

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства
и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации

на правах рукописи

Нестерова Эльвира Агзамовна

**«ОЦЕНКА РОЛИ РОДИТЕЛЬСКО-ПЛОДОВОЙ ТРОМБОФИЛИИ В
ФОРМИРОВАНИИ СУБ- И ДЕКОМПЕНСИРОВАННОЙ
ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ»**

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация
На соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Путилова Наталья Викторовна
Научный консультант:
кандидат медицинских наук
Третьякова Татьяна Борисовна

Екатеринбург
2017

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Глава 1. Плацентарная недостаточность: современный взгляд на проблему (Обзор литературных данных)	11
1.1 Плацентарная недостаточность	
1.2 Изменения в системе гемостаза во время беременности	15
1.3 Общая характеристика наследственных и приобретенных форм тромбофилии	
1.3.1 Современный взгляд на вопросы понятия и классификации тромбофилии	
1.3.2 Наследственные формы тромбофилии	
1.3.3 Иммунная тромбофилия.....	
1.4 Роль родительско-плодовой тромбофилии в развитии плацентарной недостаточности	
Глава 2. Материал и методы исследования	32
2.1. Дизайн исследования	
2.2 Клиническая характеристика анализируемых групп больных	
2.3 Методы исследования.....	39
2.3.1 Молекулярно-генетические методы исследования	40
2.3.2 Исследование системы гемостаза.....	41
2.3.4 Методы оценки состояния фетоплацентарного комплекса.....	42
2.3.5 Оценка состояния новорожденного.....	43
2.3.6 Морфологическое исследование плацент.....	43
2.3.7 Методы статистической обработки данных.....	44
Глава 3. Этиопатогенетические механизмы формирования суб- и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности	
3.1. Анализ течения настоящей беременности у пациенток основной группы....	17

3.2. Сравнительная характеристика системы гемостаза у пациенток исследуемых групп.....	
3.3. Особенности молекулярно-генетических механизмов регуляции системы гемостаза супружеских пар исследуемых групп.....	20
3.4. Результаты морфометрии плацент от пациенток с ПН.....	
3.5. Правило прогноза риска формирования суб – и декомпенсированной плацентарной недостаточности в семьях с тромбофилией обоих родителей.....	35

Глава 4. Клинико-лабораторная характеристика перинатальных исходов и течения раннего неонатального периода у пациенток исследуемых групп....

4.1 Анализ способов и сроков родоразрешения, перинатальных исходов у пациенток исследуемых групп.....	28
4.2 Особенности системы гемокоагуляции у новорожденных исследуемых групп...	
4.3 Особенности молекулярно-генетических механизмов регуляции системы гемостаза у новорожденных исследуемых групп... ..	30
4.4 Оценка раннего неонатального периода у детей.....	35

Заключение.....	77
------------------------	-----------

Выводы	85
---------------------	-----------

Практические рекомендации	87
----------------------------------------	-----------

Список сокращений.....	88
-------------------------------	-----------

Список литературы.....	89
-------------------------------	-----------

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Проблема плацентарной недостаточности как одна из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности при сложившейся демографической ситуации в Российской Федерации является актуальной не только с медицинской, но и с социальной точки зрения, каждый родившийся ребенок представляет ценность не только для семьи, но и для государства в целом.

Плацентарная недостаточность (ПН)- поликаузальный синдром, возникший как результат сочетанной реакции плода и плаценты на различные изменения в материнском организме [2,3], характеризующийся нарушением молекулярных, клеточных, тканевых и органных адаптационно-гомеостатических реакций фетоплацентарной системы и реализующийся в компенсированной, субкомпенсированной и декомпенсированной форма [29, 66, 62].

Несмотря на интенсивное использование новейших методов диагностики и лечения ПН остается одной из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности [6,7,71,19]

По данным различных авторов, распространенность ПН составляет от 7,6% до 38,4%, значительно возрастая до 46-54% при сопутствующей экстрагенитальной патологии и других осложнениях гестации [72,130], ПН приводит к формированию синдрома задержки роста плода(СЗРП), частота которого варьирует от 3 до 24% при доношенной беременности и от 18 до 24% при недоношенной [60,64], который занимает третье место в структуре причин перинатальной заболеваемости и смертности [24,60]. Перинатальная смертность при ПН достигает 60 % [36,30]. Эти данные демонстрируют актуальность проблемы ПН в современном акушерстве и обуславливают необходимость дальнейшего изучения данной проблемы с целью разработки и совершенствования методов ранней диагностики и выработки оптимальной тактики ведения пациенток.

Благоприятное течение беременности зависит от адекватного плацентарного кровообращения [Сухих, 2010]. Одной из наиболее важных причин, приводящих к нарушению маточно-плацентарного кровообращения, является тромбоз *in situ* сосудов плаценты, развивающийся вследствие наследственных или приобретенных форм тромбофилии [156, Higgins 2010]. Наличие тромбофилии увеличивает физиологически индуцированное состояние гиперкоагуляции и, следовательно, повышает риск тромбоза. Было показано, что при беременности, осложненной тромбофилией, значительно увеличивается риск развития таких серьезных осложнений гестации, как тяжелой преэклампсии, задержки роста плода, отслойки плаценты, мертворождения и привычного невынашивания беременности [7,53,125,87,136]. Тем не менее, инициальные механизмы, обеспечивающие неблагоприятный исход беременности при наличии тромбофилии, остаются до конца неизученными. Несмотря на то, что большинством авторов поддерживается протромботическая теория, тромбоз сосудов плаценты не всегда является основной причиной развития акушерских осложнений. В настоящее время имеются данные о том, что гестационные осложнения могут быть связаны с неблагоприятным влиянием тромбофилии на процессы инвазии и дифференцировки трофобласта, что в дальнейшем приводит к ПН [20,21,84,150].

В литературе появляются данные о роли плодовой тромбофилии в формировании ПН [150,81,33], однако данный феномен остается малоизученными и требуют дальнейшего изучения. Важнейшей клинической особенностью состояния гемостаза плодов, новорожденных и детей первых месяцев жизни, является тенденция к более легкому возникновению разнонаправленных нарушений по сравнению с детьми старшего возраста и взрослыми. Чем младше ребенок, чем более незрелым он родился, тем выше риск развития у него тромботических и геморрагических осложнений [54]. Тромбо-геморрагические расстройства остаются частым осложнением тяжелых форм неонатальной

патологии, одной из ведущих непосредственных причин смерти в неонатальном периоде [8,34,76].

Аномалии коагуляции могут передаваться по наследству плоду, как от матери, так и отца, что и обуславливает тромбообразование в плодовой части плаценты. Для уточнения роли фетальной тромбофилии необходимы дальнейшие исследования, включающие не только определение генотипа матери и ребенка, но и отца. Возможно, наличие отцовской тромбофилии, может повышать риск развития акушерских осложнений и определять показания к их профилактике уже на этапе прегравидарной подготовки [63].

Цель исследования

Прогнозирование риска формирования суб- и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности, ассоциированных с родительско-плодовой тромбофилией.

Задачи исследования

1. Изучить акушерский, соматический анамнез, течение беременности у пациенток с неблагоприятными перинатальными исходами, ассоциированными с суб- и декомпенсированными формами плацентарной недостаточности.
2. Охарактеризовать состояние системы гемокоагуляции у пациенток с суб- и декомпенсированными формами плацентарной недостаточности и определить клинически значимые полиморфизмы генов тромбофилии и ключевого фермента обмена гомоцистеина обоих родителей, являющиеся предикторами васкулярной патологии плаценты.
3. Оценить состояние детей при рождении, их систему гемокоагуляции в раннем неонатальном периоде, ассоциированную с генетическими полиморфизмами, наследуемыми от родителей.
4. Разработать правило прогноза риска формирования суб - и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности в семьях с

тромбофилией обоих родителей и, на его основе, оптимизировать алгоритм обследования супружеских пар.

Методология и методы исследования

В работе использована общенаучная методология, основанная на системном подходе с применением формально логических, общенаучных и специфичных методов и основах доказательной медицины. Для решения поставленных задач выполнено продольное когортное проспективное контролируемое исследование с участием 90 пациенток в III триместре беременности, 90 супругов, 90 новорожденных г. Екатеринбурга и Свердловской области.

В работе использованы клиничко-лабораторные, инструментальные, статистические методы исследования. Выбор использованных в работе методов исследования определялся в соответствии с отраслевыми стандартами обследования в акушерстве, рекомендациями по лабораторной диагностике и статистическими исследованиями.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора

Обоснованность выводов и достоверность диссертационного исследования подтверждена достаточным объемом выборок клинических исследований, корректным анализом и интерпретацией полученных результатов, статистической обработкой данных, соблюдением принципов доказательной медицины. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на заседаниях проблемной комиссии и Ученого совета ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России.

Материалы диссертационной работы доложены на III конгрессе акушеров-гинекологов Уральского федерального округа, научно-практической конференции с международным участием «Нерешенные вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии» (Екатеринбург, 2014), VIII конференции с международным участием «Перинатальная медицина: новые технологии и междисциплинарные подходы» (Екатеринбург, 2016), III Всемирном конгрессе «Controversies in

Thrombosis and Hemostasis» совместно с VIII Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии (Москва, 2016).

Автором, совместно с научным руководителем, д.м.н. Путиловой Н.В. и научным консультантом, к.м.н. Третьяковой Т.Б., определены цель и задачи, разработана методология и дизайн научного исследования, сформулированы выводы и практические рекомендации. Автором лично выполнен план обследования, оптимизация алгоритма ведения пациентов по результатам исследования, формирование базы данных пациентов, анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, сбор анамнеза, клиническое обследование пациентов. Обработка материала и статистический анализ проводился совместно с математиком. Написание текста диссертации и публикаций выполнены в соавторстве с научным руководителем.

Положения, выносимые на защиту

1. Наличие отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза является одним из ведущих, но не обязательным фактором риска в развитие суб- и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности.
2. Васкулярная патология плаценты с исходом в суб- и декомпенсированные формы ПН обусловлена не только генетически детерминированной патологией системы гемостаза матери, но и клинически значимой тромбофилией плода, наследуемой от обоих родителей.
3. Разработанный в результате исследования способ прогнозирования риска формирования суб – и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности в семьях с тромбофилией обоих родителей, позволяет сформулировать алгоритм ведения беременности у данных супружеских пар, направленный на улучшение перинатальных исходов.

Научная новизна

Проведено исследование полиморфизмов генов тромбофилии и ключевого фермента обмена гомоцистеина у супружеских пар в комплексе с анализом системы гемостаза у женщин с сформировавшейся суб- или декомпенсированной плацентарной недостаточностью.

Проанализированы особенности течения беременности и перинатальных исходов в семьях с тромбофилией обоих родителей. Показана взаимосвязь роли генетической тромбофилии мужчин с формированием плацентарной недостаточности у женщин.

Впервые в акушерской практике проведено комплексное исследование состояния системы гемостаза с изучением полиморфизма генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у новорожденных от женщин с осложненным течением беременности в виде суб- или декомпенсированных форм плацентарной недостаточности.

Получены диагностически значимые отличия показателей гемокоагуляции у женщин и новорожденных при клиническом проявлении генетически детерминированной патологии гемостаза.

Разработано правило прогноза риска формирования суб- или декомпенсированных форм плацентарной недостаточности в семьях с тромбофилией обоих родителей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявлены параметры системы гемостаза у беременных и их новорожденных, изменение которых является прогностически неблагоприятным в формировании суб- и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности.

Выявлены полиморфизмы генов тромбофилии у супружеских пар, ассоциированные с риском развития патологии системы гемостаза у беременных с плацентарной недостаточностью и их новорожденных.

В результате проведенных исследований предложен алгоритм ведения беременности у супружеских пар, направленный на улучшение их перинатальных исходов.

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные результаты исследования внедрены в работу ФГБУ «НИИ ОММ» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Екатеринбург),

По результатам исследования получена приоритетная справка по заявке на изобретение:

1. «Способ прогнозирования риска формирования суб- и декомпенсированной плацентарной недостаточности в семьях с тромбофилией обоих родителей», рег. № 2017104043 от 07.02.2017.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, общим объемом 1,27 печатных листов, в том числе 4 статьи опубликованы в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для опубликования основных научных результатов диссертаций, 2 работы опубликованы в материалах конференций и форумов.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на ... страницах печатного текста, иллюстрирована .. рисунками и ... таблицами. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего... источников, из которых ... отечественных и ... зарубежных.

ГЛАВА 1. ПЛАЦЕНТАРНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ)

1.1 Плацентарная недостаточность

В настоящее время общепризнанно, что большая часть перинатальной патологии возникает в антенатальный период, а в её происхождении ведущую роль играют структурно-функциональные нарушения, возникающие в системе мать – плацента – плод [25,72,123]. Плацента является важнейшим провизорным органом, выполняющим во время беременности большое количество разнообразных функций, и её нормальное функционирование во многом определяет развитие плода [29,86,50,55].

Плацентарная недостаточность является наиболее частой причиной нарушений состояния плода во время беременности, таких как СЗРП и внутриутробная гипоксия плода, обуславливая высокую заболеваемость новорожденных. По данным литературных источников, число детей с задержкой внутриутробного роста составляет от 3 до 35% всех родов. На сегодняшний день более 40% детей рождаются больными или заболевают в периоде новорожденности, в среднем каждый десятый младенец рождается преждевременно и/или с задержкой внутриутробного роста [1,4,72].

В зависимости от сроков возникновения, выделяют первичную и вторичную ПН. Первичная ПН развивается до 16 недели беременности, вторичная - развивается в более поздние сроки беременности после завершения процессов формирования плаценты и обусловлена экзогенными влияниями, чаще всего перенесенными во время беременности заболеваниями [123].

Характер течения как первичной, так и вторичной ПН может быть острым и хроническим. Острая ПН развивается вследствие нарушения децидуальной перфузии, чаще всего при обширных инфарктах в плаценте и преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты. Отслойка плаценты начинается с геморрагического пропитывания decidua basalis, нарушается целостность всех слоев децидуальной оболочки и отслойка ее от мышечного слоя матки. Образуется ретроплацентарная гематома, которая отслаивает и разрушает плаценту, прилежащую к этому участку [14]. Хроническая ПН характеризуется постепенным ухудшением децидуальной перфузии в результате снижения компенсаторных реакций плаценты в ответ на действие патологических состояний организма матери [26,137].

