиление агрегационной активности Тр со всеми индукторами, но наибольшие изменения установлены в 8 группе.

Полиморфизм A^2 гена рецепторов GP IIb/IIIa способствует снижению порогового уровня для тромбоцитарного ответа, стимулированного индукторами, особенно в условиях гипергомоцистеинемии, имеющей место при мутации гена MTHFR.

В патогенезе ТФ большая роль отводится изменению формы Тр в процессе усиления их функциональной активности. При этом в литературе практически отсутствуют сведения об изменении морфометрических показателей Тр у пациенток с тромботическими осложнениями во время беременности.

Изменение количества Тр, тромбоцитарных индексов и параметров агрегации у пациенток с ТФ, по сравнению со здоровыми родильницами, позволило предположить изменение и морфометрических параметров клеток. С этой целью проведено исследование морфометрических показателей у 408 женщин с наличием тромбоцитарных и плазменных дефектов генов гемостаза в сравнении с показателями здоровых женщин (таблица 28).

Компьютерная установка МЕКОС-Ц позволяет измерить диаметр и площадь Тр, определить фактор формы Тр, а также косвенно установить возраст популяции Тр и уровень их функциональной активности по степени насыщенности Тр гранулами.

Анализ данных морфометрии Тр пациенток 1 и 2 групп позволил установить усиление функциональной активности Тр у женщин с

гетерозиготным полиморфизмом, что отражает достоверное ($p \leq 0,001$) повышение значений фактора формы Тр.

Таблица 28 – Изменение морфометрических параметров Тр здоровых беременных женщин и пациенток с тромбофилией ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы пациенток	Показатели, единицы измерения					
	Диаметр Тр, мкм	Площадь Тр, мкм ²	Фактор формы, у.е.	Доля синего цвета, у.е.	Доля красного цвета, у.е.	ИОТр, у.е.
1 (n=128)	2,24±0,10	3,65±0,41	12,8±0,15	0,32±0,002	0,42±0,002	0,76±0,005
2 (n=24)	2,31±0,15	3,96±0,44	13,5±0,17*	0,37±0,007*	0,39±0,007*	0,94±0,07*
3 (n=136)	2,46±0,10	5,51±0,41*	14,11±0,15*	0,46±0,002*	0,35±0,002*	1,31±0,08*
4 (n=35)	2,66±0,13*	5,48±0,44*	15,12±0,17*	0,45±0,007*	0,34±0,007*	1,32±0,07*
5 (n=39)	2,81±0,12*	6,33±0,44*	16,18±0,18*	0,52±0,007*	0,31±0,007*	1,67±0,11*
6 (n=15)	2,56±0,14	5,97±0,50*	16,14±0,20*	0,45±0,008*	0,34±0,008*	1,32±0,11*
7 (n=12)	2,54±0,14	5,74±0,51**	17,01±0,21*	0,47±0,008*	0,35±0,008*	1,34±0,12*
8 (n=19)	2,78±0,13*	6,38±0,49*	15,58±0,20*	0,46±0,008*	0,32±0,008*	1,43±0,11*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

Также установлено «омоложение» популяции Тр у пациенток 2 группы, что отражается в повышении оптической плотности по синей компоненте спектра и уменьшение по красной. ИОТр достоверно был выше в группе 2 и составлял 0,94 у.е. (в 1 группе - 0,76 у. е.), что говорит об усилении функциональных свойств Тр у пациенток, имеющих гетерозиготный вариант полиморфизма, в сравнении с данными пациенток 1 группы. Наблюдалась тенденция к увеличению показателей диаметра и площади Тр.

У пациенток с клиническими проявлениями ТФ достоверно ($p \leq 0,001$) были увеличены значения среднего диаметра и площади клеток клетки, фактора формы и ИОТр. В результате анализа показателей Тр в группах

женщин с гетеро- и гомозиготным полиморфизмом установлены достоверные различия большинства показателей. Сравнительный анализ показателей компьютерной морфометрии Тр у женщин с ТФ позволил установить некоторые закономерности. Так, наиболее выраженные изменения геометрических и оптических показателей установлены в 5 группе женщин с ТФ и гомозиготным вариантом полиморфизма (PI^{A2}/PI^{A2}). Разница значений диаметра Тр, выраженная в процентах, между пациентками группы 5 и 1 групп составила 25,4%, между значениями средней площади Тр – 73,4%, между значениями фактора формы Тр – 26,4%. У пациенток с полиморфизмом PI^{A1}/PI^{A2} диаметр клеток был больше на 18,7%, фактор формы – на 18,1%, а площадь Тр увеличена на 50,9%. У женщин, имеющих генотип A^1A^1 показатели диаметра, площади и фактора формы были увеличены на 9,8%, 50,9% и 10,2% в сравнении с данными женщин 1 группы.

Анализ степени «омоложения» популяции Тр проводили по данным ИОТр. Увеличение количества «молодых» форм клеток установлено в различной степени во всех группах женщин с тромботическими осложнениями беременности и родов. Однако, наиболее высокое значение этого показателя выявлено у женщин 5 группы (1,67 у. е.). В группах женщин с нормальным генетическим вариантом и гетерозиготным полиморфизмом показатель ИОТр составил 1,31 у. е. и 1,32 у. е., соответственно.

При анализе изменений морфометрических показателей Тр у пациенток, имеющих дефекты генов плазменного гемостаза, выявлено, что диаметр и площадь Тр достоверно ($p \leq 0,001$) увеличены в сравнении с показателями здоровых беременных женщин. При этом наибольшие значения были отмечены в группе пациенток, имеющих сочетание дефектов генов плазменного и тромбоцитарного гемостаза. Они составили 2,78 мкм и $6,38 \text{ мкм}^2$, соответственно. У пациенток 7 группы имел место наиболее высокий показатель фактора формы Тр, который достоверно ($p \leq 0,001$) отличался от фактора формы здоровых пациенток и пациенток с ТФ, имеющих нормальный генотип и полиморфизм PI^{A1}/PI^{A2} . Степень омоложения Тр достоверно отличалась от по-

казателей у здоровых женщин, но в 6 - 8 группах достоверных различий не установлено.

Таким образом, у пациенток сполиморфизмом PI^{A2}/PI^{A2} , установлено увеличение ($p \leq 0,001$) увеличение геометрических параметров Тр и «омоложение» пула Тр периферической крови. У пациенток с нормальным генетическим вариантом и гетерозиготным полиморфизмом (PI^{A1}/PI^{A2}) установлены подобные изменения показателей мофометрии, но степень возрастания их была у них немного ниже, чем у пациенток с полиморфизмом PI^{A2}/PI^{A2} . Кроме того отмечено влияние гетерозиготной мутации гена MTHFR на показатели функциональной активности Тр.

При сочетании дефектов тромбоцитарных и плазменных факторов свертывания выявлено наибольшее увеличение площади клетки. Значительное повышение фактора формы у пациенток с сочетанной генетической ТФ могло быть связано с повреждением эндотелия, приводящим к патологической активации Тр и развитию тромботических осложнений.

Не менее интересным оказалось изучение показателей плазменного компонента гемостаза в группах беременных женщин с различными вариантами ТФ. Данные исследования показателей внешнего и внутреннего путей образования протромбиназы и конечного этапа свертывания крови представлены в таблице 29.

Анализ данных коагуляционного гемостаза у здоровых женщин, имеющих нормальный генетический вариант рецепторов Тр и гетерозиготный полиморфизм A^2 , не показал существенных различий, но у женщин 2 группы, отмечалось повышение активности внутреннего пути образования протромбиназы, что отражалось в укорочении значений АЧТВ и АВР ($p \leq 0,05$).

Сравнение данных исследования плазменного гемостаза у женщин с генетической ТФ показало незначительное увеличение концентрации фибриногена в группах пациенток, имеющих генотип A^1/A^1 и гетерозиготный дисморфизм.

Таблица 29 – Изменение показателей прокоагулянтного звена гемостаза здоровых беременных женщин и пациенток с тромбофилией ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы пациенток	Показатели, единицы измерения				
	Фибриноген, г/л	АЧТВ, с	АВР, с	ППК, %	МНО
1 (n=128)	4,8±0,24	26,1±0,38	62,1±1,57	107,5±2,68	1,01±0,03
2 (n=24)	4,9±0,25	25,0±0,36*	57,2±1,58*	107,6±2,71	1,02±0,04
3 (n=136)	5,1±0,24	25,3±0,33	55,6±1,51*	112,5±2,52	0,94±0,01*
4 (n=35)	5,2±0,27	24,1±0,55*	54,8±1,73*	115,1±2,63*	0,92±0,03*
5 (n=39)	5,8±0,31*	24,5±0,69*	55,2±1,59*	119,5±2,9*	0,86±0,02*
6 (n=15)	5,6±0,29*	23,4±0,88	55,7±1,83*	118,7±2,53*	0,88±0,04*
7 (n=12)	5,7±0,34*	22,7±0,94*	54,6±1,91*	119,2±2,55*	0,87±0,03*
8 (n=19)	5,6±0,25*	23,1±0,87*	54,2±1,85*	122,6±2,9*	0,87±0,04*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

В 5 группе пациенток, имеющих гомозиготный полиморфизм ($P1^{A2}/P1^{A2}$) установлено увеличение значений фибриногена ($p \leq 0,05$). В группах женщин с ТФ, связанной с дефектами генов плазменного гемостаза, также отмечалось достоверное ($p \leq 0,05$) повышение концентрации фибриногена в сравнении с данными здоровых пациенток. Достоверные отличия значений фибриногена у женщин 6 - 8 групп не установлены.

Фибриноген – основной субстрат тромбина и предшественник фибрина, поэтому гиперфибриногемия у пациенток с гомо- и гетерозиготным дисморфизмом можно считать фактором риска развития тромботических осложнений в родах и послеродовом периоде.

У пациенток с ТФ выявлено установлено усиление внешнего механизма свертывания крови. У женщин с нормальным генетическим вариантом рецепторов Тр, наблюдалось повышение значений ППК до 112,5% и достоверное ($p \leq 0,05$) снижение МНО. У пациенток с генотипом $P1^{A1}/P1^{A2}$ МНО было снижено до 0,92, а ППК был увеличен до 115,1%. У пациенток с полиморфизмом $P1^{A2}/P1^{A2}$ показатель МНО достоверно ($p \leq 0,01$) снижался до 0,86, а ППК увеличивался до 119,5%. Наибольшие изменения показателей активности внешнего пути коагуляции выявлены у пациенток, имеющих дефекты

плазменного гемостаза, а особенно в 8 группе женщин, имеющих сочетание дефектов плазменного гемостаза и дисморфизма A^2 рецепторов Тр.

Оценку активности факторов внутреннего механизма проводили по данным АЧТВ и АВР. У всех женщин с клиническими проявлениями ТФ, за исключением пациенток с генотипом A^1/A^1 , установлено снижение показателя АЧТВ, что отражает наличие протромботического состояния и считается одним из факторов риска возникновения тромбозов. Самая высокая степень достоверности показателей ($p \leq 0,005$) наблюдалась в группах пациенток с гетерозиготной мутацией ф.V и MTHFR, в сравнении с показателями пациенток 1 группы. АВР было достоверно увеличено во всех группах пациенток с ТФ, наиболее достоверно ($p \leq 0,005$) низкий показатель АВР наблюдался в 8 группе пациенток (54, с.). Снижение значений АВР отражает усиление активности плазменных коагуляции и факторов Тр.

Таким образом, наличие дисморфизма гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa способствует усилению внешнего и внутреннего путей образования протромбиназы и конечного этапа свертывания крови.

Известно, что в диагностике тромбофилических состояний значительную роль играет определение активности естественных антикоагулянтов, состояния системы фибринолиза и маркеров тромбинемии. Данные статистического анализа в восьми группах беременных женщин представлены в таблице 30.

Значения D-димера отражают уровень процессов тромбообразования и фибринолитической активности. В группе женщин с ТФ с нормальным генотипом отмечалось увеличение D-димера до 0,45 мг/дл, у пациенток с гетерозиготным дисморфизмом он достоверно ($p \leq 0,005$) возрос до 0,46 мг/дл, у женщин с генотипом $P1^{A2}/P1^{A2}$ – до 0,54 мг/дл. У женщин с дефектами плазменного гемостаза 6 и 7 групп концентрация D-димера увеличилась до 0,49 мг/дл и 0,51 мг/дл, соответственно. Однако это повышение было не достоверно. Максимальный достоверный ($p \leq 0,05$) уровень D-димера отмечен в группе пациенток с сочетанной генетической ТФ (0,55 мг/дл).

Таблица 30 – Изменение показателей фибринолитической системы, звена естественных антикоагулянтов и маркеров тромбинемии здоровых беременных женщин и пациенток с тромбофилией ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы пациенток	Показатели, единицы измерения				
	D-димер, мг/дл	РФМК, мкг/мл	АТ III, %	Протеин С, %	ХПЗФ, мин
1 (n=128)	0,41±0,01	4,5±0,21	88,3±1,82	93,5±2,52	9,7±0,27
2 (n=24)	0,43±0,05	4,4±0,24	88,5±1,74	92,6±2,5	10,6±0,33
3 (n=136)	0,45±0,02	5,6±0,19*	83,2±1,79	88,5±1,42	10,4±0,26
4 (n=35)	0,46±0,07	5,9±0,37*	82,4±1,75*	87,6±1,57	12,8±0,35*
5 (n=39)	0,54±0,04*	6,5±0,43*	79,1±1,85*	83,5±1,57*	16,7±0,45*
6 (n=15)	0,49±0,07	6,7±0,59*	82,2±1,92	87,6±1,64	15,7±0,55*
7 (n=12)	0,51±0,07	6,9±0,71*	77,4±1,87	71,6±1,66	16,4±0,77*
8 (n=19)	0,55±0,06*	6,9±0,65*	78,2±1,84	70,1±1,64	19,4±0,75*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

У всех женщин с ТФ повышались значения РФМК. У пациенток 3 группы выше – на 9,7% ($p \leq 0,05$). У пациенток с гетерозиготным и гомозиготным полиморфизмом в гене рецепторов Тр GP IIb/IIIa, этот показатель достоверно ($p \leq 0,05$) был выше на 31% и 44%, соответственно. У всех пациенток с генетическими дефектами плазменного гемостаза концентрация РФМК была повышена достоверно ($p \leq 0,005$) в 1,5 раза в сравнении с данными женщин 1 группы. РФМК – это мономеры и олигомеры фибрина, а также их комплексы с ПДФ, отражающие активность тромбина *in vivo*. Благодаря количественному анализу, метод дает возможность проведения динамического контроля значений РФМК и эффективностью противотромботической терапии.

У женщин, с клиническими проявлениями ТФ, параллельно с усилением свертывающей активности крови наблюдалось снижение естественных ингибиторов коагуляции. У пациенток с нормальным генетическим вариантом рецепторов (генотип A^1/A^1), отмечено достоверное ($p \leq 0,05$) снижение активности АТ III и протеина С на 6% по сравнению со здоровыми женщинами. У женщин с гетерозиготным полиморфизмом уровень активности ингибитора АТ III был снижен на 7% ($p \leq 0,05$), а уровень активности ингибитора протеина

С – на 6,5%. Анализ активности ингибиторов свертывания у пациенток с гомозиготным полиморфизмом позволил установить ее снижение у АТ III и протеина С в среднем на 11%, в сравнении с пациентками 1 группы ($p \leq 0,001$). Наиболее выраженные достоверные ($p \leq 0,001$) изменения активности антикоагулянтов отмечались у пациенток 7 и 8 групп. Активность АТ III была снижена на 12,3% и 11,4% соответственно, а активность протеина С – более, чем на 20%. Возможно, снижение уровня активности АТ III у пациенток с ТФ связано с усилением активности свертывающей системы и потреблением их на инактивацию сериновых протеаз. Снижение активности протеина С связано с наличием мутантного ф.V Leiden.

Сравнение степени изменений ХПЗФ у пациенток с клиническими проявлениями ТФ показало, что наиболее значительно этот показатель изменялся у пациенток, имеющих полиморфизм PI^{A2}/PI^{A2} в гене рецепторов Tr GP IIb/IIIa, и у пациенток, имеющих дефекты генов плазменного гемостаза. У обследуемых 1 группы и женщин с ТФ и генотипом A^1/A^1 не были установлены четкой динамические изменения фибринолитической активности крови.

Таким образом, анализ лабораторных данных показал, что количественные показатели Tr у здоровых женщин достоверно не отличались, но у женщин с гетерозиготным полиморфизмом в тромбоцитарном гене GP IIb/IIIa отмечалось усиление агрегации с АДФ. Анализ данных продемонстрировал достоверное ($p \leq 0,001$) усиление агрегации с АДФ. При анализе морфометрических показателей Tr, выявлено достоверное ($p \leq 0,001$) увеличение молодых форм, усиление образования псевдоподий и насыщенности Tr гранулами в группе обследуемых с полиморфизмом PI^{A1}/PI^{A2} , в сравнении данными гемостаза женщинами с нормальным генетическим вариантом, что косвенно свидетельствует об усилении их функциональной активности.

Главными показателями усиления активности тромбоцитарного звена у здоровых женщин и гетерозиготным полиморфизмом PI^{A2} можно считать параметры морфометрического исследования и агрегации с АДФ.

Анализ данных коагуляционного звена системы гемостаза здоровых женщин отражает усиление внутреннего пути образования протромбиназы у обследуемых с гетерозиготным полиморфизмом тромбоцитарного гена GP IIb/IIIa при сравнении с данными женщин с генотипом $P1^{A1}/P1^{A1}$. Можно предположить, что это следствие участия в снижении активности активированных коагуляционных факторов в родах. Кроме того установлено некоторое снижение активности фибринолитической системы у женщин с гомозиготным полиморфизмом ($P1^{A1}/P1^{A2}$) и, можно предположить, что именно это способствует развитию гиперкоагуляционной направленности гемостаза. Установленные гемостазаологические изменения, возможно, имеют физиологическую, компенсаторно-приспособительную роль в адаптации к родовому процессу, и подтверждают данные А.Д. Макацария (2004) и D. Mufson (2008).

Оценка состояние гемостаза у женщин с ТФ показала, что общее количество и индексы Тр не выходят за границы нормальных показателей, но отмечается достоверное ($p \leq 0,001$) снижение количества Тр у женщин с генотипом $P1^{A2}/P1^{A2}$, увеличение MPV и PDW. Установлено усиление агрегационной активности Тр с агонистами, а также усиление образования псевдоподий и омоложение популяции Тр по показателям морфометрии. При этом у пациенток с полиморфизмом $P1^{A2}/P1^{A2}$ и при сочетании полиморфизма $P1^{A1}/P1^{A2}$ с дефектами генов плазменного гемостаза установлены самые выраженные изменения показателей. Таким образом, установлено, что полиморфизм A^2 тромбоцитарного рецептора GP IIb/IIIa приводит к усилению агрегационной активности Тр. Это могло способствовать развитию гиперкоагуляции и появлению тромботических осложнений.

Проведение анализа показателей коагуляции гемостаза установлены гемостазаологические изменения, характеризующиеся усилением свертываемости крови, повышение уровня тромбинемии и ингибиторов свертывания крови, а также, снижением фибринолитической активности.

На рисунке 26 графически представлено увеличение некоторых маркеров ТФ у пациенток с различными генетическими дефектами генов гемостаза, где для наглядности показатели женщин 1 группы приняты за 100%.

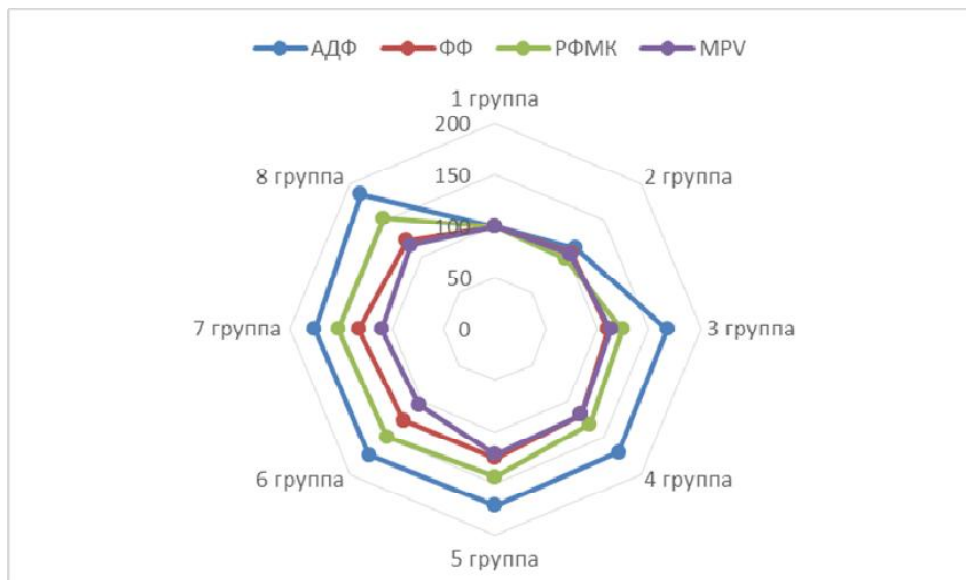


Рисунок 26 – Изменение показателей гемостаза в группах обследуемых женщин

Использованные показатели коагуляционного гемостаза могут служить предикторами развития тромбозов, их изменения служить поводом для применения антикоагулянтов. Таким образом, результаты исследований системы гемостаза подтверждают клиническую картину тромбогенных осложнений у женщин с клиническими проявлениями ТФ и могут иметь прогностическое значение.

О важном значении генетического полиморфизма A^2 рецепторного комплекса GP IIb/IIIa в развитии тромботических состояний гестационного периода говорит то, что самые яркие изменения параметров Тр, а также изменения коагуляционного гемостаза наблюдалось в группе пациенток, имеющих гомозиготный полиморфизм этого гена, и при сочетании полиморфизма $P1^{A1}/P1^{A2}$ с дефектами плазменного гемостаза.

Учитывая что, наличие гетерозиготного полиморфизма $P1^{A2}$ установлено у здоровых женщин, то можно предположить, что он не всегда приводит к возникновению болезни, возможно, этому способствуют другие провоци-

рующие факторы. Обнаружение мутаций и полиморфизма в генах служит поводом для мониторингирования гемостазаологических показателей, так как наличие генетического полиморфизма, а особенно при сочетании с другими дефектами генов, может способствовать развитию тромботических состояний.

Клинические проявления тромботических осложнений у пациенток, не имеющих полиморфизма гена Тр, говорит в пользу полиэтиологичности этих состояний.

Таким образом, развитие ТФ может основываться на различных патогенетических механизмах. Их изучение будет способствовать дифференцированному, и более эффективному к диагностики и профилактики развития тромботических осложнений. Раннее выявление этих пациентов позволит своевременно проводить противотромботическую и антикоагулянтную терапии и предотвратить возникновение тромботических состояний у женщины в течении гестационного процесса и после родов.

5.3. Изменение показателей гемостаза новорожденных детей, родившихся у здоровых женщин и пациенток с тромбофилией

Известно, что во время беременности создается замкнутая цепь взаимосвязанных гемодинамических реакций матери и плода, которая при врожденных и приобретенных нарушениях специфически изменяет состояние гемостаза и матери, и плода. Риск антенатальной гибели плода увеличивается в несколько десятки раз (Макаров, О.В. и др., 2006).

В нашем исследовании было показано, что патологические изменения гемостаза матерей, страдающих ТФ, оказывают влияние на морфофункциональную активность клеток их детей, что выражается в изменении количественных Тр, тромбоцитарных индексов, повышении агрегационной активности клеток и интенсификации тромбоцитопоеза.

Доказано прокоагулянтное влияние генетического полиморфизма A^2 тромбоцитарных рецепторов на состояние гемостаза родильниц.

Известно, что тромбофилические состояния беременности способствуют формированию плацентарной недостаточности и хронической внутриутробной гипоксии плода, что может приводить к развитию у новорожденного перинатальной энцефалопатии (Пюрбеева Е.Н, 2007; Рогалева Т.Е. и др., 2008; Пизова Н.В., и др., 2013).

В соответствии с поставленными в исследовании задачами было проведено изучение динамики количественных, функциональных и морфометрических параметров Тр и показателей плазменного гемостаза детей, родившихся от здоровых матерей и от женщин с тромботическими осложнениями, в зависимости от наличия дефекта тромбоцитарного рецептора GP IIb/IIIa и/или дефектов генов плазменного гемостаза.

Обследованные новорожденные дети были условно разделены на следующие группы: 1 – новорожденные дети женщин с физиологически протекающей беременностью и родами, имеющие нормального генетический вариант рецепторов Тр GP IIb/IIIa (A^1/A^1) ($n=128$);

2 – дети здоровых пациенток с гетерозиготным вариантом полиморфизма ($P1^{A^1}/P1^{A^2}$) ($n=24$);

3 – дети пациенток с ТФ и имеющие нормальные генетический варианта рецепторов Тр GP IIb/IIIa. (A^1/A^1) ($n=136$);

4 – дети пациенток с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом ($P1^{A^1}/P1^{A^2}$) ($n=35$);

5 – дети пациенток с ТФ и гомозиготным полиморфизмом $P1^{A^2}/P1^{A^2}$ ($n=39$);

6 – дети пациенток с ТФ и изолированной гетерозиготной мутацией в гене MTHFR ($n=15$);

7 – дети пациенток с ТФ и сочетанием в гетерозиготной мутацией гена MTHFR и гена ф.V ($n=12$);

8 – дети пациенток с ТФ, имеющих мутацию гена MTHFR гена ф.V, а также гетерозиготный полиморфизм P1^{A1}/P1^{A2} (n=19).

Лабораторное обследование новорожденных включало выполнение общего анализа крови с исследованием количества Тр и тромбоцитарных индексов, исследование агрегационной активности Тр и показателей морфометрии, а также комплексное исследование плазменного гемостаза.

Обследование детей проводили в течение первых суток после рождения.

С целью оценки влияния генетического полиморфизма на состояние тромбоцитарного гемостаза проводили исследование общего количества Тр в периферической крови и тромбоцитарных индексов (MPV, PCT, PDW). Данные исследований представлены в таблице 31.

Анализируя количественные показатели Тр установили, что у детей, родившихся у здоровых женщин (1 и 2 группы) средний объем, тромбокрит и индекс гетерогенности практически не отличались между собой, однако отмечено достоверное ($p \leq 0,05$) повышение общего количества Тр у детей 2 группы.

Таблица 31 – Изменение количественных показателей Тр в группах обследуемых новорожденных ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы новорожденных	Показатели, единицы измерения			
	PLT, $10^9/\text{л}$	MPV, фл	PCT, %	PDW, %
1 (n=128)	225,4 $\pm$ 7,6	9,4 $\pm$ 0,17	0,25 $\pm$ 0,008	17,2 $\pm$ 0,16
2 (n=24)	231,3 $\pm$ 7,9	9,3 $\pm$ 0,22	0,26 $\pm$ 0,009	17,3 $\pm$ 0,18
3 (n=136)	252,1 $\pm$ 9,4	9,4 $\pm$ 0,20	0,26 $\pm$ 0,007	17,7 $\pm$ 0,16*
4 (n=35)	261,8 $\pm$ 10,8*	10,3 $\pm$ 0,24*	0,27 $\pm$ 0,008	17,7 $\pm$ 0,16*
5 (n=39)	253,1 $\pm$ 12,4*	11,1 $\pm$ 0,25*	0,28 $\pm$ 0,008*	18,6 $\pm$ 0,17*
6 (n=15)	247,4 $\pm$ 11,9	10,7 $\pm$ 0,27*	0,24 $\pm$ 0,010	17,9 $\pm$ 0,18*
7 (n=12)	245,9 $\pm$ 12,3	10,1 $\pm$ 0,28*	0,23 $\pm$ 0,011	17,7 $\pm$ 0,19*
8 (n=19)	285,1 $\pm$ 14,3*	10,8 $\pm$ 0,26*	0,38 $\pm$ 0,009*	19,1 $\pm$ 0,18*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

При сравнении данных показателей тромбоцитарного гемостаза детей, родившихся от женщин без дефекта гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa, выявлено достоверное увеличение PDW ($p \leq 0,05$).

Проводя анализ показателей Тр детей 1 группы с новорожденными от матерей, имеющих гетерозиготный вариант полиморфизма ($P1^{A1}/P1^{A2}$) – группа 4, выявлено достоверное изменение количества Тр, MPV и PDW, значение которых составили: PLT – $261,8 \cdot 10^9/\text{л}$, MPV – 10,3 фл и PDW – 17,7% ($p \leq 0,01$).

У детей, родившихся от женщин с гомозиготным полиморфизмом тромбоцитарного рецептора ($P1^{A2}/P1^{A2}$), выявлено достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение общего количества клеток на 12,2% в сравнении с показателем в 1 группе новорожденных, а показатели MPV, PCT и PDW были выше на 18%, 12% и 8%, соответственно.

При проведении сравнительного анализа тромбоцитарных параметров новорожденных, матери которых имели мутации генов плазменного гемостаза, нами установлено, что количество Тр в 6 - 8 группах новорожденных было увеличено на 9,7%, 9% и 26,4%, соответственно, однако достоверное ($p \leq 0,001$) увеличение наблюдалось только в 8 группе детей. Тромбоцитарные индексы детей 6 - 8 групп также имели различия в сравнении с показателями детей 1 группы. Средний объем Тр в группах детей 6 и 7 групп, матери которых имели дефекты генов плазменного гемостаза, составил 10,7 фл и 10,1 фл соответственно, а наибольший объем отмечен в 8 группе детей (10,8 фл). Тромбокрит у детей 8 группы превышал показатель у детей 1 группы на 52%, однако в 6 и 7 группах детей отмечалась тенденция к его снижению. Показатель анизоцитоза Тр у детей 6 группы составил 17,9%, у детей 7 группы – 17,7%, а максимальное достоверное возрастание этого показателя отмечено в 8 группе детей ($19,1 \pm 0,18\%$; $p \leq 0,001$). Увеличение среднего объема клеток и повышение PDW косвенно свидетельствует о повышении их функциональной активности.

Таким образом, данные, полученные у новорожденных, демонстрируют повышение некоторых количественных показателей Тр в группах детей, родившихся от пациенток с ТФ. Наибольшие изменения отмечаются в группе детей, матери которых имели полиморфизм $P1^{A2}/P1^{A2}$ гена рецепторов Тр, а также в 8 группе детей, матери которых имели полиморфизм $P1^{A1}/P1^{A2}$ в сочетании с мутациями генов MTHFR и ф.V.

Оценку функциональной активности Тр новорожденных детей проводили путем исследования агрегации с индукторами АДФ, коллагеном и ристоцетином в стандартных концентрациях.

Известно, что агрегационная активность Тр в крови новорожденных, индуцированная АДФ, коллагеном, тромбином и др., значительно варьирует, но имеется тенденция к более низким значениям показателей в сравнении с показателями агрегации взрослых людей (Бондарь Т.П. и др., 2012).

Анализ агрегационной активности Тр показал, что показатели детей, рожденных у здоровых матерей, существенно не отличались. Данные агрегационной активности представлены в таблице 32.

Таблица 32 – Изменение агрегационной активности Тр в группах обследуемых новорожденных ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы новорожденных	Показатели, единицы измерения		
	АДФ, %	Коллаген, %	Ристоцетин, %
1 (n=128)	4,51±0,17	1,18±0,12	21,2±0,5
2 (n=24)	4,92±0,52	1,21±0,96	21,9±0,35
3 (n=136)	5,32±0,23*	1,85±0,24*	23,5±1,15
4 (n=35)	5,54±0,25*	1,88±0,14*	27,5±1,25*
5 (n=39)	7,01±0,68*	1,94±0,12*	29,2±1,28*
6 (n=15)	5,37±0,53	1,79±0,26	22,1±1,18
7 (n=12)	5,33±0,53	1,80±0,27	23,2±1,19
8 (n=19)	5,49±0,31*	1,84±0,21*	27,1±1,33*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

Сравнивая показатели агрегационной активности Тр в группах детей, рожденных от женщин с ТФ, выявлено, что у детей 3 группы на воздействие коллагена (0,2 мг/мл) и АДФ (200 мкМ) происходило достоверное ($p \leq 0,05$)

усиление агрегационной активности на 56,7% и 17,9%, соответственно. На воздействие ристоцетина в дозе 5 мкМ/мл агрегационная активность увеличилась на 10,8%, однако увеличение этого показателя было не достоверно.

В группе детей, матери которых имели гетерозиготный генетический полиморфизм рецепторов, установленное значительное ($p \leq 0,001$) усиление агрегационной активности: с АДФ – на 22,8%, с ристоцетином – на 29,7%, с коллагеном – на 59,3%, против показателей агрегации новорожденных 1 группы. В группе детей, от матерей с полиморфизмом PI^{A2}/PI^{A2} , отмечалось наиболее выраженное усиление агрегационной активности со всеми индукторами. Так, АДФ-индуцированная агрегация в 5 группе достоверно ($p \leq 0,001$) составила 7,01%, с коллагеном – 1,94%, а с ристоцетином – 29,2%.

Сравнивая показатели агрегации Тр новорожденных детей, матери которых имели дефекты генов плазменного гемостаза, достоверные ($p \leq 0,01$) изменения были выявлены только в 8 группе детей, АДФ и коллаген-индуцированная агрегация составила 5,59% и 1,84%, соответственно, а с ристоцетином – 27,1%. Показатели агрегационной активности детей 7 группы, матери которых имели нормальный вариант гена рецепторов Тр (PI^{A1}/PI^{A1}), были сопоставимы с показателями 3 группы, но имели тенденцию (изменения не были достоверны) к увеличению, в сравнении с показателями детей здоровых женщин 1 группы.

Интересным, на наш взгляд, представлялось проведение морфометрического анализа Тр новорожденных, родившихся от здоровых женщин и женщин с клиническими проявлениями ТФ в зависимости от наличия генетического дисморфизма A^2 в гене Тр GP IIb/IIIa и мутаций генов плазменного гемостаза. В доступной нам литературе мы не нашли данных о проведении подобных исследований Тр. В таблицах 33 и 34 представлены геометрические и цветояркие параметры Тр новорожденных.

Таблица 33 – Изменение геометрические параметров Тр в группах обследуемых новорожденных ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы новорожденных	Показатели, единицы измерения		
	Диаметр Тр, мкм	Площадь Тр, мкм ²	Фактор формы, у.е.
1 (n=128)	2,25±0,11	4,22±0,14	13,54±0,18
2 (n=24)	2,29±0,15	4,78±0,22*	15,08±0,20*
3 (n=136)	2,57±0,11*	5,33±0,21*	17,03±0,15*
4 (n=35)	2,69±0,12*	6,73±0,45*	19,53±0,16*
5 (n=39)	3,37±0,14*	9,56±0,52*	20,41±0,27*
6 (n=15)	2,62±0,15*	6,27±0,52*	19,21±0,53*
7 (n=12)	2,64±0,16*	6,19±0,54*	19,28±0,54*
8 (n=19)	3,24±0,15*	7,15±0,64*	20,02±0,51*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

Таблица 34 – Изменение цветояркостных параметров Тр в группах обследуемых новорожденных ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы новорожденных	Показатели, единицы измерения		
	Доля синего цвета, у.е.	Доля красного цвета, у.е.	ИОТр, у.е.
1 (n=128)	0,31±0,002	0,35±0,002	0,88±0,003
2 (n=24)	0,32±0,005	0,35±0,005	0,91±0,015
3 (n=136)	0,36±0,002*	0,34±0,002*	1,05±0,002*
4 (n=35)	0,35±0,003*	0,33±0,001*	1,06±0,07*
5 (n=39)	0,41±0,004*	0,32±0,018*	1,28±0,07*
6 (n=15)	0,34±0,018	0,33±0,02	1,03±0,08*
7 (n=12)	0,33±0,019	0,33±0,019	1,00±0,08*
8 (n=19)	0,38±0,018*	0,32±0,018*	1,18±0,08*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

При проведении анализа показателей цитоморфометрии Тр новорожденных, от женщин без клинических проявлений ТФ, выявлено достоверное ($p \leq 0,001$) увеличение функциональной активности Тр в группе 2, о чем свидетельствует увеличение площади Тр и повышение показателя фактора формы Тр. Отмечается тенденция увеличения ИОТр, но изменения этого показателя между 1 и 2 группами не достоверны.

При анализе межгрупповых отличий геометрических и цветояркостных параметров Тр новорожденных, родившихся у здоровых матерей и матерей с клиническими проявлениями ТФ, обращает на себя внимание достоверное

($p \leq 0,001$) изменение всех геометрических параметров Тр. Так у детей 3 - 8 групп достоверно ($p \leq 0,001$) увеличены средний диаметр Тр, площадь клетки и ФФ в сравнении с показателями 1 группы.

Так, достоверные ($p \leq 0,001$) наиболее выраженные изменения морфометрических параметров клеток наблюдались у детей, матери которых страдали ТФ и имели гомозиготный полиморфизм ($P1^{A2}/P1^{A2}$) – 5 группа. При этом разница между данными 5 1 группами детей, которую мы указали в процентном соотношении составила: между показателем диаметра – 49,7%, площади Тр – 126,5%, фактора формы – 44,4%. Аналогичные результаты были получены в группе детей от женщин с гетерозиготным полиморфизмом. Они составили 31,5%, 59,4% и 34,3%, соответственно, а в группе с нормальным генотипом – 14,2%, 26,3% и 17,1%, соответственно. Похожие изменения всех морфометрических показателей наблюдались и в 8 группе детей. Диаметр Тр составил 3,24 мкм, фактор формы – 20,02 у.е., что сопоставимо с показателями в 5 группе. Показатель площади был достоверно ($p \leq 0,001$) увеличен в сравнении с данными новорожденных 1 группы и составил 7,15 мкм². Однако он был на 33,7% ниже, чем в 5 группе. Показатели морфометрии детей, матери которых имели мутации в генах плазменного гемостаза и нормальный вариант гена рецепторов Тр, также достоверно отличались от показателей 1 группы. В наибольшей степени отличались площадь Тр и фактор формы, они были сопоставимы с данными детей от матерей, имеющих гетерозиготный полиморфизм гена рецептора Тр.

Отмечено увеличение молодых «активных» форм Тр, по данным изменения ИОТр, у всех новорожденных, матери которых имели гиперкоагуляционные расстройства, однако, самые яркие изменения выявлены у детей от пациенток с гомозиготной мутацией (1,28 у.е.). Второй по значению результат был в 8 группе детей (1,18 у.е.).

При сравнительном анализе установлено, что количество, тромбоцитарные индексы и агрегация Тр детей, родившихся у здоровых женщин практически не отличались между собой, за исключением достоверного ($p \leq 0,05$)

повышения количества Тр во 2 группе детей от женщин с гетерозиготным полиморфизмом рецепторного комплекса. Анализе данных морфометрии позволил установить достоверное ($p \leq 0,05$) повышение активности Тр омоложение популяции Тр в группе детей от пациенток с полиморфизмом $P1^{A1}/P1^{A2}$, в сравнении с 1 группой новорожденных.

Наиболее чувствительными критериями активации тромбоцитарного гемостаза у новорожденных, родившихся от здоровых матерей с гетерозиготным полиморфизмом гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa, оказались показатели морфометрического анализа.

Таким образом, при рассмотрении межгрупповых отличий показателей Тр новорожденных, родившихся от женщин с ТФ, мы обнаружили следующую закономерность. У детей 3 - 8 групп достоверно ($p \leq 0,05$) измененным оказался показатель анизоцитоза. У детей 4 - 8 групп наблюдается увеличение среднего объема Тр. Достоверные ($p \leq 0,05$) изменения количества клеток и тромбокрита наблюдались в группе детей, матери которых имели гомозиготный полиморфизм A^2A^2 , и у детей, матери которых имели сочетание мутаций плазменного гемостаза и полиморфизм A^1A^2 . Выявленные изменения иллюстрируют увеличение гетерогенности тромбоцитарного ростка за счет появления крупных и гигантских клеток с усиленной функциональной активностью. Наиболее высокая степень достоверности изменений выявлена в 5 и 8 группах детей ($p \leq 0,001$).

Усиление функциональной активности Тр обнаружено и по данным агрегатограмм. Так в 3 группе детей отмечено достоверное ($p \leq 0,05$) повышение агрегации с АДФ и коллагеном. В группах детей, матери которых имели полиморфизм $P1^{A1}/P1^{A2}$ и $P1^{A2}/P1^{A2}$ гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa, отмечалось повышение агрегационной активности со всеми индукторами, но наиболее высокие значения выявлены в 5 группе детей. У детей, от матерей с ТФ и нормальным вариантом гена Тр, имелась только тенденция увеличения агрегационной активности клеток, но изменения не были достоверными.

По данным морфометрического анализа выявлено усиление функциональной активности Тр во всех группах детей, родившихся от матерей с тромботическими осложнениями. Однако наиболее выраженные изменения показателей отмечены в группе детей от пациенток с полиморфизмом $P1^{A2}/P1^{A2}$ и от женщин, имеющих сочетание дефектов плазменного гемостаза и полиморфизм $P1^{A1}/P1^{A2}$.

Таким образом, наличие у женщин генетического полиморфизма в гене рецептора Тр IIb/IIIa оказывает влияние на функциональную активность Тр их детей, что выражается в изменении количественных, функциональных и морфометрических показателей Тр. Наличие мутации генов плазменного гемостаза женщин приводило к изменению морфо-функциональных характеристик Тр их детей, однако наибольшие изменения наблюдались при сочетании «плазменного» и «тромбоцитарного» дефектов.

Изменение показателей тромбоцитарного гемостаза в группах детей, родившихся у женщин с различными вариантами наследственной ТФ, послужило основанием для проведения комплексной оценки показателей плазменного компонента гемостаза на современных аналитических системах.

Исследование показателей гемостаза проводили в первые сутки после рождения. Данные представлены в таблицах 35-36.

Анализ данных коагуляционного гемостаза младенцев, матери которых не имели тромбофилических расстройств, не выявил достоверных отличий в группах.

При сравнении данных исследования плазменного гемостаза в группах новорожденных, матери которых страдали ТФ, выявлено, что показатели общеоценочного теста внутреннего механизма свертывания – АЧТВ имели гиперкоагуляционную направленность у детей 4 - 8 групп в сравнении с показателями новорожденных 1 группы. Так у новорожденных 4 группы этот показатель был достоверно ($p \leq 0,001$) ускорен на 17,2%, в 5 группе – на 28%, в 6 и 7 группах детей – на 10,3% и 9,1%, соответственно. В 8 группе свертывающая активность плазмы по данным АЧТВ была достоверно ($p \leq 0,001$) из-

менена на 23% и составила в среднем 35,7 с. Достоверное ($p \leq 0,001$) удлинение этого показателя отмечалось только у новорожденных 3 группы.

Таблица 35 – Изменение показателей прокоагулянтного звена гемостаза в группах обследуемых новорожденных ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы новорожденных	Показатели, единицы измерения			
	АЧТВ, с	ППК, %	ТВ, с	Фибриноген, г/л
1 (n=128)	46,4 $\pm$ 0,41	78,6 $\pm$ 1,49	22,3 $\pm$ 0,62	2,18 $\pm$ 0,15
2 (n=24)	47,3 $\pm$ 0,40	77,3 $\pm$ 1,84	25,1 $\pm$ 0,37	2,22 $\pm$ 0,19
3 (n=136)	44,2 $\pm$ 0,38*	83,8 $\pm$ 1,79*	21,3 $\pm$ 0,37	2,13 $\pm$ 0,14
4 (n=35)	38,4 $\pm$ 0,56*	85,1 $\pm$ 2,23*	21,6 $\pm$ 0,58	2,8 $\pm$ 0,24
5 (n=39)	33,4 $\pm$ 0,57*	87,5,5 $\pm$ 2,61*	22,4 $\pm$ 0,51	2,9 $\pm$ 0,25*
6 (n=15)	41,6 $\pm$ 0,9*	88,9 $\pm$ 2,69*	17,6 $\pm$ 0,83*	2,21 $\pm$ 0,29
7 (n=12)	42,1 $\pm$ 0,91*	90,2 $\pm$ 2,75*	18,2 $\pm$ 0,94*	2,34 $\pm$ 0,31
8 (n=19)	35,7 $\pm$ 0,85*	91,6 $\pm$ 2,87*	16,1 $\pm$ 0,61*	2,57 $\pm$ 0,28

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

У младенцев, родившихся у женщин с ТФ, в раннем неонатальном периоде отмечено усиление активности внешних механизмов коагуляции. Так у детей, матери которых имели генотип ($P1^{A1}/P1^{A1}$), отмечено увеличение ППК до 83,8%. У детей 4 группы ППК достоверно ($p \leq 0,05$) увеличен до 85,1%, а у новорожденных матерей 5 группы ППК составил 87,5%. Наиболее выраженные изменения ППК наблюдались у детей от женщин, имеющих дефекты плазменного гемостаза (6-8 групп). ППК достоверно ($p \leq 0,001$) увеличен на 13,1%, 14,7% и 16,5%, соответственно.

Анализ конечного этапа свертывания крови, оцениваемый по данным исследования ТВ, показал, что показатели во всех группах детей не выходили за рамки референсных границ, однако отмечена тенденция гиперкоагуляционной направленности у детей 6 - 8 групп. У детей 6 и 7 групп наблюдалось достоверное ($p \leq 0,001$) ускорение образования сгустка на 21% и 18,3%, соответственно. Максимальное ускорение коагуляции на 27,8% выявлено у детей 8 группы.

Отмечена тенденция увеличения концентрации фибриногена у детей 4 группы. Однако, достоверно этот показатель ($p \leq 0,05$) изменялся в 5 группе

младенцев с гомозиготным вариантом полиморфизма гена рецепторов Tr GP IIb/IIIa (P1^{A2}/P1^{A2}).

Таблица 36 – Изменение показателей фибринолитической системы, звена естественных антикоагулянтов и маркеров тромбинемии в группах обследуемых новорожденных ($X \pm m$; $p \leq 0,05$)

Группы новорожд.	Показатели, единицы измерения				
	АТ III, %	Протеин С, %	D-димер, мг/дл	РФМК, мкг/мл	Плазминоген, %
1 (n=128)	77,1 $\pm$ 1,57	70,8 $\pm$ 1,21	0,66 $\pm$ 0,01	4,91 $\pm$ 0,28	58,2 $\pm$ 1,32
2 (n=24)	78,4 $\pm$ 1,63	72,3 $\pm$ 1,33	0,62 $\pm$ 0,02	4,86 $\pm$ 0,29	59,8 $\pm$ 1,41
3 (n=136)	71,5 $\pm$ 1,25	64,1 $\pm$ 1,34	0,71 $\pm$ 0,02*	5,57 $\pm$ 0,18	57,9 $\pm$ 1,27
4 (n=35)	67,3 $\pm$ 2,11*	62,2 $\pm$ 1,97*	0,76 $\pm$ 0,04*	5,74 $\pm$ 0,29	58,4 $\pm$ 1,73
5 (n=39)	63,1 $\pm$ 2,08*	60,2 $\pm$ 2,16*	0,91 $\pm$ 0,05*	6,92 $\pm$ 0,37*	42,6 $\pm$ 2,01*
6 (n=15)	59,7 $\pm$ 1,65*	54,8 $\pm$ 1,39*	0,96 $\pm$ 0,07*	6,12 $\pm$ 0,51	54,6 $\pm$ 1,27
7 (n=12)	56,8 $\pm$ 1,96*	52,2 $\pm$ 2,11*	0,94 $\pm$ 0,07*	5,92 $\pm$ 0,59	55,1 $\pm$ 2,23
8 (n=19)	57,1 $\pm$ 1,29*	53,2 $\pm$ 1,47*	1,11 $\pm$ 0,06*	6,81 $\pm$ 0,54*	49,4 $\pm$ 1,27*

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с группой 1

В группах детей от женщин с ТФ, связанными с дефектами генов плазменного гемостаза (6 - 8 группы) показатели фибриногена практически не отличались от таковых у детей 1 группы.

В основе функционирования системы гемостаза лежит баланс между прокоагулянтами и антикоагулянтами. Главными из последних считаются ПС и АТ III.

У детей, матери которых имели нормальный генетический вариант рецепторов (P1^{A1}/P1^{A1}), установлено незначительное угнетение ингибиторов свертывания крови в сравнении с показателями активности детей 1 группы, которые были снижены на 5,1% и 6,4%. У младенцев 4 группы уровень активности АТ III снижен на 10,7% ($p \leq 0,01$), а уровень активности протеина С – на 9,1%. В 5 группе новорожденных уровень активности ингибиторов составил 63,1% и 60,2%, а достоверность различий в сравнении с данными детей 1 группы была $p \leq 0,001$ и $p \leq 0,01$, соответственно. Наибольшие изменения активности антикоагулянтов выявлены в 7 - 8 группах, активность АТ III бы-

ла достоверно ($p \leq 0,001$) снижена на 24,6% и 24,2%, соответственно, активность протеина С была снижена на 23,3% и 22,3%, соответственно.

Показатели D-димера, свидетельствующие об уровне фибринолитической активности и смещении баланса в сторону гиперкоагуляции, были увеличены во всех группах обследуемых детей, по сравнению с данными взрослых людей. У детей 3 и 4 группы D-димер был достоверно ($p \leq 0,05$) увеличен до 0,71 мг/дл и 0,76 мг/дл соответственно. У младенцев 5-7 групп концентрация D-димера была увеличена на 37,8%, 45,4 и 42,4% соответственно, по сравнению с показателями детей 1 группы. Максимальный уровень D-димера достоверно ($p \leq 0,001$) отмечен в группе детей, матери которых имели сочетанную генетическую ТФ (1,11 мг/дл).

Установленные изменения позволяют предположить, что снижение активности ингибиторов у детей 3 - 8 групп, при нормальной концентрации фибриногена способствуют усилению прокоагулянтной активности плазмы, что находит отражение в повышении уровней D-димера.

У всех обследованных детей установлено наличие РФМК, причем уровни превышали референсные значения взрослых. У детей, матери которых имели генетическую ТФ, концентрации РФМК были выше, чем у новорожденных 1 и 2 групп, однако достоверно увеличенными были показатели детей 5 и 8 групп ($p \leq 0,001$ и $p \leq 0,005$, соответственно).

Уровень плазминогена имел тенденцию к снижению у детей, матери которых имели дефекты генов только плазменного гемостаза (6 - 7 группы). Однако достоверные ($p \leq 0,001$) изменения обнаружены только в группе детей, матери которых имели гомозиготный полиморфизм рецепторов Тр $P1^{A2}/P1^{A2}$, а также, при сочетании гетерозиготного полиморфизма и дефектов плазменного гемостаза (5 и 8 группы).

Результаты исследований позволили установить значительное усиление коагуляционного потенциала у детей, матери которых имели генетический полиморфизм $P1^{A2}/P1^{A2}$ гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa (5 группа) и сочетание гетерозиготной мутации этого гена с дефектами плазменного гемо-

стаза, по сравнению с новорожденными 1 группы. Выявленные особенности наблюдались и у детей в 6 - 7 группах, что свидетельствует о достоверном увеличении коагуляционного потенциала у новорожденных от матерей с дефектами плазменного гемостаза.

Установлена взаимосвязь гемостазаологических показателей, что свидетельствует о балансе внешнего и внутреннего механизмов коагуляции. Более выраженные изменения показателей имели место у новорожденных 5 и 8 групп. Можно предположить наличие напряженности в коагулянтной системе у этих групп детей.

Все тесты, отражающие основные этапы коагуляции, вероятно, свидетельствуют о наличии онтогенетических различий при развитии системы свертывания крови новорожденного в условиях наличия генетического дефекта генов гемостаза у матери.

Следует отметить, что в условиях усиления коагулянтного потенциала крови, снижение резерва естественных антикоагулянтов, особенно у детей, матери которых имели дисморфизм A^2A^2 гена рецепторов Тр, может способствовать формированию дисбаланса про- и антикоагулянтных механизмов, и быть причиной развития декомпенсированных нарушений гемостаза в условиях патологии.

5.4. Корреляционные взаимосвязи гемостазиологических и биохимических показателей у беременных женщин с тромбофилией

Общеизвестно, что организм является единой системой, состоящей из множества структурных и функциональных систем и подсистем (Крыжановский, Г. Н., 2011). Основные положения системного подхода включают следующие утверждения: система есть некое множество взаимосвязанных элементов, образующих устойчивое существо (целостность), целое больше суммы входящих в неё частей, всякая система является в то же время частью

другой, более широкой системы, а её компоненты и подсистемы, в свою очередь, могут изучаться как самостоятельные системы.

Системный принцип организации адаптивного реагирования на внешнесредовые факторы рассматривается как базовый механизм жизнедеятельности организма и подразумевает, что все виды приспособительной деятельности физиологических систем и целостного организма осуществляются посредством иерархически организованных динамических объединений, включающих отдельные элементы одного или разных органов (физиологических систем). Одной из основных характеристик системного обеспечения адаптивных реакций является иерархичность их организации. Иерархия динамически сочетает принцип автономности с принципом соподчинения. Наряду с гибкостью и надежностью в иерархически организованных системах достигается высокая энергетическая, структурная и информационная экономичность. Иерархичность организации основывается на тесном взаимодействии элементов как на одном уровне, так и на разных уровнях систем и определяет высокую устойчивость и динамичность осуществляемых процессов (Безруких, М.М. и др., 2003).

Ранее нами было показано, что наличие дисморфизма A^2 гена рецепторов у беременных женщин приводит к усилению свободно-радикальных реакций, снижению АОА, увеличению выработки провоспалительных цитокинов, избыточному образованию NO (Муратова А.Ю. и др., 2016).

Сопоставление частоты метаболических нарушений у пациенток с ТФ с характером и тяжестью изменений показателей гемостаза привело нас к выводу о влиянии вышеуказанных расстройств на развитие коагуляционных нарушений у женщин с полиморфизмом A^2 .

Для подтверждения этого нами проведен корреляционный анализ гуморальных и гемостазиологических показателей.

При проведении корреляционного анализа нами установлены положительные корреляционные связи между повышением уровня МДА сыворотки и увеличением показателя гетерогенности популяции Тр ($R=0,43$), усилением

агрегации с АДФ ($R=0,55$) и повышением фактора формы Тр ($R=0,54$). Кроме того выявлена выраженная взаимосвязь ($R=0,58$) с увеличением РФМК и обратная зависимость с АЧТВ ($R=-0,61$), что свидетельствует о взаимосвязи усиления липоперекисных процессов в сыворотке крови с повышением активности тромбоцитарного компонента гемостаза, увеличением уровня тромбинемии и усиления коагуляции по внутреннему пути (таблица 37).

Таблица 37 – Корреляционная зависимость уровня МДА сыворотки и гемостазиологических показателей у пациенток с тромбофилией

Метаболические показатели	Показатели гемостаза	Коэффициент корреляции	$P <$
МДА сыворотки	PDW	$R=0,43$	0,01
	Агрегация с АДФ	$R=0,55$	0,01
	Фактор формы Тр	$R=0,54$	0,01
	АЧТВ	$R=-0,61$	0,01
	РФМК	$R=0,58$	0,01

Показатели ПОЛ в мембранах Тр находились в тесной корреляционной зависимости с параметрами гемостаза (таблица 38).

Таблица 38 – Корреляционная зависимость уровня МДА Тр и гемостазиологических показателей у пациенток с тромбофилией

Метаболические показатели	Показатели гемостаза	Коэффициент корреляции	$P <$
МДА Тр	MPV	$R=0,42$	0,001
	PDW	$R=0,55$	0,01
	Агрегация с АДФ	$R=0,71$	0,001
	Фибринолиз	$R=-0,48$	0,05
	Фактор формы Тр	$R=0,68$	0,01
	Площадь Тр	$R=0,53$	0,01
	ИОТр	$R=0,45$	0,01

Наиболее значимыми оказались связи усиления ПОЛ с повышением функциональных свойств Тр, о чем свидетельствовало наличие положительных корреляционных связей между увеличением объема Тр, гетерогенности

тромбоцитарной популяции и усилением агрегации с АДФ, повышением фактора формы Тр, и ИОТр. Кроме того, отмечена обратная корреляционная связь усиления ПОЛ с угнетением фибринолиза ($R=-0,48$).

Наличие корреляционной зависимости отражает связи уровня нитритемии и коагуляционных нарушений у пациенток, при этом усиление нитритемии взаимосвязано с усилением тромбоцитарного гемостаза, увеличением уровня тромбинемии, активизацией коагуляции по внутреннему типу и конечного этапа свертывания крови, а также угнетением фибринолиза (таблица 39).

Таблица 39 – Корреляционная зависимость уровня нитритов и гемостазиологических показателей у пациенток с тромбофилией

Метаболические показатели	Показатели гемостаза	Коэффициент корреляции	P<
Нитриты	MPV	$R=0,37$	0,01
	PDW	$R=0,34$	0,001
	Фактор формы Тр	$R=0,51$	0,001
	ИОТр	$R=0,47$	0,01
	Фибриноген	$R=0,35$	0,01
	АЧТВ	$R=-0,67$	0,05
	РФМК	$R=0,64$	0,001
	D-димер	$R=0,52$	0,01
	Фибринолиз	$R=-0,37$	0,05

Отмечена обратная корреляционная связь снижения показателя АОА и уровня церулоплазмينا с усилением функциональных свойств Тр и активизацией внутреннего компонента гемостаза, а также положительная связь между уменьшением уровня церулоплазмينا и снижением резерва естественных антикоагулянтов. Корреляции нарушений гемостаза с уровнями церулоплазмينا показывают нарастание тромботических изменений при снижении антиоксидантной защиты, поскольку АОА суммарно оценивает состояние антиоксидантной системы (таблица 40).

Таблица 40 – Корреляционная зависимость показателя антиоксидантной активности, церулоплазмينا и гемостазиологических показателей у пациенток с тромбофилией

Метаболические показатели	Показатели гемо-стаза	Коэффициент корреляции	P<
АОА	Агрегация с АДФ	R=-0,53	0,01
	Фактор формы Тр	R=-0,57	0,001
	ИОТр	R=-0,41	0,05
	АЧТВ	R=0,32	0,05
Церулоплазмин	Агрегация с АДФ	R=-0,53	0,001
	Фактор формы Тр	R=-0,42	0,01
	ИОТр	R=-0,31	0,001
	АЧТВ	R=0,33	0,01
	АТ III	R=0,52	0,01
	РФМК	R=0,34	0,05
	Фибринолиз	R=-0,38	0,01

Отмечена корреляционная взаимосвязь между повышением уровня провоспалительных цитокинов и усилением функциональной активности Тр, (наиболее сильная с повышением ИЛ-6 и повышением агрегации с АДФ R=0,63, а также с увеличением фактора формы Тр R=0,74 и показателя MPV R=0,67) (таблица 41).

Таблица 41 – Корреляционная зависимость уровня провоспалительных цитокинов и гемостазиологических показателей у пациенток с тромбофилией

Метаболические показатели	Показатели гемо-стаза	Коэффициент корреляции	P<
ИЛ-6	MPV	R=0,67	0,01
	PDW	R=0,34	0,01
	Агрегация с АДФ	R=0,63	0,001
	Фактор формы Тр	R=0,74	0,001
	АЧТВ	R=0,43	0,05
	РФМК	R=0,52	0,001
ИЛ-8	Агрегация с АДФ	R=0,34	0,01
	РФМК	R=0,49	0,01

Кроме того, отмечена положительная корреляционная зависимость повышения цитокинового статуса с увеличением уровня тромбинемии и усилением внутреннего пути образования протромбиназы.

Таким образом, на основании корреляционного анализа выявлена зависимость параметров плазменного и тромбоцитарного гемостаза от выраженности метаболических и иммунных нарушений, свободно-радикальных реакций и снижения антиоксидантной активности у женщин с тромбофилией, имеющих полиморфизм A^2 в гене рецептора GP IIb/IIIa, что подтверждается значимыми корреляционными связями между метаболическими и гемостазиологическими показателями.

5.5. Механизм влияния полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa на формирование гемостазиологических изменений во время беременности

Беременность является уникальным тестом для выявления скрытой ТФ и способствует ее фенотипическому проявлению. Изменения в системе гемостаза при физиологически протекающей беременности проявляются незначительным местным усилением коагуляции в сосудах матки и плаценты, с увеличением концентрации фибриногена и основных коагуляционных факторов при с небольшим снижении активности естественных антикоагулянтов (Сидельникова В.М., Кирюшенков П.А., 2004).

Интра- и экстравазкулярное отложение фибрина является физиологическим процессом при имплантации яйцеклетки и инвазии трофобласта в области плацентарного ложа. Однако есть данные, что трофобласт играет важную роль в депонирования фибрина в области плацентарной площадки, а также его усиленной депозиции, наблюдаемую при осложненном течении беременности (Баймурадова, С.М., 2006).

Даже в условиях физиологической беременности имплантация плодного яйца, инвазия трофобласта и плацентация – чрезвычайно «инвазивные» процессы I и начала II триместра беременности, которые можно сравнить с

наличием открытой раневой поверхности и развитием воспалительного ответа. В этот период эмбрион, имплантируясь, «прорывается» через эпителиальный слой эндометрия матки, повреждая при этом эндотелий, гладкомышечный слой сосудов матки, изменяя кровоток. В этом месте образуются продукты отмерших и поврежденных клеток.

Механизм формирования физиологической гиперкоагуляции при беременности представлен на рисунке 27.



Рисунок 27 – Механизм развития физиологической гиперкоагуляции во время беременности (Сидельникова В.М., Кирющенко П.А., 2004)

Известна мутация в гене GPIIb/IIIa, заключающиеся в нуклеотидной замене Т на G в 1585 позиции, что отражается в замене лейцина на аргинин в положении 40 аминокислотной последовательности белка и замена нуклеотида во втором экзоне гена, что приводит к замене лейцина на пролин в 33 положении (P1^{A2} вариант GP IIb/IIIa). Замена Leu33-Pro в молекуле GP IIIa вызывает выраженные структурные изменения GP IIb/IIIa рецепторов, что ведет к переходу его в активное состояние. Структурные изменения приводят к активации киназ, усиленному фосфорилированию белков, изменению цитоске-

лета Тр что, в конце концов, ведет к изменению формы Тр, усилению их адгезивно-агрегационных свойств и изменению ретракции сгустка.

Согласно данным литературы, субъединицы, содержащие Leu33-Pro полиморфизм, присутствуют на эндотелиальных и сосудистых гладкомышечных клетках – в составе витронектинового рецептора. Это может усиливать пролиферативный ответ на повреждение эндотелиального слоя, приводя к развитию протромботического состояния (Макацария А.Д. и др., 2011).

Дисморфизм Leu33-Pro приводит к изменению структуры белка, что способствует изменению его иммунологических характеристик. Происходит развитие аутоиммунной реакции, что становится причиной усиления коагулянтного потенциала крови (Сироткина О.В. и др., 2005).

Расстройства гемостаза у женщин с генетической ТФ развиваются из-за усиления фаз амплификации и пролангации свертывания крови (вследствии дефицита ингибиторов) и при некотором снижении фибринолитической активности, что может приводить к декомпенсации расстройств гемостаза.

В настоящее время тромбофилитические осложнения беременности рассматриваются с позиции развития синдрома полиорганной недостаточности, в основе которого лежит системная воспалительная реакция, характеризующаяся активированием макрофагов, нейтрофилов, эндотелиальных клеток и Тр. Результат стимуляции макрофагов - повышение уровня цитокинов, которые являются связующим звеном между иммунной системой, гемопоэзом, системой гемостаза, ангиогенезом и факторами неспецифической резистентности организма (Кузник Б.И., 2004). Цитокины играют важную роль в развитии ряда патологических состояний (Демьянов А.В. и др., 2003).

Повышенные уровни провоспалительных цитокинов снижают барьерную функцию эндотелиальных клеток и способствуют экспрессии тканевого фактора на эндотелиоцитах и различных иммунных клеточных популяциях. Следовательно, имеет место усиление коагуляции в «зонах» воспаления.

Нарушение функции эндотелия способствует спазмированию сосудов, повышению проницаемости сосудов, усилению активности свертывающей системы.

Активация эндотелия является процессом неразрывно связанным с ТФ, эндотелиально-лейкоцитарными взаимодействиями, замыкающими порочный круг, в результате формирования которого происходит развитие системной воспалительной реакции, дальнейшие нарушения в эндотелиоцитах и нарушение функционирования всех органов и систем организма.

Цитокинемия провоцирует формирование эндотелиальной дисфункции, воздействуя на процесс через рецепторные комплексы, имеющиеся на эндотелиальных клетках. Эндотелиоциты являются клетками-продуцентами цитокинов и клетками-мишенями. Цитокины принимают участие в процессе коагуляции. Провоспалительные цитокины и хемокины активируют образование протромбиназы, провоцируя тромботические осложнения (Levi M., van der Poll T., 2005).

Прокоагулянты посредством рецепторов протеаз и через систему цитокинов осуществляют взаимодействие, коагуляции и воспаления (Chu A. J., 2005). Тромбин через протеинкиназные рецепторы вызывает экспрессию ИЛ-6 (Fan Y. et al., 2005). Повышение уровня цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 служит патобиохимическим признаком повреждения тканей при ишемии и реперфузии и признаком развития системного воспаления (Conrad M. F. et al., 2005; Seal J. B., Gewertz B. L., 2005). Цитокинемия приводит к нарушению гемостатического равновесия эндотелия, усиливая экспрессию тканевого фактора, что в присутствии фосфолипидов потенцирует усиленное тромбинообразование (Szotowski B. et al., 2005; Кузменко Г.Н., 2011)

Наиболее чувствительным маркером повреждения сосудистого эндотелия является ФВ (Corro P. et al., 2002). Активность его высвобождение соответствует интенсивности повреждающего воздействия на эндотелий сосудов (Черний В. И., 2007). При поступлении в кровь ФВ усиливает адгезивную и агрегационную активность Тр, способствует увеличению коагуляционной ак-

тивности и образованию тромбов (Savage B., 2002). ФВ во взаимодействии играет роль в активации плазменного и сосудисто-тромбоцитарного гомеостаза. Главная роль в свертывании крови определена его структурой. Он имеет домены связывания с гликопротеиновыми рецепторами Тр (IIIa), коллагеном, гликозаминогликанами субэндотелиальных структур, гепарином и ф.VIII (Макацария А. Д. и др., 2011). Взаимодействие ФВ с рецепторами Тр способствует дальнейшей активации тромбоцитарных гликопротеиновых комплексов IIb/IIIa, которые приобретают способность присоединять фибриноген и ФВ.

Основным антикоагулянтом плазмы крови является АТ III, он ингибирует все протеазы крови. АТ III обнаружен в эндотелии микрососудов, он обеспечивает его противосвертывающую активность (Добровольский А. Б., Панченко Е. П., 2006). АТ III способствует уменьшению воспалительной реакции в эндотелиоцитах посредством усиления синтеза простациклина, обладающего противовоспалительным действием благодаря снижению активности моноцитов и нейтрофилов (Choi G. et al., 2008).

Активированный протеин С – антитромботический, антиапоптотический и противовоспалительный фактор (Gale A. J., Griffin J. H., 2006). Функции протеина С заключаются в снижении синтеза провоспалительных цитокинов, адгезивной активности лейкоцитов и Тр, хемотаксиса, и поддержании барьерной функции эндотелия за счет антиапоптотической активности (Hoffmann J. N. et al., 2004).

NO является важным маркером межклеточных взаимодействий (Ванин А.Ф., 2000) и универсальным регулятором состояния интимы сосудов (Anderson T. J., 2003). Изменение его экспрессии на эндотелиоцитах может потенцировать развитие эндотелиальной дисфункции. NO является регулятором многих функций. Он участвует в регуляции сердечной сократимости, агрегационной активности Тр, нейротрансмиссии (Chatterjee A., Catravas J. D., 2008). Избыточное содержание NO является маркером системного воспалительного ответа (Hampl V., Herget J., 2000; Chatterjee A., Давлатова Г.К.,

2007; Catravas J.D., 2008; Кузменко Г.Н., 2011). Нормальный уровень NO при балансе с супероксид-анионом снижает апоптотическую активность клеток (Chatterjee A., Catravas J. D., 2008). Повышение синтеза NO может приводить к усилению апоптоза и способствовать развитию дисфункции эндотелия (Сосунов А.А., 2000; Chatterjee A., Catravas J. D., 2008). Активизация апоптоза приводит к гибели эндотелиальных клеток и ослаблению их антикоагулянтной активности (Ванин А.Ф., 2000; Tyurina S. et al., 2004). Увеличение уровня NO является одним из главных патогенетических факторов развития окислительного стресса (Голиков П.П., 2004), который приводит к нарушению защитной функции эндотелия. При взаимодействии NO с супероксидным радикалом образуется пероксинитрит, который в высоких концентрациях увеличивает повреждающее действие на клетки продуктов СРО (Krediet T.G. et al., 2002; Pacher P. et al., 2007).

Применение современных биохимических и математических методов позволило выявить механизмы нарушений в системе гемостаза и эндотелия у беременных женщин, имеющих дисморфизм A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa. Расстройства гемостаза у пациенток имели тесное взаимодействие с метаболическими и иммунными нарушениями в организме.

На основании корреляционного анализа выявлена зависимость изменения параметров гемостаза беременных женщин с дисморфизмом A^2 от выраженности метаболических расстройств.

Нами предложен диагностический алгоритм, включающий оценку системы гемостаза, с учетом нарушений функции эндотелия (протеин С, АТ III, ФВ, ИЛ-6 и ИЛ-8, метаболитов NO, МДА, АОА, церулоплазмин).

Для женщин, имеющих полиморфизм A^2 , характерно усиление липопероксидации. У них отмечалось достоверное увеличение содержания МДА в сыворотке и Тр, максимально выраженное у пациенток, имеющих полиморфизм A^2A^2 . СРО повышает экспрессию тканевого фактора (Jacobi J. Et al., 2005), а окислительный стресс способствует усилению коагуляции (Бышевский А. Ш. и др., 2006). Выявленные корреляционные связи между парамет-

рами СРО и коагуляции и интенсивностью у беременных женщин с генетической ТФ подтверждают данное предположение.

Показатели ПОЛ находились в тесной корреляционной зависимости с параметрами гемостаза. Наиболее значимыми оказались связи усиления липоперекисных процессов с усилением функциональных свойств Тр ($R=0,61$), усилением внутреннего механизма коагуляции ($R=-0,51$), также отмечена связь усиления ПОЛ и уровнем тромбинемии ($R=0,46$).

У пациенток с генетическим полиморфизмом уровни нитритов в системе циркуляции были увеличены в сравнении со здоровыми женщинами, особенно, у женщин, имеющих гомозиготный полиморфизм ($P1^{A2}/P1^{A2}$).