По состоянию компенсаторно –приспособительных реакции, в настоящее время выделяют компенсированную, субкомпенсированную и декомпенсированную ПН. Данная классификация основана на степени выраженности гемодинамических нарушений в системе мать –плацента- плод, отставании роста плода, наличии и выраженности признаков хронической внутриутробной гипоксии плода [63,41,13].

Компенсированная форма ПН, при которой имеют место начальные проявления патологического процесса в фетоплацентарном комплексе. Защитно-приспособительные механизмы активизируются и испытывают определенное напряжение, что создает условия для дальнейшего развития плода и прогрессирования беременности. Выявляются:

- преждевременное созревание плаценты,
- умеренное маловодие,
- нормального типа кардиограмма (с оценкой сердечной деятельности плода 8-10 баллов).

Субкомпенсированная форма ПН характеризуется усугублением тяжести осложнения. Защитно-приспособительные механизмы испытывают предельное

напряжение, что не позволяет обеспечить их реализацию в достаточной степени для адекватного течения беременности и развития плода. Имеется:

- СЗРП I - II степени;
- гемодинамические нарушения в системе мать – плацента - плод с поражением маточно – плацентарного и/или плодово-плацентарного звеньев,
- признаки хронической внутриутробной гипоксии плода по данным КТГ (5-7 баллов),

Декомпенсированная форма ПН - имеет место перенапряжение и срыв компенсаторно-приспособительных механизмов, которые уже не обеспечивают необходимых условий для дальнейшего нормального прогрессирования беременности. В фетоплацентарной системе происходят необратимые морфофункциональные нарушения. Характеризуется:

- СЗРП III степени,
- гемодинамические нарушения III степени: критическое состояние плодово-плацентарного кровообращения (отсутствие или отрицательные значения диастолического компонента в спектре в артерии пуповины) в сочетании с двусторонними нарушениями кровотока в маточных артериях и централизацией плодового кровотока
- тяжелая гипоксия плода по данным КТГ (ниже 5 баллов).

Развитие ПН обусловлено несколькими патогенетическими факторами: нарушением инвазии цитотрофобласта, поражением плацентарного барьера и нарушением его проницаемости, редукцией маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока, незрелостью ворсинчатого дерева [64,28].

Нарушение плацентарного кровотока развивается, когда процесс инвазии охватывает спиральные артерии неравномерно. Вследствие этого, плацентарные сосуды сохраняют эндотелий и мышечный слой. Просвет спиральных артерий сужается, появляется чувствительность к действию вазоактивных факторов, что формирует высокорезистентный кровоток. Диаметр спиральных артерий

составляет только 30–40% величины, необходимой для физиологического течения беременности [130]. Интенсивность маточно-плацентарного кровотока является основным фактором, определяющим поступление крови к плоду. При нарушении снабжения плаценты кровью компенсаторно увеличивается площадь капиллярной сети плодовой части плаценты. Для стимуляции ангиогенеза выделяется VEGF, который подавляет выработку фактора роста плаценты, тем самым замедляя ее развитие [140].

Нарушение поступления кислорода в межворсинчатое пространство приводит к повреждению эндотелия ворсинчатого трофобласта, где происходят процессы свободнорадикального окисления. В условиях недостаточного поступления кислорода происходит истощение энергетических ресурсов клеток. Для активации эндогенных источников энергии необходимо поступление ионов кальция, которые провоцируют высвобождение эндотелина и вазоспазм [35].

Таким образом, недостаточное кровоснабжение трофобласта является основным фактором, приводящим к нарушению регуляции кровотока в плаценте. Ведущая роль в патогенезе ишемических повреждений плаценты и органов плода принадлежит перепадам давления в плацентарных сосудах.

1.2 Изменения в системе гемостаза во время беременности

Нормально протекающая беременность сопровождается изменениями в системе гемостаза, такими как увеличение концентрации большинства факторов свертывания, снижение концентрации и активности основных естественных антикоагулянтов и уменьшение фибринолитической активности плазмы крови. Эти изменения способствуют поддержанию функций плаценты во время беременности и родов, но также могут предрасполагать к развитию тромботических осложнений и плацентарной недостаточности [163,165].

В течение беременности происходят увеличение концентраций факторов V, VII, VIII, IX, X, XII и фактора фон Виллебранда (vWF). Прогрессивно увеличивается содержание фибриногена, напротив концентрация факторов XI,

XIII (фибринстабилизирующего фактора) имеет тенденцию к снижению [27,49,39].

Физиологическая система антикоагулянтов играет важнейшую роль во время беременности. Основными физиологическими антикоагулянтами, являются: антитромбин III (АТ III), тромбомодулин (ТМ), протеин С и протеин S.

Антитромбин – это гликопротеин, который является наиболее важным физиологическим ингибитором тромбина и активированных факторов свертывания крови системы внутреннего пути гемостаза. Он связывается с 2-мя важнейшими функциональными областями, а именно с гепарин-связывающим доменом и тромбин-связывающим доменом и оказывает тормозящее действие на тромбин, факторы свертывания крови IX, X, XI, XII и TF [155,152]. Во время беременности относительный риск развития венозной тромбоэмболии, связанный с недостаточностью АТ увеличивается в 4,1 раз [129,122,82].

Тромбомодулин (ТМ) и эндотелиальный рецептор протеина С являются гликопротеиновыми рецепторами, которые в основном экспрессируются на эндотелиальной поверхности кровеносных сосудов и клетках трофобласта. Эти рецепторы играют ключевую физиологическую роль в активации протеина С. Растворимая форма ТМ, которая выявляется в плазме крови и моче, может быть также использована в качестве маркера эндотелиальной дисфункции [88]. Активация нейтрофилов, как известно, является триггерным фактором, запускающим протеолиз эндотелиального ТМ, что приводит к увеличению концентрации растворимого ТМ в конце беременности. Несмотря на то, что уровни ТМ после 12 недели беременности варьируют в широких диапазонах у каждой женщины, показано, что внезапное увеличение его концентрации может свидетельствовать о наличии сосудистых осложнений в плаценте [85,89].

Протеин С активируется комплексом тромбин-тромбомодулин-эндотелиальный рецептор протеина С, превращаясь в активную форму протеина С. Ингибиторная активность протеина С при разрушении активированных факторов свертывания существенно повышается под действием протеина S.

АТ III, протеин С и протеин S, образуют комплекс, препятствующий избыточному тромбообразованию. Типично этот комплекс связывается с факторами V и VIII, инактивируя их и ограничивая прогрессию образования сгустка. Потеря взаимодействия между этим антитромботическим комплексом (АТIII-протеинS-протеинС) и факторами каскада свертывания, ведет к нерегулируемой прогрессии каскада свертывания и избыточному тромбообразованию [154,131,11].

Образование фибрина и его стабилизация представляют собой финальный этап формирования тромба [110]. Тромбин способствует расщеплению фибриногена в мономеры фибрина, которые связываются друг с другом, при поддержке фактора XIII, и способствуют образованию стабильного фибринового сгустка [101]. Кроме того, фибриноген облегчает агрегацию тромбоцитов путем связывания с рецептором гликопротеина IIb/IIIa на поверхности тромбоцитов и увеличивает реактивность тромбоцитов, их дегрануляцию в ответ на воздействие АДФ [95,9,49].

Фибринолитическая активность плазмы крови снижается во время беременности, оставаясь низкой во время родов, вскоре после родов возвращается к нормальным значениям [79]. Активность тканевого активатора плазминогена (ТАП) снижается во время беременности, что связано не только с постепенным увеличением концентрации ингибитора активатора плазминогена-1 (РАI-1), но и с увеличением уровня ингибитора активатора плазминогена-2 (РАI-2), который первоначально был обнаружен в плаценте человека. Выявлено, что в III триместре беременности значения РАI-1 в 5 раз выше, чем в I триместре и нормализуются в послеродовом периоде [93,91].

Основная роль РАI-1 заключается в быстром ингибировании тканевого и урокиназного активаторов плазминогена [138,171,126128].

Активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (ТАFI) является гликопротеином, который преобразуется посредством комплекса тромбин/тромбомодулин в его активную форму (ТАFIa), который отщепляет

терминальные лизиновые остатки от фрагментов фибрина и тем самым снижает активность фибринолиза, а увеличение концентрации ТАГІ является фактором риска развития тромбозов [114,160]. Тем не менее, согласно имеющимся литературным данным, уровни ТАГІ во время беременности остаются стабильными [78].

Изменения в системе гемостаза, которые происходят в маточно-плацентарном кровотоке во время беременности, запускают физиологические адаптивные процессы в маточных спиральных артериях, которые способствуют приспособлению к растущей потребности в притоке крови к межворсинчатому пространству. Развитие трофобласта приводит к ремоделированию спиральных артерий, которое продолжается до 22-ой недели беременности [102]. Наибольшие изменения спиральных артерий наблюдаются в пределах центральной части плаценты, вследствие инвазии вневорсинчатого трофобласта через децидуальную оболочку вплоть до передней трети миометрия. В этих сосудах происходит потеря мышечного слоя, а эндотелий полностью заменяется на цитотрофобласт. Потеря эндотелия сосудов сопровождается изменением их функций. Прежде всего, теряется способность сосудов реагировать на воздействие вазоконстрикторов; диаметр сосудов увеличивается примерно в 10 раз, что обеспечивает усиление межворсинчатого кровотока в 3 – 4 раза [113]. Эти механизмы обеспечивают растущего плода необходимыми питательными веществами, дыхательными газами, а также способствуют удалению продуктов метаболизма [64,137].

Депозиты фибрина обнаруживаются в венах децидуальной оболочки, где происходит инвазия трофобласта. По сравнению с эндотелием сосудов, спиральные артерии обладают сниженной способностью к лизису фибрина, и недавние исследования показали, что это обусловлено высокими уровнями ингибитора активатора плазминогена [153,146]. Кроме того, периваскулярные эндометриальные стромальные клетки способствуют предотвращению постимплантационного кровотечения во время эндоваскулярной инвазии трофобласта путем экспрессии тканевого фактора (ТФ), который является

первичным клеточным медиатором гемостаза [135]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что экспрессия ТФ усиливается под воздействием эстрадиола в процессе децидуализации. Следует отметить, что некоторые компоненты коагуляции, такие как ТФ и тромбомодулин, участвуют не только в гемостазе, но и в дифференциации кровеносных сосудов плаценты [109]. Присутствие больших концентраций ТФ является важным фактором для поддержания плацентарного гемостаза, однако это может предрасполагать к развитию сосудистых осложнений в плаценте, особенно при наличии тромбофилии у матери [169].

1.3 Общая характеристика наследственных и приобретенных форм тромбофилии

1.3.1 Современный взгляд на вопросы понятия и классификации тромбофилии

Впервые термин «тромбофилия» (*thrombophilia* от *thrombo-* + *philia* греч. сгусток + любовь, склонность) был введен Egenberg в 1965 году для описания тенденции к венозным тромбозам, обусловленным дефицитом АТ III. Позже этот термин широко внедрился и стал объединять множество расстройств, сопровождающихся повышенной предрасположенностью к тромбозам, включая как наследственные, так и приобретенные.

Различают две основные группы тромбофилии [43,45]:

1. связанная преимущественно с изменениями реологических свойств и клеточного состава крови;
2. обусловленная первичными нарушениями в системе гемостаза.

В первой группе выделяют формы, связанные с избытком клеток крови и ее сгущением (полицитемия, эритроцитозы, тромбоцитемии и др.), с нарушениями формы и деформабельности эритроцитов (например, множественные тромбозы и инфаркты при серповидноклеточной анемии), с повышением вязкости плазмы

(миеломная болезнь, болезнь Вальденстрема, криоглобулинемия и др.). Эта группа является предметом изучения гематологов.

Во второй группе выделяют формы:

а) связанные с повышением адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов (в том числе вследствие нарушения равновесия между стимуляторами и ингибиторами агрегации в плазме крови);

б) связанные с гиперпродукцией и гиперактивностью фактора Виллебранда;

в) связанные с дефицитом или аномалиями основных физиологических антикоагулянтов (антитромбина III, белков C и S), факторов свертывания крови, компонентов фибринолитической и калликреинкининовой системы (нарушение образования протромбиназы, дефицит фактора XII, плазменного прекалликреина, высокомолекулярного кининогена, активатора пламиногена, ряд молекулярных аномалий фибриногена и др.);

г) связанные с образованием патологических антител, взаимодействующих с плазматической мембраной циркулирующих клеток крови и эндотелиоцитов и перестраивающих систему гемостаза в прокоагулянтную сторону.

По этиологии [167]:

1. Врожденная (генетическая, первичная). Мутация фактора 5 Лейден, протромбина, PAI-1, FG, ITGA2, ITGB3, MTHFR.
2. Приобретенная. На фоне приема КОК, ЗГТ, на фоне коллагенозов.
3. Аутоимунная (АФС, онкология).

Клиническая классификация пациентов с тромбофилией:

1. Биологическая тромбофилия. Асимптомные пациенты, носители биологической аномалии.
2. Клиническая тромбофилия. Личные прецеденты тромбозов, ассоциирующиеся с биологической аномалией.
 - Клиническая тромботическая тромбофилия. Личные или семейные прецеденты тромбозов различной локализации, ассоциирующиеся с биологической аномалией.

- Клиническая акушерская тромбофилия. Личные прецеденты васкулярной патологии плаценты, ассоциирующиеся с биологической аномалией.

Таким образом, тромбофилия не является болезнью в общепринятом значении этого понятия, носительство маркеров тромбофилии не всегда приводит к клиническим проявлениям.

1.3.2 Наследственные формы тромбофилии

Учение о генетически обусловленных дефектах гемостаза получило большое развитие с начала 1990-х гг. в связи активным внедрением в клиническую практику достижений молекулярной гемостазиологии, стала исследоваться роль генетической тромбофилии в этиопатогенезе не только тромботических, но и типично акушерских осложнений — преэклампсии, невынашивания беременности, синдрома задержки роста плода (СЗРП), антенатальной гибели плода (АГП), ПОНРП, определяющих перинатальную заболеваемость и смертность [122,7].

Наследственные тромбофилии являются причиной более чем 50% случаев венозных тромбозомболических осложнений во время беременности. К настоящему времени описан целый ряд генетически обусловленных дефектов гемостаза, которые приводят к увеличению риска тромбоза. Наиболее значимыми из них являются мутация фактора V Лейден и гена протромбина. Мутация фактора V является одной из самых значимых наследственных форм тромбофилии у жителей европейских стран и обусловлена заменой гуанина на аденин в позиции 1691 в 10 экзоне гена фактора V, что приводит к замене аргинина на глутамин в 506 позиции белка [164]. При такой замене фактор V не расщепляется естественным антикоагулянтом протеином C в положении 506, как

это происходит в норме, а становится устойчивым к его действию. Возникает резистентность V фактора к протеину C. В результате этой резистентности в крови повышается концентрация V фактора свертывающей системы, что приводит к тромбозам [32,83,158,119,100,112].

Мутация фактора V Лейден наблюдается у 3-5% белого населения, но отмечаются значительные региональные различия. Так, в Италии мутация встречается редко, а в Греции частота носительства достигает 15%. Мутация практически не встречается у жителей Африки, Индии, Китая и Японии [111].

Наиболее характерными клиническими проявлениями резистентности фактора V к активированному протеину C являются рецидивирующие тромбозы. Гетерозиготное носительство ассоциировано с 2-7-кратным увеличением риска тромбозов, гомозиготное носительство приводит к 40-80-кратному увеличению риска [166]. Носители фактора V Лейден составляют не менее 18-30% среди больных с первым эпизодом глубокого венозного тромбоза, 50% среди больных с семейной тромбофилией и 70% среди пациентов с рецидивирующими тромбозами [103]. У трети пациентов тромбозы развиваются спонтанно, без видимых провоцирующих факторов. Рецидивы тромбоза наблюдаются у 70% больных [105]. Риск тромбозов у носителей лейденовской мутации значительно возрастает при наличии у них дополнительных факторов риска тромбообразования, таких как беременность, прием оральных контрацептивов, травма, хирургические вмешательства. Мутации фактора V Лейден ассоциированы с развитием гестационных осложнений, таких как прерывание беременности, формирование плацентарной недостаточности, отслойка плаценты [161,44,51].

Мутация гена протромбина является второй по значимости причиной наследственной тромбофилии. Эта мутация происходит в результате замены остатка гуанина в положении 20210 на остаток аденина, локализованного в его 3'-концевой некодирующей части. Она наследуется по аутосомно-доминантному типу. Заболевание характеризуется повышением уровня протромбина в плазме

крови до 30 % у гетерозиготных носителей, и до 70% - у гомозиготных [132,15,162].

По литературным данным, распространенность данной мутации в Европе составляет от 2 % до 6% [20].

Гетерозиготное носительство мутации увеличивает риск тромбообразования примерно в 3 раза. Рецидивирующий тромбоз выявляется у половины носителей мутации протромбина. Риск тромбозов у носителей мутации протромбина значительно повышается при наличии сопутствующих факторов риска, а также при сочетании носительства с мутацией фактора V Лейден.

Значительное увеличение риска наблюдается во время беременности и в послеродовом периоде. Было установлено, что мутация гена протромбина обнаруживается у 17% беременных женщин с венозными тромбозами. Женщины с венозными тромбозами в анамнезе имеют повышенный риск рецидива во время беременности, который по данным исследований составляет около 15% [151].

Повышение уровня ингибитора активатора плазминогена (РАI) играет важную роль в регуляции фибринолиза.

В настоящее время специфические аллели полиморфизма гена РАI-1, связывают с повышением концентрации РАI-1 в плазме. Наиболее изученным полиморфным локусом, гена, кодирующего РАI-1, влияющий на синтез РАI-1, является промоторный полиморфизм 675 4G/5G. При гомозиготном носительстве 4G-аллеля отмечается более высокая активность РАI-1, чем у гетерозигот или гомозигот по 5G-аллелю. Носительство гомозиготной формы 4G/4G-мутации у женщин сопряжено с высоким риском развития осложнений во время беременности, в частности, плацентарной недостаточности, тяжелого гестоза, отслойки плаценты и антенатальной гибели плода [98,84,116,133].

Важным фактором в повышенном риске развития тромбоза, является гиперфибриногенемия. Одним из наиболее изученных вариантов полиморфизма гена фибриногена является G(-455)A, расположенный в области промотора

β -цепи. Полиморфизм гена фибриногена -455G/A, содержащий специфический аллель -455A характеризуется высокой частотой развития тромбозов: приводит к увеличению его концентрации в плазме крови. Полиморфизм гена фибриногена -455G/A приводит к увеличению его концентрации в плазме крови, что, как было показано, ассоциировано с высоким процентом потери плодов, с риском венозных тромбозов при беременности и в послеродовом периоде [97,43].

В последние годы, в связи с успехами в понимании роли тромбоцитарных рецепторов в процессах тромбообразования, привлекает внимание исследователей генетические формы полиморфизма тромбоцитарных гликопротеинов в качестве причины повышенной склонности к тромбозам.

Рецепторы тромбоцитов являются мембранными гликопротеинами, большинство из которых относятся к семейству интегринов, отвечающих за межклеточные взаимодействия, а также между белками и клетками. Интегрины выявляются на поверхности практически всех типов клеток и участвуют во многих физиологических процессах. Это гетеродимерные комплексы, состоящие из α - и β -субъединиц.

Гликопротеин GPIIb/IIIa входит в состав группы цитоадгезинов. Этот рецепторный комплекс является наиболее многочисленным среди всех рецепторов тромбоцита. Рецептор GPIIb/IIIa играет ключевую роль в процессах связывания с фибриногеном и vWF, адгезии тромбоцитов к субэндотелию сосудов, когезии с другими тромбоцитами и для роста тромба [97].

Мутации генов, кодирующих α - и β -цепи фибриногенового рецептора тромбоцитов, могут приводить к повышению чувствительности рецептора к специфическим лигандам, что сопровождается повышенной агрегацией тромбоцитов и, следовательно, повышением риска тромбоза. Наиболее изученной является мутация в позиции 1565 второго экзона гена, кодирующего $\beta 3$ – субъединицу рецептора GPIIb/IIIa. Замена T на C в этом участке приводит к замещению остатка лейцина в позиции 33 белка на остаток пролина, что сопровождается конформационными изменениями в сайте связывания

фибриногена [165]. Гетерозиготными носителями данной мутации являются от 15 до 30% жителей европейских стран. Гомозиготное носительство мутации обнаруживается примерно у 1% здоровых лиц и считается фактором риска развития инфаркта миокарда и ишемического инсульта, особенно у лиц моложе 50 лет [163]. Кроме того, показано, что у женщин-носителей данной мутации высок риск невынашивания и антенатальной гибели плода на поздних сроках беременности [156].

Гликопротеин Ia/IIa ($\alpha 2\beta 1$ -интегрин, VLA-2, CD49b/CD29) опосредует бивалентную катион-зависимую адгезию тромбоцитов к коллагену и участвует в активации и стабильной адгезии тромбоцитов к экспонированному субэндотелию сосудов. Наиболее значимым полиморфизмом в этом гене является C807T. Неблагоприятный аллель 807T ассоциируется с увеличением плотности коллагенового рецептора на мембране. Частота его встречаемости в некоторых странах достигает 35%. Наличие в генотипе аллеля 807T может ассоциироваться с повышением риска артериальных тромботических заболеваний в молодом возрасте и является генетическим маркером предрасположенности к ним.

Фактор VII представляет собой витамин K-зависимую сериновую протеазу, играющую важную роль в инициации свертывания крови. Циркулирующий фактор VII активируется путем гидролиза одного из пептидов и в свою очередь, активирует фактор IX или фактор X в присутствии ТФ [108]. Дефицит фактора VII является наиболее распространенным среди редких врожденных нарушений свертывания крови, передается по аутосомно-рецессивному типу наследования. Клинический фенотип заболевания варьирует от бессимптомного носительства мутации (даже у гомозигот) до тяжелого заболевания, характеризующегося угрожающими жизни симптомами (желудочно-кишечные кровотечения, внутримозговые кровоизлияния), диктующими необходимость проведения профилактического лечения с раннего возраста. Показано, что течение беременности у пациенток с наследственным дефицитом фактора VII сопряжено с

высоким риском развитием массивного кровотечения в послеродовом периоде [D. Landau, N. Rosenberg, 2009, 34].

Плазменный фактор XIII (фибринстабилизирующий фактор), гетеротетрамер, является ключевым фактором гемостаза: активируется тромбином и способствует стабилизации фибрина [97]. В плазме крови фактор XIII циркулирует в виде протрансглутаминазы (FXIII-A2B2) и состоит из 2-х каталитических А субъединиц (FXIII -A2) и 2-х некаталитических В субъединиц (FXIII-B2) связанных нековалентными связями. В субъединицы находятся в основном в плазме, отдельно либо или в виде гетеротетрамерных форм фактора XIII [157].

Врожденный дефицит фактора XIII может возникать из-за дефектов генов FXIII-A (2 тип) или гена FXIII-B (1 тип). 2 тип дефекта является более тяжелым, заболеваемость тяжелой недостаточности фактора XIII составляет 1 на 3-5 млн. человек и наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Клинически дефицит фактора XIII проявляется тяжелыми кровотечениями, спонтанные внутричерепными кровоизлияниями, плохим заживлением ран и спонтанными абортами [88]. У пациентов с тяжелым врожденным дефицитом фактора XIII обычно уровни FXIII в плазме крови составляют менее 1% от нормы. В гетерозиготном состоянии заболевание, как правило, протекает клинически бессимптомно. Ранняя манифестация дефицита фактора XIII может возникать в неонатальном периоде кровотечением из пуповины. Пуповинное кровотечение является характерным и частым проявлением недостаточности фактора XIII и происходит в 80% случаев. Кроме того, у женщин с наследственным дефицитом фактора XIII отмечается высокая частота маточных кровотечений во время беременности и в послеродовом периоде [118].

Повышение уровня гомоцистеина в плазме, или гипергомоцистеинемия, может быть следствием наследственной недостаточности ферментов, участвующих в метаболизме гомоцистеина: цистатион-β-синтетазы, метионин-синтетазы или метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), являющейся

ключевым ферментом фолатного цикла, а также недостаточности кофакторов этих ферментов [172].

Наиболее распространенным дефектом, вызывающим умеренное повышение общего уровня гомоцистеина, является точковая мутация (С>Т в позиции 677) в кодирующей области гена МТНFR. В результате этой мутации синтезируется термолабильный вариант фермента, обладающий наполовину сниженной активностью [104]. У гомозигот по полиморфному аллелю активность фермента *in vitro* снижена на 70 % , а у гетерозигот на 35%. Многие исследования показали, что повышенный уровень гомоцистеина в плазме крови является фактором риска венозного и артериального тромбоза [149]. У трети больных с венозными тромбозами отмечается гомозиготность по полиморфизму МТГФР. Распространенность гипергомоцистеинемии в общей популяции колеблется от 5% до 16% [115]. Считается, что гипергомоцистеинемия способствует атеротромбозу в результате неблагоприятного влияния на функции эндотелия сосудов, которые поддерживают кровь в жидком состоянии. Другими механизмами, способствующими тромбозу, являются усиление под влиянием гомоцистеина активности тромбоксана А₂ агрегации тромбоцитов, пролиферации гладкомышечных клеток, повышение активности факторов свертывания V и X, уровня фибриногена, снижение антитромбиновой активности сыворотки крови и повышение связывания липопротеина с фибрином [139]. Многочисленными исследованиями доказано, что полиморфизм гена МТНFR-677С>Т ассоциирован с различными

осложнениями беременности: невынашиванием, плацентарной недостаточностью, задержкой развития и/или антенатальной гибелью плода, преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты и некоторыми другими акушерскими и перинатальными проблемами [149,148,147,73].

1.3.3 Иммуная тромбофилия

Антифосфолипидный синдром (АФС) – клиничко-лабораторный синдром, включающий рецидивирующие тромбозы (артериальный и/или венозный), акушерскую патологию (чаще синдром потери плода), и связанный с синтезом патогенетически значимых антифосфолипидных антител (аФЛ). АФС является моделью аутоиммунного тромбоза и относится к приобретенным формам тромбофилии [58,99].

В настоящее время выделяют несколько клинических форм АФС. Первичный АФС длительное время протекает в отсутствие признаков других сопутствующих заболеваний. Вторичный АФС развивается на фоне системной красной волчанки или других заболеваний. Катастрофический АФС характеризуется распространенными тромбозами, быстро приводящими к развитию полиорганной недостаточности и ДВС-синдрому [168].

Причины возникновения АФС и его распространенность в популяции остаются малоизученными. Синтез аФЛ возможен и в норм, низкий уровень антител нередко обнаруживается в крови здоровых людей. Частота обнаружения аФЛ у женщин с нормально протекающей беременностью колеблется от 0 до 11% и в среднем составляет около 2% [7,10,90,57,54,106].

К основным клиническим проявлениям АФС относятся сосудистые тромбозы и осложнения беременности. Образование тромба является ключевым событием в развитии сосудистых осложнений АФС, и было предложено множество патогенетических механизмов для объяснения тромботической предрасположенности при этом синдроме. Частота синдрома потери плода при АФС достигает 50-75% []. Прерывание беременности может иметь место в любые сроки беременности выкидыш и зачастую остается единственным симптомом у пациентов с первичным АФС. Для АФС характерен любой тип синдрома потери плода, включая предимплантационные потери [42,144].

Основными аФЛ на сегодняшний день считаются антител к $\beta 2$ -

гликопротеину I (анти- β 2-ГП I), к протромбину и к аннексину V.

Активация клеток, опосредованная аФЛ, происходит при взаимодействии между фосфолипид-связывающим белком плазмы и специфическим клеточными рецепторами. Антитело образует комплекс с соответствующим антигеном, что приводит к активации клеточной сигнализации, транскрипции прокоагулянтных веществ, адгезии молекул и впоследствии к тромбообразованию. Показано, что при воздействии аФЛ на активированные тромбоциты наблюдается увеличение их агглютинации. Кроме того, β 2GPI связываясь с мембранами активированных тромбоцитов, ингибирует образование активированного фактора X. Таким образом, активированные тромбоциты являются основной иммунной мишенью *antib2GPI* антител, что способствует развитию тромбоза при АФС [92,141].

Особый интерес исследователей вызывает аннексин A2, который является рецептором для плазминогена тканевого типа и его лиганда. Аннексин A2 представляет собой мембран-связанный протеин, который обнаруживается на поверхности эндотелиальных клеток и моноцитов, а также на поверхности синцитиотрофобласта плаценты. АннексинA2 взаимодействует с комплексом *β 2GPI-antib2GPI* на поверхности эндотелиальных клеток и моноцитов, опосредуя активацию клеток. Участие аннексина A2 в АФС-опосредованном влиянии на трофобласт было продемонстрировано на моделях *in vitro* и *in vivo* [170,142].