Выявлены корреляции между уровнем нитритов и увеличением количественных и функциональных характеристик Тр, уровнем тромбинемии, усилением коагуляции по внутреннему пути и угнетением фибринолиза.

Известно, что повышение уровня нитритемии провоцирует развитие нитрооксидативного стресса и повреждение клеточных мембран и апоптоз (Tyurina C. et al., 2004, Tsukahara H., 2007).

У всех пациенток с генетической ТФ имели место однонаправленные изменения уровней NO и МДА, что согласуется с данными литературы о том, что инкубирование клеток крови нитратами и нитритами способствует снижению глутатиона, увеличению уровня МДА и нарушению функционирования трансмембранного Na^+/K^+ транспорта (Batina P. et al., 1990; Tudor R. M. et al., 2003).

Полученные данные подтверждают наличие связи нитритемии с нарушениями в системе гемостаза у таких пациенток. Причем повышение уровня NO в крови сопровождается активизацией гемостаза.

Адекватный уровень антиоксидантной активности подавляет процессы СРО и отражает состояние неспецифической резистентности организма при патологии. У пациенток с генетической ТФ отмечено снижение АОА в сравнении со здоровыми женщинами. Отмечена корреляционная связь снижения

АОА с усилением функциональных свойств Тр и активизацией внутреннего компонента гемостаза.

Окислительный стресс усиливается у пациенток с дисморфизмом A^2 и приводит к усилению коагуляции, что подтверждается связями между параметрами гемостаза и интенсивностью СРО. Отмечено достоверное снижение уровня церулоплазмينا у последних, а повышения его уровня при активации свободно-радикальных реакций не происходило, что может служить доказательством отсутствия равновесия в системе СРО – АОА. Установлена корреляционная зависимость уровня церулоплазмينا с увеличением функциональной активности Тр, усилением коагуляции по внутреннему пути и снижением резерва естественных коагулянтов.

Корреляции нарушений гемостаза с уровнем церулоплазмينا указывает на нарастание тромботических изменений при снижении антиоксидантной защиты, так как показатель АОА суммарно оценивает состояние системы антиоксидантной защиты организма. При анализе взаимосвязи показателей установлено, что снижение церулоплазмينا сопровождается повышением образованием МДА, нарастанием эндотелиальной дисфункции и изменениям коагуляции в виде тромбинемии и снижением уровня ингибиторов свертывания, угнетением фибринолитической и увеличением активности тромбоцитарного компонента гемостаза.

Наличие воспалительного компонента у женщин с полиморфизмом A^2 верифицировано повышением уровня ИЛ-6 и ИЛ-8. Отмечена корреляционная связь между повышением уровня провоспалительных цитокинов и усилением функциональной активности Тр, повышением уровня тромбинемии и усилением внутреннего пути образования протромбиназы.

Полученные данные иллюстрируют существование связей между усилением СРО, снижением АОА и активизацией плазменного и тромбоцитарного гемостаза. В реализации этих взаимосвязей существенна роль иммунного фактора (рисунок 28).

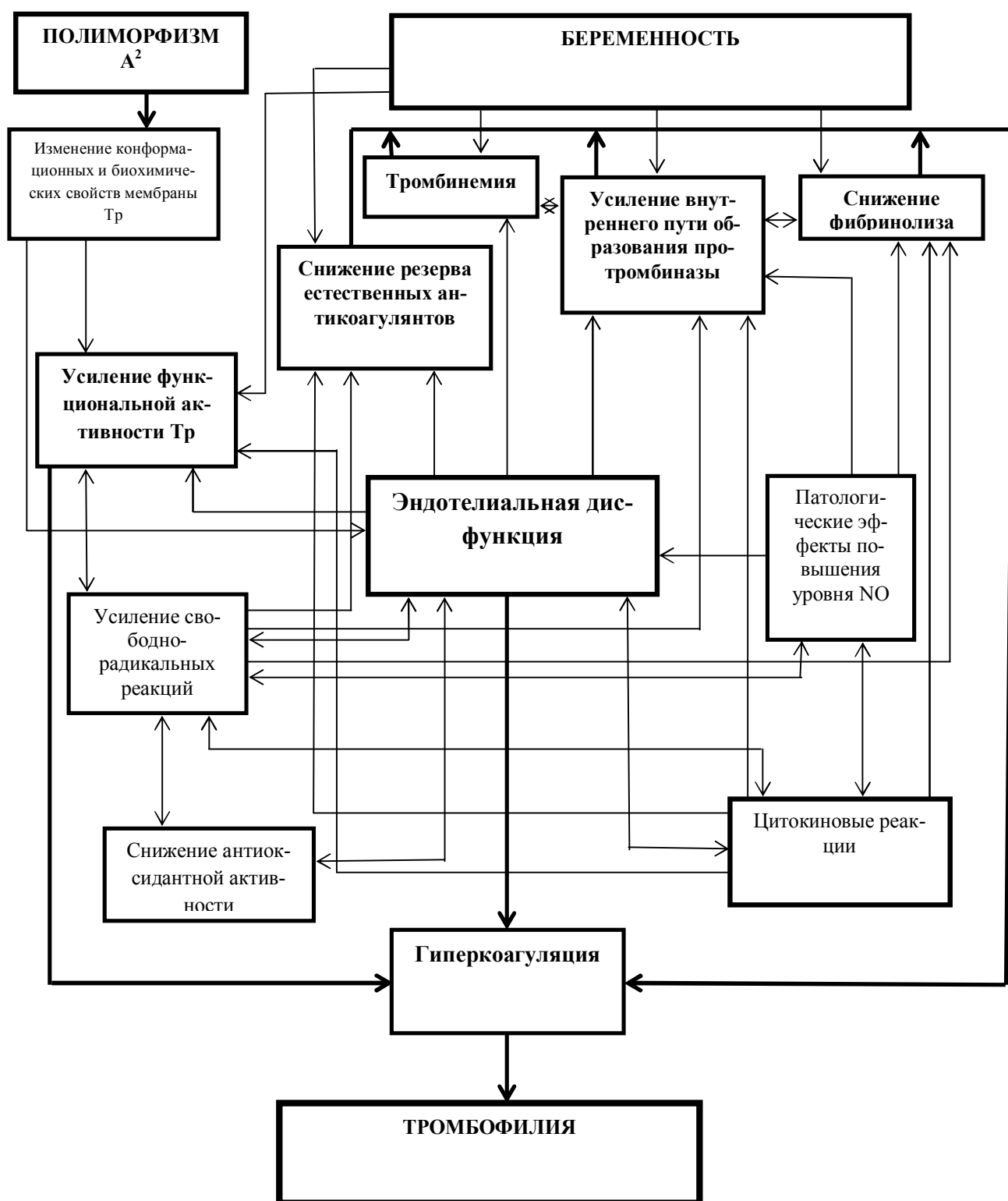


Рисунок 28 – Механизм влияния полиморфизма A² гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa на формирование биохимических и гемостазиологических изменений во время беременности

Таким образом, специфика инициирующих механизмов активации системы гемостаза у женщин с дисморфизмом A² заключалась в развитии воспа-

лительного ответа, характер и активность которого связаны с выраженностью гемостатических расстройств. Полученные данные свидетельствуют о циркуляции у пациенток с ТФ маркеров системного воспаления, усилении процессов СРО и липопероксидации, дефиците антиоксидантов, что отражает о комплексном характере нарушение гомеостаза, и коррелирует с тяжестью нарушений сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Повышенные уровни медиаторов воспаления трансформируются в усиление коагулянтной активности крови и развитие эндотелиальной дисфункции, что в дальнейшем может приводить к усилению воспалительных и метаболических реакций, то есть имеет место их взаимная активация.

Таким образом, эндотелий сосудистой стенки у пациенток с дисморфизмом A^2 – мишень многочисленных повреждающих факторов и эффектор запуска патогенетических механизмов генетической ТФ. При этом происходит усиление тромбогенных и снижение атромбогенных свойств, повышение адгезионных и снижение ангиогенных факторов, уменьшение антиапоптотических и усиление проапоптотических механизмов в эндотелии. Происходит изменение регуляции сосудистого тонуса и проницаемости. У женщин с полиморфизмом A^2 отмечается снижение тромборезистентности эндотелия (протеин С, АТ III), усиление тромбогенности (ФВ), а также, повышенная циркуляция системных факторов повреждения: нитритемия, цитокинемия, тромбинемия. Выраженность эндотелиальной дисфункции, формирующейся у пациенток, зависит от генотипа.

Фенотип эндотелия меняется с тромборезистентного на тромбогенный. Повышение концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 свидетельствуют о развитии системной воспалительной реакции у женщин, что способствует повышению проницаемости эндотелия, усилению его адгезивны и тромбогенных функций. Потенцирующими факторами в формировании эндотелиальной дисфункции можно считать наличие тромбинемии, нитритемии, дефицита ингибиторов свертывания крови и цитокинемия.

Усиление эндотелиальной дисфункции на фоне усиления функциональных свойств Тр у пациенток способствует повреждению эндотелия, нарушению гемостаза, что способствует дальнейшему прогрессированию заболевания. Эндотелиальной дисфункции принадлежит важнейшая роль в иницировании патогенетического механизма чрезмерной эндотелиальной активации, которая через усиление метаболических реакций приводит к развитию гемостазиологических расстройств, замыкая тем самым порочный круг нарушений гемостаза. На рисунке 28 представлены различные патогенетические звенья механизма повреждения эндотелиоцитов у женщин с дисморфизмом A^2 . Повреждение эндотелиоцитов – основа микроциркуляторных расстройств. Активирование эндотелиоцитов провоспалительными цитокинами ведет к повышению экспрессии на эндотелии адгезивных белков. При этом у Тр повышается адгезивная и агрегационная активность к эндотелиоцитам. Усиление адгезивности эндотелия приводит к развитию локального воспаления с повышению уровня провоспалительных цитокинов, свободных радикалов. Повышается уровень NO и усугубляется дисфункция эндотелия. Таким образом, основным патогенетическим механизмом нарушения гемостаза при полиморфизме A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa у беременных женщин является развитие эндотелиальной дисфункции, определяющейся снижением тромборезистентных свойств эндотелия и усилением адгезивных и тромбогенных, а также снижением антиапоптотической защиты.

5.6. Определение статистической значимости показателей в развитии гемостазиологических и метаболических изменений во время беременности при наличии дисморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa

С целью выявления наиболее статистически значимых признаков и предварительного суждения о вероятности влияния генетического полиморфизма A^2 на изменение метаболических и гемостазиологических

параметров проводили анализ данных, полученных в результате лабораторного обследования пациенток. Для этого использовали последовательный анализ Вальда. Получили диагностический коэффициент каждого признака (прогностический коэффициент Кульбака - ПКК) и для суждения о вероятности влияния полученные коэффициенты суммировали.

Чем меньше величина ошибки (в %), тем выше вероятность предполагаемого влияния дисморфизма A^2 гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa на метаболические и гемостазиологические показатели. При величине ошибки более 5% предположение считается маловероятным. Предположение о влиянии дисморфизма A^2 становится возможным при величине ошибки от 5% до 2 % и сумме баллов не менее +13; вероятным при сумме баллов не менее +18 и характеризуется как вероятно удовлетворительное при сумме баллов +13 и более.

Для решения задачи, поставленной в данном разделе проводили оценку частоты встречаемости изучаемых показателей в группах здоровых женщин. В 1 группу включили здоровых женщин, беременность которых протекала без особенностей, имеющих нормальный генетический вариант рецепторов Тр ($P1^{A1}/P1^{A1}$) ($n=128$), здоровые женщины, имеющие гетерозиготный вариантом полиморфизма ($P1^{A1}/P1^{A2}$) составили 2 группу ($n=24$). Результаты статистического анализа представлены в таблице 42.

Критерием выделения морфологических и функциональных показателей явилось среднее значение показателя $\pm 2\delta$, рассчитанное для всех обследованных здоровых женщин, как например, агрегация Тр, индуцированная АДФ более 58,7%.

Наиболее статистически значимыми метаболическими и гемостазиологическими показателями при наличии дисморфизма A^2 у здоровых женщин является сочетание показателей 1-6, таких как агрегационная активность с АДФ $>58,7\%$, фактор формы Тр $>14,0$ у.е., оптическая плотность по синей компоненте $>0,364$ у.е., ИОТр $>1,10$ у.е., уровень МДА Тр $>2,06$ мкмоль/ 10^9 Тр и площадь Тр $>4,1$. Наличие статистически значимых призна-

ков у здоровых женщин свидетельствуют о связи гетерозиготного дисморфизма A^2 с изменением цитоскелета Тр, усилением функциональной активности клеток, «омоложении» популяции Тр, а также активизации процессов ПОЛ в мембране Тр.

Таблица 42 – Сравнительная частота прогностически значимых показателей у фенотипически здоровых женщин

№ п/п	Показатели	Обследуемые группы		p_1/p_2	ПКК $10 \cdot \log(p_1/p_2)$
		2 группа p_1	1 группа p_2		
1.	Агрегация с АДФ >58,7%	0,25	0,03	8,33	+9,1
2.	Фактор формы > 14,0 у.е.	0,22	0,04	5,5	+7,4
3.	Доля синего цвета > 0,364 у.е.	0,21	0,05	4,2	+6,2
4.	ИОТр >1,10 у.е.	0,25	0,06	4,16	+6,1
5.	МДА Тр >2,06 мкмоль/ 10^9 Тр	0,12	0,05	2,4	+3,8
6.	Площадь Тр > 4,1	0,11	0,05	2,2	+3,4
7.	Средний диаметр Тр >2,33 мкм	0,23	0,12	1,91	+2,8
8.	ИЛ-6 >7,07 пг/мл	0,24	0,14	1,71	+2,3
9.	MPV > 9,6 фл	0,18	0,11	1,63	+2,1
10.	Нитриты >9,07 мкмоль/мл	0,12	0,08	1,5	+1,7
11.	АОА <0,55 у.е.	0,05	0,04	1,25	+0,9

Примечания: p_1 – частота признака во 2 группе женщин; p_2 – частота признака в 1 группе женщин; p_1/p_2 – отношение правдоподобия признаков; ПКК – прогностический коэффициент Кульбака

Если обозначить наличие патологического показателя у женщин как D_1 , отрицание - этого как D_2 , частоту признаков (%) заимствовать из таблицы 42, то получим, что сумма статистически значимых признаков составила 36. При данной пороговой сумме процент ошибки предположения составляет 0,1%. Учитывая величину ошибки, можно предположить, что связь вышеупомянутых патологических признаков с полиморфизмом $P1^{A1}/P1^{A2}$ гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa весьма вероятна.

Для оценки связи гомозиготного полиморфизма A^2/A^2 с изменением гуморальных показателей провели оценку частоты встречаемости у женщин

с ТФ 4-й группы ($n=35$), с наличием гетерозиготного полиморфизма ($P1^{A1}/P1^{A2}$) и 5-й группы ($n=39$) женщин с гомозиготным полиморфизмом $P1^{A2}/P1^{A2}$. Результаты статистического анализа представлены в таблице 43.

Таблица 43 – Сравнительная частота прогностически значимых показателей у женщин с тромбофилией

№ п/п	Показатели	Обследуемые группы		p_1/p_2	ПКК $10 \cdot \log(p_1/p_2)$
		5 группа p_1	4 группа p_2		
1.	ИЛ-6 >5,71 пг/мл	0,99	0,22	3,96	+5,9
2.	Нитриты >9,07 мкмоль/мл	0,81	0,26	3,11	+4,9
3.	Церулоплазмин <12,9 мг/дл	0,84	0,29	2,89	+4,6
4.	АОА <0,65 у.е.	0,86	0,35	2,45	+3,9
5.	МДА сыворотки >3,4 мкмоль/л	0,71	0,33	2,15	+3,3
6.	МДА Тр >2,06 мкмоль/ 10^9 Тр	0,78	0,37	2,10	+3,2
7.	ИЛ-8 >6,32 пг/мл	0,84	0,41	2,04	+3,1
8.	Индекс омоложения Тр >1,10 у.е.	0,86	0,52	1,65	+2,1
9.	Доля синего цвета > 0,369 у.е	0,98	0,72	1,36	1,3
10.	Агрегация с АДФ >52,8%	0,94	0,72	1,30	+1,1
11.	MPV > 9,6 фл	0,72	0,58	1,24	+0,9
12.	Средний диаметр Тр >2,33 мкм	0,68	0,56	1,21	+0,8

Примечания: p_1 – частота признака во 5 группе женщин; p_2 – частота признака в 4 группе женщин; p_1/p_2 – отношение правдоподобия признаков; ПКК – прогностический коэффициент Кульбака

Как видно из представленных данных, наиболее статистически значимыми показателями, при наличии гомозиготного дисморфизма A^2A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa у пациенток с ТФ, является сочетание биохимических показателей, таких как, уровень ИЛ-6 >5,71 пг/мл, уровень нитритов >9,07 мкмоль/мл, церулоплазмин <12,9 мг/дл, показатель АОА <0,65 у.е, концентрация МДА сыворотки >3,4 мкмоль/л и содержание МДА Тр >2,06 мкмоль/ 10^9 Тр, уровень ИЛ-8 >6,32 пг/мл.

Сумма статистически значимых признаков составила 28,9, величина ошибки вероятности влияния – 0,2%.

Наличие статистически значимых признаков в группах женщин с ТФ показывает связь гомозиготного полиморфизма гена с усилением свободно-радикальных реакций, снижением АОА, усилением цитокиновых реакций, развитием окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции.

Произведенное клиническое наблюдение продемонстрировало высокую информативность и практическую значимость статистических методов с использованием прогностического коэффициента Кульбака для выявления наиболее статистически значимых патологических признаков у беременных женщин при наличии генетического полиморфизма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время перед акушерством и перинатологией стоят задачи в обеспечении безопасного материнства, бережного родоразрешения, рождения здорового ребенка. Сегодня это утверждение имеет особое значение в условиях реализации многих национальных проектов (Демидович Е.О, Курцер М.А., 2001; Радзинский В.Е., Милованов А.П., 2004; Сухих Г.Т. и др., 2013; Фролова О.Г., 2007; Шарапова О.В., 2007; Андреева М.Д., 2015).

Несмотря на снижение материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, отмечается постоянное увеличение числа заболеваний, связанных с морфофункциональными нарушениями в системе «мать-плацента-плод», особенно у пациенток с отягощенным общим и акушерско-гинекологическим анамнезом (Игнатко И.В., 2004; Курцер М.А, 2001; Серов В.Н., 2000; Стрижаков А.Д. и др., 2007; Шалина Р.И, 2003; 2004). Одной из основных причин осложненного течения гестационного процесса и родов, а также высокой перинатальной заболеваемости и смертности считается фетоплацентарная недостаточность и СЗВРП (Баев О.Р., 2003; Игнатко И.В., 2005; Панина О.Б., Сичинава Л.Г., 2002; Стрижаков А.Н. и др., 2002; 2004; Сухих Г.Т. и др., 2013; Торчинов А.М., 2007; Рыбин М.В., 2007; Фролова О.Г., 2002).

В последнее десятилетие доказано, что протромботические нарушения гемостаза ответственны за развитие большого числа акушерских осложнений, среди которых привычное невынашивание беременности, тяжелая преэклампсия, ПОНРП, хроническая плацентарная недостаточность, а также СЗВРП. Основой патогенеза этих осложнений являются связанные тромбофилией дефекты имплантации яйцеклетки, инвазии трофобласта на первых этапах гестации и нарушения кровообращения в системе мать-плацента-плод в поздние сроки беременности (Сидельникова В.М., 2005; Robertson L. et al., 2006; Kuttan W.H., Triplett D.A., 2006; Zotz D.A. R et al., 2008; Макацария А.Д. и др., 2010; Фролова О.Г. и др., 2012; Андреева М.Д., 2016).

В решении проблемы ТФ имеет большое значение изучение патогенеза возникновения и развития тромботических состояний, а также факторов, влияющих прямо или косвенно на развитие данной патологии. Изучение изменений системы гемостаза в процессе гестации актуально в связи с их безусловно важной ролью в патогенезе осложнений беременности и родов, ассоциированных с ТФ (D'Elia A.V. et al., 2002; Kuttan W.H., Triplett D.A., 2006; Мазуров А.В., 2011; Андреева М.Д., 2016).

В связи с вышесказанным представляет значительный интерес изучение гемостазиологических расстройств, в частности, генетической ТФ беременных и их влияния на течение гестационного процесса, а также, что особенно важно, на состояние системы гемостаза детей и их здоровье. Кроме того, особое значение приобретают вопросы изучения механизмов влияния различных патологических процессов, протекающих в материнском организме, на формирование качественных характеристик здоровья ребенка.

На наш взгляд, было интересным на основе изучения комплекса патофизиологических, генетических и биохимических изменений выявить закономерности формирования механизма развития гемостазиологических нарушений у пациенток с ТФ и оценить влияние на состояние системы гемостаза их новорожденных детей.

Для оценки частоты встречаемости и структуры тромботических осложнений беременности и родов, а также оценки клинико-лабораторных характеристик была проведена выкопировка из 21860 индивидуальных историй родов женщин (форма № 096/у), обратившихся за медицинской помощью в родильное отделение ГБУЗ СК «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Ставрополя за 6 лет в период в 2007 - 2012 гг. В процессе исследования нами была изучена частота встречаемости и структура осложнений беременности и родов, ассоциированных с ТФ, а также разработаны критерии отбора пациентов для исследования.

Из общего числа обследованных историй родов только в 5269 (24,1%) случаях женщины не имели соматических заболеваний и акушерских ослож-

нений беременности и родов, в 16591 истории родов (75,9%) выявлены различные виды акушерских осложнений и/или как минимум, одно соматическое заболевание.

Анализ данных показал, что только экстрагенитальная патология встречалась у 1662 женщины (7,6%). У 9771 (44,7 %) пациенток наблюдалось сочетание акушерских осложнений беременности и родов с экстрагенитальной патологией.

Исключительно акушерская патология была выявлена у 5158 пациенток (23,6% случаев).

В процессе проведения выкопировки из когорты историй родов пациенток с акушерской патологией мы вычленили группу из 1686 (32,6%) историй родов пациенток, имеющих одно или несколько акушерских осложнений, причиной которых могло быть тромбофилитическое состояние. Структура этих осложнений была представлена средними и тяжелыми гестозами, которые в настоящую беременность имели место у 811 пациенток (48,1%), преждевременными родами - у 141 (8,4%), СЗВРП – у 318 женщин (18,8%), ПОНРП – у 271 женщин (16,1%), плацентарной недостаточностью – у 547 женщин (32,4%). Эти истории родов и стали объектом нашего исследования.

Сравнение клинико-лабораторных показателей проводили с данными 526 историй здоровых женщин, беременность, роды и послеродовый период которых протекал без особенностей, и отсутствовали лабораторные признаки нарушений системы гемостаза.

В результате сравнения гемостазиологических параметров у женщин с клиническими проявлениями ТФ выявлено достоверное увеличение концентрации фибриногена, которая у пациенток с ТФ составила в среднем 6,51 г/л, а у здоровых женщин – 5,0 г/л, а также достоверное увеличение ППК и АЧТВ в плазме крови по сравнению с данными здоровых женщин. Показатель АЧТВ составил 25,2 с и 22,1 с, соответственно, ППК – 124% и 102%, соответственно. Также достоверно измененными оказались показатели агрегационной активности Тр. Так агрегация с АДФ, коллагеном и ристоцетином у

здоровых женщин составила 47,0%, 42,1% и 47,5%, соответственно. У пациенток с акушерскими осложнениями, ассоциированными с ТФ – 77,6%, 66,4% и 85,8%, соответственно.

На основании анализа типичных анамнестических и клинико-лабораторных признаков, встречающихся при тромбофилических осложнениях беременности и родов нами были разработаны критерии отбора беременных женщин для дальнейшего исследования.

Критериями для включения в исследование были анамнестические данные с указанием на наличие акушерских осложнений у женщин в предыдущую беременность: наличие случаев внутриутробной гибели плода неясного генеза, СЗВРП, умеренной и тяжелой преэклампсии, ПОНРП, случаев привычного невынашивания беременности, тромботических осложнений беременности и родов. Критерием включения также были данные семейного анамнеза семейный анамнез – тромботические состояния в возрасте до 50 лет у близких родственников.

Критерием исключения был факт курения пациенткой во время беременности или отказа от курения менее чем за 6 месяцев до наступления настоящей беременности, исключены были пациентки, принимающие оральные контрацептивы менее чем за 10 месяцев до наступления настоящей беременности и имеющие экстрагенитальную патологию.

Экспериментальная часть работы выполнена на 102 взрослых самках крыс линии Вистар, 89 плодах 19 - 20 - го дня гестации и 200 новорожденных крысят, из которых 98 были использованы в день родов, 102 - на 5 - й день после родов. Контрольной группой послужили 17 самок крыс.

Для создания экспериментальной модели гиперкоагуляции лабораторным животным был назначен метионин «per os» в дозе 0,6-0,7 мг/сутки, являющейся терапевтической. Для снижения выведения мочи животным питьевой режим был уменьшен до 28-30 мл в сутки. Также мы ограничили поступление с пищей продуктов, содержащих фолаты и витамины группы В.

Наличие беременности у взрослых самок крыс устанавливали кольпоскопическим методом на 3 - 4 - й день после спаривания.

Лабораторное обследование беременных самок крыс впервые проводили в 19 - 20 - й день гестации, в течении первых суток после родов и на 5 - е день после рождения потомства. Исследование показателей потомков крыс проводили на 19 - 20 - й день гестации, в день родов и на 5 - е сутки жизни.

С целью изучения механизмов гемостазиологических изменений при физиологически протекающей беременности и родах и при наличии тромботических осложнений, а также для оценки влияния гемостаза матери на систему гемостаза новорожденных нами обследовано 408 пар мать-новорожденный ребенок. Критериями включения являлись данные личного семейного анамнеза, разработанные нами в процессе проведения выкопировки из историй болезни.

Взятие крови впервые проводилось при поступлении в стационар на сроке 38-39 недель до начала родовой деятельности, в день родов и на 5 - е сутки после родов. Обследование проводили с письменного согласия пациенток для обследования и лечения, также соблюдали правила проведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований. Также нами обследовано 408 родившихся детей в условиях отделения новорожденных. Все исследования проведены детям при наличии информированного согласия матери. Взятие крови детям проводили в 1 - й и 5 - й день жизни.

Обследованные были условно разделены 4 группы. 1 группа ($n = 152$) - соматически здоровые пациентки с физиологическим течением беременности, нормальным течением родов и послеродового периода, у которых отсутствовали лабораторные признаки нарушения системы гемостаза. Возраст пациенток 1 группы колебался от 20 до 28 лет, в среднем – $25,2 \pm 0,6$ лет. Пациентки с тромботическими осложнениями в анамнезе были включены во 2 группу ($n = 256$). В предыдущих беременностях у пациенток встречались случаи внутриутробной гибели плода неясного генеза, умеренная и тяжелая преэклампсия, ПОНРП, СЗВУРП. В эту группу были включены женщины с

привычным невынашиванием беременности, неудачными попытками ЭКО. Все обследованные пациентки были повторнобеременными. В настоящую беременность у пациенток этой группы установлены гиперкоагуляционные нарушения, которые были верифицированы до развития акушерских осложнений и сохранялись после беременности. Возраст пациенток 2 группы – от 20 до 35 лет, в среднем – $28,9 \pm 0,7$ лет. Противотромботическая коррекция гестационных осложнений, имевших место в анамнезе, обследуемым женщинам в течение настоящей беременности не проводилась. По данным историй родов, 38 женщинам проводилась комплексная профилактическая подготовка к беременности, которая определялась характером генетического дефекта и результатов исследования системы гемостаза. При поступлении в стационар всем пациенткам 2 группы проводилось расширенное исследование параметров гемостаза, включающее гемостазиограмму, оценку активности звена естественных антикоагулянтов, маркеров тромбинемии, активности фибринолиза и параметров тромбоцитарного гемостаза. Родоразрешение всех обследованных пациенток проходило через естественные родовые пути. Дети здоровых пациенток составили 3 группу обследованных ($n = 152$), а дети женщин, имеющих тромботические осложнения в анамнезе составили 4 группу обследованных ($n = 256$). Обследование новорожденных проводилось по стандартным алгоритмам и включало оценку по шкале Апгар при рождении, антропометрических данных, оценку дыхательной функции по шкале Доунса. У пациенток первой группы родилось 156 детей, из которых 153 (98%) доношенных, 2 ребенка (1,2%) были недоношенными и один (0,6%) – с признаками переносимости. У женщин 2 группы родилось 256 детей, из которых доношенными были 235 (91,7%), недоношенными – 21 (8,2%). Половой состав обследуемых групп существенно не отличался. При анализе антропометрических данных выявлено, что масса тела детей, рожденных женщинами 2 группы составила в среднем 2495 г и была достоверно ($p < 0,01$) ниже в сравнении с новорожденными матерей 1 группы (2601 г). Анализ данных обследования новорожденных по шкале Апгар продемонстрировал,

что дети женщин 2 группы достоверно ($p < 0,01$) чаще имели оценку 7 баллов по сравнению с новорожденными 3 группы. Не было ни одного случая потери плода. Ранний неонатальный период проходил без особенностей.

С целью оценки динамических изменений тромбоцитарного гемостаза у лабораторных животных в условиях экспериментальной гиперкоагуляции в перинатальном периоде провели анализ показателей у самок крыс и их потомства на 19-20 – й день гестации, в день родов и на 5-е сутки после родов. Установлено, что у здоровых взрослых крыс во время беременности имелись признаки усиления внутреннего пути образования протромбиназы, проявляющиеся достоверным ($p \leq 0,001$) укорочением АЧТВ до $18,7 \pm 0,5$ с, в сравнении с контрольной группой – $23,6 \pm 0,6$ с. Наблюдалась активизация сосудисто-тромбоцитарного компонента гемостаза в виде укорочения времени кровотечения по Дьюке до 6 мин. 1 с (в контрольной группе – 6 мин. 50 с), а также увеличении количественных параметров Тр и усилении их активности по данным морфометрического анализа и агрегационной активности.

У взрослых самок крыс и их потомков регистрировалось усиление тромбоцитарной реактивности в день родов – «пик первого дня».

У крысят количество Тр сразу после рождения было увеличено до $524,2 \pm 19 \cdot 10^9$ /л, средний объем – до $7,7 \pm 0,3$ фл. При исследовании агрегации Тр получены убедительные данные усиления функциональной активности: агрегация с АДФ и ристоцетином была увеличена до 6,1% и 6,45%, соответственно ($p \leq 0,01$). Кроме того, установлено достоверное повышение фактора формы Тр во всех группах крысят в сравнении с показателями крысят 19-20 дня гестации, что подтверждает усиление реактивности Тр за счет образования псевдоподий и увеличение изрезанности краев клеток в перинатальном периоде, особенно в 1-й день жизни.

Наиболее чувствительными тестами подтверждения усиления функциональной активности Тр стала агрегация Тр с АДФ и ристоцетином, а также геометрические параметры Тр, полученные с помощью компьютерной цитоморфометрии. Для потомства, рожденного от здоровых самок, в период

ранней адаптации к внеутробной жизни характерно транзиторное усиление свертывающей активности крови.

В пунктате костного мозга здоровых беременных самок крыс отмечается увеличение клеток-предшественников тромбоцитарного ростка и их размеров. Выявлена полиплоидия мегакариоцитов с причудливыми ядрами, имеющими более 6 - 7 сегментов, что свидетельствует об усилении активности мегакариоцитарного ростка костного мозга с компенсаторным образованием новых клеток для поддержания баланса в системе гемостаза и тканях материнского организма и плода. При этом наблюдается компенсаторное снижение основного регулятора тромбоцитопоэза – тромбопоэтина (на 5,5%).

У экспериментальных лабораторных животных, получавших метионин, доказательством усиления свертываемости крови служило достоверное ($p \leq 0,001$) уменьшение длительности кровотечения по Дьюке 5 мин. 15 с и укорочение АЧТВ до $15,7 \pm 0,3$ с, по сравнению со здоровыми беременными крысами в день родов (6 мин. 1 с и $18,7 \pm 0,4$ с, соответственно). Уровень гомоцистеина в крови экспериментальных животных составил $23,81 \pm 2,28$ мкмоль/л, тогда как у здоровых беременных крыс – $5,06 \pm 0,42$ мкмоль/л ($p \leq 0,001$), что подтверждает наличие гипергомоцистеинемии в экспериментальной группе.

При проведении анализа тромбоцитарных показателей у экспериментальных лабораторных животных установлено достоверное увеличение PLT, MPV, PCT, агрегации со всеми агонистами, площади и среднего диаметра Тр по сравнению с показателями здоровых беременных крыс в аналогичные периоды обследования. Показатель фактора формы Тр достоверно отличался в 1-е и 5-е сутки жизни ($p \leq 0,01$).

Таким образом, у лабораторных животных во время беременности при экспериментальной гиперкоагуляции, развивается состояние, характерное для ТФ, характеризующейся увеличением количественных характеристик Тр, усилением их функциональной активности по данным агрегации и морфометрического анализа.

Установлено влияние гемостазиологических изменений самок крыс в условиях экспериментальной гиперкоагуляции на морфо-функциональное состояние Тр потомства, проявляющееся во внутриутробном периоде и сохраняющееся в день родов.

Отмечается усиление реактивности Тр у плодов на 19 - 20-й дни гестации и крысят в 1 - й день жизни в сравнении с данными потомства здоровых животных в аналогичные периоды исследования.

На 5 - е сутки жизни у потомства отмечается снижение количественных характеристик Тр и их функциональной активности по данным агрегации и морфометрии. Можно предположить, что это связано с адаптационными изменениями гемостаза к внеутробной жизни и прекращению поступления метионина из кровотока самки, учитывая, что средний период циркуляции Тр – 4 – 6 суток.

При проведении подсчета мегакариоцитов костного мозга лабораторных животных, при экспериментально смоделированном усилении свертываемости крови, их количество составило $4,0 \pm 0,3\%$, что свидетельствует о достоверном снижении активности мегакариоцитопоеза как в сравнении с показателями крыс с физиологически протекающей беременностью ($p \leq 0,001$), так и в сравнении с контрольной группой животных ($p \leq 0,001$).

Установлено, что усиление коагуляционной активности крови способствует развитию гипоксически-ишемических нарушений в гепатоцитах, которые локализуются преимущественно в центре долек. Кратковременная гипоксия приводит к обратимым дистрофическим изменениям гепатоцитов, тогда как длительная – к необратимым изменениям – центрлобулярным некрозам в ткани печени

Полученные изменения свидетельствуют о компенсаторном снижении тромбоцитопоеза в условиях повышения коагуляционного потенциала крови. Уровень тромбопоэтина в крови экспериментальных животных составил $0,43 \pm 0,02$ пг/мл, что на 21,8% ниже показателя контрольной группы и на 17,3% ниже показателя здоровых беременных самок ($p \leq 0,001$).

В селезенке при экспериментальной гиперкоагуляции образуются микротромбы и вызывают окклюзию сосудов микроциркуляторного русла. В паренхиме селезенки инфаркт и лейкоцитарная инфильтрация.

Таким образом, у лабораторных животных в условиях экспериментальной гиперкоагуляции происходит увеличение количества, размеров и агрегационной активности Тр со всеми индукторами, а также, омоложение популяции Тр периферической крови самок крыс и их новорожденных крысят. Также отмечается снижение количества мегакариоцитов в костном мозге, происходит образование микротромбов в просвете сосудов печени и селезенке с последующим возникновением участков некроза.