Таким образом, аФЛ обладают выраженной прокоагулянтной активностью, которая опосредуется их способностью воздействовать на ряд факторов, принимающих участие в регуляции свертывания крови [23,171].

В литературе описаны семейные случаи АФС, что свидетельствует о возможной генетической предрасположенности к заболеванию [58,69,48].

Наиболее опасным сочетанием является ассоциация АФС с одним или несколькими видами генетически-детерминированных тромбофилий, что значительно увеличивает риск тромбозов [54].

1.4 Роль родительско-плодовой тромбофилии в развитии плацентарной недостаточности

СЗРП, гибель плода, привычное невынашивание являются наиболее распространенными осложнениями беременности у женщин с тромбофилией [85]. Хотя каждый из этих патологических состояний может быть результатом другого заболевания, общим этиологическим фактором этих неблагоприятных исходов является плацентарная дисфункция. Для поддержания нормальной функции плаценты необходимо обеспечение емкостного, низкорезистентного кровотока, чтобы соответствовать высоким требованиям системы мать-плацента-плод. Таким образом, сосудистые осложнения при тромбофилии, как на материнской, так и на плодовой поверхности плаценты, могут приводить к снижению плацентарной функции, так как частое образование микротромбов в сосудах плаценты вызывает уменьшение функциональной площади поверхности плаценты [35, [R.W. Redline, 2006](#)).

Адекватное развитие и дифференцировка трофобласта также является результатом, с одной стороны, воздействия материнской системы гуморальных факторов (в том числе коагуляционных), а с другой — функцией самого трофобласта, обладающего потенциалом регулировать свертывающую систему. Генетический состав трофобласта и материнского эндотелия отличаются друг от друга. Поэтому процесс коагуляции в зоне контакта материнской крови и трофобласта со дружественно регулируется системными факторами свертывания матери и клеточными регуляторными компонентами, экспрессирующимися на поверхности клеток трофобласта, что определяется генами плода. В последнее время выявлено, что снижение уровня тканевого фактора у плода приводит к структурным аномалиям формирующейся плаценты, включающим снижение

клеточных контактов между первым слоем трофобласта и эндометрием, нарушение формирования материнских лакун [87]. При генетических дефектах определенных факторов свертывания, например тромбомодулина, не обнаружено явного тромбоза в маточно-плацентарных сосудах и в плацентарном ложе, однако выявляется нарушение роста и морфогенеза плаценты [80,159,21].

Изучение морфологических изменений в плаценте при клинической тромбофилии помогает объяснить физиологическую основу развития неблагоприятных исходов беременности. Тромбоз сосудов плаценты может происходить в материнской части, плодовой части, или промежуточном межворсинчатом пространстве [124].

К характерным гистопатологическим особенностям тромбоза материнской части плаценты относятся децидуальная васкулопатия, инфаркты плаценты, повреждение базального слоя, синцитиальные узелки, васкулит и хронический виллит [165]. Физиологические изменения комплекса интима-медиа спиральных артерий возникают на ранних сроках беременности для формирования невосприимчивости сосудов к сосудосуживающим медиаторам. Нарушение инвазии трофобласта в материнские спиральные артерии при гистологическом исследовании диагностируется при отсутствии фибриноидного осадения и сохранении гладкомышечного слоя [R.M. Silver, Y. Zhao, 2010,129].

Разрастание внутренней оболочки артерий и гладкомышечных клеток, совместно с повреждением эндотелия сосудов может способствовать развитию тромбозу артерий и инфаркту плаценты. Эти тромбозы приводят к некрозу и кровоизлияниям, которые клинически проявляются как ретроплацентарная гематома и отслойка плаценты [(A. Many, L. Schreiber, 2001; C.J. Lockwood, S.J. Huang, 2011).

По сравнению с детьми соответствующего возраста, рожденных от здоровых матерей, дети, рожденные от матерей с такими морфологическими изменениями в плаценте имеют более высокую заболеваемость центральной нервной системы (ЦНС), часто имеют неврологические расстройства, а также

признаки задержки психического развития [(L. Robertson, O. Wu, 2005; M.R. Raspollini, E. Oliva, 2007). 100].

Кроме того, к развитию серьезных гестационных осложнений может привести тромбоз крупных сосудов плода, который развивается при наличии гомозиготной формы тромбофилии или сочетанных гетерозиготных форм высокого или умеренного риска. Тромботическая васкулопатия плода (ТВП) начинается с тромботической окклюзии ветвей пупочных артерий, что приводит к прекращению кровотока в соответствующих ворсинах. ТВП также может произойти при наличии аФЛ у матери, которые проникают через плаценту в плодовой кровоток [120]. Показано, что ТВП затрагивающая 40-60 % от массы плаценты может вызвать гибель плода. Так же серьезным осложнением ТВП является эмболия сосудов мозга и почек плода, что в большинстве случаев приводит к его внутриутробной гибели [120]. При гистологическом исследовании плаценты обнаруживаются аваскулярные склерозированные терминальные ворсины, геморрагический эндovasкулит и воспалительное повреждение сосудов. Геморрагический эндovasкулит формируется вследствие разрушения и экстравазации фетальных эритроцитов с последующим кровотечением и фрагментацией эритроцитов. Кроме того, выход мекония в околоплодные воды вследствие гипоксии плода приводит к некрозу периваскулярной гладкой мускулатуры [143].

В настоящее время в ряде исследований, как отечественных, так и зарубежных, появляются данные о роли плодовой (фетальной) тромбофилии, а также сочетании материнской и плодовой в генезе акушерских осложнений. Пока нет однозначного ответа, является ли риск патологии плаценты более высоким при материнской или плодовой тромбофилии, по отдельности или в сочетании.

В некоторых исследованиях не подтверждено влияние плодовой тромбофилии на течение беременности. Роль плодовой тромбофилии в развитии ПН была изучена в работе, проведенной I. Ariel и E. Anteby [81]. Авторами не было получено статистической разницы в распространенности

тромботического поражения плодового кровотока у новорожденных с генетической тромбофилией. В исследовании было показано, что плодовая тромбофилия сама по себе не является причиной развития гестационных осложнений, а скорее всего представляет значительный предрасполагающий фактор риска при наличии сопутствующей тромбофилии у матери, а также других заболеваний, приводящих к увеличению риска тромбоза [81].

В другом исследовании у новорожденных определялись мутации генов, приводящих к тромбофилии. Было обнаружено ожидаемое количество детей как с мутацией фактора Лейдена, так и мутацией гена протромбина, а также гомозиготные и дважды гетерозиготные формы этих мутаций, вследствие чего было заявлено, что тромбофилия у плода не увеличивает риск потери беременности [(P. Hundsdorfer, B. Vetter, 2003; 143)].

Другими авторами, наоборот в своем исследовании мутации фактора V Лейден, было продемонстрировано, что генотип плода может оказывать существенное протромботическое влияние на трофобласт. Авторами была предложена гипотеза, согласно которой материнская и фетальная тромбофилия оказывают синергетический эффект на развитие гестационных осложнений [159,121].

Отечественные ученые (Стрижаков А.Н., Макацария А.Д., Тимохина Е.В., Баймурадова С.М.) в своей работе показывают, что частота выявления мутации у новорожденного коррелирует со степенью тяжести ПН [63,43,67]. При декомпенсированной ПН превалирует сочетание нескольких мутаций и гораздо чаще, чем в других группах, встречаются гомозиготные формы мутаций. Однако авторами не был оценен вклад отцовской тромбофилии в наследственной предрасположенности плода.

Практически нет работ о влиянии отцовской тромбофилии в развитии осложнений беременности. Некоторыми исследователями также было высказано предположение о возможной роли отцовской тромбофилии в развитии осложнений беременности [(S. Jivraj, R. Rai, 2006)]. Однако эта гипотеза не была

подтверждена результатами двух исследований, авторы которых сообщили об отсутствии влияния отцовской тромбофилии на частоту спонтанных выкидышей. Другое исследование показало, что частота повторного выкидыша не была выше у мужчин-партнеров с гомозиготной мутацией фактора Лейдена [(B. Toth, F. Vocke, 2008; 145)].

В тоже время, итальянскими учеными S. R. Giannubilo and A. L. Tranquilli в своей работе говорят о том, что при антенатальной гибели плода у новорожденных достоверно чаще встречается мутация факторов: V Лейден и протромбина. А состояния гомозиготности у плода полиморфизма гена МТГФР TT667 и PAI -1 4G4G приводит к снижению уровня морфологической активности, что приводит к уменьшению способности трофобласта вторгаться в эндометрии и ставят под угрозу успешное прикрепление плаценты. При гомозиготности полиморфизма у плода обязательно включает в себя роль генетическая структура отца в судьбе беременности, и может определить 'тромбофилические состояния плода', унаследованных от обоих родителей [107].

Сосудистые тромбозы при тромбофилии в материнской части плаценты приводят к ослаблению маточно-плацентарного кровотока и развитию инфарктов в ворсинах. Тромботические поражения в плодовой части плаценты вызывают нарушение кровоснабжения ворсин и межворсинчатого пространства. Вполне возможно, что как нарушения свертывания крови у матери, так и у плода могут приводить к развитию ТВП.

Наследственные формы тромбофилии могут передаваться к плоду от матери или отца. Таким образом, неудивительно, что определенный процент детей рождается с мутациями факторов свертывания и имеют нарушения свертываемости крови. Частота возникновения плодовой тромбофилии, ее связь с исходом беременности и влияние ее на развитие ПН к настоящему времени недостаточно исследованы и требуют дальнейшего изучения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

В исследование были включены 90 пациенток в III триместре беременности, 90 супругов, 90 новорожденных (n=270) и 30 плацент (рисунок 1). Основную группу составили 50 соматически здоровых супружеских пар, имеющих осложненное течение беременности в виде суб- или декомпенсированной плацентарной недостаточности, их новорожденные (n=50) и последы (n=20), контрольную группу – 40 соматически здоровых супружеских пар с физиологически протекающей беременностью, родоразрешенные в доношенном сроке, их новорожденные (n=40) и последы (n=10)

Работа проводилась на базе ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ в 2013-2016 гг.

Критерии включения основной группы

- III триместр беременности
- Суб- или декомпенсированная форма плацентарной недостаточности (СЗРП II- III степени и/или НМПК II-III степени, ПОНРП)
- Одноплодная беременность.

Критерии исключения

- Тяжелая экстрагенитальная патология.
- Сахарный диабет.
- Многоплодная беременность.
- ВПР женских половых органов.
- Пороки развития плода.

Способ набора материала - продольное когортное проспективное контролируемое исследование.



Рисунок 1 - Дизайн исследования

Исследование было направлено на выявление факторов риска формирования суб- и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности, ассоциированных с родительско-плодовой тромбофилией.

2.2. Клиническая характеристика анализируемых групп больных

Средний возраст супружеских пар по группам исследования достоверно не отличался и составлял в основной группе у женщин $30,40 \pm 0,91$ лет, у мужчин $33,22 \pm 0,80$ года, против $30,85 \pm 0,34$ лет и $33,0 \pm 0,42$ лет соответственно в группе контроля ($p > 0,05$). Социальный статус, национальная принадлежность и регион проживания были идентичными.

При анализе клинико-anamnestических данных (таблица 2) достоверных различий по соматической патологии у женщин в основной и контрольной группе не отмечалось ($p > 0,05$).

Таблица 2 - Структура экстрагенитальной патологии у обследуемых пациенток

Патология	Основная группа (n=50)		Контрольная группа (n=40)		Достоверность различий, p
	абс.	%	абс	%	
Болезни крови и кроветворных органов (анемия)	14	29	15	38	$P > 0,05$
Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ (гипотиреоз, ожирение)	6	12	8	20	$P > 0,05$
Болезни системы кровообращения (артериальная гипертензия, вегетососудистая дистония)	10	20	10	25	$P > 0,05$
Болезни органов пищеварения (панкреатит, гастрит, язвен. болезнь желудка и 12-перстной кишки и др.)	7	14	6	15	$P > 0,05$
Болезни мочеполовой системы (пиелонефриты)	2	12	2	5	$P > 0,05$

Анемия у пациенток с основной группы встречалась в 29% случаев, против 38% у пациенток контрольной группы ($p>0,05$).

Болезни эндокринной системы и нарушения обмена веществ (гипотиреоз, диффузного токсической зоб, ожирение) были диагностирована у 12 % пациенток основной группы и 20% пациенток группы контроля ($p>0,05$).

Заболевания сердечно сосудистой системы (артериальная гипертензия, вегетососудистая дистония) выявлены у 20 % пациенток основной группы и 25% пациенток контрольной группы ($p>0,05$).

Хронические органов пищеварения были выявлены у 14% пациенток основной группы и 15% пациенток группы контроля ($p>0,05$).

Хронические заболевания почек у пациенток основной группы встречались в 12 % случаев, против 5% у пациенток контрольной группы ($p>0,05$).

При анализе акушерско – гинекологического анамнеза было выявлено, что достоверно чаще в анамнезе у женщин основной группы регистрировались искусственные аборты – 34 % ($n=17$), против 15% ($n=6$) в контрольной группе ($P<0,05$) (таблица 3).

Кроме того, у пациенток основной группы в 64 % ($n=32$) случаев заслуживал внимание отягощенный акушерский анамнез: привычное невынашивание беременности регистрировалось в 16% случаев ($n=8$), регрессирующая беременность в 22% ($n=11$), самопроизвольные выкидыши в 24% ($n=12$), преждевременные роды в 16% ($n=8$), плацентарная недостаточность, с исходом в СЗРП в 18% ($n=9$); преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты в 12% ($n=6$); антенатальная гибель плода в 10% ($n=5$).

В основной группе зарегистрирован высокий удельный вес женщин с бесплодием – 26 % ($n=13$) случаев, из них в 92 % ($n=12$) бесплодие преодолено с помощью ВРТ: ЭКО.

Таблица 3 - Структура акушерско-гинекологического анамнеза у пациенток исследуемых групп

Показатели	Основная группа (n=50)		Контрольная группа (n=40)		Достоверность различий
	абс	%	абс	%	P
Первородящие	27	54	20	50	P> 0,05
Повторнородящие	23	46	20	50	P> 0,05
Артифициальный аборт	17	34	6	15	P<0,05
Привычное невынашивание	8	16	0	0	P<0,05
Регрессирующая беременность	11	22	0	0	
Самопроизвольный выкидыш	12	24	0	0	
СЗРП	9	18	0	0	
Аntenатальная гибель плода	5	10	0	0	
ПОНРП	6	12	0	0	
Преждевременные роды	8	16	0	0	
Бесплодие	13	26	0	0	

Нами была разработана анкета (рисунок 2) и проведен опрос мужчин из исследуемых групп, при анализе которых выявлено, что достоверных различий по соматической патологии в основной и контрольной группе не отмечалось (таблица 4).

Среди мужчин основной группы достоверно чаще регистрировалось никотинозависимость и употребление алкоголя, которые составила 54 % (n=27) и 42% (n=21), против 35% (n=14) и 25 % (n=10) в группе контроля, соответственно.

В 16 % случаев мужчины основной группы состояли во втором браке и в 10% случаев имеют детей в предыдущей семье.

Анкета

1. Ф.И.О _____
2. Дата рождения _____ возраст _____
3. Рост _____ Вес _____
4. Профессия _____
5. Соматические заболевания _____

6. Прием лекарственных препаратов _____
7. Вредные привычки (никотинозависимость да нет
Прием алкоголя да нет
Прием наркотических, сильнодействующих препаратов да нет
8. Перенесенные травмы, операции _____

9. Наследственность. Заболевания сердечно-сосудистой системы у близких родственников (инфаркты, инсульты, ТЭЛА, гипертоническая болезнь, варикозное расширение вен, атеросклероз сосудов и пр. У кого из близких родственников, в каком возрасте)

10. Какой брак по счету _____
11. Есть ли дети в предыдущем браке (сколько) _____
12. Если дети в настоящем браке _____

Рисунок 2- Анкета для опроса мужчин

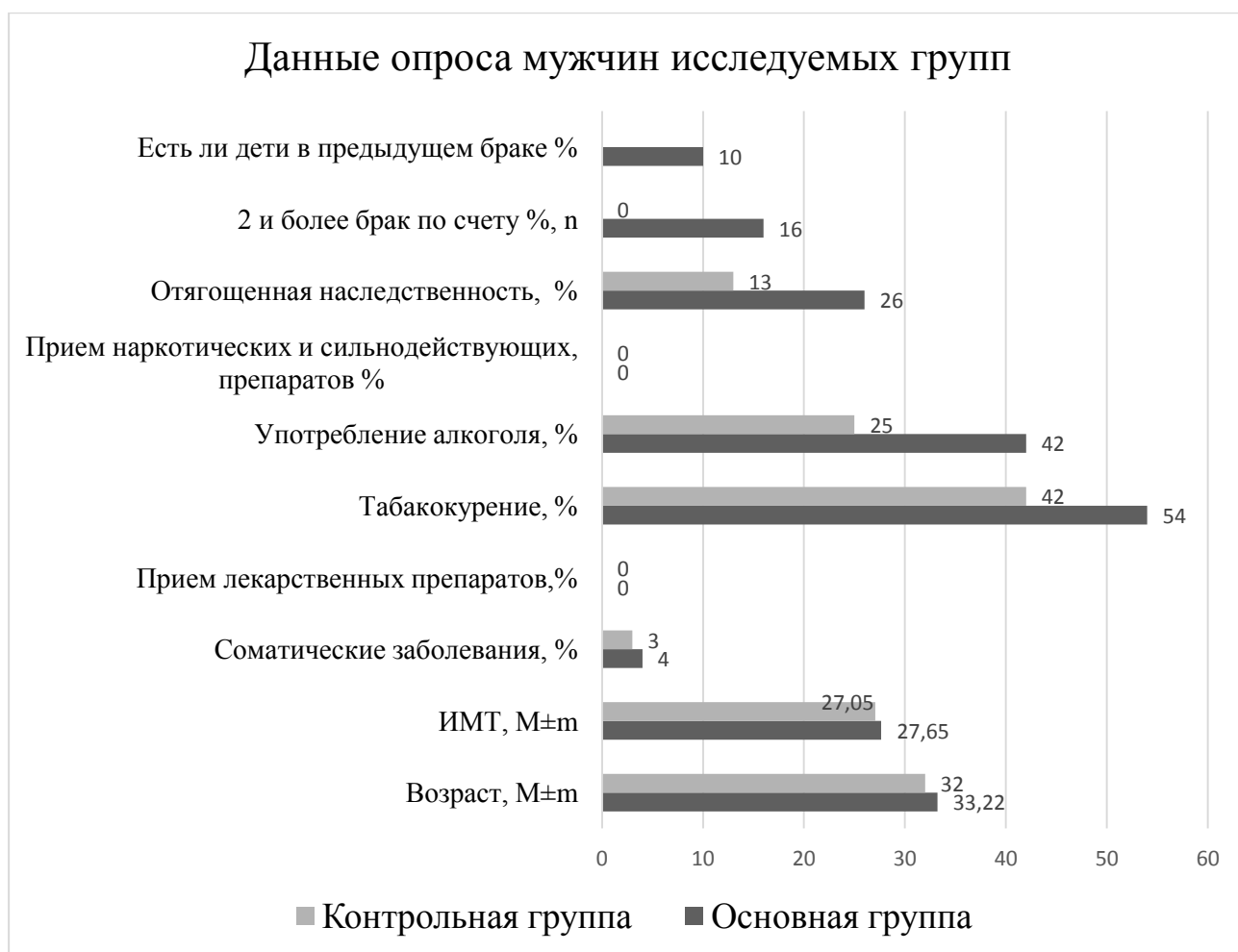


Рисунок 3 -

2.3 Методы исследования

Выбор использованных в работе методов исследования определялся в соответствии с отраслевыми стандартами объемов обследования в акушерстве, рекомендациями по лабораторной диагностике системы гемостаза, молекулярно-генетическими и статистическими исследованиями.

У всех супружеских пар было получено информированное согласие.

2.3.1 Молекулярно-генетические методы исследования

Исследование полиморфизма генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, проводилось методом полимеразноцепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием детектирующего амплификатора ДТ-96 с автоматическим программным обеспечением (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, регистрационное удостоверение № ФСР 2007/01250).

Образцы ДНК получали из буккального эпителия, используя наборы реагентов и протоколы для выделения ДНК «Проба РАПИД-ГЕНЕТИКА» или «Проба ГС-ГЕНЕТИКА» (ООО «НПО ДНК-технология», Россия). Для оценки количества выделенной ДНК использовался набор реагентов для контроля забора материала методом ПЦР (ООО «НПО ДНК-технология», Россия).

На полученных образцах проводили полимеразноцепную реакцию в режиме «реального времени» с использованием комплектов реагентов и протокола для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии.

Регистрация и учет результатов проводился автоматическим программным обеспечением для детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-технология», Россия).

Генотипирование проводилось по следующим факторам:

1. Система факторов свертывания крови:

FGB (фибриноген, фактор I) - полиморфизм 455 G>A.

F2 (протромбин, фактор II) - полиморфизм 20210G> A.

F5 (фактор V) – полиморфизм 1691G>A (R506Q –Leiden).

F 7 (фактор VII) – полиморфизм 10976G>A.

F 13, субъединица A1 (фактор XIII A1) - полиморфизм 103G>T.

2. Система фибринолиза:

PAI-I (ингибитор активатора тканевого плазминогена 1 типа) – полиморфизм 5G>4G.

3. Система гликопротеинов тромбоцитарных рецепторов:

ITGA2 - (тромбоцитарный рецептор к колагену – α -2 интегрин) - полиморфизм 807 C>T;

ITGB3 (GPIIIa) (рецептор тромбоцитарного гликопротеина IIIa) – полиморфизм A1/A2 (1565T>C).

4. Система метаболизма фолиевой кислоты:

MTHFR (677C>T) ген метилентетрагидрофолатредуктазы,

2.3.2 Исследование системы гемостаза

Лабораторная диагностика системы гемостаза осуществлялась на коагулографе серии Helena, модель Helena AC-4 (HELENA BioSciences Europe, Великобритания) использовались реагенты и расходные материалы к коагулографу серии Helena (HELENA BioSciences Europe, Великобритания).

Для оценки состояния плазменного звена гемостаза определялось активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), уровень фибриногена (ФГ), международное нормализованное отношение (МНО), признаки тромбинемии – растворимые комплексы фибрин-мономеров (РФМК), оценка уровня физиологических антикоагулянтов- антитромбин III (АТ III).

Для углубленной оценки состояния системы гемостаза проводилось тромбоэластографическое исследование на анализаторе «TEG 5000», рег. номер ФС№2006/2518, США, расходные материалы для TEG ФС№2006/2519, США. Для анализов брали стабилизированную цитратом венозную кровь и немедленно (в

течение 20 – 30 минут от момента забора крови до старта теста) проводили исследования. У новорожденных забор крови приводился через 12 часов после рождения (по окончании периода острой адаптации), из периферической вены кисти по стандартной методике.

Для оценки состояния плазменного звена гемостаза определялись АЧТВ, ТВ, уровень фибриногена, международное нормализованное отношение - МНО, признаки тромбинемии – растворимые комплексы фибрин-мономеров – РФМК,

По кривой ТЭГ изучались основные параметры: время реакции (**R**), отражающее I и II фазы свертывания крови (образование тромбопластина и тромбина); время образования сгустка (**K**) характеризующее III фазу свертывания (образование фибрина); максимальная амплитуда (**MA**), определяющая плотность сгустка в основном за счет тромбоцитарного звена; **угол α** , отображающий скорость роста фибриновой сети и её структурообразование; максимальная эластичность сгустка **E**, рассчитываемая по формуле: $100 \times MA / 100 - MA$; коагуляционный индекс **CI**, являющийся интегральным показателем коагуляции; **LY30**, характеризующий процесс растворения (лизиса) сгустка.

2.3.3 Иммунологические исследования

Содержание антифосфолипидных антител классов IgM и IgG к протромбину, бета-2-гликопротеину-1, аннексину V, в сыворотке крови оценивали методом «сэндвич» -варианта твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью двойных антител, в соответствии с рекомендациями производителя тест-систем фирмы «Orgentec» (Германия).

Детекцию проводили на иммуноферментном анализаторе «Wallac 1420 (Victor2)» фирмы «PerkinElmer» (Финляндия).

2.3.4 Методы оценки состояния фетоплацентарного комплекса

Состояние внутриутробного плода оценивалось при помощи ультразвукового исследования (УЗИ) с доплерометрией и кардиотокаграфии.

Для оценки степени тяжести плацентарной недостаточности, согласно классификации Стрижакова А.Н. с соавт (2003), оценивались следующие критерии: 1) степень несоответствия данных ультразвуковой фетометрии гестационному возрасту плода; 3) степень гемодинамических нарушений в системе мать-плацента-плод.

Ультразвуковое исследование проводилось в режиме реального времени на аппарате экспертного класса Voluson 730 Expert (General Electric Medical Systems) с цветным доплеровским картированием. Определяли основные фетометрические параметры: бипариетальный размер головки (БПР), диаметр живота (ДЖ), длина бедра (ДБ), толщина мягких тканей плода, а также локализацию, толщину, стадию структурности плаценты и проводили оценку количества околоплодных вод. Для оценки степени тяжести плацентарной недостаточности использовалась классификация Стрижакова А.Н. Степень нарушения кровотоков оценивали согласно классификации М.В. Медведева.

Оценка состояния сердечной деятельности плода (кардиотокаграфия) проводилась на аппарате Sonicaid Team Care/Trend. Оценивались: частота базального ритма, наличие акцелераций или эпизода LTV (вариабельность более 10 перцентиля нормативных значений для данного срока беременности), отсутствие децелераций более 20 уд/мин, stv более 5 м/сек, количество шевелений плода более 20 в час, что соответствовало критериям Доуза-Редмана.

2.3.5 Оценка состояния новорожденного

Характеристика состояния новорожденного включала оценку по шкале Апгар на 1-й и 5-й минуте (1953г), определение массо-ростовых параметров, комплексное клинико-лабораторное обследование. Осмотр новорожденного невропатологом с оценкой неврологического статуса и проведением нейросонографии осуществлялся на 3-5 сутки жизни ребенка на УЗ-аппарате Philips HD-15, датчики L 5-10 и C 3-6.

2.3.6 Морфологическое исследование плацент

Исследование плацент заключалось в микроскопическом и макроскопическом описании, органометрии. Морфологическое исследование и описание плацент имело в основе «Медико-технологический стандарт морфологического исследования последа в родовспомогательном учреждении V уровня – перинатальный центр», разработанный и применяемый в Отделении патоморфологии и цитодиагностики ФГБУ НИИ ОММ.

При макроскопическом исследовании последов осуществлялась органометрия, и давалось описание последа, как в целом, так и его компонентов: материнской, плодовой поверхности; оболочек; пуповины, учитывая ее место отхождения.

Микроскопическое исследование гистологических препаратов проводили на микроскопе Carl Zeiss Primo Star. Оценивалось соответствие структурных компонентов плаценты сроку гестации, уточнялись морфологические признаки, характеризующие как наличие плацентарной недостаточности, так и степень ее

выраженности. Устанавливались особенности компенсаторно-приспособительных реакций (КПР) со стороны материнского и плодового русла кровообращения. Исследования проводились в отделении патоморфологии НИИ ОММ .

2.3.7 Методы статистической обработки данных

Обработку результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0, Biostat 3.03, Statgraphics 2.1. При нормальном распределении признака были использованы методы оценки средних значений (M) и средней ошибки среднего (m), для оценки достоверности различий между группами использовали критерий Стьюдента, статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Различия между непараметрическими переменными проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона (Person). Относительный риск оценивали по показателю отношения шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом (95% CL). Нулевая гипотеза отвергалась при $p > 0,05$.

Тест на соответствие распределения генотипов закону Харди-Вайнберга в обеих выборках проводили с помощью критерия χ^2 с использованием программы Hardy-Weinberge quilibrium.

Использовался метод распознавания образов на основании дискриминантного анализа. Дискриминантный анализ использовался для принятия решения о том, по каким переменным (признакам, показателям) можно различить (дискриминировать) две или более возникающие совокупности (группы) [62]. В процессе дискриминантного анализа определялись коэффициенты решающего правила классификации (или прогноза состояния),

сравнительная информативность каждого признака и вероятность правильной классификации (правильного прогноза) по совокупности признаков.

Данные об общем количестве выполненных исследований приведены в таблице (таблица 4).