Для выявления морфо-функциональных особенностей системы гемостаза у женщин при физиологической беременности и при ТФ, а также оценки влияния на параметры Тр их новорожденных детей, проведено комплексное исследование гемостазиологических показателей здоровых беременных женщин, пациенток с ТФ и их новорожденных детей в динамике перинатального периода.

Для верификации гиперкоагуляционных расстройств у пациенток 2 группы анализировали данные ротационной тромбоэластометрии ROTEM (режим NATEM). В результате анализа параметров тромбоэластометрии у беременных пациенток с ТФ получены убедительные данные усиления коагуляционной активности крови в сравнении с данными здоровых беременных пациенток. Так установлено 2-х кратное укорочение времени СТ, свидетельствующее об интенсификации образования первых нитей фибрина в образце крови пациенток с ТФ ($p \leq 0,001$). Также установлено снижение показателя CFT ($p \leq 0,001$), свидетельствующее об укорочении времени образования сгустка до максимального уровня его прочности и отражающее кинетику увеличения плотности тромба. Этот показатель у пациенток с ТФ составил 81 с (у здоровых беременных – 166 с). У пациенток с ТФ отмечается увеличение угла α на 80%, в сравнении с показателем у здоровых беременных женщин, что свидетельствует об увеличении скорости роста фибриновой сети, усилении

полимеризации фибрина и увеличении прочности сгустка. Увеличение показателя MCF у пациенток с ТФ до 78 мм свидетельствует о максимально прочном соединении фибрина с Тр, что способствует высокой плотности сгустка при оценке его механических свойств. Показатель качества сгустка зависит от агрегационной активности Тр и качества образовавшегося фибрина. Оценка площади под кривой тромбоэластометрии в течение следующих 30 и 45 минут после достижения максимальной амплитуды указывают на снижение фибринолитической активности крови у женщин с ТФ. Показатели лизиса сгустка на 30 и 45 минуте составили 96% и 81%, тогда как у здоровых женщин – 91% и 75%, соответственно ($p \leq 0,001$).

Анализ данных тромбоэластометрии подтверждает усиление всех основных процессов гемостаза – коагуляции, образования фибринового сгустка и снижение фибринолитической активности у пациенток с ТФ.

С позиции «клеточной теории гемостаза» (Hoffman M., 2001), выявленные изменения иллюстрируют сокращение стадии инициации, интенсификацию амплификации и пролонгации у пациенток с ТФ, и, как результат, более выраженные показатели «тромбинового взрыва».

При оценке плазменного звена гемостаза у пациенток с ТФ до родов показатель ППК был выше на 9,6%, а МНО укорочено на 10% по отношению к показателям здоровых женщин. В 1 - й день после родов эти показатели отличались на 18% и 11 %, соответственно, а на 5 сутки ППК был выше на 14%, а МНО снижено на 13% ($p < 0,001$). Также отмечалось достоверное ($p < 0,001$) усиление внутреннего пути коагуляции по данным АЧТВ.

При оценке плазменного звена гемостаза у пациенток с тромбофилией в III триместре установлено повышение ППК на 9,6% и снижение МНО на 10% в сравнении с данными здоровых женщин. В 1 - е сутки после отличия показателей составили 18% и 11%, а на 5 сутки 14% 13%, соответственно ($p < 0,001$). Также отмечалось достоверное ($p < 0,001$) усиление внутреннего пути коагуляции по данным АЧТВ.

При проведении анализа количественных показателей Тр беременных с ТФ в 1 - е сутки после родов установлено повышение PLT, ($p<0,001$) MPV ($p<0,05$) и PDW ($p<0,01$), в сравнении с показателями в III триместре беременности. Вышеуказанные параметры Тр имели достоверные различия и в 1 - е и 5 - е сутки после родов (PLT $p<0,05$; MPV $p<0,05$; PDW $p<0,01$).

В результате оценки данных агрегационной активности Тр в группе женщин с физиологическим течением беременности выявлены достоверно высокие значения с АДФ, коллагеном и ристоцетином в 1 - е сутки после родов, в сравнении с показателями в другие периоды обследования и составили 61%, 54% и 69,3%, соответственно.

В группе женщин с тромбофилией прослеживается аналогичная тенденция усиления функциональной активности Тр в 1 - е сутки после родов. Агрегация с АДФ увеличивается с 69,5% в дородовом периоде до 76,1% в 1 - е сутки после родов, с индуктором коллагеном – с 63,8% до 69,6%, а с ристоцетином – с 82,6% до 88,8%.

У пациенток с тромбофилией отмечаются изменения ($p<0,05$) морфометрических показателей Тр в сравнении с данными здоровых женщин. Морфометрические параметры находятся на более высоком уровне, как в 1 - е, так и в 5 - е сутки, что указывает на достаточно высокую функциональную активность тромбоцитарного гемостаза в этот период.

Таким образом, у женщин с ТФ усиление активности системы гемостаза более выражено, наблюдается усиление плазменного звена, увеличиваются количественные, оптические и геометрические характеристики Тр, а также агрегация с агонистами в сравнении с данными здоровых беременных женщин. Динамическое наблюдение свидетельствует о наличии «пика первого дня» у всех обследуемых женщин, однако у женщин с ТФ к 5 - м суткам показатели не возвращаются к нормальным значениям.

Нами проведено комплексное изучение показателей тромбоцитарного звена гемостаза новорожденных, родившихся у здоровых матерей и пациенток с ТФ в динамике раннего неонатального периода.

Количественные параметры Тр новорожденных демонстрируют максимальное повышение в 1 - е сутки жизни с последующей тенденцией к снижению, однако у детей от матерей с ТФ данная особенность наиболее выражена, показатели PLT, MPW и PDW у них достоверно выше на всех этапах обследования.

В группе детей, родившихся у здоровых женщин 1 группы отмечается тенденция к повышению функциональной активности Тр на 5 - е сутки по сравнению с 1 - ми сутками раннего неонатального периода, что находит отражение в достоверном усилении агрегации с АДФ, коллагеном и ристоцетином. У детей пациенток с ТФ наблюдается аналогичная тенденция. Установлены достоверно более высокие показатели агрегации со всеми индукторами в группе новорожденных, матери которых страдали ТФ, в 1 - е сутки жизни ($p < 0,01$), в сравнении с данными новорожденных от женщин без патологии гемостаза. На 5 - е сутки показатели агрегации снижались в обеих группах новорожденных.

Анализ данных проведенного исследования продемонстрировал однонаправленность изменений морфометрических показателей Тр детей, родившихся у женщин с ТФ и здоровых пациенток. Так, у детей женщин без патологии гемостаза выявлены высокие геометрические показатели, такие как средняя площадь и диаметр клетки, в 1 - й день жизни в сравнении с 5 - ми сутками после родов. При этом отмечается достоверное увеличение фактора формы в 1 - е сутки. Анализ цветояркостных характеристик Тр также продемонстрировал максимальное увеличение ИОТр и доли синего цвета в препарате в 1 - й день жизни в сравнении с показателями 5 - го дня, родившихся у женщин без патологии гемостаза, причем вышеуказанные различия носят достоверный характер и указывают на более высокое содержание молодых и активных форм Тр в вышеуказанный период, что впервые было показано на лабораторных животных.

Анализ межгрупповых различий морфометрических параметров Тр детей, родившихся у женщин с ТФ, показал повышение всех показателей Тр,

свидетельствующих о повышении функциональной активности у них тромбоцитарного компонента гемостаза, в сравнении с данными новорожденных от здоровых женщин во все изучаемые периоды после рождения.

Для оценки наностроения агрегатов Тр в группах обследуемых женщин использовали методику сканирующей зондовой микроскопии.

Анализ полученных данных показал, что геометрические параметры агрегатов Тр у женщин с тромботическими осложнениями беременности и родов достоверно ($p < 0,001$) выше показателей здоровых беременных женщин. Изменения в наибольшей степени выражены на этапе инкубации 15 и 30 минут.

Таким образом, наличие ТФ способствует снижению порога для тромбоцитарного ответа и усиливают агрегационную активность Тр.

Проведенное исследование показало, что использование метода сканирующей зондовой микроскопии позволяет оценить естественную функциональную активность Тр. Визуализация агрегатов убедительно доказывает и иллюстрирует увеличение скорости образования агрегатов при тромботических осложнениях беременности. Метод сканирующей зондовой микроскопии может быть использован с большей степенью надежности для фундаментальных исследований морфофункциональных свойств Тр, а также в клинико-лабораторной диагностике тромботических состояний различного генеза.

Известно, что различные генетические дефекты гемостаза обнаруживаются у пациентов с тромбозами в 80 - 90% случаев. В современной литературе встречаются разрозненные данные о связи генетического полиморфизма гена GP IIb/IIIa с развитием тромбозов, но сведения о связи данного полиморфизма с развитием типично акушерской патологии весьма противоречивы (Макацария А.Д. и др., 2007).

S.E. Bojesen et al. (2003) установили, что замена Leu33→Pro в молекуле GP IIIa сопровождается множественными конформационными изменениями в пределах GP IIb/IIIa-рецептора. Такие структурные изменения могут ассоциироваться с повышением связывания с «иммобилизированным» фибрино-

геном, изменением актинового цитоскелета и ретракции сгустка и, таким образом, индуцировать мягкую протромботическую активность.

Для изучения тромбоцитарного и плазменного гемостаза новорожденных детей и их матерей при различных видах генетических ТФ проведено скрининговое исследование ДНК-полиморфизмов основных генов системы гемостаза: аллельные варианты гена С677Т и А1298С гена метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR), маркер гена протромбина G20210А, определение мутации в гене ф.V Leiden (полиморфизм G1991А) и полиморфизм ингибитора активатора плазминогена типа 1 (аллельный вариант 675 4G/5G), полиморфизм гена фибриногена (G455А), а также молекулярно-генетическое исследование на наличие полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa.

По результатам исследования из 256 пациенток с тромботическими осложнениями наблюдалось носительство нормального генетического варианта рецептора Тр GP IIb/IIIa. ($P1^{A1}/P1^{A1}$) у 163 пациенток (63,6% случаев), гетерозиготная мутация ($P1^{A1}/P1^{A2}$) – у 54 пациенток (21% случаев), гомозиготная мутация $P1^{A2}/P1^{A2}$ – у 39 пациенток (15,2% случаев). Из 163 женщин с нормальным вариантом гена рецепторов Тр у 27 пациенток выявлены мутации в генах плазменного гемостаза (10,5% случаев). У 15 – изолированная гетерозиготная мутация в гене МТНFR, аллельный вариант С677Т (5,8% случаев). Мутации в гене МТНFR в сочетании с гетерозиготной мутацией Leiden в гене ф.V наблюдалась у 12 женщин (4,6% случаев).

У 29 женщин выявлено сочетание мутации в гене МТНFR с гетерозиготной мутацией в гене ф.V в сочетании с гетерозиготным полиморфизмом гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa (11,3% случаев).

Из 152 здоровых беременных женщин только у 24 выявили наличие гетерозиготного варианта полиморфизма GP IIb/IIIa (15,7% случаев). Нормальный генотип наблюдался у 128 женщин (84,3 % случаев).

Таким образом, выявлено, что носительство нормального гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa у здоровых женщин на 20,7% выше, чем в группе жен-

щин с ТФ. Наличие гетерозиготной мутации ($P1^{A1}/P1^{A2}$) в группе 2 было выше на 5,3%. Гомозиготный вариант ($P1^{A2}/P1^{A2}$) встречался только в группе женщин с ТФ.

С целью изучения влияния генетической ТФ на метаболические и гемостазиологические параметры женщин и их новорожденных детей, пациентки отделения патологии беременности были разделены на восемь групп: 1 – здоровые женщины, имеющие генотип A^1/A^1 ($n=128$); 2 – здоровые женщины, имеющие полиморфизм $P1^{A1}/P1^{A2}$ ($n=24$); 3 – пациентки с ТФ и вариантом генотипа A^1/A^1 ($n=136$); 4 – женщины с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом $P1^{A1}/P1^{A2}$ ($n=35$); 5 – пациентки с ТФ и гомозиготным полиморфизмом $P1^{A2}/P1^{A2}$ ($n=39$); 6 – пациентки с ТФ и изолированной гетерозиготной мутацией в гене MTHFR ($n=15$); 7 – пациентки с ТФ и сочетанием гетерозиготной мутации гена MTHFR и гена ф.V ($n=12$); 8 – пациентки с ТФ и сочетанием гетерозиготной мутации гена MTHFR с гетерозиготной мутацией гена ф.V и наличием полиморфизма $P1^{A1}/P1^{A2}$ ($n=19$).

На сегодняшний день тромбофилические осложнения беременности и родор рассматривается с точки зрения развития синдрома полиорганной недостаточности (Рогалева Т.Е. и др., 2008). Этот факт побудил нас провести комплексную оценку метаболических показателей, свободно-радикальных реакций, а также показателя АОА у беременных женщин с генетическим полиморфизмом A^2 . Для этого мы исследовали биохимические показатели здоровых беременных женщин и пациенток с ТФ, имеющих гетерозиготный вариант полиморфизма гена рецепторов Тр и пациенток с ТФ и гомозиготным полиморфизмом гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa. Группа здоровых женщин с генотипом $P1^{A1}/P1^{A1}$ была контрольной.

При сравнительном анализе данных выявлено, что у здоровых женщин (1 и 2 группы) показатели не выходили за референсные пределы, но у пациенток с гетерозиготным полиморфизмом выявлено достоверное повышение уровня МДА Тр ($p<0,001$), NO ($p<0,05$), ИЛ-6 и ИЛ-8 ($p<0,01$ и $p<0,05$, соответственно).

У всех пациенток с ТФ установлено усиление перекисных процессов в сыворотке и Тр в сравнении с показателями 1 группы.

В наибольшей степени был изменен показатель МДА Тр у женщин с гомозиготным вариантом полиморфизма $P1^{A2}/P1^{A2}$. Разница этого показателя в сравнении с 1 группой составила 202%. Показатель МДА сыворотки был увеличен на 110%. В группе женщин с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом показатели МДА сыворотки и Тр были выше на 57,1% и 103%, соответственно. У здоровых женщин с гетерозиготным полиморфизмом также отмечено достоверное ($p<0,001$) увеличение показателя МДА Тр.

У женщин с полиморфизмом A^2 выявлено достоверное повышение уровня NO, но степень достоверности была различной. В группах больных женщин с гетеро- и гомозиготным дефектом повышение составило 25,7% и 55,8 %, соответственно ($p<0,001$). У здоровых пациенток с гетерозиготным дисморфизмом также отмечено увеличение уровня нитритов до 8,99 мкмоль/мл ($p<0,05$).

Показатель АОА достоверно ($p<0,05$) измененным оказался только в 5 группе пациенток, а показатель церулоплазмина, который также обладает антиоксидантной активностью, достоверно ($p<0,05$) снижался в группах женщин с ТФ.

Также у пациенток с тромбофилией достоверно ($p<0,001$) повышенными оказались уровни провоспалительных цитокинов. У здоровых женщин с полиморфизмом $P1^{A1}/P1^{A2}$ отмечено повышение уровней ИЛ-6 и ИЛ-8, но степень достоверности была ниже ($p<0,01$ и $p<0,05$, соответственно).

Уровень ФВ, маркера дисфункции эндотелия, достоверно отличался только у пациенток с ТФ и дисморфизмом A^2 ($p<0,001$). Наибольшие изменения этого показателя отмечены у 5 группы женщин. От показателя 1 группы он отличался на 88,8%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у женщин с полиморфизмом A^2 отмечается цитокинемия, усиление процессов липопероксидации,

дефицит антиоксидантов, что в совокупности демонстрирует комплексный характер гуморальных расстройств.

Сопоставление частоты метаболических нарушений у пациенток с ТФ с характером и тяжестью изменений показателей гемостаза привело нас к выводу о влиянии вышеуказанных расстройств на развитие коагуляционных нарушений у женщин с полиморфизмом A^2 .

При проведении сравнительного анализа полученных данных установили, что количественные показатели Тр женщин без клинических проявлений ТФ достоверно не имели выраженных отличий, однако в группе с гетерозиготным полиморфизмом отмечалось достоверное усиление агрегации с АДФ. При анализе данных морфометрии Тр здоровых женщин установлено увеличение молодых форм клеток в группе пациенток, имеющих гетерозиготный полиморфизм и усиление их функциональной активности, в сравнении с пациентками, имеющими генотип A^1/A^1 .

Установлено, что наиболее чувствительными показателями усиления функциональной активности Тр у здоровых женщин с гетерозиготным полиморфизмом активизации являются данные морфометрии и агрегации с АДФ.

Анализ данных плазменного гемостаза пациенток 1 и 2 групп указывает на усиление внутреннего пути коагуляции и незначительное снижение фибринолитической активности у пациенток с гетерозиготным полиморфизмом.

Установленные изменения гемостатических параметров могут носить компенсаторно-приспособительный характер и способствовать адаптации к родам.

Сравнивая показатели пациенток с ТФ выявлено, что количественные параметры не выходят за референсные пределы, но, 5 группе женщин, имеющих гомозиготный вариант полиморфизма ($P1^{A2}/P1^{A2}$) изменения выражены в наибольшей степени. Отмечается снижение PLT ($234,1 \pm 12,3 \cdot 10^9/\text{л}$; $p \leq 0,05$), увеличение MPV ($11,2 \pm 0,27$ фл) и PCT ($18,4 \pm 0,16\%$) в сравнении с данными здоровых родильниц 1 группы

($p \leq 0,001$). Установлено усиление агрегационной активности с агонистами АДФ, ристоцетином и коллагеном на 68%, 87% и 61%, соответственно.

Также у пациенток 5 группы изменялись морфометрические параметры Тр. Так разница между показателем среднего диаметра Тр, в сравнении с показателями 1 группы составила 25,4%, площади Тр – 73,4%, фактора формы – 26,4%. У пациенток с полиморфизмом PI^{A1}/PI^{A2} диаметр клеток был больше на 18,7%, фактор формы – на 18,1, а площадь Тр увеличена на 50,9%. У женщин, имеющих генотип A^1A^1 показатели диаметра, площади и фактора формы были увеличены на 9,8%, 50,9% и 10,2% в сравнении с данными пациенток 1 группы.

При проведении анализа морфометрических показателей Тр у пациенток, имеющих дефекты генов плазменного гемостаза, было выявлено, что диаметр и площадь Тр достоверно увеличены в сравнении с показателями здоровых беременных женщин. При этом наибольшие значения были отмечены в группе пациенток, имеющих сочетание дефектов генов плазменного и тромбоцитарного гемостаза, и составили 2,78 мкм и 6,38 мкм², соответственно. У пациенток с ТФ и сочетанием гетерозиготной мутации гена *MTHFR* и гена *f.V* определялся наиболее высокий показатель фактора формы Тр, который достоверно отличался от показателя фактора формы здоровых пациенток и пациенток с ТФ, имеющих нормальный генотип и полиморфизм PI^{A1}/PI^{A2} . Степень омоложения Тр достоверно отличалась от показателей здоровых женщин, но в группах пациенток с генетическими дефектами плазменного гемостаза достоверно не различалась между собой.

У женщин 5 группы установлены наибольшие показатели диаметра Тр, фактора формы и ИОТр, свидетельствующие об усилении функциональной активности и омоложении популяции Тр. У пациенток, имеющих генотип A^1/A^1 и A^1/A^2 (3 и 4 группы) выявлены похожие изменения, но выраженность изменений была несколько ниже. Также отмечено влияние гетерозиготной мутации гена *MTHFR* на показатели функциональной активности Тр.

При сочетании тромбоцитарных и плазменных дефектов выявлено наибольшее увеличение площади клетки. Значительное повышение фактора формы у пациенток с сочетанной генетически обусловленной ТФ может быть связано с повреждением эндотелия, приводящим к патологической активации Тр и развитию тромботических осложнений.

Анализ данных плазменного гемостаза здоровых женщин позволил установить усиление активности внутреннего пути коагуляции и незначительное снижение фибринолитической активности крови у женщин с гетерозиготным полиморфизмом в сравнении с показателями женщин 1 группы. Выявленные изменения могут иметь компенсаторно-приспособительное значение и способствовать общим механизмам адаптации к родам.

У женщин с ТФ изменения характеризовались гиперкоагуляцией, тромбинемией, снижением фибринолитической активности и дефицитом ингибиторов свертывания. Наиболее значимые изменения параметров плазменного гемостаза установлены у женщин с гомозиготным полиморфизмом (5 группа) и при сочетании полиморфизма $P1^{A1}/P1^{A2}$ с дефектами генов плазменного гемостаза.

Таким образом, наличие полиморфизма A^2 приводит к усилению агрегационной активности Тр, и может способствовать повышению коагулянтного потенциала и развитию тромботических осложнений.

Вышеуказанные коагуляционные параметры могут использоваться для оценки риска развития протромботических состояний, обоснования для назначения антикоагулянтной терапии, так как выявленные изменения гемостазиологических показателей подтверждают клиническую картину тромбогенных осложнений у женщин с ТФ и могут иметь прогностическое значение.

О важной роли полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa в развитии протромботических состояний говорит тот факт, что изменения количественных, функциональных и морфометрических показателей Тр и коагуляционного гемостаза в наибольшей степени были выражены у па-

циенток, имеющих гомозиготный полиморфизм этого гена, и при сочетании полиморфизма $P1^{A1}/P1^{A2}$ с дефектами плазменного гемостаза.

Установлено что, гетерозиготный полиморфизм гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa встречался и у здоровых беременных женщин. Можно предположить, что данный полиморфизм не обязательно провоцирует протромботическую активность, возможно, имеют место иные провоцирующие факторы. Обнаружение мутаций и полиморфизмов в генах является поводом для детального исследования системы гемостаза, так как наличие полиморфизма A^2 , а особенно, при сочетании с другими дефектами генов гемостаза может провоцировать развитие тромботических осложнений.

Наличие протромботической активности у женщин, имеющих генотип A^1/A^1 , говорит о полиэтиологичности заболевания.

Таким образом, склонность в тромбозам может реализовываться с помощью различных патофизиологических механизмов. Установление этих механизмов позволит наиболее эффективно осуществлять лечебные и профилактические мероприятия. Своевременное выявление пациенток с высоким риском развития тромбозов позволит начать антикоагулянтную и антиагрегантную на более раннем этапе и предотвратить развитие тромботических осложнений у женщины во время беременности и в послеродовом периоде.

Анализ данных гемостаза новорожденных детей, родившихся у здоровых женщин и пациенток с ТФ показал, что у детей, родившихся от здоровых женщин (1 и 2 группы) тромбоцитарные индексы практически не отличались между собой, однако отмечено повышение общего количества Тр у детей, матери которых имели гетерозиготный полиморфизм гена рецепторов Тр ($p \leq 0,05$). Выявлено достоверное увеличение PCT у детей пациенток с ТФ и генотипом A^1/A^1 ($p \leq 0,05$). У детей пациенток с ТФ и гетерозиготным полиморфизмом отмечается достоверное изменение PLT, MPV и показателя PDW, которые составили в среднем PLT – $261,8 \cdot 10^9/\text{л}$, MPV – 10,3 фл и PDW – 17,7% ($p \leq 0,01$). У детей, родившихся от женщин с гомозиготным вариантом полиморфизма гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa ($P1^{A2}/P1^{A2}$) – увеличение обще-

го количества клеток на 12,2% в сравнении с показателем в 1 группе новорожденных, а показатели MPV, PCT и PDW были выше на 18%, 12% и 8%, соответственно ($p \leq 0,05$).

В группе детей, матери которых имели гетерозиготный полиморфизм гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa PI^{A1}/PI^{A2} отмечено достоверное повышение агрегации Тр с АДФ в дозе 0,2 мМ/л на 22,8%, с ристоцетином (5 мкМ/мл) на 29,7%, с коллагеном (0,2 мг/мл) на 59,3% в сравнении с данными 1 группы новорожденных ($p \leq 0,001$). В группе детей от матерей с полиморфизмом PI^{A2}/PI^{A2} отмечалось наиболее выраженное усиление агрегационной активности со всеми индукторами. Так, АДФ-индуцированная агрегация составила 7,01%, с коллагеном – 1,94%, а с ристоцетином – 29,2% ($p \leq 0,001$). Сравнивая показатели агрегации Тр новорожденных детей, матери которых имели дефекты генов плазменного гемостаза, достоверные изменения были выявлены только в группе детей, матери которых имели сочетание гетерозиготной мутации гена MTHFR с гетерозиготной мутацией гена ф.V. АДФ и коллаген-индуцированная агрегация составила 5,59% и 1,84%, соответственно ($p \leq 0,01$), а с ристоцетином – 27,1% ($p \leq 0,001$). Показатели агрегационной активности Тр детей, матери которых имели нормальный вариант гена рецепторов Тр (PI^{A1}/PI^{A1}) были сопоставимы с показателями детей 3 группы, но имели тенденцию к увеличению, в сравнении с показателями детей здоровых женщин, однако изменения не были достоверны. При проведении анализа показателей цитоморфометрии Тр новорожденных, от женщин без клинических проявлений тромбофилии, выявлено достоверное ($p \leq 0,001$) увеличение функциональной активности Тр в группе 2, о чем свидетельствует увеличение площади Тр и повышение показателя фактора формы Тр. Отмечается тенденция увеличения ИОТр, но изменения этого показателя между 1 и 2 группами не достоверны.

При анализе межгрупповых отличий геометрических и цветоярких параметров Тр новорожденных, родившихся у здоровых матерей и пациенток с тромбофилией, обращает на себя внимание достоверное ($p \leq 0,001$)

изменение всех геометрических параметров Тр. Так у детей 3 - 8 групп достоверно ($p \leq 0,001$) увеличены средний диаметр Тр, площадь клетки и фактор формы в сравнении с показателями 1 группы.

Так, достоверные ($p \leq 0,001$) наиболее выраженные изменения морфометрических параметров клеток наблюдались у детей пациенток с клиническими проявлениями ТФ и полиморфизмом $P1^{A2}/P1^{A2}$ – 5 группа. При этом разница между показателями среднего диаметра Тр и площади Тр с данными детей от здоровых женщин 1 группы составила 49,7% и 126,5%, фактора формы – 44,4%. Аналогичные результаты были получены в группе детей от женщин с гетерозиготным полиморфизмом. Они составили 31,5%, 59,4% и 34,3%, соответственно, а в группе с нормальным генотипом – 14,2%, 26,3% и 17,1%, соответственно. Похожие изменения всех морфометрических показателей наблюдались и в 8 группе детей. Диаметр Тр составил 3,24 мкм, фактор формы – 20,02 у.е., что сопоставимо с показателями в 5 группе. Показатель площади был достоверно ($p \leq 0,001$) увеличен в сравнении с данными новорожденных 1 группы и составил 7,15 мкм². Однако он был на 33,7% ниже, чем в 5 группе. Показатели морфометрии детей, матери которых имели мутации в генах плазменного гемостаза и нормальный вариант гена рецепторов Тр, также достоверно отличались от показателей 1 группы. В наибольшей степени отличались площадь Тр и фактор формы, они были сопоставимы с данными детей от матерей, имеющих гетерозиготный полиморфизм гена рецептора Тр.

Отмечено увеличение молодых «активных» форм Тр, по данным изменения ИОТр, во всех группах новорожденных от женщин с клиническими проявлениями тромбофилии, но наиболее выражено у детей от пациенток с гомозиготной мутацией (1,28 у.е.). Второй по значению результат был в 8 группе детей (1,18 у.е.).

Установлено значительное усиление коагуляционного потенциала у детей, матери которых имели генетический полиморфизм $P1^{A2}/P1^{A2}$ гена рецепторов Тр GP IIb/IIIa (5 группа) и сочетание гетерозиготной мутации этого ге-

на с дефектами плазменного гемостаза, по сравнению с данными новорожденных 1 группы.

Выявленные особенности наблюдались и у детей, матери которых имели генетические дефекты плазменного гемостаза (6 - 7 группы), что свидетельствует об увеличении у них коагуляционной активности крови.

Все исследуемые параметры гемостаза были взаимосвязаны между собой, что говорит о сбалансированности всех процессов гемостаза: коагуляции, образования фибринового сгустка, ретракции сгустка и фибринолиза.

Более выраженные изменения показателей имели место у новорожденных 5 и 8 групп, что может свидетельствовать напряженности коагуляционной системы у этих детей.

Полученные результаты подтверждаются литературными данными о взаимосвязи функционирования гомологичных органов и систем матери и плода. В работе В.И. Рябых (2005) установлено, что при поражении определенного органа матери происходит нарушение развития этого же органа у плода. На экспериментальной модели было показано, что сыворотка крови самки, у которой удалили часть органа, стимулирует пролиферативные процессы в одноименном органе плода.

Изменения, происходящие в организме матери, вызывают соответствующие адаптивные реакции у плода, определяющиеся, в значительной степени, состоянием плаценты, которая осуществляет взаимосвязь между организмом матери и плода. Обеспечивая гомеостаз развивающегося плода, плацента обладает целым комплексом специфических взаимодействий с отдельными дефинитивными органами и является необходимой составной частью онтогенеза (Донченко Л.А., 2004).

Так, не смотря на автономность организма плода от организма матери, имеются сведения о влиянии некоторых биохимических показателей на состояние плода (Радзинский В.Е., Смалько П.Е., 2001).

Нарушения в антиоксидантной, калликреин-кининовой и иммунной системах матери находятся в тесной взаимосвязи с состоянием адаптивно-

компенсаторных реакций плода, влияют на полноценность фетоплацентарного комплекса и определяют исход недоношенной беременности (Давлатова Г.К., 2007; Плюшкин В.А и др., 2009).

В возникновении осложнений беременности у пациенток с ТФ основную роль играют нарушения микроциркуляции вследствие спазма периферических сосудов. Развивается гипоксия, локальное повреждение эндотелия сосудов (в плаценте, почках, печени), ведущее к нарушению гемостаза с развитием хронического ДВС-синдрома. Активация ПОЛ и фосфолипазы приводит к образованию токсичных свободных радикалов и повреждению клеточных мембран. Инсулиновая недостаточность нарушает все виды обмена веществ, возникающая при этом гиперлипидемия приводит к выраженным структурно-функциональным изменениям клеточных мембран. Все это усугубляет гипоксию и микроциркуляторные нарушения, лежащие в основе осложнений беременности (Дедов И.И., Петеркова В.А., 2006).

Сопоставление частоты метаболических нарушений у пациенток с ТФ с характером и тяжестью изменений показателей гемостаза привело нас к выводу о влиянии вышеуказанных расстройств на развитие коагуляционных нарушений у женщин с полиморфизмом A^2 .

Для подтверждения этого нами проведен корреляционный анализ гуморальных и гемостазиологических показателей у пациенток с ТФ и наличием дисморфизма A^2 .

На основании корреляционного анализа выявлена зависимость параметров плазменного и тромбоцитарного гемостаза от выраженности метаболических и иммунных нарушений, свободно-радикальных реакций и снижения антиоксидантной активности у женщин с ТФ, имеющих полиморфизм A^2 в гене рецептора GP IIb/IIIa.

Проведенное исследование, результатом которого было установление значимых корреляционных взаимосвязей между метаболическими и гемостазиологическими показателями легло в основу объяснения механизма влияния

геетического полиморфизма A^2 на формирование гемостазиологических изменений во время беременности.

Предложено диагностическое направление, включающее определение нарушений гемостаза с учетом эндотелиальных расстройств (ПС, АТ III, ФВ, ИЛ-6 и ИЛ-8, NO, МДА, АОА, церулоплазмин).

Для женщин, имеющих полиморфизм A^2 , было характерно усиление липопероксидации, по уровню содержания МДА в сыворотке и мембране Тр, максимально выраженное у пациенток, имеющих полиморфизм A^2A^2 . СРО повышает экспрессию ТФ, а окислительный стресс способствует усилению коагуляции (Бышевский А.Ш. и др., 2006). Присутствующие связи между параметрами СРО и коагуляции и их интенсивностью у беременных женщин с генетической ТФ подтверждают данное предположение.

Показатели ПОЛ находились в тесной корреляционной зависимости с параметрами гемостаза. Установлено, что показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) находились в тесной корреляционной зависимости с параметрами гемостаза. Наиболее значимыми оказались связи усиления липоперекисных процессов с усилением функциональных свойств Тр, усилением внутреннего механизма коагуляции, также отмечена связь усиления ПОЛ и уровнем тромбинемии. Выявлена прямая зависимость между уровнем МДА Тр крови и агрегацией с АДФ ($R = 0,71$), фактором формы Тр ($R = 0,68$), МДА сыворотки крови и уровнем РФМК ($R = 0,58$), также отмечена убедительная обратная зависимость в показателем АЧТВ ($R = -0,61$).

У пациенток с генетическим полиморфизмом уровни нитритов в системе циркуляции были увеличены в сравнении со здоровыми женщинами, особенно, имеющих гомозиготный полиморфизм ($P1^{A^2}/P1^{A^2}$).

В нашем исследовании у пациенток выявлены корреляции между уровнями нитритов и увеличением количественных характеристик Тр, уровнем тромбинемии, усилением коагуляции и угнетением фибринолиза. Так выявлена убедительная прямая взаимосвязь с уровнем РФМК ($R = 0,64$) и обратная с показателем АЧТВ ($R = -0,67$).

Полученные данные свидетельствуют о связи уровней нитритов с гемостазиологическими расстройствами у пациенток, причем увеличение нитритов в крови сопровождается активизацией гемостаза.

Отмечено снижение АОА у пациенток с генетической ТФ, в сравнении со здоровыми женщинами. Отмечена корреляционная связь снижения АОА с усилением функциональных свойств Тр и активизацией коагуляции по внутреннему пути.

Окислительный стресс у пациенток с диморфизмом A^2 усиливается и взаимосвязан с усилением коагуляции, что подтверждают связи между параметрами гемостаза и интенсивностью СРО. Отмечается достоверное снижение церулоплазмينا у последних. Увеличения уровня церулоплазмينا параллельно активизации процессов СРО не установлено, что отражает нарушение равновесия в системе СРО – АОА. Отмечена корреляционная зависимость уровня церулоплазмينا с увеличением функциональной активности Тр, усилением коагуляции по внутреннему пути и снижением резерва естественных коагулянтов.

Эти изменения способствуют усилению тромбогенности эндотелия, нарушениям коагуляции и дальнейшему снижению уровней церулоплазмينا.

Корреляция нарушений гемостаза с уровнем церулоплазмينا показала нарастание тромботических изменений при снижении антиоксидантной защиты, так как АОА в целом отражает состояние антиоксидантной системы. При оценке взаимосвязей установлено, что понижение концентрации церулоплазмينا сопровождается увеличением концентрации МДА, нарастанием эндотелиальной дисфункции и изменениями коагуляции в виде тромбинемии и снижения ингибиторов свертывания, угнетением фибринолитической и увеличением активности тромбоцитарного компонента гемостаза.

Наличие воспалительного компонента у женщин с полиморфизмом A^2 верифицировано повышенными уровнями ИЛ-6 и ИЛ-8. Отмечена корреляционная связь между повышением уровня провоспалительных цитокинов и

усилением функциональной активности Тр, повышением уровня тромбинеми и усилением внутреннего пути образования протромбиназы.

Полученные данные иллюстрируют существование связей между усилением СРО, снижением АОА и активизацией плазменного и тромбоцитарного гемостаза. Существенна роль аутоиммунного фактора в реализации этих взаимосвязей.