Таблица 4 - Общее количество выполненных исследований

общеклинические (ОАК, ОАМ, анализы мазка)	90
исследование плазменного звена гемостаза (клоттинговые тесты)	173
тромбоэластографическое исследование	173
исследование полиморфизма генов агрегантного состояния крови	2160
исследование полиморфизма генов ключевого фермента обмена гомоцистеина	270
иммунологические исследования (антитела к протромбину, бета-2-гликопротеину-1, аннексину V)	180
УЗИ с доплерометрией	90
морфологическое исследование последов	30
НСГ новорожденных	83
всего исследований	3249

ГЛАВА 3. ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ СУБ- И ДЕКОМПЕНСИРОВАННЫХ ФОРМ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Целью исследований, представленных в данной главе, было изучение течения беременности, особенностей гемокоагуляции у пациенток с суб – и декомпенсированной плацентарной недостаточностью, а также определение клинически значимых полиморфизмов генов тромбофилии и фолатного обмена у супружеских пар.

3.1 Анализ течения настоящей беременности у пациенток основной группы

При оценки степени тяжести плацентарной недостаточности, получено, что субкомпенсированная ПН составила 64 % (n=32) случаев, декомпенсированная ПН - 34 % (n=18) случаев, из них в 22% (n=11) случаев имелось острое течение в виде ПОНРП и в 14 % (n=7) АГП, в 26% случаев (n=15) ПН сочеталась с преэклампсией (таблица5).

Таблица 5 - Характеристика течения настоящей беременности у пациенток основной группы

Осложнения	Основная группа (n=50)	
	абс	%
ПН, в том числе:	50	100
- субкомпенсированная форма	32	64
- декомпенсированная форма	18	36
ПОНРП	11	22
АГП	7	14
Преэклампсия	13	26

При анализе степени тяжести задержки развития плода и нарушений маточно-плацентарного кровообращения по данным ультразвукового исследования с доплерометрией у пациенток основной группы получено, что в 18 % случаев (n = 9) диагностирован синдром задержка развития плода 1 степени, в 56 % случаев (n = 28) - 2 степени и в 10 % (n=5) – III степени.

Гемодинамические нарушения в системе мать - плацента - плод I степени с изолированным поражением маточно-плацентарного кровотока (I А) выявлено в 28 % случаев (n = 14), с изолированным поражением плодово – плацентарного звена (I Б) в 4 % случаев (n = 2). НМПК II степени, диагностировано у 28 % (n=14) беременных основной группа, НМПК III- у 18% (n= 9) беременных основной группы (таблица 6).

Таблица 6 – Структура степени тяжести задержки роста плода и нарушений гемодинамики в системе мать-плацента-плод у беременных основной группы

Степень тяжести	Абс.	%
Без СЗРП	8	16
СЗРП I степени	9	18
СЗРП II степени	28	56
СЗРП III степени	5	10
Без НМПК	3	6
НМПК I А степени	14	28
НМПК I Б степени	2	4
НМПК II степени	14	28
НМПК III степени	9	18

При доплеровском исследовании маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока получены достоверно значимые отличия индекса резистентности (IR) в маточных артериях и артерии пуповины у пациенток основной группы по сравнению с группой контроля (таблица 7). В основной группе IR артерии пуповины составил $0,68 \pm 0,02$, против $0,60 \pm 0,01$, в контрольной группе ($p < 0,05$). IR правой и левой маточных артериях у пациенток основной группы были достоверно выше, чем в контрольной группе и составили $0,61 \pm 0,02$ и $0,62 \pm 0,02$, против $0,46 \pm 0,01$ и $0,48 \pm 0,01$, соответственно ($p < 0,05$).

Таблица 7 – Данные доплерометрии маточно-плацентарного и плодового кровотока у пациенток исследуемых групп, $M \pm m$

Показатель	Основная группа	Контрольная группа	P
IR артерии пуповины	$0,68 \pm 0,02$	$0,60 \pm 0,01$	<0,05
IR правой маточной артерии	$0,61 \pm 0,02$	$0,46 \pm 0,01$	
IR левой маточной артерии	$0,62 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,01$	

3.2 Сравнительная характеристика системы гемостаза у пациенток исследуемых групп

С целью выявления коаголопатических изменений, связанных с формированием суб- и декомпенсированных форм ПН всем пациенткам проводилось исследование системы гемостаза с определением основных параметров, для выявления признаков активации внутрисосудистого свертывания крови и активации системы фибринолиза (таблица 8).

При анализе результатов исследования у пациенток достоверных различий в количестве тромбоцитов по группам выявлено не было - $231 \pm 9,50$ и $244 \pm 10,25$, соответственно ($p > 0,05$).

У пациенток основной группы, по сравнению с группой контроля, отмечено достоверное увеличение концентрации ФГ ($5,3 \pm 0,16$ против $4,9 \pm 0,13$ при $p < 0,05$) и РФМК ($19,4 \pm 0,54$ против $16,9 \pm 1,01$ при $p < 0,05$), что является признаком активации внутрисосудистого свертывания крови.

У пациенток основной группы уровень антитромбина III, по сравнению с контролем, был достоверно ниже и составил $85,0 \pm 1,68\%$, против $91,2 \pm 1,24\%$ ($p < 0,05$), что свидетельствует о снижении антикоагулянтной активности плазмы крови у пациенток основной группы.

По результатам остальных клоттинговых тестов достоверно значимых отличий получено не было.

Таблица 8 - Сравнительная характеристика гемостазиограммы у беременных с ПН и без ПН, (M \pm m)

Параметр системы гемостаза, ед. изм.	Основная группа (n=50)	Контрольная группа (n=20)	p
Тромбоциты, 1×10^9 /л	$231 \pm 9,50$	$244,6 \pm 10,25$	0,17
Фибриноген, г/л	$5,3 \pm 0,16^*$	$4,9 \pm 0,13$	0,03

ТВ, сек.	14,6±0,18	14,3±0,15	0,08
АЧТВ, сек.	38,1±0,83	38,5±1,13	0,37
МНО, %	0,9±0,01	0,9±0,01	0,14
РФМК, мг/%	19,4±0,54*	16,9±1,01	0,01
АТ III, %	85,0±1,68*	91,2±1,24	0,003
Примечание - * различия статистически значимы, p < 0,05			

На сегодняшний день самым совершенным методом оценки состояния системы гемостаза является тромбоэластография (ТЭГ). Данный метод основан на интегральной оценке системы гемокоагуляции с учетом всех ее звеньев и позволяет качественно и количественно охарактеризовать процесс тромбообразования, оценить механические характеристики сгустка, его плотность, стабильность, взаимодействие тромбоцитов и фибринолиз.

В связи с этим, всем пациенткам для оценки состояния системы гемокоагуляции параллельно с клоттинговыми тестами проводили исследование с помощью метода ТЭГ (таблица 9).

На основании ТЭГ у пациенток основной группы отмечено достоверное укорочение интервала R, свидетельствующего об активации I и II фазы свертывания крови (6,9±0,27 мин. против 8,2±0,09 мин. в группе контроля) и параметра K, (1,77±0,09 мин. против 2,03±0,12 мин., соответственно), характеризующего III фазу свертывания (p < 0,05).

Величина угла α (Angle) была наибольшей у беременных основной группы (66,5±0,93 град) и достоверно отличалась от таковой у пациенток контрольной группы (62,8±1,04 град, p < 0,05), что указывает на быстрое нарастание фибриновой сети.

Получено достоверно значимое повышение CI у пациенток основной группы, в сравнение с контролем (2,64±0,14, против 2,0±0,11, соответственно, (p < 0,05), что доказывает повышение общего свертывающего потенциала крови у этой группы больных.

Процесс литического растворения сгустка (показатель LY30) также имел достоверные различия у пациенток основной ($0,28 \pm 0,1$) и контрольной групп ($0,04 \pm 0,02$), $p < 0,05$.

Таблица 9 - Сравнительная характеристика показателей ТЭГ у беременных

Параметр ТЭГ, ед. изм.	Основная группа (n=50)	Контрольная группа (n=20)	p
R, мин.	$6,9 \pm 0,27^*$	$8,2 \pm 0,09$	0,002
K, мин.	$1,77 \pm 0,09^*$	$2,03 \pm 0,12$	0,02
угол α , град.	$66,5 \pm 0,93^*$	$62,8 \pm 1,04$	0,005
МА, мм	$65,9 \pm 0,87$	$64,7 \pm 0,92$	0,17
E	$201,7 \pm 7,01$	$191,7 \pm 8,19$	0,18
CI	$2,64 \pm 0,14^*$	$2,0 \pm 0,09$	0,0002
LY30, %	$0,28 \pm 0,10^*$	$0,04 \pm 0,02$	0,01
Примечание: * различия статистически значимы, $p < 0,05$			

Таким образом, у пациенток основной группы выявлены признаки гиперкоагуляции во внутреннем звене гемостаза и снижение антикоагулянтной активности плазмы крови с компенсаторной активацией системы фибринолиза, что приводит к повышению общего свертывающего потенциала крови.

,

3.3 Особенности молекулярно-генетических механизмов регуляции системы гемостаза у супружеских пар исследуемых групп

На сегодняшний день клиническая тромбофилия (как генетическая, так и аутоиммунная), является интегральным этиопатогенетическим фактором в генезе ПН.

Для диагностики иммунной формы тромбофилии, у мужчин и женщины обследуемых групп определялись антифосфолипидные антитела (антитела к протромбину, бета-2-гликопротеину-1, аннексину V), в связи с отсутствием их диагностического титра, АФС у женщин и мужчин обследуемых групп диагностирован не был. В связи с этим, дальнейшие исследования были направлены на изучение роли клинических форм генетической тромбофилии на формирование ПН.

С целью определения молекулярно-генетических факторов формирования патологии гемостаза у женщин, проведен сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам генов кодирующих состояние белков коагуляционного каскада у беременных (FGB: 455 G> A, F2: 20210G> A, F5: 1691G> A, F7: 10976 G> A, F13 103 G> T, PAI-1: 675 5G>4G, ITGA2: 807 C> T, ITGB: 3 1565T> C, MTHFR 677C> T). Распределение частот генотипов указанных полиморфных вариантов генов соответствовало распределению Харди – Вайнберга.

У обследованных женщин выявлены достоверно значимые отличия в частоте встречаемости полиморфных вариантов следующих генов: PAI -1 675 5G>4G, ITGB3 1565 T> C, F13 103 G> T, MTHFR 677 C> T (таблица 10).

Анализ распределения частот генотипов показал, что полиморфный вариант 4G4G, достоверно чаще встречались у пациенток основной группы, чем в группе контроля ($\chi^2=6,02$; $p=0,04$; OR= 2,56; 95%CI=1,13-4,92).

Получены достоверно значимые отличия в частоте встречаемости

гетерозиготного варианта 1565СТ гена ITGB3 1565 Т> С ($\chi^2=9,73$; $p =0,01$; OR=5,06; 95% CI=1,80-14,22).

Достоверно чаще нормальная гомозигота GG гена F13 103 G> Т встречалась у пациенток основной группы в сравнении с контролем ($\chi^2=7,41$; $p =0,02$; OR=1,63; 95% CI=1,14-2,33), а патологическая гетерозигота GT достоверно чаще встречались у женщин без осложненного течения беременности ($\chi^2=7,41$; $p =0,02$; OR=0,39; 95% CI=0,20-0,7), что подтверждает литературные данные о протективной роли аллеля 103Т гена F13 по отношению к артериальному и венозному тромбозу[36,37,38].

У пациенток основной группы частота встречаемости генотипа 667СТ гена MTHFR была достоверно выше, чем у пациенток контрольной группы ($\chi^2=8,90$; $p=0,01$; OR=1,69; 95%CI=1,19-2,39). Патологическая гомозигота 677ТТ гена MTHFR выявлена у 12% пациенток основной группы, у пациенток контрольной группы данный вариант полиморфизма не встречался.

Анализ распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам генов FGB, F2, F5, ITGA2, F7 не показал статистически значимых отличий у женщин основной и контрольной групп.

Таблица 10 - Сравнительная характеристика распределения частот генотипов по полиморфным вариантам генов агрегантного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у женщин основной и контрольной групп

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	р	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	GG	0,48	0,55	3,42	0,18	0,76	0,56	1,02
	GA	0,44	0,45			0,96	0,92	1,00
	AA	0,08	0,00			-	-	-
F2 20210 G>A	GG	0,96	1,00	-	-	0,00	-	-
	GA	0,04	0,00			-	-	-
	AA	0,00	0,00			-	-	-
F5 1691 G>A	GG	0,96	0,90	-	-	2,67	-	-
	GA	0,04	0,10			0,38	-	-
	AA	0,00	0,00			-	-	-

PAI -1 -675 5G>4G	5G5G	0,16	0,35	6,02*	0,04	0,35	0,14	0,95
	5G4G	0,48	0,48			1,0	-	-
	4G4G	0,36	0,18			2,56	1,3	4,92
ITGA2 807 C>T	CC	0,44	0,50	0,49	0,78	0,79	0,40	1,56
	CT	0,36	0,35			1,04	0,92	1,18
	TT	0,20	0,15			1,42	0,53	3,81
ITGB3 1565 T>C	TT	0,62	0,80	9,73*	0,01*	0,41	0,23	0,72
	TC	0,36	0,10			5,06	1,80	14,22
	CC	0,02	0,10			0,18	0,06	0,54
F7 10976 G>A	GG	0,80	0,65	3,99	0,14	2,15	1,00	4,62
	GA	0,18	0,35			0,41	0,17	0,99
	AA	0,02	0,00			-	-	-
F13 G>T	GG	0,62	0,50	7,41*	0,02	1,63	1,14	2,33
	GT	0,28	0,50			0,39	0,20	0,77
	TT	0,10	0,00			-	-	-
MTHFR 677 C>T	CC	0,30	0,55	8,90*	0,01	0,35	0,17	0,70
	CT	0,58	0,45			1,69	1,19	2,39
	TT	0,12	0,00			-	-	-
Примечание - * различия статистически значимы, $p < 0,05$								

Анализ распределения частот аллелей показал, что аллель 4G гена PAI -1 - 675, достоверно чаще встречались у пациенток основной группы, чем в группе контроля $\chi^2=6,2$; $p=0,02$; OR= 2,15; 95%CI=1,22-3,79 (таблица 11).