Таким образом, специфика инициирующих механизмов активации системы гемостаза у женщин с дисморфизмом A^2 заключалась в развитии воспалительного ответа, характер и активность обуславливают выраженность гемостатических расстройств. Полученный фактически материал свидетельствует, что у женщин с ТФ отмечаются признаки цитокиновых реакций, усиления процессов СРО и липопероксидации, дефицита антиоксидантов, что в совокупности говорит о комплексном характере гуморальных расстройств, соответствующих тяжести нарушения сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Повышенные уровни медиаторов воспаления трансформируются в развитие гиперкоагуляции крови с развитием дисфункции эндотелия, что в последствии сопровождается усилением воспалительных и метаболических нарушений, то есть отмечается взаимная активация.

Эндотелий сосудистой стенки у пациенток с дисморфизмом A^2 является мишенью многочисленных повреждающих факторов и эффектор развития патогенетических механизмов генетической ТФ. При этом происходит усиление тромбогенных и снижение атромбогенных свойств, повышение адгезионных и снижение ангиогенных факторов, уменьшение антиапоптотических и усиление проапоптотических механизмов защиты эндотелия. Происходит изменение регуляции сосудистого тонуса и проницаемости. У женщин с полиморфизмом A^2 отмечается снижение тромборезистентности эндотелия (протеин С, АТ III), усиление тромбогенности (ФВ), а также, повышенная циркуляция системных факторов повреждения: нитритемия, цитокинемия, тромбинемия. Выраженность эндотелиальной дисфункции, формирующейся у пациенток, определяется генотипом. Эндотелиальный фенотип меняется из

тромборезистентного в тромбогенный. Фенотип эндотелия меняется с тромборезистентного на тромбогенный. Повышение концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 свидетельствуют о развитии системной воспалительной реакции у женщин, что способствует повышению проницаемости эндотелия, усилению его адгезивны и тромбогенных функций. Потенцирующими факторами в формировании эндотелиальной дисфункции можно считать наличие тромбинемии, нитритемии, дефицита ингибиторов свертывания крови и цитокинемия. Усиление эндотелиальной дисфункции на фоне усиления функциональных свойств Тр у пациенток способствует повреждению эндотелия, нарушениям гемостаза, что способствует дальнейшему прогрессированию заболевания. Эндотелиальной дисфункции принадлежит важнейшая роль в инициировании патогенетического механизма, который через усиление метаболических и иммунных реакций приводит к развитию гемостазиологических расстройств, замыкая тем самым порочный круг нарушений гемостаза. Повреждение эндотелия является основой нарушений в микроциркуляторном русле. Активирование эндотелиоцитов провоспалительными цитокинами ведет к повышению экспрессии на эндотелии адгезивных белков. При этом Тр обладают повышенной адгезивной и агрегационной активностью к эндотелиоцитам. Усиление адгезивности эндотелия приводит к повышению концентрации провоспалительных цитокинов, свободных радикалов. Повышается уровень NO и усугубляется дисфункция эндотелия.

Таким образом, основным патогенетическим механизмом нарушений гемостаза при полиморфизме A^2 гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa у беременных женщин является развитие эндотелиальной дисфункции, определяющейся снижением тромборезистентных свойств эндотелия и усилением тромбогенных и адгезивных, а также снижением антиапоптотической защиты.

Патофизиологической основой плацентарной недостаточности общепризнанно считают расстройство гемодинамики в системе мать-плацента-плод и нарушение реологических свойств крови в маточно-плацентарной зо-

не (Сидорова И.С., Макаров И.О., 2000; Панина О.Б. и др., 2003). Установлено, что основные механизмы нарушений в сосудисто-тромбоцитарном и плазменном компонентах системы гемостаза, а также изменения активности фибринолиза межворсинчатого пространства определяют структурную перестройку терминальных ворсин и клеточных мембран плаценты, избыточное отложение фибрина в элементах котиледонов, повышение агрегационных свойств клеток крови и гиперфибриногемии (Макацария А.Д. и др., 2007). В свою очередь, замедление скорости кровотока в маточно-плацентарной системе, в совокупности с изменениями гемостатического потенциала крови создает условия для формирования и реализации триады Вирхова внутрисосудистого тромбообразования, с высоким риском развития различных клинических форм ДВС крови при этом гестационном осложнении (Сидельникова В.М., 2013).

В научных исследованиях последних десятилетий доказано, что развитие внутриутробных нарушений начинается на ранних этапах развития фетоплацентарного комплекса, а нарушения в состоянии эндо- и миометрия инициируют неполноценное развитие плацентарного ложа, плаценты, эмбриона и плода (Давтян Е.Л., 2006; Демидович Е. О., Игнатко И. В., 2007; Вишина А.В., 2009).

Имеются литературные данные, что общие патогенетические механизмы развития эндотелиальной дисфункции лежат в основе патогенеза развития плацентарной недостаточности инфекционного генеза и у пациенток с сахарным диабетом (Сосунов, А.А., 2000; Долгушина Н.В., Макацария А.Д., 2007).

Известно что, неферментативное гликирование белков клеточных мембран – один из путей реализации глюкозотоксичности, это приводит к их необратимой структурно-функциональной конформации, а также снижает резистентность клеток, повышает их хрупкость, а также усиливает агрегационную активность Тр. Помимо этого изменяется деформируемость эритроцитов вследствие нарушения вязкоэластичных свойств мембраны. В результате

происходит изменение формы эритроцитов, что не позволяет проходить им сквозь капилляры, нарушается транспортировка кислорода к органам и тканям. Ухудшение реологических характеристик эритроцитов приводит к нарушению микроциркуляции и, соответственно, развитию гипоксии тканей и ацидоза (Бондарь Т.П., 2002).

Выработка эндотелием биологически активных веществ обеспечивает поддержание тонуса сосудов, регуляцию процессов свертывания крови и тромбообразования, а также регуляцию местной воспалительной реакции. Развитие эндотелиальной дисфункции, в свою очередь, может приводить к спазмированию микрососудов, усиленному тромбообразованию и адгезии лейкоцитов и Тр к эндотелию. Считается, что причинами способствующими развитию эндотелиальной дисфункции являются ишемия и гипоксия тканей, глюкозотоксичность, эндогенная интоксикация, цитокиновые реакции, нарушение липидного обмена и другие факторы, усиливающие гибель эндотелиоцитов, являются основой для формирования тромбофилического состояния (Дедов И.И., Петеркова В.А., 2006).

Имеются сведения, что большинство инфекционных агентов оказывают прямое (теретогенное) и непрямое воздействие на организм человека, приводя к невынашиванию беременности, внутриутробной гибели плода, преждевременным родам, плацентарной недостаточности. Причиной этого является способность ряда бактерий и вирусов поражать эндотелиоциты сосудов плаценты. Также есть данные о том, что некоторые вирусы могут инициировать выработку АФА с последующим развитием АФС (Долгушина Н.В., Макацария А.Д., 2007). Поражая эндотелий, сосудов бактерии и вирусы способствуют развитию воспалительной реакции и ТФ. Воспаление развивается, в основном, за счет активации системы комплемента и выработки провоспалительных цитокинов. Вирусы также могут усиливать экспрессию молекул адгезии на эндотелии сосудов, что приводит к увеличению связывания эндотелиоцитами различных клеток. Прикрепление этих клеток-эффекторов воспаления к Тр и эндотелию приводит к выработке большого количества

цитокинов. Провоспалительные цитокины способствуют изменению антикоагулянтных свойств эндотелия на прокоагулянтные дальнейшему развитию эндотелиальной дисфункции (Kofler S. et al., 2005). Некоторые инфекционные агенты непосредственно снижают антикоагулянтную способность эндотелия за счет уменьшения ими синтеза комплекса гепаринсульфат протеогликана, который участвует в связывании и активации АТ III (Levi M. et al., 2003). Некоторые вирусы снижают продукцию эндотелием тромбомодулина, что приводит к снижению тромбомодулинзависимой активации протеина С и усилению тромбообразования. Кроме того, прокоагулянтная активность ряда возбудителей инфекционных заболеваний проявляется в изменении пространственной конфигурации фосфолипидов мембран, усилении экспрессии тканевого фактора, протромбиназы $fg\ 12$ и ИЛ-8 на поврежденном эндотелии (Демьянов А.В. и др., 2003). Вирусы гепатита С и простого герпеса способны образовывать комплекс непосредственно с ф.Х, активировать его, что приводит к синтезу тромбина, повышению экспрессии молекул адгезии на эндотелии – ФВ, Р-селектина, Е-селектина. ФВ способствует усилению адгезии и агрегации Тр и снижению простагландинсинтетической активности эндотелия (Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2006). Также некоторые бактерии и вирусы, поражая эндотелий, могут снижать синтез тканевого активатора плазминогена и PAI-1, что способствует нарушению фибринолиза и, как следствие, нарушению плацентации (Levi M. et al., 2003).

Изучению процессов ПОЛ мембран клеток в области акушерства и гинекологии посвящено немало научных трудов, в том числе и при инфекционных заболеваниях во время беременности.

Липоперекисные процессы имеют основополагающее значение в процессе синтеза простагландинов, лейкотриенов, регуляции липидного состава, проницаемости мембран и функционировании клеток в целом. В результате активации процессов ПОЛ происходит разрушение фосфолипидного слоя мембран клеток и под влиянием продуктов ПОЛ (гидроперекиси липидов, основания Шиффа, МДА) биологические мембраны

насыщаются холестерином, что крайне негативно сказывается на их свойствах, так как происходит повышение микровязкости и ограничение подвижность участков мембраны. Вследствие этого снижается, проницаемость мембран для кислорода, гормонов, что приводит к развитию гипоксии тканей (Тютюнник В.Л., 2001; Кулаков В.И. и др., 2004; Орджоникидзе Н.В., Тютюнник В.Л., 2004; Кузьменко Г.Н., 2011).

Регуляция активности липоперекисных процессов осуществляется системами, генерирующими свободные радикалы, а также системой антиоксидантов (Басов А.А. и др., 2013). В.Л. Тютюнник (2006) установлено, что у женщин с очагами хронической инфекции уже на ранних сроках гестации происходит активизация процессов липопероксидации на фоне снижения АОО организма. Кроме того, выявлена зависимость степени снижения антиоксидантной защиты от длительности заболевания, и отмечена интенсификация в острый период. Существует мнение, что у женщин, страдающих хроническим эндометритом, на ранних сроках беременности, снижение АОО может приводить к нарушению волн инвазии трофобласта, а в последствии – плацентарной недостаточности (Ким А., 2002; Оразмурадов А.А., 2003). По мнению Д.И. Соколова (2007) нарушение функции антиоксидантной системы у женщин высокого инфекционного риска является первичным, и определяет нарушение проницаемости мембран клеток крови, что ведет к не полноценной имплантации бластоцисты и усилению тканевой гипоксии.

Различные патологические процессы могут сопровождаться локальной активацией фагоцитов с дальнейшим усилением продукции активных форм кислорода. По мнению ряда авторов, именно активированные фагоциты играют важную роль в процессе развития окислительного стресса и формировании системного воспалительного ответа. Фагоциты мигрируют в зону воспаления, усиливая процессы СРО посредством повышенного образования активных форм кислорода (Ambruso D.R. et al., 2004; Басов А.А. и др., 2013). Существует мнение, что эффективными активаторами синтеза

активных форм кислорода фагоцитами в очаге инфекции являются цитокины. Обладая провоспалительным эффектом, они стимулируют фагоцитарные клетки и повышают синтез супероксиданион-радикала, при этом противовоспалительные цитокины - ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12 снижают синтез активных форм кислорода. Пероксид водорода в небольших количествах способствует повышению образования Т-лимфоцитов и ИЛ-2. Установлено повышение концентрации ИЛ-2 и Т-лимфоцитов у беременных, имеющих очаги хронической инфекции на ранних сроках (Каткова Н.Ю., 2011).

Можно констатировать, что процессы СРО, активизация которых характерна для многих патологических процессов, играют существенную роль в патогенезе плацентарной недостаточности различного генеза.

Таким образом, ТФ беременности можно рассматривать с позиции развития синдрома полиорганной недостаточности, в основе которого лежит системная воспалительная реакция, характеризующаяся активированием макрофагов, фагоцитов, эндотелиальных клеток, гранулоцитов и Тр.

С целью выявления наиболее статистически значимых признаков и предварительного суждения о вероятности влияния генетического полиморфизма A^2 на изменение метаболических и гемостазиологических параметров проводили анализ данных, полученных в результате лабораторного обследования пациенток. Для этого использовали последовательный анализа Вальда. На первом этапе проводили оценку частоты встречаемости изучаемых показателей у здоровых женщин (1 и 2 группы).

Установлено, что наиболее статистически значимыми метаболическими и гемостазиологическими показателями при наличии дисморфизма A^2 у здоровых женщин является сочетание следующих показателей: агрегационная активность с АДФ, фактор формы Тр, оптическая плотность по синей компоненте, ИОТр, уровень МДА Тр и площадь Тр. Наличие статистически значимых признаков у здоровых женщин свидетельствуют о связи гетерозиготного дисморфизма A^2 с изменением цитоскелета Тр, усилением функцио-

нальной активности клеток, «омоложении» популяции Тр, а также активизации процессов ПОЛ в мембране Тр.

Для решения вопроса о связи гомозиготного полиморфизма A^2/A^2 с изменением гуморальных показателей провели оценку частоты встречаемости признаков у пациенток с ТФ и наличием гетерозиготного полиморфизма ($P1^{A1}/P1^{A2}$) и женщин, имеющих гомозиготный полиморфизм.

Установлено, что наиболее статистически значимыми показателями при наличии гомозиготного дефекта гена у пациенток с ТФ является сочетание метаболических показателей, таких как, уровень ИЛ-6, уровень нитритов, церулоплазмин, показатель АОА, концентрация МДА сыворотки, а также содержание МДА Тр и уровень ИЛ-8.

Наличие статистически значимых признаков в группах женщин с ТФ показывает связь гомозиготного полиморфизма $P1^{A2}/P1^{A2}$ гена субъединиц рецепторов Тр GP IIb/IIIa с усилением свободно-радикальных реакций, снижением АОА, усилением цитокиновых реакций, развитием окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции.

Произведенное клиническое наблюдение продемонстрировало высокую информативность и практическую значимость статистических методов с использованием прогностического коэффициента Кульбака для выявления наиболее статистически значимых патологических признаков у беременных женщин при наличии генетического полиморфизма A^2 .

ВЫВОДЫ

1. Частота встречаемости акушерской патологии в родильном доме г. Ставрополя высока и составляет 23,6%, что не отличается от данных по РФ. Осложнения, ассоциированные с тромбофилией составляют 32,6% от всей акушерской патологии. Структура этих осложнений представлена умеренной и тяжелой преэклампсией в 48,1% случаев, преждевременными родами - в 8,4%, синдромом задержки внутриутробного развития плода - в 18,8%, преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты – в 16,1%, фето-плацентарной недостаточностью – в 32,4% случаев.

2. При экспериментальной гиперкоагуляции у лабораторных животных происходит увеличение количества, размеров и агрегационной активности тромбоцитов, а также, «омоложение» популяции тромбоцитов периферической крови самок крыс и их потомства. На 5-е сутки после родов у самок крыс состояние усиления свертываемости крови сохраняется. У потомства выявляется снижение количественных характеристик Тр и их функциональной активности.

3. У беременных женщин с тромбофилией наблюдается выраженная активация тромбоцитарного и плазменного компонентов гемостаза, наиболее выраженная в 1-е сутки после родов. К 5-м суткам показатели не возвращаются к нормальным значениям. У их новорожденных детей в 1-е сутки после родов имеет место достоверное повышение показателей агрегационной активности тромбоцитов со всеми индукторами, увеличение количества тромбоцитов, их площади, фактора формы и индекса «омоложения» тромбоцитов, не нормализующиеся к 5-м суткам.

4. У беременных женщин, имеющих генетический полиморфизм A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa наблюдается усиление коагуляции по внутреннему и внешнему пути, тромбинемия, снижение резерва естественных антикоагулянтов, активности фибринолиза, увеличение объема тромбоцитов, увеличение гетерогенности популяции

тромбоцитов, усиление агрегации со всеми индукторами и повышение функциональной активности по данным морфометрического анализа. Наличии генетического полиморфизма A^2 приводит к активизации плазменного и тромбоцитарного компонента гемостаза у их новорожденных детей. Наиболее выраженные изменения гемостаза выявлены в группе пациенток, имеющих гомозиготный полиморфизм $P1^{A2}/P1^{A2}$, и у их новорожденных детей.

5. Наличие полиморфизма A^2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa у беременных женщин приводит к усилению свободно-радикальных реакций, снижению антиоксидантной активности, увеличению выработки провоспалительных цитокинов, избыточному образованию оксида азота.

6. Усиление метаболических и иммунных нарушений, свободно-радикальных реакций и снижение антиоксидантной активности оказывает влияние на активизацию плазменного и тромбоцитарного гемостаза у беременных женщин с тромбофилией и полиморфизмом A^2 , что подтверждается значимыми корреляционными связями между биохимическими и гемостазиологическими показателями.

7. Основным патобиохимическим механизмом нарушений гемостаза при полиморфизме A^2 является развитие эндотелиальной дисфункции, определяющейся снижением тромборезистентных свойств эндотелия и усилением адгезивных и тромбогенных, а также снижением антиапоптотической защиты.

8. Наибольшую статистическую значимость в развитии гемостазиологических и метаболических изменений во время беременности при наличии полиморфизма A^2 имеют сочетание следующих патологических признаков: увеличение концентрации интерлейкина 6, уровня нитритов, снижение уровня церулоплазмينا и показателя антиоксидантной активности, повышения уровня малонового диальдегида в сыворотке крови и мембране тромбоцитов, а также увеличение концентрации интерлейкина 8.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Диспансерное наблюдение за беременными пациентками в женской консультации должно включать тщательный сбор семейного акушерского и тромботического анамнеза с целью выявления генетических и/или приобретенных форм тромбофилии, что позволит заподозрить наличие тромбофилии и прогнозировать течение и исход беременности.

2. При наличии отягощенного акушерско-гинекологического и тромботического анамнеза женщинам, планирующим беременность, на амбулаторно-поликлиническом этапе показано исследование для выявления мутаций в генах плазменного и тромбоцитарного гемостаза.

3. Беременным женщинам необходимо проводить исследование гемостазиограммы 3 раза в течение гестационного срока. При выявлении тромбофилии – не реже 1 раза в 4 недели.

4. Наиболее эффективным направлением для улучшения качества диагностики тромботических осложнений беременности и родов в ближайшей перспективе является внедрение в практику акушерских стационаров тромбоэластометрии и расширенной гемостазиограммы с исследованием агрегационной активности Тр и определением маркеров тромбофилии (антитромбина III, протеина С, D-димера, фактора фон Виллебранда, показателей активности фибринолиза) в сочетании с определением маркеров эндотелиальной дисфункции, показателей липопероксидации и антиоксидантной активности.

5. Врачам-педиатрам необходимо проводить мониторинг гемостазиологических и метаболических параметров детей, матери которых страдали тромбофилией, в раннем неонатальном периоде, что необходимо для прогнозирования развития тромбозов в период новорожденности и в более старшем возрасте.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ААТр -	агрегационная активность тромбоцитов
АВР -	активированное время рекальцификации
АДФ -	аденозиндифосфат
АОА -	антиоксидантная активность
АТФ -	аденозинтрифосфат
АФА -	антифосфолипидные антитела
АФС -	антифосфолипидный синдром
АЧТВ -	активированное частичное тромбопластиновое время
АТ III -	антитромбин III
ВТЭ -	венозный тромбоэмболизм
ДВС -	диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ИЛ -	интерлейкин
ИОТр -	индекс омоложения тромбоцитов
КЦТр -	компьютерная цитоморфометрия Тр
МДА -	малоновый диальдегид
МНО -	международное нормализованное отношение
ПДФ -	продукты деградации фибрина/фибриногена
ПОЛ -	перекисное окисление липидов
ПОНРП -	преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
ППК -	% активности протромбина по Квику
ПЦР -	полимеразная цепная реакция
РФМК -	растворимые фибрин-мономерные комплексы
СЗВРП -	синдром задержки внутриутробного развития плода
СРО -	свободнорадикальное окисление
ТАТ -	комплекс тромбин-антитромбин
ТВ -	тромбиновое время
ТГВ -	тромбоз глубоких вен
Тр -	тромбоцит

ТФ-	тромбофилия
ТЭЛА -	тромбоэмболия легочной артерии
ФВ -	фактор фон Виллебранда
ФНО-α -	фактор некроза опухоли α
ЦНС -	центральная нервная система
АРС -	активированный протеин С
СТ -	время коагуляции
СFT -	время образования сгустка
FV -	фактор V Лейден
GP -	гликопротеин
MCF -	плотность сгустка
MPV -	средний объем тромбоцитов
MTHFR -	метилентетрагидрофолатредуктаза
NO -	оксид азота
PAI -	ингибитор активатора плазминогена
PDW -	показатель анизоцитоза тромбоцитов
PCT -	тромбокрит
PI -	полиморфизм
PLT -	общее количество тромбоцитов
ХПЗФ -	ХIIa-зависимый фибринолиз

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаркова, Т.А. Перинатальные исходы у беременных с тромбофилиями при проведении гепаринопрофилактики : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Агаркова Татьяна Анатольевна. – Барнаул, 2010. – 105 с. : ил.
2. Айламазян, Э.К. Наследственная тромбофилия: дифференцированный подход к оценке риска акушерских осложнений / Э.К. Айламазян, М.С. Зайнулина // Акушерство и гинекология. – 2010. – № 3. – С. 39.
3. Айламазян, Э.К. Роль тромбофилии в развитии акушерской патологии / Э.К. Айламазян, М.С. Зайнулина, Н.Н. Петрищев // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 38-42.
4. Акиньшина, С.В. Клиническое значение выявления генетической и приобретенной тромбофилии при ведении беременности, родов и послеродового периода у пациенток с тромботическими осложнениями в анамнезе : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Акиньшина Светлана Владимировна. – М., 2011. – 160 с. : ил.
5. Акушерство: национальное руководство / под ред. Э.К. Айламазяна, В.И. Кулакова, В.Е. Радзинского, Г.М. Савельевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1200 с.
6. Акуленко, Л.В. Роль полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы в этиологии и патогенезе преэклампсии / Л.В. Акуленко, С.Г. Цахилова, Дзансолова А.В. и др. // Проблемы репродукции. – 2015. – № 21(1). – С. 8 – 11.
7. Александров, А.А. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний с детства: проблемы, успехи / А.А. Александров // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – № 2. – С. 96 – 106.
8. Александров, А.А. Артериальная гипертензия у детей и подростков и ее исход / А.А. Александров // «Неинфекционные заболевания и здоровье населения России» : тезисы юбилейной конференции. – М., 2008 – С. 125–128.

9. Анализ роли наследственной тромбофилии в развитии осложненного течения беременности / Е.А. Трифонова, Т.В. Габидулина, Т.А. Агаркова В.Н. Сереброва, Ю.К. Бутко [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 10. – С. 337-344.
10. Анализ тромбоцитов периферической крови – компьютерная морфометрия / Ф. В. Коробова, Д. А. Шмаров, Т. В. Иванова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – №7. – С. 36-39.
11. Андреев, Е. М. Смертность и продолжительность жизни / Е. М. Андреев, Е. А. Кваша, Т. Л. Харькова // Население России 2010-2011. Восемнадцатый-девятнадцатый ежегодный демографический докл. / отв. ред. А. Г. Вишневский. – Москва : Издат. дом НИУ ВШЭ, 2013. – С. 385-443.
12. Андреева, М.Д. Вопросы патогенеза и профилактики повторных репродуктивных потерь у пациенток с тромбофилией (материнская, фетальная) : автореферат дис. ... докт. мед. наук : 14.00.01 / Андреева Маргарита Дарчоевна. – М., 2016. – 48 с.
13. Андреева, М.Д. Клиническое значение определения маркеров тромбофилии у пациенток с осложненным течением беременности в анамнезе / М.Д. Андреева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015 – Т.64. – №2. – С.13-17.
14. Андреева, М.Д. Акушерские и перинатальные исходы у пациенток с синдромом потери плода в анамнезе, генетическими и приобретёнными формами тромбофилии / М.Д. Андреева, Д.Л. Капанадзе, Н.В. Самбунова // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2014. – Т.8. – № 4.– С. 54-55.
15. Антифосфолипидный синдром – иммунная тромбофилия в акушерстве и гинекологии / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, С.М. Баймурадова, Н.В. Долгушина, Л.С. Юдаева, Д.Х. Хизроева, С.В. Акиныдина. – М. : Триада-Х, 2007. – 456 с.
16. Апресян, С.В. Оптимизация восстановления фертильности у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Апресян Сергей Владиславович. – М., 2003. – 24 с.

17. Арбатская Н.Ю. Иод-дефицитные заболевания и беременность: профилактика, диагностика и лечение / Н.Ю. Арбатская // Русский медицинский журнал. – 2004. – №13. – с.755-758.
18. Артериальная гипертензия беременных: диагностика, тактика ведения и подходы к лечению / А.Л. Верткин, О.Н. Ткачева, Л.Е. Мурашко и др. // Лечащий врач. – 2006. – № 3. – С. 23-26.
19. Аутоантитела к кофакторам антифосфолипидного синдрома в диагностике и терапии пациенток с репродуктивными потерями / Т.Б. Ионанидзе [и др.] // Материалы IV съезда акушеров-гинекологов России. – М., 2008. – С. 100-101.
20. АФС и генетические формы тромбофилии у беременных с гестозами / С.М. Баймурадова и др. // Акушерство и гинекология. – 2004. – № 2. – С. 21-27.
21. Баймурадова, С.М. Генетическая и приобретенная формы тромбофилии в генезе предлежания плаценты / С.М. Баймурадова, О.А. Бадалова // «Мать и дитя», IX Всероссийский научный форум : материалы. – М., 2007. – С. 18-19.
22. Баймурадова, С.М. Дефекты имплантации и тромбофилия / С.М. Баймурадова / АГ-инфо. – 2006. – № 3. URL : <http://www.ag-info.ru/jagmfo/2006-3/15>.
23. Баймурадова, С.М. Клинико-диагностическое значение тромбофилии при бесплодии неясного генеза и неудачах ЭКО / С.М. Баймурадова // Материалы IV съезда акушеров гинекологов России. – М., 2008. – С. 16-17.
24. Баймурадова, С.М. Патогенез, принципы диагностики и терапии повторных потерь плода, обусловленных приобретенными и генетическими дефектами гемостаза : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 / Баймурадова Седа Майрабековна. – М., 2007. – 260 с.
25. Баранов, А.А. Государственная политика в области охраны здоровья детей: вопросы теории и практика : монография / А.А. Баранов, Ю.Е. Лапин. – М., 2009 – 188 с.

26. Баранов, Д.А. Клинические и молекулярно-генетические особенности состояния здоровья детей, рожденных от женщин с маркерами наследственно обусловленной тромбофилии : автореферат дис. ... канд. мед. наук. :14.01.08 / Баранов Дмитрий Алексеевич. – Екатеринбург, 2014.- 28 с.
27. Баринов, С.В. Принципы профилактики акушерских осложнений,ассоциированных с нарушениями в системе гемостаза / С.В. Баринов, И.В. Медяникова, Е.В. Рогова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2014. – №2. – С. 77-81.
28. Баркаган, З.С. Гипергомоцистеинемия как самостоятельный фактор риска поражений и тромбирования кровеносных сосудов / З.С. Баркаган, Г.И. Костюченко, Е.Ф. Котовщикова // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2002. – № 1. – С. 65-71.
29. Баркаган, З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии / З.С. Баркаган. – М. : Ньюдиамед, 2000. – 148 с.
30. Баркаган, З.С. Ошибки, просчеты и пути совершенствования клинического применения низкомолекулярных гепаринов / З.С. Баркаган, Л.П. Цывкина, А.П. Момот, А.Н. Шилова // Клиническая фармакология и терапия. – 2002. – № 1. – С. 78-83.
31. Басов, А.А. Изменение антиоксидантного потенциала крови экспериментальных животных при нутриционной коррекции окислительного стресса / А.А. Басов, И.М. Быков // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82. – № 6. – С. 75-81.
32. Басов, А.А. Мониторинг и коррекция свободнорадикальных процессов в экспериментальной и клинической практике /А.А. Басов, С.С. Джимаков, Н.И. Быкова // Монография. – Краснодар: Изд-во Кубанского гос. ун-та, 2013. – 169 с.
33. Бахарева, И.В. Анализ показателей интерферонового статуса при беременности с высоким риском развития инфекционных осложнений / И.В. Бахарева, Л.В. Ганковская, А.М. Магомедова и др. // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2014. – № 4. – С. 12-17.

34. Бахрева, И.В. Роль антиоксидантов при беременности высокого риска / И.В. Бахрева // Гинекология. – 2014. – № 1. – С. 90-96.
35. Бачурина, Т.В. Роль системы гемостаза в механизме формирования плацентарной недостаточности при гестозе : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Бачурина Татьяна Владимировна. – Новосибирск, 2002. – 25 с.
36. Башмакова, Н.В. Структура нарушений углеводного обмена у беременных / Н.В. Башмакова, Ю.С. Щуплецова, Е.Г. Дерябина // V Всероссийский диабетологический конгресс : Сборник тезисов. – М., 2010. – С. 440.
37. Безнощенко, Г.Б. Антитромботическая профилактика и терапия при беременности / Г.Б. Безнощенко // Омский научный вестник. – 2005. – № 1. – С. 22-26.
38. Белобородова, Е.В. Гипергомоцистеинемия и осложненное течение беременности / Е.В. Белобородова, В.О. Бицадзе, С.М. Баймурадова // Русский медицинский журнал. – 2006. – Спец. вып. : Тромбофилии в акушерской и гинекологической практике. – С. 44-48.
39. Безруких, М.М. Возрастная физиология: (Физиология развития ребенка): Учеб. пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений / М.М. Безруких, В.Д. Сонькин, Д.А. Фарбер. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 416 с.
40. Белокриницкая, Т.Е. Цитокины в системе мать-плод при задержке развития плода / Т.Е. Белокриницкая, Ю.А. Витковский // Акушерство и гинекология. – 1999. – № 5. – С. 15 -17.
41. Белушкина, Н.Н. Молекулярные основы патологии апоптоза / Н.Н. Белушкина, С. Е. Северин // Архив патологии. – 2001. – № 1. – С. 51-60.
42. Бельницкая, О. А. Поэтапное лечение гормональных и гемостазиологических нарушений у пациенток с привычным невынашиванием беременности ранних сроков : автореферат дис. ... канд. мед. наук / Бельницкая Ольга Александровна. – Барнаул, 2005. – 23 с.

43. Бицадзе, В.О. Патогенез, принципы диагностики и профилактики осложнений беременности, обусловленных тромбофилией : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 / Бицадзе Виктория Омаровна. – М., 2004. – 320 с.
44. Бицадзе, В.О. Катастрофический антифосфолипидный синдром. Вопросы патогенеза / Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Идрисова Л.Э., Абрамян Р.Р., Андреева М.Д., Макацария А.Д. // Журнал акушерства и женских болезней. 2015 -Т.9.№2.- С.32-48.
45. Блинецкая, С.Л. Основные наследственные тромбофилии и их роль при привычном невынашивании беременности : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Блинецкая Софья Леонидовна. – М., 2009. – 25 с.
46. Богачёва, Н.В. Молекулярные механизмы индуцированной тромбином проницаемости эндотелия / Н.В. Богачёва, Дж. Г.Н. Гарсия, Н. Верин // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 1. – С. 88-98.
47. Бокарев, И.Н. Венозный тромбоэмболизм и тромбоэмболия легочной артерии / И.Н. Бокарев, Л.В. Попова. – М.: Мед. информ. агентство. – 2005. – 208 с.
48. Бокарев, И.Н. Принципы рациональной терапии оральными антикоагулянтами / И.Н. Бокарев, Т.В. Козлова // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2000. – №4 (4). – С. 16-23.
49. Болдырев, А.А. Окислительный стресс и мозг / А.А. Болдырев // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т.7, № 4. – С . 21-28.
50. Болтовская, М.Н. Роль эндометриальных белков и клеток продуцентов в репродукции человека : автореферат дис. ... д-ра биол. наук / Болтовская Марина Николаевна. – М., 2001. – 41 с.
51. Бондарь, Т.П. Влияние лекарственных препаратов на состояние тромбоцитарного гемостаза у лабораторных животных / Т.П. Бондарь, Г.А. Шаталова, А.Ю. Муратова // Медицинский вестник Северного Кавказа - 2011. - №4 (24). С. 24-33.
52. Бондарь, Т.П. Динамика показателей плазменного гемостаза у женщин с тромбогенными осложнениями беременности и родов / Т.П. Бондарь, А.Ю.

Муратова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2012. - №3. – С. 720-723.

53. Бондарь, Т.П. Влияние полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов GP IIb/IIIa на изменение показателей тромбоцитарного гемостаза в акушерской практике / Т.П. Бондарь, А.Ю. Муратова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. - №2. – С. 46-49.

54. Бондарь, Т.П. Динамика показателей плазменного гемостаза у женщин с тромбогенными осложнениями беременности и родов / Т.П. Бондарь, А.Ю. Муратова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2012. - №3. – С. 720-723.

55. Бондарь, Т.П. Состояние гемопоеза при тромбофилиях беременных самок крыс (экспериментальное исследование) / Т.П. Бондарь, А.А Власов, А.Ю. Муратова, А.Х. Каде // Медицинский вестник Северного Кавказа - 2015. - №1 (10). С. 73-76.

56. Бондарь, Т.П. Патогистологические особенности паренхиматозных органов у лабораторных животных при синдроме гиперкоагуляции / Т.П. Бондарь, В.С. Боташева, А.Ю. Муратова [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа - 2015. - №3 (10). С. 295-298.

57. Брянцев, М.Д. Значение измерения диаметра- желточного мешка в прогнозе неразвивающейся беременности / М.Д. Брянцев, М.Б. Охапкин, А.Р. Слепцов // «Ранние сроки беременности: проблемы, пути решения; перспективы», I Международная конференция : Материалы. – М., 2002 – С. 322-324.

58. Бубнова, Н.И. Морфология последа при генитальной герпетической инфекции / Н.И. Бубнова, З.С. Зайдиева, В.Л. Тютюнник // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 6. – С. 24-29.

59. Буланов, А.Ю. Роль тромбоэластографии в трансфузионной терапии посттравматической коагулопатии / А.Ю. Буланов // Трансфузиология. – 2011. – Т. 12, №4. – С. 47-55.

60. Бурлев, В.А. Свободнорадикальное окисление в системе мать-

плацента-плод при акушерской патологии : автореферат дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 / Бурлев Владимир Алексеевич. – М., 1992. – 50 с.

61. Бутенас, С. Свертывание крови : (обзор) / С. Бутенас, К.Г. Манн // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 1. – С. 5-15.

62. Бухтиярова, М.Г. Возможности адаптации системы мать – плацента – плод при угрозе преждевременных родов и недоношенной беременности, осложненной дпреждевременным излитием околоплодных вод : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Бухтиярова Марина Георгиевна. – Ростов н/Д, 2003. – 154 с.: ил.

63. Бышевский, А.Ш. Постоянное внутрисосудистое свертывание крови при изменении интенсивности липопероксидации / А.Ш. Бышевский, М.К. Умутбаева, Р.Г. Алборов // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, № 4. – С. 424-431.

64. Вавилова, Т.В. Лабораторная диагностика коагулопатий в практике акушера-гинеколога / Т.В. Вавилова // Медтехника и медизделия. – 2004. – № 1. – С. 57-62.