Получены достоверно значимые отличия в частоте встречаемости гетерозиготного варианта 1565CT гена ITGB3 1565 T> C ($\chi^2=9,73$; $p =0,01$; OR=5,06; 95% CI=1,80-14,22).

У пациенток основной группы частота встречаемости аллеля 677 T гена MTHFR была достоверно выше, чем у пациенток контрольной группы $\chi^2=6,90$; $p=0,01$; OR=2,39; 95%CI=1,24-4,61.

Таблица 11 - Сравнительная характеристика распределения частот аллелей генов агрегантного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у женщин основной и контрольной группы

Полиморфизм	аллель	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	p	OR	95% CI	
FGB -455	G	0,70	0,78	1,28	0,26	0,68	0,34	1,34

G>A	A	0,30	0,23			1,48	0,75	2,91
F2 20210 G>A	G	0,98	1,00	1,62	0,20	0,00	-	0,00
	A	0,02	0,00			-	-	-
F5 1691 G>A	G	0,98	0,95	1,24	0,27	2,58	0,48	13,81
	A	0,02	0,05			0,39	0,07	2,08
PAI -1 -675 5G>4G	5G	0,40	0,59	6,2*	0,02	0,46	0,26	0,82
	4G	0,60	0,41			2,15	1,22	3,79
ITGA2 807 C>T	C	0,62	0,68	0,59	0,44	0,79	0,42	1,46
	T	0,38	0,33			1,27	0,68	2,37
ITGB3 1565 T>C	T	0,80	0,85	0,76	0,38	0,71	0,32	1,55
	C	0,20	0,15			1,42	0,64	3,12
F7 10976 G>A	G	0,89	0,83	1,57	0,21	1,72	0,73	4,02
	A	0,11	0,18			0,58	0,25	1,36
F13 G>T	G	0,76	0,75	0,02	0,88	1,06	0,53	2,10
	T	0,24	0,25			0,95	0,48	1,88
MTHFR 677 C>T	C	0,59	0,78	6,90*	0,01	0,42	0,22	0,80
	T	0,41	0,23			2,39	1,24	4,61
Примечание - * различия статистически значимы, $p < 0,05$								

Использование доминантной модели наследования позволило выявить различия в частоте встречаемости генотипов по полиморфным вариантам этих же генов (таблица 12).

Совокупность генотипов, содержащих полиморфный аллель 4G в гомо и гетерозиготном состоянии (5G4G+4G4G-доминантная модель), также достоверно чаще встречалась у пациенток основной группы по сравнению с контролем ($\chi^2=4,34$; $p=0,04$; OR= 2,83; 95%CI=1,44-5,54).

Использование доминантой модели наследования так же показало, что генотипы содержащих полиморфный аллель 1565C в гомо и гетерозиготном состоянии (TC+CC), достоверно чаще встречались у пациенток основной группы, в сравнении с контролем ($\chi^2=4,54$; $p=0,05$; OR=2,45; 95% CI=1,3-4,62).

Совокупность генотипов, содержащих полиморфный аллель 677 T в гомо и гетерозиготном состоянии (CT+TT -доминантная модель), также достоверно чаще

встречалась у пациенток основной группы по сравнению с контрольной группой. ($\chi^2=5,74$; $p=0,02$; $OR= 2,85$; $95\%CI=1,20-6,80$).

С целью оценки роли молекулярно-генетических механизмов регуляции гемостаза мужчин в формировании родительско-плодовой тромбофилии, был проведен анализ распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина в группах мужчин (таблица 13), при котором выявлены достоверно значимые отличия частоты встречаемости полиморфных вариантов гена PAI -1 -675 5G>4G ($p <0,05$).

Гомозиготный полиморфный вариант 4G4G гена PAI -1 675 у мужчин основной группы встречался достоверно чаще, чем в группе контроля ($\chi^2=6,53$; $p=0,03$; $OR= 2,45$; $95\%CI=1,3-4,63$).

Следует отметить так же, что патологический гомозиготный генотип 677TT гена MTHFR встречался у 14% мужчин основной группы, тогда, как у мужчин контрольной группы данного полиморфного варианты выявлено не было ($\chi^2=6,22$; $p=0,01$).

Таблица 12 - Сравнительная характеристика распределения частот генотипов по полиморфным вариантам генов агрегантного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у женщин исследуемых группы (доминантная модель наследования)

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	p	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	GG	0,48	0,55	0,44	0,51	0,76	0,32	1,76
	GA+AA	0,52	0,45			1,32	0,57	3,08
F2 20210	GG	0,96	1,00	1,64	0,20	0,00	-	0,00

G>A	GA+AA	0,04	0,00			-	-	-
F5 1691 G>A	GG	0,96	0,90	1,29	0,26	2,67	0,48	14,88
	GA+AA	0,04	0,10			0,38	0,07	2,09
PAI-1 -675	5G5G	0,16	0,35	4,34*	0,04	0,35	0,18	0,69
	5G>4G	5G4G+4G4G	0,84			0,65	2,83	1,44
ITGA2 807	CC	0,44	0,50	0,32	0,57	0,79	0,34	1,83
	C>T	CT+TT	0,56			0,50	1,27	0,55
ITGB3 1565	TT	0,62	0,80	4,54*	0,05	0,41	0,23	0,77
	T>C	TC+CC	0,38			0,20	2,45	1,3
F7 10976	GG	0,80	0,65	2,56	0,11	2,15	0,83	5,59
	G>A	GA +AA	0,20			0,35	0,46	0,18
F13 G>T	GG	0,62	0,50	1,30	0,25	1,63	0,70	3,83
	GT+TT	0,38	0,50			0,61	0,26	1,44
MTHFR 677	CC	0,30	0,55	5,74*	0,02	0,35	0,17	0,70
	C>T	CT+TT	0,70			0,45	2,85	1,20
Примечание - * различия статистически значимы, p <0,05								

Таблица 13 - Сравнительная характеристика распределения частот генотипов по полиморфным вариантам генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у мужчин исследуемых групп

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	p	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	GG	0,66	0,70	1,09	0,58	0,83	0,59	1,18
	GA	0,28	0,20			1,56	0,67	3,60
	AA	0,06	0,10			0,57	0,20	1,65
F2 20210 G>A	GG	0,98	0,95	-	-	2,58	-	-
	GA	0,02	0,05			0,39	-	-
	AA	0,00	0,00			-	-	-
F5 1691 G>A	GG	0,96	0,95	-	-	1,26	-	-

	GA	0,04	0,05			0,79	-	-
	AA	0,00	0,00			-	-	-
PAI -1 -675 5G>4G	5G5G	0,08	0,25	6,53*	0,03	0,26	0,11	0,61
	5G4G	0,54	0,55			0,96	0,55	1,67
	4G4G	0,38	0,20			2,45	1,3	4,6
ITGA2 807 C>T	CC	0,22	0,35	2,27	0,32	0,52	0,22	1,23
	CT	0,54	0,40			1,76	0,84	3,71
	TT	0,24	0,25			0,95	0,88	1,02
ITGB3 1565 T>C	TT	0,76	0,75	-	-	1,06	-	-
	TC	0,24	0,25			0,95	-	-
	CC	0,00	0,00			-	-	-
F7 10976 G>A	GG	0,74	0,85	-	-	0,50	-	-
	GA	0,26	0,15			1,99	-	-
	AA	0,00	0,00			-	-	-
F13 G>T	GG	0,56	0,50	1,71	0,43	1,27	0,88	1,84
	GT	0,28	0,40			0,58	0,26	1,32
	TT	0,16	0,10			1,71	0,76	3,89
MTHFR 677 C>T	CC	0,38	0,40	6,22	0,02	0,92	0,84	1,01
	CT	0,48	0,60			0,61	0,35	1,02
	TT	0,14	0,00			-	-	-
Примечание - * различия статистически значимы, $p < 0,05$								

Анализ распределения частот аллелей показал, что аллель 4G гена PAI -1 - 675, достоверно чаще встречались у мужчин основной группы, чем в группе контроля $\chi^2=6,5$; $p=0,02$; OR= 2,09; 95%CI=1,18-3,69 (таблица 14).

Таблица 14 - Сравнительная характеристика распределения частот аллелей по полиморфным вариантам генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у мужчин обследуемых групп

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	p	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	G	0,80	0,80	0,00	1,00	1,00	-	-
	A	0,20	0,20			1,00	-	-
F2 20210	G	0,99	0,98	0,61	0,43	2,54	0,24	26,71

G>A	A	0,01	0,03			0,39	0,04	4,14
F5 1691 G>A	G	0,98	0,98	0,05	0,82	1,26	0,17	9,21
	A	0,02	0,03			0,80	0,11	5,83
PAI -1 -675 5G>4G	5G	0,35	0,53	6,5*	0,02	0,48	0,27	0,84
	4G	0,65	0,47			2,09	1,18	3,69
ITGA2 807 C>T	C	0,49	0,55	0,64	0,42	0,79	0,43	1,42
	T	0,51	0,45			1,27	0,70	2,30
ITGB3 1565 T>C	T	0,88	0,88	0,01	0,92	1,05	0,43	2,58
	C	0,12	0,13			0,95	0,39	2,35
F7 10976 G>A	G	0,87	0,93	1,42	0,23	0,54	0,20	1,49
	A	0,13	0,08			1,84	0,67	5,06
F13 G>T	G	0,70	0,70	0,00	1,00	1,00	-	-
	T	0,30	0,30			1,00	-	-
MTHFR 677 C>T	C	0,62	0,70	1,42	0,25	0,70	0,38	1,25
	T	0,38	0,30			1,4	0,79	2,5
Примечание - * различия статистически значимы, $p < 0,05$								

При использовании доминантной модели наследования у мужчин (таблица 15), совокупность генотипов, содержащих полиморфный аллель 4G в гомо и гетерозиготном состоянии (5G4G+4G4G-доминантная модель), также достоверно чаще встречалась у мужчин основной группы по сравнению с контролем ($\chi^2=4,8$; $p=0,05$; OR= 3,8; 95%CI=1,63-8,9).

Таблица 15 - Сравнительная характеристика распределения частот генотипов по полиморфным вариантам генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у мужчин исследуемых групп (доминантная модель)

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	p	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	GG	0,66	0,70	0,16	0,69	0,83	0,34	2,06
	GA+AA	0,34	0,30			1,20	0,49	2,98
F2 20210 G>A	GG	0,98	0,95	0,62	0,43	2,58	0,24	28,14
	GA+AA	0,02	0,05			0,39	0,04	4,23

F5 1691 G>A	GG	0,96	0,95	0,05	0,82	1,26	0,17	9,61
	GA+AA	0,04	0,05			0,79	0,10	6,03
PAI -1 -675 5G>4G	5G5G	0,08	0,25	4,8*	0,05	0,26	0,11	0,61
	5G4G+4G4G	0,92	0,75			3,8	1,63	8,9
ITGA2 807 C>T	CC	0,22	0,35	1,87	0,17	0,52	0,20	1,34
	CT+TT	0,78	0,65			1,91	0,75	4,88
ITGB3 1565 T>C	TT	0,76	0,75	0,01	0,91	1,06	0,40	2,81
	TC+CC	0,24	0,25			0,95	0,36	2,52
F7 10976 G>A	GG	0,74	0,85	1,61	0,20	0,50	0,17	1,47
	GA +AA	0,26	0,15			1,99	0,68	5,85
F13 G>T	GG	0,56	0,50	0,32	0,57	1,27	0,55	2,96
	GT+TT	0,44	0,50			0,79	0,34	1,83
MTHFR 677 C>T	CC	0,38	0,40	0,04	0,85	0,92	0,39	2,18
	CT+TT	0,62	0,60			1,09	0,46	2,58
Примечание - * различия статистически значимы, $p < 0,05$								

Обосновать исследование плацент

3.4 Результаты морфометрии последов от пациенток с ПН

Морфологические исследования осуществлены в объеме 30 последов, из них 20 последов пациенток основной группы и 10 – контрольной.

При морфологическом исследовании плацент пациенток с суб- и декомпенсированными формами ПН выявлены морфофункциональные изменения, характеризующие неспособность плаценты поддерживать адекватный обмен между организмом матери и плода.

При макроскопическом исследовании плацент основной группы выявлены признаки «напряжения» компенсаторно-приспособительных реакции структурно-сосудистого генеза, проявляющиеся несоответствием плодово-плацентарного коэффициента гестационному сроку.

Бластопатии с отсроченным эффектом в виде аномалии отхождения пуповины выявлены в основной группе в 47% случаев. Варианты аномального прикрепления пуповины вызывают ремоделирование сосудов плаценты и, в связи с этим, влияют на распределение маточно-плацентарного кровотока.

Проявления компенсаторно-приспособительных реакции проявлялись и в структуре пуповины - в 72% случаев регистрировалась ее гиперизвитость.

При исследовании состояния ворсинчатого дерева в основной группе почти в половине случаев имела место патологическая незрелость ворсин (14,5 % в варианте персистенции промежуточных незрелых ворсин и 28,5 % в варианте хаотичных склерозированных ворсин). Очаговое отсутствие субхориального слоя физиологического фибриноида и выявление фибриноида в эпителии и строме ворсин, вплоть до фибриноидного некроза, свидетельствует о дистрофических изменениях в плацентах основной группы.

В контрольной группе, органометрические параметры плацент и общая структура ворсинчатого дерева соответствовали параметрам гестационной нормы.

3.5 Правило прогноза риска формирования суб-и декомпенированной плацентарной недостаточности в семьях с тромбофилией обоих родителей

На основе подробной оценки уровня достоверности клинико-лабораторных данных и результатов молекулярно-генетических исследований с использованием дискриминантного анализа методом распознавания образов, получена математическая модель прогнозирования риска формирования суб-и декомпенированной плацентарной недостаточности в семьях с тромбофилией обоих родителей, подана заявка на изобретение, получена приоритетная справка (№ 2017104043 от 07.02.2017).

Методом распознавания образов на основании дискриминантного анализа из массива данных с учетом значимости выбраны информативные признаки и сформировано правило прогнозирования развития суб- и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности в семьях с тромбофилией обоих родителей, которое заключалось в вычислении прогностического индекса D по формуле:

$$D = K1 \times X1 + K2 \times X2 + K3 \times X3 + K4 \times X4 + K5 \times X5 + \text{const} \quad (1)$$

где

D –Прогностический индекс

X1–Наличие у женщины отягощенного акушерского анамнеза: если да -1, если нет – 0;

X2–наличие у женщины в генотипе полиморфного варианта 1565 TC/CC гена ITGB 3 T 1565 C: если есть -1, если нет – 0;

X3– наличие у женщины в генотипе полиморфного варианта 677 CT/ TT гена MTHFR C677T: если есть -1, если нет – 0;

X4- наличие у мужчины в генотипе полиморфного варианта 675 4G4G гена PAI-1 5G 675 4G: если есть -1, если нет – 0;

X5- наличие у мужчины в генотипе полиморфного варианта 677 TT гена MTHFR C677T: если есть -1, если нет – 0.