65. Ванин, А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях / А.Ф. Ванин // Вестник РАМН. – 2000. – № 4. – С. 3-5.

66. Васильева, З.Ф. Иммунологические основы акушерской патологии / З.Ф. Васильева, В.Н. Шабалин. – М., 1989. – 127 с.

67. Ващенко, В.И. Биология и физиология протеина С. Современные представления о механизмах лечебного действия активированного протеина С / В.И. Ващенко, Т.Н. Ващенко // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2009. – Т. 7, № 3. – С. 24-47.

68. Ведмедь, А.А. Особенности течения беременности, родов и состояния новорожденных у пациенток с гестационным сахарным диабетом / А.А. Ведмедь, Е.В. Шапошникова // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2009. – № 7. – С. 348-351.

69. Вереина, Н.К. Роль заболеваний внутренних органов, факторов тромботического риска и состояния гемостаза в развитии осложнений

беременности, ассоциированных с тромбофилией : автореферат д-ра мед. наук / Вереина Наталья Константиновна. – Челябинск, 2012. – 46 с.

70. Вишина, А.В. Коррекция нарушений маточно-плацентарной гемодинамики при угрожающем прерывании в ранние сроки беременности : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Вишина Анна Викторовна. – Ростов н/Д., 2009. – 24 с. : ил.

71. Влияние инфузионной терапии на фетоплацентарный комплекс у беременных с гестозом / А.М. Торчинов, С.Г. Цахилова, В.П. Кузнецов, О.А. Королева // «Мать и дитя» : Материалы IX Всероссийского научного форума. – М., 2007. – С. 265-266.

72. Влияние различных факторов на плод / Л.А. Озолиня, И.В. Бахарева, А.В. Тягунова – ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 224 с.

73. Волощук, И.Н. Морфологические основы и патогенез плацентарной недостаточности : автореферат дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.15 / Волощук Ирина Николаевна. – М., 2002. – 48 с.

74. Вопросы патогенеза, диагностики и терапии осложнений беременности, связанных с циркуляцией волчаночного антикоагулянта / А.Д. Макацария, А.Б. Раскуражев, А.Л. Мищенко, Е.В. Табакова // Акушерство и гинекология. -1987. – № 12. – С. 62-67.

75. Воробьев, А.И. Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза / А.И. Воробьев, Е.И. Бувевич. – Барнаул, 2000. – 451 с.

76. Воробьев, П.А. Актуальный гемостаз / П.А. Воробьев. М.: Ньюдиамед, 2004. – 140 с.

77. Галимова, О.И. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы как показатель адаптационных процессов в условиях высокогорья / О.И. Галимова, Т.П. Бондарь, А.Ф. Галимова // – Материалы XII междунар. Симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: РУДН. – 2007. – С. 99-101.

78. Гениевская, М.Г. Длительная терапия с применением фраксипарина у беременных с антифосфолипидным синдромом / М.Г. Гениевская, А.Д. Макацария // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 1. – С. 24-27.
79. Гизингер, О.А. Система провоспалительных цитокинов у женщин с урогенитальным трихомониазом / О.А. Гизингер, И.И. Долгушин // Медицинская иммунология. – 2005. – Т.7, № 5-6. – С. 601-604.
80. Гипергомоцистеинемия и осложнения беременности / А.Д. Макацария, Е.В. Белобородова, С.М. Баймурадова, В.О. Бицадзе. – М. : Триада-Х. – 2005. – 216 с.
81. Гладкова, М.А. Исследование резистентности мембран эритроцитов к вободнорадикальному гемолизу / М.А. Гладкова, А.Н. Дегтярев, О.В. Островский и др. // Клин. лаб. диагностика. – 1999. – №10. – С. 27-28.
82. Гланс, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланс. – М.: Практика, 1999. – 449 с.
83. Горожанская, Э.Г. Антиоксидантная система тромбоцитов у больных раком яичников / Э.Г. Горожанская, Е.В. Давыдова, Г.Н. Зыбрихина и др. // Клинич. лаб. диагностика. – 2003. - № 10. – С. 41-44.
84. Государственная политика в области охраны здоровья матери и ребенка – долгосрочные перспективы развития / Г. Т. Сухих, М. П. Шувалова, О. Г. Фролова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 5. – С.4-9.
85. Гродницкая, Е.Э. Роль нарушений обмена фолатов и гомоцистеина в развитии осложнений беременности / Е.Э. Гродницкая // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. – Т. 10. – № 4. – С. 20-24.
86. Давлатова, Г.К. Применение доноров оксида азота в комплексной терапии нарушений кровотока в системе мать-плацента плод : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Давлатова Гулджахон Кабиловна. – Душанбе, 2007. – 10 с.
87. Давтян, Е.Л. Неразвивающаяся-беременность I триместра: патогенез и профилактика : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Давтян Давтян Елена Львовна. – М., 2006. – 22 с.

88. Дедов, И.И. Руководство по детской эндокринологии / И.И. Дедов, В.А. Петеркова. – М. : Универсум Паблишинг, 2006. – 596 с.
89. Демидович, Е.О. Значение исследования ренальной гемодинамики у плодов с синдромом задержки роста для снижения риска развития патологии почек у новорожденных и детей раннего возраста / Е. О. Демидович, И. В. Игнатко // «Мать и дитя» : материалы IX Всероссийского Форума. – М., 2007. – С. 65-66.
90. Демидович, Е.О. Клиническое значение эхографического и доплерометрического исследования почек плода при плацентарной недостаточности в прогнозе перинатальных осложнений : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Демидович Елена Олеговна. – М., 2008. – 183 с. : ил.
91. Демьянов, А.В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 20-35.
92. Димитрова, В.И. Оздоровление женщин после неразвивающейся беременности : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 06.01.06 / Димитрова Валентина Ивановна. – М., 2006. – 22 с.
93. Добровольский, А.Б. Система гемостаза / А.Б. Добровольский, Е.П. Панченко // Клиническая биохимия / под ред. В. А. Ткачука. – М. : ГЭОТАР-медиа, 2006. – С. 138-177.
94. Доброхотова, Ю.Э. Окислительный стресс в плаценте при физиологической и патологически протекающей беременности / Ю.Э. Доброхотова, Т.А. Иванова, Н.В. Гуляева и др. // Рос. вестн. Акушера-гинеколога. – 2008. – №6. – С.33-36.
95. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свирин. – Москва : Триада, 2005. – 227с.
96. Долгушина, Н.В. Вирусные инфекции у беременных / Н.В. Долгушина, А.Д. Макацария. – М., 2004. – 164 с.

97. Донченко, Л.А. Биохимические особенности плацентарного гомеостаза у женщин в условиях йодного дефицита : дис. ... канд. мед. наук : 03.00.04 / Донченко Лидия Анатольевна. – Ростов н/Д, 2004. – 141 с.: ил.
98. Доценко, В.П. Воспаление / В.П. Доценко // Клиническая биохимия / под ред. В.А. Ткачука. – М. : ГЭОТАР-медиа, 2006. – С. 232-262.
99. Евсюкова, И.И. Сахарный диабет : беременные и новорожденные / И.И. Евсюкова Н.Г. Кошелева. – 2-е изд., перераб. и доп. – Спб : Миклош, 2009. – 272 с.
100. Ефимов, В.С. Осложненное течение беременности и гипергомоцистеинемия / В.С. Ефимов, А.З. Кашежева // Акушерство и гинекология . – 2000. – №3 — С. 3-5.
101. Ефимушкина, О.А. Клинико-диагностическая оценка состояния фетоплацентарной системы у беременных с заболеваниями щитовидной железы : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Ефимушкина Оксана Александровна. – М., 2008. – 138 с.: ил.
102. Жижин, К.С. Медицинская статистика: учебное пособие / К.С. Жижин. Ростов н/Д : Феникс, 2007. – 160 с.
103. Звягина, Т.В. Клиническое значение оксида азота в пульмонологии / Т.В. Звягина, Т.В. Аникеева, Т.М. Белоконь // Украинский биологический журнал. – 2002. – № 1. – С. 66-68.
104. Зинчук, В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина / В.В. Зинчук // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т. 34, № 2. – С. 33-45.
105. Значение нарушений микроциркуляции в патогенезе гестоза / И.С. Сидорова, Е.В. Юдина, Е.И. Боровкова, И.В. Мартынова, А.Н. Солоницын // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006. – № 4. – С. 97-100.
106. Ивашкин, В.Т. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока / В.Т. Ивашкин, О.М. Драбкина. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2001. – 117 с.

107. Ивашкина, Е.П. Показатели гемостаза у женщин с неосложненным течением беременности / Е.П. Ивашкина, С.И. Ворожцова, С.А. Садков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 9. – С. 45.
108. Игнатко, И.В. Профилактика плацентарной недостаточности у беременных группы высокого риска / И.В. Игнатко, М.В. Рыбин, В.Д. Дуболазов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006, Т.5, №1. – С. 11-20.
109. Иммунофенотипирование лимфоцитов и изучение цитокинов при ФПН и инфекционной патологии у беременных / С.Н. Козлова, Т.Н. Колесникова, С.Б. Агафонова и др. // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 251-252.
110. Калашникова, Е.А. Ассоциация наследственных факторов тромбофилии с невынашиванием беременности у женщин в русской популяции / Е.А. Калашникова, С.Н. Кокаровцева; ГУ Медико-генетический научный центр РАМН. URL : http://www.imgen.narod.ru/thrombo_preg.doc (дата обращения 31.05.2012.)
111. Камышников, В.С. Норма в лабораторной медицине / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2014. – 336 с.
112. Каприщенко, А. И. Медицинские лабораторные технологии: / под ред. А.И. Каприщенко. 3-е изд., пререраб. и доп. Т. 2., М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 792 с.
113. Касаткина, Э.П. Роль асимптоматической гипотироксинемии у беременных с зобом в формировании ментальных нарушений у потомства Э.П. Касаткина // Проблемы эндокринологии. – 2003. – Т.49, № 2. – С. 3-7.
114. Каткова, Н.Ю. Ведение беременности и родов при плацентарной недостаточности инфекционного генеза : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Каткова Надежда Юрьевна. – Нижний Новгород, 2011. – 352 с. : ил.
115. Кашежева, А.З. Гемокоагуляционный аспект развития гипергомоцистеинемии / А.З. Кашежева, В.С. Ефимов // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2000. – №4(4). – С. 32-33.

116. Цитокины / под ред. С.А. Кетлинского, А.С. Симбирцева – СПб., Фолиант, 2008. – 552 с.
117. Ким, А. Лизосомальная активность экстраэмбриональных образований при нормальной и осложненной беременности : автореферат дис. ... канд. мед. наук / Ким Андрей. – М.: Российский университет дружбы народов, 2002. – 32 с.
118. Кириенко, А.И. Профилактика венозных тромбозмболических осложнений в хирургической практике / А.И. Кириенко // Клиническая фармакология и терапия. – 2009. – № 1. – С. 26-30.
119. Кицак, В.Я. Вирусные инфекции беременных : патология плода и новорожденных / В.Я. Кицак. – Кольцево, 2005. – 84 с.
120. Клинико-иммунологическая адаптация новорожденных, родившихся у матерей с инфекционно-воспалительными заболеваниями урогенитального тракта / И.И. Бочарова, А.Н. Аксенов, Н.Ф. Башакин [и др.] // Российский вестник акушерства и гинекологии. – 2003. – Т.3, № 3. – С. 19-22.
121. Клинико-нейрофизиологическая оценка эффективности цитофлавина при спастических формах детского церебрального паралича / В.В. Шпрах, С.Ю. Лаврик, Е.Б. Алимова [и др.] // Вестник СПбМА им. И.И. Мечникова. – 2005. – № 3. – С. 23.
122. Клиническая лабораторная диагностика : национальное руководство в 2 т. – Т.1. / под ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 928 с.
123. Козинец, Г.И. Клетки крови – современные технологии их анализа / Г.И. Козинец, В.М. Погорелов, Д.А. Шмаров и др. - М., 2002. – 534 с.
124. Козлова, Т.В. Гипергомоцистеинемия как клиническое проявление риска тромбозов / Т.В. Козлова // Клиническая медицина. – 2005. – Т. 83, № 2. – С. 9-12.
125. Кокашвили, Х.Б. Прогнозирование и диагностика плацентарной недостаточности в ранние сроки беременности : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Кокашвили Хатуна Бежановна. – М., 2002. – 26 с.

126. Коптырева, Т.В. Актовегин в фармакотерапии плацентарной недостаточности при угрозе невынашивания беременности : дис. ... канд. мед. наук / Т.В. Коптырева. – Томск, 2005. – 134 с.: ил.
127. Корчагина, Е.Е. Комплексная оценка функционального состояния системы мать-плацента-плод при гестационном сахарном диабете : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Корчагина Елена Евгеньевна. – Краснодар, 2004. – 155 с.: ил.
128. Крукиер, И.И. Процессы радикалообразования в плаценте при, плацентарной недостаточности / И.И. Крукиер // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 1. – С. 13-16.
129. Кузнецова, И.М. Оптимизация ведения беременности у женщин с гипотиреозом и плацентарной недостаточностью : дис. ... канд. мед. наук / Кузнецова Ирина Михайловна. – Новокузнецк, 2006. – 171 с.: ил.
130. Кузнецова, Т.В. Особенности морфологической картины биологических жидкостей при плацентарной недостаточности различного генеза : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Кузнецова Татьяна Валерьевна. – Москва, 2003. – 154 с.: ил.
131. Кузник, Б.И. Иммунный ответ и система гемостаза: проблемы физиологии и патологии системы гемостаза / Б.И. Кузник, Ю.А. Витковский // Труды проблемной комиссии при межведомственном рауч. совете по гематологии и трансфузиологии РАМН. – Барнаул, 2000. – С. 119-127.
132. Кузник, Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б.И. Кузник. – Чита: Экспресс издательство, 2010. – 827 с.
133. Кузьменко, Г.Н. Состояние гемостаза у недоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом, механизмы развития, диагностики и прогнозирование его нарушений : дис. ... д-ра. мед. наук : 14.03.03 / Кузьменко Галина Николаевна. – Иваново, 2011. – 298 с. : ил.
134. Кулаков, В.И. Плацентарная недостаточность и инфекция / В.И. Кулаков, Н.В. Орджоникидзе, В.П. Тютюнник. – М., 2004. – 494 с.

135. Кулаков, В.И. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии / В.И. Кулаков, В.Н. Прилепская, В.Е.Радзинский. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 1056 с.
136. Курцер, М.А. Перинатальная смертность и пути ее снижения : автореф дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 / Курцер Марк Аркадьевич. – М.: [Моск. мед. акад. им. И.М.Сеченова], 2001. – 48, [1] с. – Библиогр.: с. 46-48.
137. Лабораторные методы исследования системы гемостаза и диагностика нарушений системы гемокоагуляции / Ю. В. Первушин, С. Ш. Рогова, Н. И. Ковалевич [и др.]. – Изд-во Москва, 2009. – 61 с.
138. Линников, В.И. Диагностика, принципы лечения и профилактики тромбофилических состояний, обусловленных первичным антифосфолипидным синдромом у беременных, рожениц и родильниц : автореферат дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 /Линников Валерий Иванович. – М., 2006. – 36 с.
139. Луговская, С.А. Лабораторная гематология / С.А. Луговская, В.Т. Морозова, М.Е. Почтарь и др. - М., 2002. – 114 с.
140. Лысенков, С.П. Неотложные состояния и анестезия в акушерстве: руководство для врачей / С.П. Лысенков . – М. : Элби, 2004. – 601 с.
141. Мазуров, А. В. Физиология и патология тромбоцитов / А. В. Мазуров. – Изд-во : Литтерра, 2011. – 488 с.
142. Макаров, О.В. Приобретенные и наследственные факторы тромбофилии в развитии осложнений беременности / О.В. Макаров, С.Б. Керчелаева, Л.А. Озолина. – М. : ГЕОТАР-Медиа, 2006. – 120 с.
143. Макацария, А. Д. Антифосфолипидный синдром / А.Д. Макацария. – М. : РУССО, 2000. – 373с.
144. Макацария, А.Д. Антифосфолипидный синдром, генетические тромбофилии в патогенезе основных форм акушерской патологии / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе // Русский медицинский журнал. – 2006. – №1. – С.2-10.

145. Макацария, А.Д. Принципы ведения и исходы беременности у пациенток с венозными тромбозмболическими осложнениями в анамнезе / А.Д. Макацария, С.В. Акинъшина, Е.С. Коркоташвили // Материалы IV съезда акушеров-гинекологов России. – М., 2008. – С. 154-155.
146. Макацария, А.Д. Тромбозы и тромбозмболии в акушерско-гинекологической клинике: Молекулярно-генетические механизмы и стратегия профилактики тромбозмболических осложнений : рук. для врачей / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, С.В. Акинъшина. – М. : Мед. информ. агентство, 2007. – 1064 с.
147. Макацария, А.Д. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе. – М. : Триада-Х, 2003. – 904 с.
148. Макацария, А.Д. Антифосфолипидный синдром / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе М. – 2010. – 32 с.
149. Медведь, В.И. Введение в клинику экстрагенитальной патологии беременных / В.И. Медведь. – Киев : Гидромакс, 2007. – 168 с.
150. Мембранные рецепторы тромбоцитов / Е. Н. Воронина, М. Л. Филиппенко, Д. С. Сергеевичев, И. В. Пикалов [и др.] // Вестн. ВОГиС. – 2006. – № 3. – С. 553-564.
151. Мерзлякова, А.А. Сравнительная оценка клинико-лабораторных показателей беременных с гестозом при наличии и отсутствии антифосфолипидного синдрома : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Мерзлякова Анна Александровна. – Иваново, 2003. – 22 с.
152. Метаболический синдром и тромбофилия в акушерстве и гинекологии / А.Д. Макацария [и др.] – М. : Мед. информ. агентство, 2006. – 477 с.
153. Методы исследования и клинико-диагностическое значение изучения тромбоцитов : метод. рек. / Т. П. Бондарь, Ю. В. Первушин, Л. А. Марченко [и др.]. – Ставрополь. – 2004. – 88 с.
154. Милованов, А.П. Патология системы мать-плацента-плод : руководство для врачей / А.П. Милованов. – М. : Медицина, 1999. – 448 с.

155. Мисайлова, Н.Ю. Профилактика гестоза у беременных высокого тромботического риска / Н.Ю. Мисайлова, И.А. Блощинская // Материалы IV съезда акушеров-гинекологов России. – М., 2008. – С. 165-166.
156. Молекулярная генетика тромбофилий при поздних гестозах / И.А. Зайнуллин, В.А. Кулавский, А.Г. Зайнуллина, Э.К. Хуснутдинова // Медицинская генетика. – 2007. – Т. 6, № 7. – С. 12-17.
157. Момот, А.П. Патология гемостаза : принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики / А.П. Момот. – СПб. : ФормаТ, 2006. – 208 с.
158. Момот, А.П. Референсные значения показателей системы гемостаза при физиологически протекающей беременности и после родоразрешения / А.П. Момот, И.В. Молчанова, Т.А. Батрак и др. // Проблемы репродукции. – 2015. – № 1. – С. 89-97.
159. Мондоева, С.С. Эндотелиальная дисфункция – дополнительный фактор развития синдрома потери плода у пациенток с тромбофилией : пути коррекции. / С.С. Мондоева, Г.А. Суханова, Н.М. Подзолкова // Проблемы репродукции. – 2009. – № 6. – С. 65-67.
160. Мостовой, А.В. Оксид азота в терапии состояний, сопровождающихся стойкой легочной гипертензией у новорожденных / А.В. Мостовой // Опыт лечения в многопрофильной детской больнице. – СПб, 2002. – С. 44-49.
161. Муратова, А.Ю. Состояние тромбоцитарного звена гемостаза у больных с сосудистыми осложнениями сахарного диабета II типа при развитии анемического синдрома : автореферат дис. ... канд. мед. наук / Муратова, Анна Юрьевна. - Ставрополь, 2004. -26 с.
162. Муратова, А.Ю. Влияние полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa на изменение показателей плазменного гемостаза в раннем послеродовом периоде / А.Ю. Муратова Т.П. Бондарь // Фундаментальные исследования. – 2014. - №7. - С. 544-548.
163. Мхеидзе, Н.Э. Клиническое значение выявления генетически обусловленной и приобретенной тромбофилии у беременных с преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты в анамнезе

- : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.01.00 / Мхеидзе Нана Элдариевна. – М., 2006. – 24 с.
164. Насонов, Е.Л. Антифосфолипидный синдром / Е.Л. Насонов. – М. : Литера, 2004. – 440 с.
165. Началов, П.В. Цитокины в патогенезе средних отитов / П.В. Началов, Л.Л. Клячко, Ю.К. Янов // Цитокины и воспаление. – 2016. – № 1. – С. 22-29.
166. Наумов, А.В. Гомоцистеин в патогенезе микроциркуляторных и тромботических осложнений / А.В. Наумов, Т.Н. Гриневич, В.М. Найдина // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2012. – Т. 49. – № 1. – С. 9-19.
167. Невынашивание беременности и генетически обусловленные тромбофилии / А.П. Момот, Г.В. Сердюк, Е.Е. Григорьева и др. // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Сер. Медицина. Акушерство и гинекология. – 2009. – № 6. – С. 379-384.
168. Неосложненная преэклампсия / В.В. Ветров, В.А. Воинов, Д. О. Иванов – СПб.: Информ-Навигатор, 2012. – 168 с.
169. Новая мутация гена GPIIb в российской популяции – Leu40Arg, сцепленная с Leu33Pro / О. В. Сироткина [и др.] // Генетика: журнал Российской академии наук . – 2005 . – Т. 41, № 6 . – С. 838-843.
170. Новиков, В.Е. Влияние метапрота и гипоксена на развитие воспалительной реакции в эксперименте / В.Е. Новиков, С.А. Илюхин, Е.В. Пожилова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т.10, №4.– С. 63-66.
171. Новиков, В.Е. Митохондриальные мишени для фармакологической регуляции адаптации клетки к воздействию гипоксии / В.Е. Новиков, О.С. Левченкова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т.12, №2. – С. 28-35.
172. Оксид азота: роль в развитии осложнений беременности и их профилактике у женщин с гипертонической болезнью и хроническим нефритом / О.В. Зозуля, В.А. Рогов, Н.В. Пятакова, И.Е. Тареева // Терапевтический архив. – 1997. – № 6. – С. 17-20.

173. Оразмурадов, А.А. Особенности плацентарного ложа и миометрия при осложнениях беременности и экстрагенитальных заболеваниях : автореферат дис. ... д-ра мед. наук / А.А. Оразмурадов. – М., 2003. – 47 с.
174. Особенности гемодинамики в системе мать-плацента-плод в ранние сроки беременности /О.Б. Панина, Л.Г. Сичинава, А.П. Клименко и др. // Акушерство и гинекология. – 2003. – № 2. – С. 14-17.
175. Особенности сосудисто-тромбоцитарного гемостаза на разных сроках физиологической беременности / А. П. Момот, И. А. Тараненко, Д. А. Трухина [и др.] // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2014. – № 2 (1). – С. 27-31.
176. Панова, И.В. Оксид азота и эндотелин-1 при патологии органов пищеварения у детей / И.В. Панова, ЭюВ. Дудникова // Вопросы современной педиатрии. – 2012. – Т. 11, № 5. – С. 56-62.
177. Папаян, Л.П. Общие принципы диагностики антифосфолипидного синдрома / Л.П. Папаян, В.А. Кобилянская, А.С. Шитикова // Учен. зап. / СПб. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова. – 2004. – Т. 11, № 3. – С. 59-62.
178. Патогенетические аспекты развития акушерской патологии при гомоцистеинемии / О.В. Макаров, Л. А. Озолина, Д. А. Шайкова, А. З. Кашежева // Акушерство и гинекология. – 2008. – №4. – С. 3-5.
179. Первичная тромбопрофилактика у детей Алтайского края на основе выявления и модификации постоянных и временных факторов тромбогенного риска: Методические рекомендации / А.П. Момот, Л.А. Строзенко, Л.П. Цывкина, Е.В. Ройтман и др.; под научн. ред. А.П. Момота. – Барнаул : Изд-во АГМУ, 2013. – 83 с.
180. Перинатальные исходы у беременных с инфекционными заболеваниями и плацентарной недостаточностью / В.Н. Серов, В.Л. Тютюнник, В.В. Зубков, З.С. Зайдиева // Акушерство и гинекология. – 2002. – №3. – С. 16-21.

181. Перинатальная смертность в Российской Федерации, возможные пути ее снижения / О. Г. Фролова, М. П. Шувалова, Т. К. Гребенник [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 6. – С.47-51.
182. Петрейков, Е. Предгравидарная подготовка пациентов с синдромом потери плода вследствие гипергомоцистеинемии и тромбофилии / Е. Петрейков // Врач. – 2008. – № 2. – С. 52-54.
183. Петрищев, Н.Н. Патогенетическое значение дисфункции эндотелия / Н.Н. Петрищев // Омский научный вестник. – 2005. – № 1. – С. 20-22.
184. Петухова А.В. Клинико-лабораторные особенности течения беременности и родов у женщин с аллергическими заболеваниями: Автореф. дис. канд.мед.наук. – Пермь, 2012. – 24 с.
185. Пизова Н.В. Тромбофилии: генетические полиморфизмы и сосудистые катастрофы / Н.В. Пизова. – М.: ИМА-ПРЕСС, 2013. – 248 с.
186. Плужникова, Т.А. Опыт применения фолацина у женщин с репродуктивными потерями и гипергомоцистеинемией / Т.А. Плужникова // Проблемы репродукции. – 2008. – Т. 14. – № 2. – С. 77-79.
187. Плюшкин, В. А. Перинатальные аспекты тромбофилических состояний у беременных / В.А. Плюшкин, И.О. Маринкин, Т.В. Белоусова // Медицина и образование в Сибири [Электронный ресурс]. – Электрон. науч. издание. – 2009. – № 2. URL : http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=345 (дата обращения 22.07.2012.)
188. Пожилова, Е.В. Синтаза оксида азота и эндогенный оксид азота в физиологии и патологии клетки / Е.В. Пожилова, В.Е. Новиков // Весник СмГМА. – 2015. – Т. 14, № 4. – С. 35-41.
189. Применение низкомолекулярного гепарина при тромбофилических состояниях в акушерской практике / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, Д.Х. Хизроева и др. // Русский медицинский журнал. – 2005. – Т. 13, № 17. – С. 1130-1138.

190. Прогностическое значение артериальной гипертонии в период беременности // А.Л. Верткин, О.Н. Ткачева, А.В. Васильева и др. // Российский кардиологический журнал. – 2005. – №4 (54). – С. 53-57.
191. Профилактика повторных осложнений беременности в условиях тромбофилии : руководство для врачей / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, Баймурадова, Е.Б. Передеряева, Т.Б. Пшеничникова, Д.Х. Хизроева, Е.В. Донина, С.В. Акиныдина. – М.: Триада-Х, 2008. – 152 с.
192. Пшеничникова, Т.Б. Клиническое значение выявления генетической формы тромбофилии и антифосфолипидных антител у женщин с бесплодием, метаболическим синдромом и синдромом поликистозных яичников / Т.Б. Пшеничникова, А.Д. Макацария // «Мать и Дитя» : Материалы VI Российского форума. – М., 2004. – С. 454-7.
193. Пшеничникова, Т.Б. Роль тромбофилии в развитии акушерской патологии у женщин с метаболическим синдромом / Е.Б. Пшеничникова, Т.Б. Пшеничникова, А.Д. Макацария // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 4. – С. 15-19.
194. Пюрбеева, Е.Н. Некоторые вопросы тромбофилии при плацентарной недостаточности в практике семейного врача / Е.Н. Пюрбеева, М.С. Зайнулина // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2007. – № 1. – С. 51-53.
195. Радзинский, В.Е. Биохимия плацентарной недостаточности / В.Е. Радзинский, П.Е. Смалько. – М.: РУДН, 2001. – 273 с.
196. Радзинский, В.Е. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности / В.Е. Радзинский, А.П. Милованов. – М. : Мед. информ. агентство, 2004. – 393 с.
197. Радзинский, В. Е. Неразвивающаяся беременность / В.Е. Радзинский, В.И. Димитрова, И.Ю. Майскова, М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 196 с.
198. Радзинский, В.Е. Акушерская агрессия : руководство для врачей / В.Е. Радзинский. – М. : Status Praesens, 2011. – 700 с.

199. Радзинский, В.Е. Ранние сроки беременности / В.Е. Радзинский, А.А. Оразмурадова. – М. : Мед. информ. агентство, 2005. – 160 с.
200. Ранние сроки беременности / под ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Status Praesens, 2009. – 480 с.
201. Рапильбекова, Г.К. Состояние системы гемостаза у пациенток с синдромом потери плода при тромбофилии в динамике беременности / Г.К. Рапильбекова, Н.М. Мамедалиева, М.З. Исраилова // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 1. – С. 19-23.
202. Распространенность мутаций в генах фактора V (G1691A, Leiden), протромбина (G20210A) и метилентетрагидрофолатредуктазы (C677T) среди беременных московской популяции и их связь с патогенезом / Л.А. Озолина, Л.И. Патрушев, Н.Ю. Шполянская, О.В. Макаров, Е.А. Стукачева, СМ. Струкова, А.И. Мирошников // Тромбоз, гемостаз, реология. – 2001. – №1 (5) – С. 47-53.
203. Репина, М.А. Наследственные нарушения системы гемостаза и беременность: методические рекомендации / М.А. Репина, Г.Ф. Сумская, Е.Н. Лапина. – СПб. : Н-Л, 2008. – 40 с.
204. Референтные значения уровня и активности фактора Виллебранда, металлопротеиназы ADAMTS-13, активности тромбоцитов при физиологически протекающей беременности / А.П. Момот, П.А. Кирющенко, Д.А. Трухина, И.А. Тараненко, О.П. Томилина, М.В. Пыхтеева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 2. – С. 46-52.
205. Решетняк, Т.М. Значение гипергомоцистеинемии при системной красной волчанке и антифосфолипидном синдроме / Т.М. Решетняк, И.Е. Широкова, Т.Л. Лисицина // Терапевтический архив. – 2006. – Т. 78. – № 6. – С. 24-30.
206. Рогалева, Т.Е. Значение системной воспалительной реакции в формировании перинатальных поражений ЦНС у новорожденных от матерей с гестозами / Т.Е. Рогалева., Т.Е. Белокриницкая И.Н. Гаймоленко // Дальневосточный медицинский журнал. – 2008. – № 2. – С. 67-69.

207. Роль гемостазиологических нарушений в генезе невынашивания беременности: (обзор литературы) / Ю.Э. Доброхотова, Г.Т. Сухих, Т.Б. Очан, Л.З. Файзуллин, Э.М. Джобава // Проблемы репродукции. – 2006. – Т. 12, №2. – С. 79-84.
208. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений / В.С. Савельев Е.И. Чазов, Е.И. Гусев, А.И. Кириенко и др. – М.: Медиа Сфера, 2010. – 53 с.
209. Руководство по гематологии : в 3 т. Т. 3 / под общ. ред. А.И. Воробьева. – Изд. 3-е, перераб. и доп. – М. : Ньюдиамед, 2005. – 416 с.
210. Рыбин, М.В. Плацентарная недостаточность при гестозах: патогенез, диагностика, оценка степени тяжести и акушерская тактика : автореферат дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 / Рыбин Михаил Владимирович. – М., 2007.
211. Рябинина, Е.А. Определение факторов риска развития тромбоз-ассоциированных заболеваний у детей в центрах здоровья / Е.А. Рябинина, Л.А. Строзенко, Ю.Ф. Лобанов // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7. – С. 440-444.
212. Рябых, В.И. Влияние патологии щитовидной железы матери на формирование взаимосвязей в системе мать-плацента-плод : дис. ... канд. мед. наук : 14-00-01 / Рябых Валентина Ивановна. – М., 2005. – 126 с.: ил.
213. Савельева, Г.М. Интранатальная охрана здоровья плода. Достижения и перспективы / Г.М. Савельева // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 3. – С. 3-7.
214. Самбунова, Н.В. Клиническое значение контроля маркеров активации свертывания крови при проведении противотромботической терапии у беременных, рожениц и родильниц с тромбофилией : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Самбунова Наталья Викторовна. – М., 2008. – 115 с. : ил.
215. Сенников, С.В. Аутоантитела к цитокинам: биологическая и патогенетическая роль / С.В. Сенников, Лопатникова Ю.А. и др. // Цитокины и воспаление. – 2015. – № 2. – С. 14-21.

216. Сепиашвили, Р.И. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии / Р.И. Сепиашвили, М.Г. Шубич, В.Б. Карпюк // Астма. – 2001. – Т. 2, № 2. – С. 5-14.
217. Сердюк, Г.В. Новые аспекты диагностики и терапии первичного антифосфолипидного синдрома и его осложнений : автореферат дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.29 / Сердюк Галина Валентиновна. – Барнаул, 2005. – 44 с.
218. Серов, В.Н. Основные причины материнской смертности в последние 5 лет / В.Н. Серов // Проблемы беременности. – 2001 – № 3. – С. 15-19.
219. Серов, В.Н. Плацентарная недостаточность / В.Н. Серов // Трудный пациент. – 2005. – Т. 3, № 2. – С. 18-19.
220. Серов, В.Н. Профилактика осложнений беременности и родов / В.Н. Серов // Русский медицинский журнал. – 2003. – 11(1). – С. 889-893.
221. Сидельникова, В.М. Подготовка и ведение беременности у женщин с привычным невынашиванием : метод. пособия и клинич. протоколы / В. М. Сидельникова. – 3-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 224 с. : ил.
222. Сидельникова, В.М. Гемостаз и беременность / В.М. Сидельникова, П.А. Кирющенков. – М.: Триада-Х, 2004. – 208 с.
223. Сидельникова, В.М. Привычная потеря беременности / В.М. Сидельникова. – М. : Триада-Х. – 2005. – 304 с.
224. Сидоркина, А.Н. Биохимические основы системы гемостаза и диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови. / А.Н. Сидоркина, В.Г. Сидоркин, М.В. Преснякова – 4-е изд., перераб. и доп. – Н.Новгород: ННИИТО, 2008. – 154 с.
225. Сидорова, И.С. Методы исследования при беременности и в родах / И.С. Сидорова, И.О. Макаров. – М. : Медпресс-информ, 2005. – 126 с.
226. Сидорова, И.С. Фетоплацентарная недостаточность: (клинико-диагностические аспекты) / И.С. Сидорова, И.О. Макаров. – М., 2000. – 127 с.
227. Сидорова, И.С. Эндотелиальная дисфункция в развитии, гестоза / И.С. Сидорова, И.Л. Галинова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006. – №1. – С. 75-81.

228. Сидорова, И.С. Маркеры дисфункции эндотелия при гестозе / И.С. сидорова, Н.Б. Зубенко, О.И. Гурина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. – №5. – С. 24-27.
229. Система «ADAMTS-13 – фактор фон Виллебранда – тромбоциты» у больных с тромботическими микроангиопатиями при наследственных и приобретенных тромбофилиях / Е.Ю. Хафизова, Н.Л. Козловская, Л.А. Боброва, И.Н. Бобкова [и др.] // Нефрология и диализ. – 2011. – Т. 13. – №4. – С. 432-438.
230. Система гемостаза у беременных с гестозом и плацентарной недостаточностью / А.Н. Стрижаков, А.Д. Макацария, И.В. Игнатко, В.О. Бицадзе, М.В. Рыбин, С.П. Налбандян // Вопросы, гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – Т. 6, №3. – С. 5-12.
231. Современные представления о внутриутробной инфекции / О.В. Макаров, И.В. Бахарева, А.Н. Таранец и др. // Акушерство и гинекология. – 2004. – № 2. – С. 10-13.
232. Соколов, Д.И. Васкулогенез и ангиогенез в развитии плаценты / Д.И. Солколов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. 54, №3. С. 129-133.
233. Соломонашвили, В.Н. Клинико-гемостазиологическая оценка эффективности противотромботической терапии с применением НМГ фраксипарина у беременных с антифосфолипидным синдромом : автореферат дис. ... канд. мед. наук / Соломонашвили Вера Нодариевна. -М., 2005. – 24 с.
234. Состояние фетоплацентарной системы при гестационном сахарном диабете /Е.В. Андреева, Ю.Э. Доброхотова, М.В. Юшина, Л.А. Хейдар, Е.А. Бояр, Н.А. Лукина, Э.Ш. Шихмирзаева // Материалы IV съезда акушеров-гинекологов России. – М., 2008. – С.11.
235. Сосудистые осложнения в акушерской практике и перспективы применения гликозаминогликана сулодексида в их лечении и профилактике /

- Л.А.Агаркова, А.В. Холопов, Н.А. Габитова, Г.Б. Дикке // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 5. – С. 74-77.
236. Сосунов, А.А. Оксид азота как; межклеточный посредник / А.А. Сосунов // Соросовский общеобразовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 421. – С. 27-34.
237. Спектр антифосфолипидных антител у матерей и плодов при синдроме потери плода в анамнезе / А.Д. Макацария [и др.] // «Мать и дитя» : материалы IX Всероссийского научного форума. – М., 2007. – С. 152.
238. Спонтанная агрегация тромбоцитов при физиологической и осложненной гестозом беременности / Н. В. Яговкина, С. В. Хлыбова, В. И. Циркин [и др.] // Нижегородский медицинский журнал. – 2006. – № 6. – С. 116-118.
239. Степанова, А.А. Современные подходы к ведению больных с тромбофилиями : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Степанова Анастасия Анатольевна. – Новосибирск, 2009. – 151 с. : ил.
240. Стрижаков, А.Н. Фетоплацентарная недостаточность: патогенез, диагностика, лечение / А.Н. Стрижаков, Т.Ф. Тимохина, О.Р. Баев // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2003. – № 2. С.53-56.
241. Стрижаков, А. Н. Физиология и патология эндокринной системы плода / А. Н. Стрижаков, И. В. Игнатко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 144 с.
242. Судуткина, Л.Н. Изменения содержания цитокинов крови у беременных I триместра с явлениями ограниченной формы атопического дерматита / Л.Н. Судуткина, Л.В. Матвеева, Л.М. Мосина // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 2. – С. 168-171.
243. Таджиева В.Д. Диабетическая фетопатия при гестационном диабете /В.Д. Таджиева, Ф.А. Измайлова, Е.И. Косырева, М.Л. Албутова // «Мать и Дитя» : материалы XI Всероссийского научного форума. – М., 2010. – С. 234.
244. Талалаева, И.Н. Генетически детерминированная гипергомоцистеинемия и антенатальная гибель плода / И.Н. Талалаева, В.О. Бицадзе, А.Д. Макацария // Материалы IV съезда акушеров-гинекологов России. – М., 2008. – С. 250-251.

245. Тареева, Т.Г. Перинатальные аспекты, смешанной урогенитальной инфекции (патогенез, прогнозирование, профилактика) : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.01 / Тареева Татьяна Геннадьевна. – М. – 2000. – 358 с.
246. Тетруашвили, Н.К. Роль иммунных взаимодействий на ранних этапах физиологической беременности и при привычном выкидыше / Н.К. Тетруашвили // Иммунология. – 2008. – № 2. С.124-129.
247. Тромбогеморрагические осложнения в акушерско- гинекологической практике: Рук. для врачей / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, Л.М. Смирнова, С.В. Акиньшина, С.М. Баймурадова. – М. : Мед. информ. агентство, 2011. – 1056 с.
248. Тромботические состояния в акушерской практике : учебное пособие / Доброхотова Ю.Э., Щеголев А.А., Комраков В.Е. и др.; под ред. Ю.Э. Доброхотовой, А.А. Щеголева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 128 с.
249. Тромбофилические состояния в акушерской и гинекологической практике / А.Д. Макацария, Е.А. Киселева-Романова, Ж.Б. Кролл, Я.Ш. Бухаева // «Новые технологии в акушерстве и гинекологии» : материалы научного форума. – М., 1999. – С. 90-93.
250. Тромбофилия как фактор риска акушерской патологии / Э.К. Айламазян, В.М. Баранов, М.К. Зайнулина [и др.] // Врач. – 2008. – № 10. – С. 97-101.
251. Трошина, Е.А. Гипотиреоз и беременность: общие принципы диагностики и лечения / Е.А. Трошина // Гинекология. – 2006. – № 2. – С. 43-47.
252. Тютюнник, В.Л. Предгравидарная подготовка, тактика ведения беременности, родов и послеродового периода при инфекции / В.Л. Тютюнник // Акушерство и гинекология. – 2004. – № 3. – С. 54-57.
253. Тютюнник, В.Л. Тактика ведения беременных при плацентарной недостаточности инфекционного генеза / В.Л. Тютюнник // Русский медицинский журнал. – 2006. – Т. 14, № 18 (270). – С.1307-1310.

254. Тютюнник, В.Л. Хроническая плацентарная недостаточность при бактериальной и вирусной инфекции (патогенез, диагностика, профилактика, лечение) : дис. ... д-ра мед. наук / Тютюнник Виктор Леонидович. – М. –2002.
255. Тяжелый гестоз: Ближайшие результаты развития детей / Р.И. Шалина, О.Ш. Шаряпова, Ю.В. Выхристюк и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 43-48.
256. Фактор ингибирования лейкемии (LIF) улучшает и пролонгирует развитие партеногенетических зародышей мыши / Е.С. Пенков, Е.С. Платонов, М.С. Кондрахина, Б.В. Конюхов // Онтогенез. – 2003. – Т. 34, № 4. – С. 301-305.
257. Фёдорова, М.В. Сахарный диабет, беременность и диабетическая фетопатия / М.В. Фёдорова, В.И. Краснопольский, В.А. Петрухин. – М. : Медицина, 2001. – 288 с.
258. Физиология системы гемостаза / В.П. Балуда, М.В. Балуда, Н.И. Деянов, И.К. Теплуков. – М: Медицина, 1995. – 243 с.
259. Филимонова, М.В. Экспериментальное исследование противоопухолевой активности нового ингибитора синтаз оксида азота T1023 / М.В. Филимонова, В.В. Южаков, Л.И. Шевченко и др. // Молекулярная медицина. – 2015. – №1. – С. 61-64.
260. Флоренсов, В.В. Состояние перекисного окисления липидов и антиокислительной системы у беременных с неосложненным течением беременности и плацентарной недостаточностью / В.В. Флоренсов, Н.В. Протпопова, Л.И. Колесникова // Журн. акушерства и женских болезней. – 2005. – Т. LIV, № 2. – С. 44-49.
261. Фрейдлин, И. С. Эндотелиальные клетки в качестве мишеней и продуцентов цитокинов / И.С. Фрейдлин, Ю.А. Шейкин // Медицинская иммунология. – 2001. – № 4. – С. 501-514.
262. Фролова, О.Г. О стандарте нормальных родов / О.Г. Фролова, И.А. Ильичева // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 3. – С. 62-64.

263. Харламова, Е.А. Иммуно-генетические аспекты патогенеза и терапии хронических воспалительных заболеваний матки и ее придатков : автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.00.01 / Харламова Елена Аркадьевна. – М., 1997. – 19 с.
264. Хирургическая профилактика массивной легочной эмболии у беременных / А.И. Кириенко, А.А. Матюшенко, В.В. Андрияшкин, О.В. Дженина, А.Д. Журавлева, С.М. Юмин // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2006. – № 4. – С. 37-42.
265. Хмилевская, С.А. Особенности состояния системы гемостаза и иммунопатологические реакции при Эпштейна-Барр вирусной инфекции у детей / С.А. Хмилевская, И.А. Зайцева, Н.И. Зрячкин и др. // Журнал инфектологии. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 75-82.
266. Хонина, Н.А. Особенности продукции цитокинов при физиологической и осложненной беременности / Н.А. Хонина, Н.М. Пасман, А.А. Останин // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 2. – С. 11-15.
267. Хофмейер, Д.Ю. Кокрановское руководство : Беременность и роды : пер. с англ. / Д.Ю. Хофмейер, Д.П. Нейлсон. – М. : Логосфера, 2010. – 440 с.
268. Цинзерлинг, В.А. Перинатальные инфекции (вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений) : практическое руководство / В.А. Цинзерлинг, В.Ф. Мельникова. – СПб. : Элби, 2002. – 352 с.
269. Черный, В.И. Нарушения иммунитета при критических состояниях : особенности диагностики / В.И. Черный // Внутренняя медицина. – 2007. – № 2-4. – С. 12-22.
270. Шалина, Р.И. Антиоксиданты и их роль в акушерской практике / Р.И. Шалина, М.Р. Канзапетов // Гинекология. – 2013. – №15(5). – С. 3-7. Портал Consilium Medicum: http://con-med.ru/magazines/gynecology/gynecology-01-2014/rol_antioksidantov_pri_beremennosti_vysokogo_riska/
271. Шалина, Р.И. Гестоз : современное состояние вопроса / Р.И. Шалина // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 27-33.

272. Шалина, Р.И. Перинатальные исходы у недоношенных новорожденных с экстремально низкой и низкой массой тела при рождении / Р.И. Шалина, Ю.В. Выхристюк, С.В. Кривоножко // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 57-63.
273. Шарапова, О.В. Современные проблемы охраны репродуктивного здоровья женщин: пути решения / О.В. Шарапова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2003. – Т. 2, № 1. С. 7-11.
274. Шатилова, И.Г. Плацентарные макрофаги (клетки Кащенко-Гофбауэра) и их роль в патологии / И.Г. Шатилова, А.П. Милованов, М.К. Кадыров // Архив патологии. – 1997. – Т. 59, № 5. – С. 70-74.
275. Шевченко, О.П. Гомоцистеин и его роль в клинической практике / О.П. Шевченко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – № 11. – С. 25-32.
276. Шехтман, М.М. Гипертоническая болезнь и беременность / М. М. Шехтман, О.В. Козина // Гинекология. – 2005. – Т. 7. – № 5. – С. 307-310.
277. Шехтман, М.М. Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных / М.М. Шехтман. – 3-е изд. – М. : Триада-Х, 2005. – 816 с.
278. Шиффман, Ф. Д. Патофизиология крови / Ф. Д. Шиффман. – М.: Изд-во БИНОМ, 2007. – 446 с.
279. Шкорик, Е.В. Баланс про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов до и после аортокоронарного шунтирования и их роль в риске возникновения тромбозмболических и гемморагических осложнений / Е.В. Шкорик, Е.В. Маркелова и др. // Цитокины и воспаление. – 2016. – № 1. – С. 7-14.
280. Шляхто, Е.В. Клеточные и молекулярно-генетические аспекты эндотелиальной дисфункции / Е.В. Шляхто, О.А. Беркович, О.М. Моисеев // Вестник РАМН. – 2004. – № 10. – С. 50-52.
281. Эритроциты и лейкоциты в реализации.связи.между перекисным окислением липидов и гемостазом / А. Ш. Бышевский [и др.] // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 4. – С. 370-377.
282. Abdominal obesity is essential for the risk of venous thromboembolism in

- the metabolic syndrome : the Tromso study / K.H. Borch, S.K. Braekkan, E.B. Mathiesen [et al.] // *J Thromb Haemost.* – 2009.- N 7(5). – P.739-45.
283. Absence of factor V Leiden, thrombomodulin and prothrombin gene variants in black South African women with preeclampsia and eclampsia. / B. Hira, R.J. Pegoraro, L. Rom [et al.] // *Brit. J. Obstetric. Gynecology.* – 2003. – Vol. 110. – P. 327-328.
284. Age and homocysteine plasma levels are risk factors for thrombotic complications after ovarian stimulation / B. Grandone, D. Colaizzo, P. Vergura, F. Cappucci, G. Vecchione, A. Lo Bue, E. Cittadini, M. Margaglione // *Hum. Reprod.* – 2004. – Aug., Vol. 19(8); 2004. – Jun. 03. – P. 1796-1799.
285. Aird, W.C. Natural anticoagulant inhibitors: activated Protein C / W.C. Aird // *Best. Pract Res. Clin. Haematol.* – 2004. – Vol. 17, N 1. – P. 161-182.
286. Ament, L. Factor V Leiden: a review of the literature / L. Ament // *J. Perinat. neonatal nurs.* – 2003. - Vol. 17, N 3. – P. 190-195.
287. Andersen, AS. Venous thromboembolism in pregnancy : prophylaxis and treatment with low molecular weight heparin / A.S. Andersen, J.G. Berthelsen, T. Bergholt // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2010. – N 89(1). – P. 15-21.
288. Anderson, T.J. Nitric oxide, atherosclerosis and 2 the clinical relevance of endothelial dysfunction / T.J. Anderson // *Heart Fail. Rev.* – 2003. – Vol. 8, N 1. – P. 71-86.
289. Angiotensin converting enzyme DD genotype, angiotensin type 1 receptor CC genotype, and hyperhomoeysteinemia increase first-trimester fetal loss susceptibility / C. Fatini, F. Gensini, B. Battaglini, D. Prtsco, A.P. Cellai, S. Fedi, R. Marcucci [et al.] // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 2000. – N 11. – P. 1-6.
290. Anticardiolipin antibodies and high risk pregnancy / M.J. Gandra, M. Fraga, J.P. Saraiva, J. Andrade // *Thromb and haemost, XVI Congress : abstr.* – Porto, 2000. – P. 160.
291. Antithrombin inhibits bronchoalveolar activation of coagulation and limits lung injury during *Streptococcus pneumoniae* pneumonia in rats / G. Choi [et al.] // *Grit. Care. Med.* – 2008. – Vol. 36, N 1. – P. 204-210.

292. Antithrombotic therapy in high risk pregnancy Hematology / L. Heilmann [et al.] // Oncology Clinics of North America. – 2000. – Vol. 13, N 5. – P. 1133-1150.
293. Asherson, R.A. The catastrophic antiphospholipid syndrome: a review of pathogenesis, clinical features and treatment / R.A. Asherson, R. Cervera // Israel Med. Assoc. J. – 2000. – Vol. 2. – P. 268-273.
294. Association analysis of nine missense polymorphisms in the coagulation factor V gene with severe preeclampsia in pregnant Japanese women / H. Watanabe [et al.] // J. of Human Genetics. – 2002. – Vol. 47, N 3. – P. 131-135.
295. Bahaa, M. Trombophilia in pregnancy : when to treat / M. Bahaa, Y. Helena, L. Carlinea // The Journal of Family practice. January. – 2007. – Vol. 19, N 1. – P. 12-22.
296. Baksu, A. Plasma homocysteine in late pregnancies complicated with preeclampsia and in newborns / A. Baksu // Amer. J. of Perinatology. – 2006. – Vol. 23, N 1. – P. 31-36.
297. Bates, S.M. Use of antithrombotic agents during pregnancy : the Seventh ACCP conf. on antithrombotic therapy / S.M. Bates // Chest. – 2008. – Vol. 126. – N 3. – P. 627-644.
298. Behjati, R Thrombophilic mutations in Iranian patients with infertility and recurrent spontaneous abortion / R. Behjati, M.H. Modarressi, M. Jeddi-Tehrani et al. // Ann. Hematol. 2006. – Vol. 85. – P. 268-271.
299. Bick, R.L. Recurrent Miscarriage Syndrome and Infertility Due to Blood Coagulation Protein/Platelet defects: A Review and Update / R.L. Bick // Clin. Appl Thrombosis Haemostasis. – 2005. – N 11(1). – P. 1-13.
300. Bloomenthal, D. Obstetric implications of the factor V Leiden mutation : a review / D. Bloomenthal, M.F. Delisle, F. Tessier, P. Tsang // Am. J. Perinatol. – 2002. – Vol. 19, N 1. – P. 37-47.
301. Bloomenthal, D. The effect of factor V Leiden carriage on maternal and fetal health / D. Bloomenthal // JAMC. – 2002. – Vol. 9. – P. 167-173.
302. Boianovski, B. Frequency of antiphospholipid antibodies and Leiden

- mutation of hemostasis Factor V in unexplained recurrent fetal and embryo loss / B. Boianovski, M. Ruseva, V. Ganey V., et al // Akush. Ginek. (Sofia). 2001. – Vol. 40, N 3. – P. 11-14.
303. Bojesen, S.E. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa P1^{A2}/ P1^{A2} Homozygosity Associated With Risk of Ischemic Cardiovascular Disease and Myocardial Infarction in Young Men // Journal of the American College of Cardiology. / S.E. Bojesen, K. uul, P. Schnohr [et al.] – 2003. – V. 42. – No 4. – P. 661 - 667.
304. Brenner, B. Haemostatic changes in pregnancy / B. Brenner // Thrombosis Research. – 2004. – Vol. 114 (5-6). – P. 409-414.
305. Brenner, B. Homeostasis in normal pregnancy / B. Brenner, A. Aharon, N. Lanir // Thrombosis research. : symposium on Women's Health issues in Thrombus and Hemost. – Budapest, 2005. – P. 6-10.
306. Brenner, B. Thrombophilia and fetal loss / B. Brenner // Seminars in Thromb Haemost. – 2003. – Vol. 29 (2). – P. 165-170.
307. Brenner, B. Thrombophilia and pregnancy loss / B. Brenner // «Thrombosis and Haemostasis», XVI International Congress on, State of the art. – 2000. – P. 19-23.
308. Brenner, B. Thrombophilia in pregnancy and its role in abortion / B. Brenner // Womens Health. – 2005 (Jul). – Vol. 1 (1). – P. 35-38.
309. Bykov, I.M. Change of parameters in prooxidant-antioxidant bile system in patients with the obstruction of bile-excreting ducts / I.M. Bykov, A.A. Basov // Medical news of North Caucasus. – 2015. – Vol. 10, Iss. 2. – P. 131-135.
310. Cardiovascular pathogenesis in hyperhomocysteinemia / T. Huang, G. Yuan, Z. Zhang [et al.] // Asia Pac J Clin Nutr. – 2008. – N 17(1). – P. 8-16.
311. Carp, H.J. Thromboprophylaxis improves the live birth rate in women with consecutive recurrent miscarriages and hereditary thrombophilia. / H.J. Carp, M. Dolitzky, A. Inbal // J. Thrombus. Haemost. – 2003. – Vol. 1. – P. 433-438.
312. Carp, H.J. Thrombophilia and recurrent pregnancy loss / H.J. Carp // Obstetric. Gynecology Clin. North. Am. – 2006. – Vol. 33, N 3. – P. 429-442.

313. Cattaneo, M. Hyperhomocysteinemia and venous thromboembolism / M. Cattaneo // *Semin Thromb Hemost.* – 2006. – N 32(7). – P. 716-23.
314. Chan S. Thyroid hormone and central nervous system development / S. Chan, M.D. Kilby // *J. Endocrinol.* – 2000. – Vol. 165. – P. 1-8.
315. Chan, W.S. Venous thromboembolism in pregnancy / W.S. Chan // *Expert Rev Cardiovasc Ther.* – 2010. – N 8(12). – P. 1731-1740.
316. Chatterjee, A. Endothelial Nitric Oxide (NO) and its pathophysiologic regulation / A. Chatterjee, J.D. Catravas // *Vascul Pharmacol.* – 2008. – Vol. 49(4-6). – P. 134-140.
317. Choi, J.W. Tissue plasminogen activator levels change with plasma fibrinogen concentrations during pregnancy. / J.W. Choi, S.H. Pai // *Ann Hematol.* – 2002. – N 81(11). – P. 611.
318. Chu, A.J. Tissue factor mediates inflammation / A.J. Chu // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2005. – Vol. 440, N 2. – P. 123-132.
319. Coller, B.S. Platelet GIIb/IIIa antagonists: the first anti-integrin receptor therapeutics // *Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 99. – P. 1467-1471.
320. Consultative Homeostasis and Thrombosis: edited by. / C.S. Kithens, B.M. Alving, C.M. Kessler, J. Heit. // *Thrombophilia Clinical and Laboratory Assessment and Management.* – 2007. – N 2. – P. 213-244.
321. Coppens, M. Outcome of the subsequent pregnancy after a first loss in women with the factor V Leiden or prothrombin 2021 OA mutations / M. Coppens, N. Folkeringa, M.J. Teune // *J. Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol. 5. – P. 1444-1448.
322. Cuadrado, M.J. Antiphospholipid syndrome / MJ. Cuadrado, C. Lopez-Pedraza // *Clin Exp Med.* – 2003. – Vol. 3, N 3. – P. 129-139.
323. Dahlback, B. Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway: novel insights into structure – function relationships and molecular recognition / B. Dahlback., B.O. Villoutreix // *Arteriosclerosis, Thrombosis, a. Vascular Biology.* -2005. – Vol. 25, N 7. – P. 1311-1320.

324. Dahm, A. Low levels of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) increase the risk of venous thrombosis / A. Dahm [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 101, N 11. – P. 4387-4392.
325. Dalmas, C.A. Relationship between polymorphisms in thrombophilic genes and preeclampsia in a Brazilian population / C.A. Dalmas [et al.] // *Blood Cells, Molecules, Diseases*. – 2006. – Vol. 37, N 2. – P. 107-110.
326. Danoyer-Geindre, S. Aspirin inhibits VCAM-1 expression induced by antiphospholipid antibodies / S. Danoyer-Geindre [et al.] // *J. of Thrombosis a. Haemostasis*. – 2003. – Suppl. – P. 1522.
327. Davalos, I.P. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and Factor V Leiden variant in Mexican women with preeclampsia/eclampsia / I.P. Davalos [et al.] // *Blood Cells, Molecules, Diseases*. – 2005. – Vol. 35, N 1. – P. 66-69.
328. De Swiet, M. Maternal mortality: Confidential inquiries into maternal deaths in United Kingdom / M. De Swiet // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2000. – Vol. 183. – P. 1271.
329. Defective bactericidal activity and absence of specific granules in neutrophils from a patient with recurrent bacterial infections / D.R. Ambruso, M. Sasada, H. Nishiyama et al. // *J. Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 4, N 1. – P. 23-30.
330. Demin, G.S. Association of some vascular genetic markers with different forms of preeclampsia / G.S. Demin [et al.] // *Europ. J. of Human Genetics*. – 2005. – Vol. 13, N 1. – P. 331-332.
331. Den Heijer, M. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis : a meta-analysis of published epidemiological studies / M. Den Heijer, S. Lewington, R. Clarke // *J Thromb Haemost.* – 2005. – N3(2). – P. 292-299.
332. Diagnosis, Evaluation and Management of the Hypertensive Disorders in Pregnancy / L.A. Magee, M.E. Helewa, J.M. Moutquin [et al.] // *LOGC*. – 2008. – Vol. 30 (3 Suppl. 1). – P. 9-15.

333. Disentangling fetal and maternal susceptibility for preeclampsia: a British multicenter candidate-gene study // *Amer. J. of Human Genetics.* – 2005. – Vol. 77, N 1. – P. 127-131.
334. Doughty, L.A. Inflammatory cytokine and nitric oxide responses in pediatric sepsis and organ failure / L.A. Doughty, S.S. Kaplan, J.A. Carcillo // *Crit. Care Med.* – 1996. – Vol. 24, N 7. – P. 1137-1143.
335. Dunn, J.T. Damaged reproduction: the most important consequence of iodine deficiency / J.T. Dunn, F. Delange // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86, N 6. – P. 2360-2363.
336. Early pregnancy loss / J. Petrozza [et al.] // *Medicine – Specialities.* – 2001. – N 21.
337. Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels: a study in transsexual males and females / E.J. Giltay, E.K. Hoogeveen, J.M.H. Elbers, L.J.G. Gooren, H. Asscheman, C.D.A. Stehouwer // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1998. – Vol. 83. – P. 550-553.
338. Egeberg, O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia / O. Egeberg, // *Thromb Diath Haemorrh.* – 1965. – Vol. 13. – P. 516–530.
339. Eldibany M.M. Hyperhomocysteinemia and thrombosis: an overview / M.M. Eldibany, J.A. Caprini // *Arch Pathol Lab Med.* – 2007. – Vol. 131(6). – P. 872-84.
340. Endothelial dysfunction / J. Nagy [et al.] // *Orv. Hetil.* – 2001 – Vol. 142, N 31. – P. 1667-1672.
341. Epidemiology and risk factors of venous thromboembolism / W. Ageno, A. Squizzato, D. Garcia, D. Imberti // *Semin Thromb Hemost.* – 2006. – N 32(7). – P. 651-658.
342. Esmon, C.T. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway / C.T. Esmon // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2006. – Vol. 32, N 1. – P. 49-60.
343. Esmon, C.T. Structure and functions of the endothelial cell protein C receptor / C.T. Esmon // *Critical Care Medicine.* – 2004. – Vol. 32, N 5. – P. 298-301.

344. Esmon, C.T. The protein C pathway / C.T. Esmon // Critical Care Medicine. – 2000. – Vol. 28, N 9. – P. 44-48.
345. Evelyne, R. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis / R. Evelyne, S. Kahn, M. David, I. Shrier // Lancet. – 2003. – Vol. 361. – P. 901-908.
346. Exogenous superoxide mediates pro-oxidative, proinflammatory, and procoagulatory changes in primary endothelial cell cultures / J. Jacobi [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2005. – Vol. 39, N 9. – P. 1238-1248.
347. Extended thromboprophylaxis with low molecular weight heparin reduced venous thromboembolism following lower limb arthroplasty a meta-analysis / A.T. Cohen [et al.] // Thrombosis a. Haemostasis. – 2001. – Vol. 85. – P. 940-941.
348. Fan, Y. Thrombin and PAR-1-AP increase proinflammatory cytokine expression in C6 cells. / Y. Fan, W. Zhang, M. Mulholland // J. Surg. Res. – 2005. – Vol. 129, N 2. – P. 196-201.
349. Forstermann, U. Nitric oxide synthases: regulation and function / U. Forstermann, W.S. Sessa // European Heart Journal. – 2012. – V.33, N.7. – P. 829-837.
350. Frequency of factor V, prothrombin and methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in preeclampsia / A.V. D'Elia [et al.] // Gynecolog. a. Obstetr. Investigation. – 2002. – Vol. 53, N 2. – P. 84-87.
351. G20210A prothrombin gene polymorphism and coronary ischaemic syndromes: a phenotype – specific meta-analysis of 12034 subjects / F. Burzotta [et al.] // Heart. – 2004. – Vol. 90, N 1. – P.82-86.
352. Gale, A.J. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway / A.J. Gale, J.H. Griffin // Semin. Thromb. Hemost. – 2006 – Vol. 32, N 1. – P. 49-60.
353. Gallus, A.S. Management options for thrombophilias / A.S. Gallus // Semin. Thromb. Hemost. – 2005. – N 31 – P. 118–126.
354. Genotype and allele frequency of PAI - 1 promoter polymorphism in healthy subjects from the west of Mexico. Association with biochemical and hematological

- parameters / S. Ruiz-Quezada [et al.] // *Annales de Genetique*. – 2004. – Vol. 47, N 2. – P. 155-162.
355. Gerhardt, A. Effect of hemostatic risk factors on the individual probability of thrombosis during pregnancy and the puerperium / A. Gerhardt, R.E. Scharf, R.B. Zotz // *Thromb Haemost.* – 2003. – Vol. 90. – P. 77-85.
356. Gerhardt, A. Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and puerperium / A. Gerhardt // *The New England J. of Medicine*. – 2000. – Vol. 3426, N 6. – P. 374-380.
357. Ginsberg, J.S. Use of antithrombotic agents during pregnancy / J.S. Ginsberg, J. Hirsh // *Chest*. – 1998. – Vol. 114. – P. 5248-5308.
358. Glinioer, D. What happens to the normal thyroid during pregnancy? / D. Glinioer // *Thyroid*. – 1999. – V.9, N 7. – P. 631-635.
359. Goodnight S.H. Dicordes of haemostasis and thrombosis : clin. guide / S.H. Goodnight, W.E. Hathaway. – 2 ed. – S.l. : McGraw-Hill Inc., 2001. – 622 p.
360. Grandone, E. Inherited thrombophilia and gestational vascular complications / E. Grandone, M. Margaglione // *Best Practice & Research Clin. : Haematol.* – 2003. – Vol. 16, N. 2. – P. 321-332.
361. Greer, I.A. Thrombophilia: implications for pregnancy outcome / I.A. Greer // *Thrombus Res.* – 2003. – Vol. 109, N 2-3. – P.73-81.
362. Gresele, P. Platelets in thrombotic and non- thrombotic disorders / P. Gresele [et al.] . – Cambridge, UK. : Cambridge Univ. Press, 2002. – 1101 p.
363. Griffin J. H., Evatt B., Zimmerman T. S. et al. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease // *J. Clin. Invest.* — 1981. — Vol. 68. N5. — P. 1370–1373
364. Gris, J.R. LMWH have no place in recurrent pregnancy loss: Debate -against the motion / J.R. Gris. // *Thrombosis research*. – 2011. – Vol. 127, Suppl. 3 – P. 110-112.
365. Hampl, V. Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension / V. Hampl, J. Herget // *Physiol. Rev.* – 2000. – Vol. 80, N 4. – P. 1337-1372.

366. Hematological complication in obstetrics, pregnancy, and gynecology / R.L. Bick, E.P. Frenkel, W.F. Backer, R. Sarode. – UK : Cambridge University press, 2006. – 607 p.
367. High prevalence of the prothrombin gene mutation in women with intrauterine growth retardation, abruptio placentae and 2nd trimester loss / M.J. Kupferminc, H. Peri, E. Zwang, Y. Yaron, I. Wolman, A. Eldor // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2000. – Vol. 79. – P. 963-967.
368. Hirsh, J. Prevention of Venous Thromboembolism in Major Orthopedic Surgery / J. Hirsh. – Hamilton ; London : BC Decker Inc., 2004. – 348 p.
369. Hoffman M. A. Cell-based model of hemostasis / M. A. Hoffman, D. M. Munroe // *Thromb Haemost.* – 2001. - № 85. – C. 958-965
370. Hohlagschwandtner, M. Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage / M. Hohlagschwandtner, G. Unfried, G. Heinze // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol. 79. – P. 1141-1148.
371. Holmes, V.A. Haemostasis in normal pregnancy: a balancing act? / V.A. Holmes, J.M. Wallace // *Biochem Soc Trans.* – 2005. – Apr., Vol. 33 (Pt. 2). – P. 428-32.
372. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio- cerebrovascular risk / E. Trabetti // *J Appl Genet.* – 2008. – N 49 (3). – P. 267-282.
373. How to treat women with antiphospholipid antibodies in pregnancy / R.H.M. Derksen [et al.] // *Ann. of the Rheumatic Diseases.* – 2001. – Vol. 60. – P. 1-3.
374. Hyperhomocysteinemia, pregnancy complications, and the timing of investigation / R.P. Steegers-Theunissen , C.A. Van Iersel , P.G. Peer [et al.] // *Obstet Gynecol.* – 2004. – Aug., N 104(2). – P. 336-43
375. In vitro kinetics of the oxidative reactivity of nitrate and nitrite in the rat erythrocyte / P. Batina [et al.] // *Food Addit. Contam.* – 1990. – Vol. 7, N 1. – P. 145-149.
376. Increased thrombotic risk for patients with associated 844ins68 mutation of the cystamonierte B-synthase (CBS)gene and the 677C->T mutation of the

- methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene / R. De Franchis, A. Buoninconti, I. Fermo, G. Sebastio, M.P. Sperandio, G. Mazzola, A.M. Cerbone, L. Soliente, G. Orifice, G.D. Di Minno, A. Angelo, G. Andria // *H Am, J, Hum Gen.* – 1998. – Vol. 63. – P. abstract.
377. Inherited antithrombin deficiency and pregnancy: maternal and fetal outcomes / J. Sabadell, M. Casellas, J. Alijotas-Reig [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2010. – Mar., Vol. 149(1). – P. 47-51
378. Interaction between hyperhomocysteinemia, mutated methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and inherited thrombophilic factors in recurrent venous thrombosis / M.B. Keijzer, M. den Heijer, H.J. Blom [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2002. – N 88(5). – P. 723-728.
379. Ivanovic, Z. Role of gene polymorphism in development of thromboses. / Z. Ivanovic. // *Spry. Arh. Celok. Lek.* – 2006. – Vol. 134, N 1. – P. 64-71.
380. James, A.H. Thromboembolism in pregnancy: recurrence risks, prevention and management / A.H. James // *Curr Opin Obstet Gynecol.* – 2008. – Dec, Vol. 20(6). – P.550-556.
381. Khare, M. Acquired thrombophilias and pregnancy / M. Khare, C. Nelson-Piercy // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* serial online. – 2003. – June, N 17(3). – P. 491-507.
382. Kitchens, K.S. Consultative haemostasis and thrombosis / K.S. Kitchens, B.M. Alving, C.M. Kessler. – Elsevier Science, 2002. – 617 p.
383. Klatt, P. Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrooxidative stress / P. Klatt, S. Lamas // *Eur. J. Biochem.* – 2000. – Vol. 267. – P. 4928-4944.
384. Koibuchi, N. Thyroid hormone action and brain development / N. Koibuchi, W.W. Chin // *Trends Endocrinol. Metab.* – 2000. – Vol. 4. – P. 123-128.
385. Kupferminc, M.J. Thrombophilia and pregnancy. / M. Kupferminc // *Curr Pharm. Des.* – 2005. – Vol. 11, N 6. – P. 735-748.
386. Kutteh, W.H. Thrombophilias and recurrent pregnancy loss / W.H. Kutten, D.A. Triplett // *Semin. Reprod. Med.* – 2006. – N 24(1). – P. 54-66.

387. Lackwood, C.J. Inherited thrombophilias in pregnant patients: detection and treatment paradigm / C.J. Lackwood // *Obstetrics and Gynecology*. – 2002. – Vol. 99 – P. 333-341.
388. Lane, D.A. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease / D.A. Lane, R.J. Grant // *Blood*. – 2000. – Vol. 95. – P. 1517-1532.
389. Laurent, P. Low molecular weight heparins: a guide to their optimum use in pregnancy. / P. Laurent, G.V. Dussarat, J. Banal. // *Drugs*. – 2002. – Vol. 62. – P. 463-77.
390. Leaden and prothrombin G20210A polymorphisms as risk factors for miscarriage during a first intended pregnancy: the matched case-control 'NOHA first' study / G. Lissalde-Lavigne, P. Fabbro-Peray, E. Cochery-Nouvellon, E. Mercier [et al.] // *J. Thrombus Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – P. 2178-2184.
391. Levi M., Two-way interactions between inflammation and coagulation / M. Levi, T. van der Poll // *Trends. Cardiovasc. Med.* – 2005. – Vol. 15, N 7. – P. 254-259.
392. Leviton, A. Coagulation, inflammation, and the risk of neonatal white matter damage / A. Leviton, O. Dammann // *Pediatr. Res.* – 2004. – Vol. 55, N 4. – P. 541-545.
393. Lindqvist, P. Low molecular weight heparins for repeated pregnancy loss – is based on solid evidence. / P. Lindqvist, J. Merlo // *Throm. Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – P. 221-223.
394. Local inflammatory and thrombotic responses differ in a murine model of partial and complete hindlimb ischemia/reperfusion / M.F. Conrad [et al.] // *Surgery*. – 2005. – Vol. 138, N 2. – P. 375-381.
395. Lockwood, C.J. Inherited thrombophilias in pregnant patients: detection and treatment paradigm / C.J. Lockwood // *Obstetrics and Gynecology*. – 2002. – Vol. 99. – P. 333-341.

396. Louise-Wilkins, M.D. Наследственная тромбофилия и отрицательные исходы беременности: AW Boston, Mass., USA (April 2003.) / M.D. Louise-Wilkins // OBG management. – 2003. – Vol. 15, N 4. – P. 324-328.
397. Lowe, G. Common risk factors for both arterial and venous thrombosis / G. Lowe. // British Journal Of Haematology serial online. – 2008. – March, N 140(5). – P. 488-495.
398. Main, E.K. Maternal mortality: new strategies for measurement and prevention / E.K. Main // Curr Opin Obstet Gynecol. – 2010. – Dec., N 22(6). – P. 511-516.
399. Makatsariya, A.D. Pathogenetic prophylaxis pre-eclampsia in patients with trombophilia and pre-eclampsia in anamnesis / A.D. Makatsariya, E.V. Zhuravleva, M.D. Andreeva// Thrombosis Research. February13-15 2015, Berlin, Germany. S.86.
400. Many, A. Third-trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited Thrombophilia / A. Many, R. Elad, Y. Yaron // Obstet. Gynecology. – 2002. – Vol. 99. – P. 684-687.
401. McKee, S.A. Aspirin resistance in cardiovascular disease / S.A. McKee, D.C. Sane, E.N. Deliargyrs // Thrombosis a. Haemostasis. – 2002. – Vol. 88, N 5. – P. 1620-1622.
402. Microhemodynamic and cellular mechanisms of activated protein C action during endotoxemia / J. N. Hoffmann [et al.] //Grit. Care Med. – 2004. – Vol. 32, N 4. – P. 1011-1017.
403. Middeldorp, S. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients? / S. Middeldorp, A. van Hylckama Vlieg. // British Journal Of Haematology serial online. – 2008. – November, Vol, 143(3). – P. 321-335.
404. Middeldorp, S. Pregnancy failure and heritable Thrombophilia / S. Middleboro // Semin. Hematology. – 2007. – Vol. 44, N 2. – P. 93-97.
405. Mid-trimester severe intrauterine growth restriction is associated with a high prevalence of thrombophilia / M.J. Kupferminc, A. Many, A. Bar-Am [et al.] // Brit. J. Obstet. Gynecol. – 2002. – Vol. 109. – P. 1373-1376.

406. Miller, G.J. Postprandial lipaemia and haemostatic factors / G.J. Miller // *H Atherosclerosis*. – 1998. – N 141. – P. 847-851.
407. Mousa, H.A. Do placental lesions reflect thrombophilia state in women with adverse pregnancy outcome? / H.A. Mousa, Z. Alfircvic // *Hum Reprod*. – 2000. – Vol. 15. – P. 1830-1833.
408. MTHFR C677T polymorphism is not associated with placental abruption or preeclampsia in Finnish women / E. Jaaskelainen [et al.] // *Hypertens Pregnancy*. – 2006. – Vol. 25, N 2. – P. 73-80.
409. Muller, M.M. Markers of endothelial dysfunction / M.M. Muller, A. Griesmacher // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2000. – Vol. 38, N 2. – P. 77-85.
410. Multifactorial etiology of recurrent miscarriage and its scientific and clinical implications : Gynecologic And Obstetric Investigation serial online / O. Christiansen, R. Steffensen, H. Nielsen [et al.]. – 2008. – Vol. 66(4). – P. 257-267.
411. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage / C.B. Coulam [et al.] // *Amer. J. of Reproductive Immunology*. – 2006. – Vol. 55, N 5. – P. 360-368.
412. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss / J. Martinelli, E. Taioli, I. Cetin, A. Marinoni [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 343. – P. 1015-1018.
413. Nelson, S.M. Thrombophilia and the risk for venous thromboembolism during pregnancy, delivery, and puerperium / S.M. Nelson, L.A. Greer // *Obstetrics Gynecology Clinics of North America*. – 2006. – Vol. 33, N 3. – P. 413-427.
414. Nicolaides, A.N. Prevention and treatment of venous thromboembolism. International Consensus Statement (Guidelines according to scientific evidence) / A.N. Nicolaides, J. Fareed, A.K. Kakkar // *Int. Angiol.* – 2006. – Vol. 25. – P. 101-161.
415. Nishiguchi, T. Antiphospholipid syndrome: characteristics and obstetrical management / T. Nishiguchi, T. Kobayashi // *Curr. Drug Targets*. – 2005. – Vol. 6, N 5. – P. 593-605.

416. Nitric oxide production and plasma cyclic guanosine monophosphate in premature infants with respiratory distress syndrome / T.G. Krediet [et al.] // *Bioh Neonate*. – 2002. – Vol. 82. – №3. – P. 150 - 154.
417. Nohr, S.B. Opposite variations in maternal and neonatal thyroid function induced by iodine supplementation during pregnancy / S.B. Nohr, P. Laurberg // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2000. – Vol. 85, N 2. – P. 623-627.
418. Ogilvie, M. Erythropoietin stimulates proliferation and interferes with differentiation of myoblasts / M. Ogilvie, X. Yu, V. Nicolas-Metral // *Journal Biol. Chem.*, – 2000. – Vol. 275. – № 50. – P. 39754–39761.
419. Omar, S.A. Nitrite reduction and cardiovascular protection / S.A. Omar, A.G. Webb // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2014. – V.73. – P. 57-69.
420. O'Riordan, M.N. Haemostasis in normal and abnormal pregnancy / M.N. O'Riordan, J.R. Higgins. // *Best Practice & Research. Clinical Obstetrics & Gynaecology*. – 2003. – Jun., Vol. 17 (3). – P. 385-396.
421. O'Shaughnessy, D. Practical homeostasis and thrombosis / D. O'Shaughnessy, M.M. Makris, D. Lillicrap. – Blackwell Publishing ltd, 2005. – 224 p.
422. Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema: due to vascular endothelial growth factor:receptor blockade / R.M. Tuder [et al.] // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 29. – P. 88-97.
423. Palareti, G. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulant therapy / G. Palareti, B. Cosmi, C. Legnani // *Current opinion in pulmonary medicine* . – 2007. – N 13(5). – P. 393-397.
424. Pathophysiology of thrombotic microangiopathies: current understanding / P. Coppo [et al.] // *Ann. Med. Interne*. – 2002. – Vol. 153, N 3. – P. 153-166.
425. Patnaik M.M. Inherited antithrombin deficiency: a review / M.M. Patnaik, S. Moll // *Haemophilia*. – 2008. – N 14(6). – P. 1229-1239.
426. Pearson, J. D. Normal endothelial cell function / J.D. Pearson // *Eupus*. – 2000. – Vol. 9, N 3. – P. 183-188.

427. Placenta praevi totalis complicated with pulmonary embolism during cesarean section: a case report / T. Adachi, I. Umczaki, Y. Matsuda, H. Ohta // *Semin. Thrombosis Hemos.* – 2005. – N 31(3). – P. 321-326.
428. Plasma and serum levels of D-dimer and their correlations with other hemostatic parameters in pregnancy / R. Paniccia, D. Prisco, B. BandineUi, S. Fedi, B. Giusti, G. Pepe, R. Abbate // *Thromb Res.* – 2002. – 1 Feb., Vol. 105(3). – P. 257-262.
429. Plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of stroke: replicated findings in two nested case- control studies based on independent cohorts / P.G. Wiklund [et al.] // *Stroke.* – 2005. – Vol. 36, N 8. – P. 1661-1665.
430. Platelets / ed. A.D. Michelson. – San Diego : Acad. Press, 2002. – 956 p.
431. Predictive value of D-dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation withdrawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia / G. Palareti, C. Legnani, B. Cosmi, L. Valdre, B. Lunghi, F. Bernardi, S. Coccheri // *Circulation.* – 2003. – Jul, 22, Vol. 108(3). – P. 313-318.
432. Prevalence of antiphospholipid antibodies, factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A mutations in early and late recurrent loss / N. Mtiraoui [et al.] // *Europ. J. of Obstetrics a. Gynecology a. Reproductive.* – 2005. – Vol. 119, N 2. – P. 64-70.
433. Prevalence of the post-thrombotic syndrome in young women with previous venous thromboembolism / M.D. McColl, J. Ellison, I.A. Greer [et al.] // *Br J Haematol.* – 2000. – Feb, N 108(2). – P. 272-274.
434. Preventing adverse obstetric outcomes in women with genetic thrombophilia / E. Grandone [et al.] // *Fertility a. Sterility.* – 2002. – Vol. 78. – P. 371-375.
435. Prochazka, M. Factor V Leiden in pregnancies complicated by placental abruption / M. Prochazka, C. Happach, K. Marsal [et al.] // *Brit. J. Obstet. Gynec.* – 2003. – Vol. 110. – P. 462-466.

436. Procoagulant soluble tissue: factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines / B. Szotowski [et al.] // *Circ. Res.* – 2005. – Vol. 96, N 12. – P. 1217–1218.
437. Prospective study of homocysteine and MTHFR 677TT genotype and risk for venous thrombosis in a general population—results from the HUNT 2 study / I.A. Naess, S.C. Christiansen, P.R. Romundstad [et al.] // *Br J Haematol.* – 2008 May, Vol. 141(4). – P. 529-35.
438. P-Selectin-mediated acute inflammation can be blocked by chemically modified heparin, RO-heparin / Y. Gao [et al.] // *Molecules a. Cells.* – 2005. Vol. 19, N 3. – P. 350-355.
439. Quantification of risk factors for venous thromboembolism: a preliminary study for the development of a risk assessment tool / M.M. Samama, O.E. Dahl, D.J. Quinlan [et al.] // *Haematologica.* – 2003. – Dec., N 88 (12). – P. 1410-1421.
440. Rai, R. Thrombophilia and adverse pregnancy outcome / R. Rai, L. Regan // *Review. Semin. Reproduce. Med.* – 2000. – Vol. 18. – P. 369-377.
441. Raschke, R. Suboptimal monitoring and dosing of unfractionated heparin in comparative studies with low-molecular-weight heparin. / R. Raschke, J. Hirsh, J. Guidry // *Ann. Intern. Med.* – 2003. – Vol. 138. – P. 720-723.
442. Recombinant tissue factor pathway inhibitor prevents lipopolysaccharide-induced systemic hypotension in rats by inhibiting excessive production of nitric oxide / P. Enkhbaator [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2001. – Vol. 86, N 6. – P. 1573-1577.
443. Recurrence of Clot in This Pregnancy Study Group. Safety of withholding heparin in pregnant women with a history of venous thromboembolism / P. Brill-Edwards, J.S. Ginsberg, M. Gent [et al.] // *N Engl J Med.* – 2000 – Vol. 16, N 343(20). – P. 1439-1444.
444. Rey, E. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis / E. Rey, S.R. Kahn, M. Daviv, J. Shrier // *The Lancet.* – 2003. – Vol. 361. – P. 901-908.

445. Reznickoff-Etievan, M.F. Factor V Leiden mutation can be associated with first as well as second-trimester recurrent pregnancy loss / M.F. Reznickoff-Etievan // *B JOG*. – 2001. – Vol. 108. – P. 1215-1254.
446. RIETE Investigators. Venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: findings from the RIETE Registry / A. Bianco-Molina, J. Trujillo Santos, J. Criado [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2007. – Feb., 97(2). – P. 186-90.
447. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: a population-based case-control study / J.A. Heit, M.D. Silverstein, D.N. Mohr [et al.] // *Arch Intern Med.* – 2000. – 27 Mar., Vol. 160(6). – P. 809-815.
448. Rodger, M.A. The management of thrombophilia during pregnancy: a Canadian survey / M.A. Rodger, M. Carrier, E. Keely // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* – 2002. – Vol. 24, N 12. – P. 946-952.
449. Ronin-Walknowska E. Immunological aspects of premature termination of pregnancies / E. Ronin-Walknowska, O. Sipak-Szmigiel // *Med. Wieku Rozwoj.* – 2003. – Vol. 7 (3) (Suppl). – P. 65-78.
450. Rosendaal, F R. Venous thromboembolism: the role of genes, environment, and behavior / F.R. Rosendaal // *Am. Soc. Haematol.* – 2005. – N 1. – P. 1-12.
451. Sarig, G. Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and associated with late pregnancy wastage / G. Sarig, J.S. Younis, R. Hoffman // *Fertile. Sterile.* – 2002. – Vol. 77. – P. 342-347.
452. Savage, B. Functional self-association of von Willebrand factor during platelet adhesion under flow / B. Savage // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99, N 1. – P. 425-430.
453. Schinzel, H. Prevention of thromboembolism with low molecular weight heparin (Dalteparin-Na) in risk pregnancy. / H. Schinzel, F. Bahlmann, D. Peetz // *Med Klin. (Munich).* – 2002. – Vol. 97, N 4. – P. 193-203.
454. Schlembach, D. Association of maternal and/or fetal factor V Leiden and G20210A prothrombin mutation with HELLP-syndrome and intrauterine growth restriction. / D. Schlembach, E. Beinder, J. Zingsem // *Clin. Sci. (Lond)* – 2003. – Vol. 105. – P. 279-285.

455. Seal, J.B. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury / J.B. Seal, B.L. Gewertz // *Ann. Vasc. Surg.* – 2005. – Vol. 19, N 4. – P. 572-584.
456. Segers O. Factor V Leiden and activated protein C resistance / O. Segers, E. Castoldi // *Adv Clin Chem.* – 2009 – N 49. – P. 121-57.
457. Siddiqui, I.A. Biomarkers of oxidative stress in women with preeclampsia / A. Jaleel, H.M. Kadri et al. // *Biomark Med.* – 2013. – №7(2). – P. 229-234.
<http://doi:10.2217/bmm.12.109>
458. Smith, D. Mechanism of collagen glycosyltransferase and relation to platelet: collagen adhesion / D. Smith, D. Kosow, G. Jameson // *Fed. Proc.* – 1975. - Vol. 34. - P. 241-249.
459. Soh, M.C. Antiphospholipid syndrome in pregnancy / M.C. Soh, C. Nelson-Piercy // *Expert review of Obstetric & Gynecology.* – 2010. – Vol. 5, N 6. – P. 741-761.
460. Sotiriadis, A. Combined thrombophilic mutations in women with unexplained recurrent miscarriage / A. Sotiriadis, G. Vartholomatos, M. Pavlou // *J. Reprod. Immunol.* – 2007. – Vol. 57, N 2. – P. 133-141.
461. Stone S.E. Pulmonary embolism during and after pregnancy / S.E. Stone , T.A. Morris // *Crit Care Med.* – 2005. – Oct., N 33 (10 Suppl). – S. 294-300.
462. Tan, J.Y. Thrombophilia in pregnancy / J.Y. Tan // *Ann. Acad. Med. Singapore.* – 2002. – Vol. 31, N 3. – P. 328-334.
463. Tang L. Wang H., Ziolo M.T. Targeting NOS as a therapeutic approach for heart failure / L.Tang, H. Wang, M.T. Ziolo // *Pharmacology & Therapeutics.* – 2014. – V.142, N.3. – P. 306-315.
464. Taylor C.T., Moncada S. Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia / C.T. Taylor, S. Moncada // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2010. – V.30, N.4. – P. 643-647.
465. Temporary increase in the risk for recurrence during pregnancy in women with a history of venous thromboembolism / I. Pabinger, H. Grafenhofer, P.A. Kyrle [et al.] // *Blood.* – 2002. – Aug. 1, Vol. 100(3). – P. 1060-1062.

466. The C6667T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and idiopathic recurrent miscarriages / G. Unfried, A. Griesmacher, W. Weismuller [et al.] // *Obstetric. Gynecol.* – 2002. – Vol. 99. – P. 614-619.
467. The plasma membrane is the site of selective phosphatidylserine oxidation during apoptosis: role of cytochrome / C. Tyurina [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2004. – Vol. 6, N 2. – P. 209-225.
468. The relationship between thrombophilic mutations and preeclampsia: a prospective case control study / A. Yalinkaya [et al.] // *Annals of Saudi Medicine.* – 2006. – Vol. 26, N 2. – P. 105-109.
469. The risk of recurrent venous thromboembolism in pregnancy and puerperium without antithrombotic prophylaxis / V. De Stefano, I. Martineiii, E. Rossi [et al.] // *Br J Haematol.* – 2006. – N 135(3). – P. 386-391.
470. Thrombolytic therapy in pregnancy / G. Leonhardt [et al.] // *J. of Thrombosis a. Thrombolysis.* – 2006. – Vol. 21(3). – P. 360-370.
471. Thrombophilia and first arterial ischaemic stroke: a systematic review / S. Haywood [et al.] // *Arch, of Disease in Childhood.* – 2005. – Vol. 90, N 4. – P. 402-405.
472. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study / L. Robertson, O. Wu, P. Langhorn [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2006. – Vol. 132, N 2. – P. 171-196.
473. Thrombophilia in the young / U. Nowak-Gottl, K. Kurnik [et al.] // *Hamostaseologie.* – 2008. – Vol. 28, N 1-2. – P. 16-20.
474. Thrombophilia is significantly associated with severe preeclampsia: results of a large-scale, case-controlled study / G. Mello [et al.] // *Hypertension.* – 2005. – Vol. 46, N 6. – P. 1270-1274.
475. Thrombosis and haemostasis issues in cancer : Intern, conf, Bergamo. (Nov. 2-4, 2001) // *Haemostasis.* – 2001. – Vol. 31, Suppl. 1. – P. 1-110.

476. Thrombosis in children: current perspective and distinct challenges / M.W. Richardson, G.A. Allen [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2002 – T. 88. – N 6. – C. 900-911.
477. Tiefenbacher, C. P. Nitric oxide-mediated endothelial dysfunction—is there need to treat? / C.P. Tiefenbacher, J. Kreuzer // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 1, N 2. – P. 123-133.
478. Tollefsen, D.M. Does heparin cofactor II modulate atherosclerosis and restenosis? /D.M. Tollefsen // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109, N 22. – P. 2682-2684.
479. Trombophilic gene mutations and reccurent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester / R. Pihusch, T. Buchholz, P. Lohse [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2001. – Vol. 46. – P. 124-131.
480. Tsukahara, H. Bibmarkers for oxidative stress: clinical application in pediatiic medicine / H. Tsukahara// *Curr. Med. Chem.* – 2007. – Vol. 14, N 3. – P. 339-351.
481. Un-cross-linked fibrin substrates inhibit keratinocyte spreading and replication : correction with fibronectin and factor XIII cross-linking / E. Weiss, Y. Yamaguchi, A. Falabella, S. Crane, Y. Tocuda, V. Falanga // *J. Cell. Physiol.* – 1998. – Vol. 174. – P. 58.
482. Venous thromboembolism during pregnancy and the postpartum period: incidence, risk factors, and mortality / A.H. James, M.G. Jamison, L.R. Brancazio, E.R. Myers // *Am J Obstet Gynecol.* – 2006. – May, Vol. 194(5). – P. 1311-1315.
483. Venous thromboembolism in pregnancy: 21-year trends / P.D. Stein, R.D.Hull, F.Kayali [et al.] // *Am. J. Med.* – 2004. – 117. – P. 121-125.
484. Venous thromboembolism prevention in surgery andobstetrics: clinical practice guidelines / C.M. Samama, P. Albaladejo, D. Benhamou [et al.] // *Europ. J. of Anesthesiology.* – 2006. – N 23. – P. 95-116.
485. Venous thromboembolism, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy : American College of Chest Physicians Evidence-Based : Clinical

- Practice Guidelines (8th Edition) / S.M. Bates, I.A. Greer, I. Pabinger [et al.] // Chest. – 2008. – Jun., N 133 (6 Suppl). – P. 844-886.
486. Venous thromboembolism a manifestation of the metabolic syndrome / C. Ay, T. Tengler, R. Vormittag, R. Simanek [et al.] // Haematologica. – 2007. – Mar., N 92(3). – P. 374-80.
487. Verspyck, E. Thrombophilias and vascular placental pathology : A survey of the literature / E. Verspyck, L. Marpeau // Rev. Med. Int. – 2005. – Vol. 26 (2). – P. 103-108.
488. Verspyck, E. Thrombophilies et pathologies vasculaires placentaires.Revue de la literature / E. Verspyck, L. Marpeau // La revue de medecine interne. – 2005. – Vol. 26, N 103. – P. 1-8.
489. Volpe, J.J. Neurology of the Newborn. / J.J. Volpe. // Saunders. – 2001. – N 5. – P. 92.
490. Vucic, N. Therapy and prevention of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in gynecology and obstetrics / N. Vucic, K. Cala, I. Rancic, R. Pticar // Act Med Croatia. – 2003. – Vol. 57, N 2. – P. 123-130.
491. Walken, D. The use of LMWH in pregnancies at risk: new evidence or perception / D. Walken // Throm. Haemost. – 2005. – Vol. 3, N 4. – P. 778-779.
492. Welch, G.N. Hyperhomocysteinemia and atherothrombosis / G.N. Welch, J. Loscalzo // N. Engl. J. Med. – 1998. – N 270. – P. 1043-1050.
493. Wilson, M. Molecular epidemiology of preeclampsia / M. Wilson, T. Goodwin, V. Pan // Obstet. Gynecol. Surv. – 2002. – Vol. 58, N 1. – P. 39-66.
494. Wink, D.A., Mitchell J.B. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanisms of NO / D.A. Wink, J.B. Mitchell // Free Radic. Biol. Med. – 1998. – Vol. 25. – P. 434-456.
495. Younis, J.S. Gestational vascular complications / J.S. Younis, A. Samueloff // Best Practice & Research Clin. Hematology. – 2003. – Vol. 16, N. 2. – P. 332-338.
496. Zotz, R. Thrombophilia in pregnancy: venous thromboembolism, fetal loss, preeclampsia, intrauterine growth restriction / R. Zotz, C. Sucker, A. Gerhardt // Hamostaseologie. – 2008. – December, N 28 (5). – P. 455-464.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Карта беременной

1. Фамилия: _____

2. Имя: _____

3. Отчество: _____

4. Дата рождения: _____

5. Диагноз: _____

6. Менструальная функция с _____ лет по _____ дней, через _____ дней, умеренные, (без) болезненные _____

7. Половая жизнь с _____ лет, в браке с _____ лет

8. Какая по счету беременность _____

9. Дата поступления в стационар _____

10. Соматический анамнез (отметить при наличии) бронхиальная астма, патология щитовидной железы, хронический пиелонефрит, миокардиодистрофия, аритмия, ожирение, гипертоническая болезнь, остеопороз, пороки сердца, сахарный диабет, варикозная болезнь, заболевания соединительной ткани, патология бронхо-легочной системы, анемия (другое) _____

11. Тромботический анамнез с указанием года и возраста анкетированного на момент составления тромбоза (да, нет, нужное подчеркнуть), наличие тромбоза - тромбоза, фибромиоз, инсульт (ишемический, геморрагический), транзиторные ишемические атаки, инфаркт миокарда, тромбозы верхних, нижних конечностей, тромбозы другой локализации, тромбозы, возникшие при онкологических заболеваниях, после операции, травмы, стресса, при занятиях спортом, на фоне приема гормональных контрацептивов, во время беременности, в послеродовом периоде, при лечении гепарином, варфаринем, химиотерапии новообразований, приеме эритропоэтина (другое) _____

12. Тромботический анамнез у кровных родственников до 50 лет (да, нет, степень родства: брат, сестра, сын, дочь, отец, мать, дедушка, бабушка - нужное подчеркнуть).
- тромбоз, фибромиоз, инсульт (ишемический, геморрагический), транзиторные ишемические атаки, инфаркт миокарда, тромбозы верхних, нижних конечностей, тромбозы другой локализации, тромбозы, возникшие после операции, травмы, стресса, при занятиях спортом, во время беременности, в послеродовом периоде на фоне гепаринотерапии, при приеме варфарина (другое) _____

13. Гинекологический анамнез (отметить при наличии) - медицинские аборт, инфекция, передающаяся половым путем _____, эктопия _____, гиперплазия эндометрия, бесплодие _____, оперативные вмешательства на внутренних половых органах _____ (другое) _____

14. Акушерский анамнез (да, нет, нужное подчеркнуть)

14.1 Число беременностей _____

14.2 Число родов _____

14.3 Вес ребенка при рождении _____

14.4 Оперативное родоразрешение _____

14.5 Показания к оперативному родоразрешению _____

14.6 Выкидыши до 12 недель _____

14.7 Выкидыши после 12 недель _____

14.8 Антенатальная гибель плода _____

14.9 Смерть ребенка в период новорожденности _____

14.10 Наличие поражения ЦНС у новорожденного _____

14.11 Преждевременные роды _____

14.12 Синдром задержки развития плода I, II, III _____

14.13 Патологическая плацентация _____

14.14 Ретрохориальная гематома _____

14.15 ПОНРП _____

14.16 Гестоз средней или тяжелой степени _____

14.17 Неэффективность программ высоких репродуктивных технологий _____

14.18 Пороки развития плода _____

14.19 Наличие осложнений акушерского анамнеза у кровных родственников _____

15. Контрацептивный анамнез (отметить при наличии, длительность применения) _____

16. Курение (отметить при наличии, до 15 сигарет в день, более 15 сигарет в день) _____

17. Течение настоящей беременности _____

17.1 Течение первой половины беременности _____

17.2 Течение второй половины беременности _____

18. Особенности течения родов (длительность, патология матери, плода, др.) _____

19. Оперативные пособия в родах _____

20. Показания к оперативному родоразрешению _____

21. Течение послеродового периода _____

21.1 Состояние ребенка при рождении _____

21.2 Оценка по Апгар _____

21.3 Выписана на _____ день после родов _____

21.4 Состояние матери при выписке _____

21.5 Состояние ребенка при выписке _____

22. На момент анкетирования установлен диагноз «Тромбофилия» да, нет (нужное подчеркнуть) _____

23. Данные лабораторных исследований.

Показатель	До родов	1 день	5 день
PLT			
MPV			
PCT			
PDW			
Агрегация с АДФ			
Агрегация с коллагеном			
АЧТВ			
ПТИ			
ХП-зависимый фибринолиз			
РФМК			
Фибриноген			
D - димер			

24. Результаты генетического тестирования (если проводилось) _____



А К Т

внедрения в диагностический процесс акушерского отделения патологии беременности и отделения новорожденных Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ставропольского края «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Ставрополя результатов диссертационного исследования Муратовой Анны Юрьевны

Наименование предложения для внедрения: Алгоритм и методы исследования состояния системы гемостаза у беременных и новорожденных для выявления риска развития гемостазиологических расстройств.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Где и когда внедрено: Акушерским отделением патологии беременности и отделением новорожденных ГБУЗ СК «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Ставрополя в 2017 г.

Эффективность внедрения: Предложенный автором алгоритм и методы исследования показателей гемостаза у беременных и их новорожденных детей позволяет своевременно выявлять и предупреждать развитие патологических изменений в системе коагуляции, что позволит снизить риск развития тромботических осложнений.

«__» _____ 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заместитель главного врача
 по акушерству и гинекологии
 ГБУЗ СК «ГКБ СМП»
 г. Ставрополя

Н.В. Орлова

«УТВЕРЖДАЮ»
Главный врач ГБУЗ СК
«Городская клиническая
больница №3» г. Ставрополя
К.А. Муравьев
«__» _____ 2017 г.

А К Т
внедрения в работу клинико-диагностической лаборатории
Государственного бюджетного учреждения здравоохранения
Ставропольского края «Городская клиническая больница №3»
г. Ставрополя результатов диссертационного исследования
Муратовой Анны Юрьевны

Наименование предложения для внедрения: Алгоритм и методы исследования прооксидантно-антиоксидантной системы крови и цитокинового статуса для выявления риска развития метаболических и иммунных расстройств у пациентов.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Где и когда внедрено: Клинико-диагностической лабораторией ГБУЗ СК «Городская клиническая больница №3» г. Ставрополя в 2017 г.

Эффективность внедрения: Предложенные автором алгоритм и методы оценки прооксидантно-антиоксидантной системы и цитокинового статуса позволят своевременно проводить коррекцию метаболических расстройств.

«__» _____ 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заведующая отделением клиникой
лабораторной диагностики
ГБУЗ СК «Городская клиническая
больница №3» г. Ставрополя



О.С. Косторнова



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной
деятельности

ФГБОУ ВО СтГМУ

Минздрава России

проф. д.м.н. А.Б. Ходжаян

2017 г.

А К Т

**внедрения в учебный процесс кафедры патологической физиологии
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Ставропольский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
результатов диссертационного исследования
Муратовой Анны Юрьевны**

Наименование предложения для внедрения: механизм влияния полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa на формирование гемостазиологических нарушений во время беременности.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Где и когда внедрено: Кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» МЗ РФ в 2017 г.

Эффективность внедрения: изучение патофизиологических основ механизма влияния полиморфизма A2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина IIb/IIIa на формирование гемостазиологических расстройств во время беременности расширяет знания о роли и взаимодействии различных генов, вовлеченных в регуляцию функциональной активности гемостаза при тромботических осложнениях у пациентов.

«__» _____ 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заведующий кафедрой
патологической физиологии
ФГБОУ ВО СтГМУ
Минздрава России
д.м.н. профессор

Е.В. Щетинин

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной
деятельности

ФГБОУ ВО СтГМУ

Минздрава России

проф. д.м.н. А.Б. Ходжаян



2017 г.

А К Т

**внедрения в учебный процесс кафедры клинической биохимии
федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Ставропольский государственный
медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской
Федерации результатов диссертационного исследования
Муратовой Анны Юрьевны**

Наименование предложения для внедрения: алгоритм комплексной оценки метаболических и гемостазиологических расстройств у беременных пациенток с тромбофилией.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно-исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Где и когда внедрено: Кафедрой клинической биохимии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» МЗ РФ в 2017 г.

Эффективность внедрения: применение комплексной оценки изменений прооксидантно-антиоксидантной, иммунной систем и системы гемостаза у женщин с тромбофилией расширяет возможности для исследовательской работы студентов и клинических ординаторов.

«__» _____ 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заведующий кафедрой
клинической биохимии
ФГБОУ ВО СтГМУ
Минздрава России
д.м.н. профессор

Т.П. Бондарь

«УТВЕРЖДАЮ»



Главный врач ГБУЗ СК
«ГКБ СМП» г. Ставрополя
А.А. Пучков

2017 г.

А К Т

**внедрения в работу клинико-диагностической лаборатории
Государственного бюджетного учреждения здравоохранения
Ставропольского края «Городская клиническая больница скорой
медицинской помощи» г. Ставрополя результатов диссертационного
исследования Муратовой Анны Юрьевны**

Наименование предложения для внедрения: Алгоритм и методы исследования состояния системы гемостаза у беременных и новорожденных для выявления риска развития гемостазиологических расстройств.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Где и когда внедрено: Клинико-диагностической лабораторией ГБУЗ СК «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Ставрополя в 2017 г.

Эффективность внедрения: Предложенный автором алгоритм и методы исследования показателей гемостаза у беременных и их новорожденных детей позволяет своевременно выявлять и предупреждать развитие патологических изменений в системе коагуляции, что позволит снизить риск развития тромботических осложнений.

«___» _____ 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заместитель главного врача
по терапии ГБУЗ СК
«ГКБ СМП» г. Ставрополя

А.М. Бардина



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России)
350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4 тел.(861)268-36-84 факс(861)268-32-84 e-mail: corpus@ksma.ru
ИНН 2309023448 КПП 230901001 БИК 040349001

№ _____ от " _____ " _____ 201 г.

на № _____ от " _____ " _____ 201 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научно-исследовательской работе
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
профессор д.м.н. А.Н. Редько

« 05 » 10 2017 г.

А К Т

внедрения в Центральную научно-исследовательскую лабораторию
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Кубанский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
результатов диссертационного исследования
Муратовой Анны Юрьевны

Наименование предложения для внедрения: механизм влияния
полиморфизма гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина Пб/Ша на
формирование гемостазиологических нарушений во время беременности.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно исследовательской
работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у
беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных»,
выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-
Кавказский федеральный университет».

Где и когда внедрено: Центральной научно-исследовательской лабораторией
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в 2017 г.

Эффективность внедрения: на основе установленного механизма влияния
полиморфизма А2 гена субъединиц рецепторов тромбоцитов гликопротеина Пб/Ша
на формирование гемостазиологических нарушений во время беременности
наиболее эффективным направлением в ближайшей перспективе является изучение
роли и взаимодействия различных генов, вовлеченных в регуляцию
функциональной активности гемостаза, при тромботических осложнениях
беременности и родов.

« ____ » _____ 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
д.б.н. профессор

Н.В. Колесникова



А К Т

внедрения в диагностический процесс муниципального бюджетного учреждения здравоохранения Родильный дом результатов диссертационного исследования Муратовой Анны Юрьевны

Наименование предложения для внедрения: Алгоритм диагностики гемостазиологических расстройств в детском возрасте.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Где и когда внедрено: В диагностический процесс МБУЗ Роддом в 2017г.

Эффективность внедрения: Предложенный автором алгоритм исследования показателей гемостаза у детей позволяет своевременно выявлять и предупреждать развитие патологических изменений, что позволит снизить риск развития тромботических осложнений в период новорожденности и в более старшем возрасте.

«22» 09 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заведующая родильным отделением №1

Т.К. Белан

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
проф. д.м.н. Т.В. Тайворонская

« 25 » 09 2017 г.

внедрения в учебный процесс кафедры фундаментальной и клинической биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
результатов диссертационного исследования
Муратовой Анны Юрьевны

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Эффективность внедрения: применение комплексной оценки изменений прооксидантно-антиоксидантной и иммунной систем у женщин с тромботическими осложнениями беременности и родов расширяет представления о влиянии метаболических расстройств на состояние системы гемостаза.

« 21 » 09 2017г.

Заведующий кафедрой
фундаментальной и клинической
биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
д.м.н. профессор

И.М. БЫКОВ

«УТВЕРЖДАЮ»
 Главный врач
 ГБУЗ "Краевая клиническая
 больница № 2" министерства здравоохранения
 Краснодарского края
 Г.А. Пенжоян

«19» 10 2017 г.

А К Т

внедрения в диагностический процесс государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2» министерства здравоохранения Краснодарского края результатов диссертационного исследования Муратовой Анны Юрьевны

Наименование предложения для внедрения: Алгоритм диагностики гемостазиологических расстройств в детском возрасте.

Кем и когда предложено: Муратовой А.Ю. в научно - исследовательской работе «Биохимические и генетические основы патогенеза тромбофилии у беременных женщин и влияние на систему гемостаза новорожденных», выполненной на базе кафедры биомедицины и физиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Где и когда внедрено: В диагностический процесс ГБУЗ "Краевая клиническая больница № 2" министерства здравоохранения Краснодарского края в 2017 г.

Эффективность внедрения: Предложенный автором алгоритм исследования показателей гемостаза у детей позволяет своевременно выявлять и предупреждать развитие патологических изменений, что позволит снизить риск развития тромботических осложнений в период новорожденности и в более старшем возрасте.

«19» 10 2017г.

Ответственный за внедрение:

Заведующая отделением патологии беременных №2,
 к.м.н.



Е.С. Лебеденко