K1, K2, K3, K4, K5 – коэффициенты,

при K1 = 2,64, K2 = 0,95, K3 = 0,44, K4 = 0,55, K5 = 1,28

Constant = -1,67

Если значение $D \geq 0$, то супружеская пара относится к группе высокого риска по формированию тяжелых форм плацентарной недостаточности.

Если значение $D < 0$, супружеская пара относится к группе низкого риска по формированию тяжелых форм плацентарной недостаточности.

Чувствительность правила прогноза составляет 74%, специфичность 98,5% , эффективность 84,4%.

Проверку устойчивости и работоспособности математической модели осуществляли методом скользящей экзаменационной выборки на 90 супружеских пар.

Таблица ...- Информативность параметров, входящих в правило прогноза

Параметр	Степень
----------	---------

	информативности
ОАА	0,9
ITGB 3 1565 (TC/CC) у женщин	0,5
MTHFR 677 (CT/ TT) у женщин	0,2
PAI-1 675 (4G4G)	0,3
MTHFR 677 (TT)	0,3

Предложенное правило прогноза дает возможность с высокой степенью вероятности прогнозировать формирование суб- и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности и выделять супружеские пары группы высокого риска по формированию этой патологии.

ГЛАВА 4. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРИНАТАЛЬНЫХ ИСХОДОВ И ТЕЧЕНИЯ РАННЕГО НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА У ПАЦИЕНТОК ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП.

4.1 Анализ способов и сроков родоразрешения

Учитывая признаки внутриутробного страдания плода пациенткам основной группы в 92 % (n=46) случаях произведено абдоминальное родоразрешение. В контрольной группе в 75% (n=30) случаях роды прошли per vias naturales, 25% (n=10) пациенток родоразрешены способом операции кесарева сечения, показаниями явились: аномалия родовой деятельности и рубец на матке от операции кесарева сечения при отсутствии биологической готовности организма к родам (таблица 16).

Срок родоразрешения беременных основной группы составил в среднем $34,06 \pm 0,48$ недель и был достоверно меньше, чем в контрольной группе, где средний срок родоразрешения $39,45 \pm 0,17$ недель ($p < 0,05$).

У 68% (34) пациенток основной группы роды были преждевременными, в связи с осложненным течением беременности.

Таблица 16 - Структура перинатальных исходов у пациенток исследуемых групп

Исследуемый параметр	Основная группа n=50	Контрольная группа n=40	P
Срок родоразрешения, М±m	34,3±0,48	39,5±0,12	P <0,001
роды срочные, %	32	100	
роды преждевременные, %	68	0	
роды per vias naturales, %	8	75	
КС, %	92	25	
из них:			
КС плановое, %	57	60	
КС экстренное, %	43	40	
рубец на матке, %	0	60	
аномалии родовой деятельности, %	0	40	

Оценка состояния детей на момент рождения проводилась по шкале Апгар на первой и пятой минутах и составила в основной группе $4,98 \pm 0,34$ и $6,07 \pm 0,37$ балла соответственно, против $7,4 \pm 0,08$ и $8,16 \pm 0,06$ баллов в группе контроля, что свидетельствует о перенесенной внутриутробной гипоксии плода основной группы ($p < 0,05$) (таблица 17). **Оценивалась степень тяжести асфиксии, асфиксия умеренной, средней и тяжелой степени тяжести встречались только в основной группе и составили 32%, 18% и 6 %, соответственно.**

При исследовании массо-ростовых показателей в обследуемых группах выявлены достоверные различия ($p < 0,05$). В основной группе у доношенных новорожденных вес составил 2458 ± 102 грамм, рост $47,1 \pm 0,7$ см и были достоверно меньше, чем в группе контроля ($3391,7 \pm 49,68$ грамм и $51,70 \pm 0,25$ см) (таблица 17).

Таблица 17 - Общая характеристика новорождённых при рождении, (M±m)

Основные показатели	Основная группа (n=50)	Контрольная группа (n=40)	Достоверность различий, p
Гестационный возраст, недель	34,3±0,48	39,5±0,12	P <0,001
Масса тела (доношенных детей), г	2458,7±120	3391,7±49,68	P <0,001
Длина тела (доношенных детей), см	47,1±0,7	51,70±0,25	P <0,001
Оценка по шкале Апгар на 1 мин.	4,98±0,34	7,4±0,08	P <0,001
Оценка по шкале Апгар на 5 мин.	6,07 ±0,37	8,16±0,06	P <0,001



Таблица 18 - Оценка степени тяжести асфиксии новорожденных при рождении по 1 минуте шкалы Апгар в исследуемых группах,

	Основная группа (n=44)		Контрольная группа (n=20)	
	абс	%	абс	%
Умеренной степени (6 баллов)	16	32	0	0
Средней степени (4-5 баллов)	9	18	0	0
Тяжелой степени (0-3 балла)	3	6	0	0
АГП	7	14	0	0

4.2 Особенности системы гемокоагуляции у новорожденных исследуемых групп

При исследовании гемокоагуляции у новорожденных получено достоверно значимое снижение уровня тромбоцитов в основной группе, в сравнение с

контролем ($227,1 \pm 15,84 \cdot 10^9/\text{л}$ против $289,5 \pm 12,24 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$). По данным клоттинговых тестов (таблица 18) выявлена тенденция к гиперкоагуляции, что характеризовалось достоверным повышением уровня фибриногена до $2,75 \pm 0,1$ г/л против $2,39 \pm 0,1$ г/л в контроле, и укорочением АЧТВ до $45,6 \pm 1,4$ сек. у детей основной группы, в сравнении с группой контроля – $53,2 \pm 1,48$ сек. ($p < 0,05$).

Таблица 18 - Сравнительная характеристика гемостаза у новорожденных, (M±m)

Параметр системы гемостаза, ед. изм.	Основная группа (n=43)	Контрольная группа (n=40)	p
Тромбоциты, $1 \times 10^9/\text{л}$	$227,8 \pm 15,8^*$	$289,5 \pm 12,2$	0,002
Фибриноген, г/л	$2,75 \pm 0,1^*$	$2,39 \pm 0,1$	0,01
ТВ, сек.	$21,8 \pm 0,8$	$21,0 \pm 0,8$	0,27
АЧТВ, сек.	$45,4 \pm 1,4^*$	$53,2 \pm 1,8$	0,002
МНО, %	$1,24 \pm 0,05$	$1,18 \pm 0,07$	0,27
РФМК, мг/%	$6,59 \pm 0,8$	$5,83 \pm 0,5$	0,21
АТ III	$64,5 \pm 3,7$	$66,9 \pm 3,1$	0,31

Примечание - * различия статистически значимы, $p < 0,05$

По данным ТЭГ (таблица 19) получено достоверно значимое укорочение интервала R ($p < 0,05$), отражающего скорость образования сгустка и характеризующего первую и вторую фазу свертывания крови, и укорочение параметра K, характеризующего кинетику увеличения прочности сгустка. Величина угла α (Angle), характеризующая динамику образования фибрина, была наибольшей у детей основной группы ($55,9 \pm 1,84$ град.) и достоверно отличалась от таковой у новорожденных контрольной группы ($50,3 \pm 1,76$ град, $p < 0,05$).

Выявлена также достоверная разница структурных характеристик сгустка у новорожденных основной группы в виде уменьшения его плотности (МА) –

53,3±1,33 мм, против 57,6±1,19 мм в контрольной группе, (p<0,05) и максимальной эластичности (E) – 122,2±7,64, против 142,9±6,67 в контрольной группе (p<0,05).

Таблица 19 - Сравнительная характеристика показателей ТЭГ у новорожденных

Параметр ТЭГ, ед. изм.	Основная группа (n=43)	Контрольная группа (n=40)	p
R, мин.	5,92±0,45*	9,17±0,65	<0,001
K, мин.	1,84±0,21*	2,51±0,30	0,03
угол α, град.	55,9±1,84*	50,3±1,76	0,02
МА, мм	53,3±1,33*	57,6±1,19	0,01
E	122,2±7,64*	142,9±6,67	0,03
CI	1,06±0,21	1,12±0,21	0,42
LY30, %	0,51±0,22	0,18±0,07	0,08

Примечание -* различия статистически значимы, p <0,05

Таким образом, у детей, рожденных от женщин с различными формами ПН по данным ТЭГ также были выявлены лабораторные признаки активации внутрисосудистого микросвертывания крови, характеризующееся укорочением R и K и увеличением угла α. Отмечено достоверно значимое (p<0,05) снижение количества и функциональной активности тромбоцитов у новорожденных основной группы, в сравнении с контролем.

4.3 Особенности молекулярно-генетических механизмов регуляции системы гемостаза новорожденных исследуемых групп

У новорожденных проведен анализ распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам тех же генов, что у родителей. Получены достоверно значимые отличия в группах по частоте встречаемости аллелей и генотипов генов: PAI -1 675 G>4G; ITGA2 807 C> T; MTHFR 677 C> T (таблица 20).

Полиморфный вариант 4G4G гена PAI -1 675 достоверно чаще встречались у новорожденных основной группы, чем в группе контроля ($\chi^2=6,15$; $p=0,05$; OR= 2,90; 95%CI=1,23- 6,79). Частота встречаемости патологической гомозиготы гена PAI -1 675 у новорожденных основной группы составила 42%, и была выше, чем у их родителей (36% у женщин и 38% у мужчин).

Патологическая гомозигота гена ITGA2 807 выявлена у 18 % основной группы новорожденных и не встречалась в контроле.

Получены достоверно значимые отличия по частоте встречаемости полиморфных вариантов гена MTHFR: 677 C> T, генотип СТ в 2,7 раз чаще определялся у новорожденных основной группы, в сравнение с контрольной группой ($\chi^2=10,88$; $p=0,0004$; OR= 4,7; 95% CI=1,85-11,92).

Таблица 20 - Сравнительная характеристика распределения частот генотипов по полиморфным вариантам генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у новорожденных исследуемых групп

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квadrat	p	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	GG	0,62	0,50	1,31	0,52	1,63	0,70	3,82
	GA	0,30	0,40			0,64	0,30	1,38
	AA	0,08	0,10			0,78	0,51	1,20
F2 20210 G>A	GG	1,00	0,98	-	-	-	-	-
	GA	0,00	0,03			0,00	-	-
	AA	0,00	0,00			-	-	-
F5 1691 G>A	GG	0,94	0,95	-	-	0,82	-	-
	GA	0,06	0,05			1,21	-	-
	AA	0,00	0,00			-	-	-
PAI -1 -675 5G>4G	5G5G	0,08	0,20	6,15*	0,05	0,35	0,15	0,81
	5G4G	0,50	0,60			0,67	0,48	1,01
	4G4G	0,42	0,20			2,90	1,23	6,79
ITGA2 807 C>T	CC	0,32	0,37	8,02*	0,01	0,8	0,44	1,43
	CT	0,50	0,63			0,58	0,33	1,04
	TT	0,18	0,00			-	-	-
ITGB3 1565 T>C	TT	0,72	0,80	-	-	0,64	-	-
	TC	0,28	0,20			1,56	0,80	2,9
	CC	0,00	0,00			-	-	-
F7 10976 G>A	GG	0,82	0,75	-	-	1,52	-	-
	GA	0,18	0,25			0,66		-
	AA	0,00	0,00			-	-	-
F13 G>T	GG	0,46	0,45	1,17	0,56	1,04	0,97	1,12
	GT	0,46	0,40			1,28	0,81	2,00
	TT	0,08	0,15			0,49	0,13	1,81
MTHFR 677 C>T	CC	0,36	0,65	10,88*	0,0004	0,30	0,15	0,62
	CT	0,54	0,20			4,70	1,85	11,92

	ТТ	0,10	0,15			0,63	0,48	0,83
Примечание -* различия статистически значимы, $p < 0,05$								

Анализ распределения частот аллелей показал, что аллель 4G гена PAI -1 675 достоверно чаще встречались у новорожденных основной группы, чем в группе контроля $\chi^2=5,33$; $p=0,02$; OR= 2,03; 95%CI=1,11 -3,72 (таблица 21).

Таблица 21 - Сравнительная характеристика распределения частот аллелей по полиморфным вариантам генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у новорожденных исследуемых групп

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	p	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	G	0,77	0,70	1,13	0,29	1,43	0,73	2,81
	A	0,23	0,30				0,70	0,36
F2 20210 G>A	G	1,00	0,99	1,26	0,26	-	-	-
	A	0,00	0,01				0,00	-
F5 1691 G>A	G	0,97	0,98	0,04	0,84	0,83	0,13	5,14
	A	0,03	0,03				1,21	0,19
PAI -1 -675 5G>4G	5G	0,33	0,50	5,33*	0,02	0,49	0,27	0,90
	4G	0,67	0,50				2,03	1,11
ITGA2 807 C>T	C	0,57	0,65	1,19	0,28	0,71	0,39	1,31
	T	0,43	0,35				1,40	0,76
ITGB3 1565 T>C	T	0,86	0,90	0,66	0,42	0,68	0,27	1,72
	C	0,14	0,10				1,47	0,58
F7 10976	G	0,91	0,88	0,58	0,45	1,44	0,56	3,76

G>A	A	0,09	0,13			0,69	0,27	1,80
F13 G>T	G	0,69	0,65	0,32	0,57	1,20	0,64	2,25
	T	0,31	0,35			0,83	0,44	1,57
MTHFR 677 C>T	C	0,63	0,75	2,96	0,09	0,57	0,30	1,09
	T	0,37	0,25			1,76	0,92	3,37
Примечание -* различия статистически значимы, p <0,05								

При использовании доминантной модели наследования (таблица 23), совокупность генотипов, содержащих аллель 677Т в гомо и/ или гетерозиготном состоянии (СТ+ТТ) достоверно чаще встречалась у новорожденных основной группе, чем у новорожденных контрольной группы ($\chi^2=7,48$; p =0,01; OR= 3,33; 95% CI= 1,39 - 7,86).

Таблица 23 - Сравнительная характеристика распределения частот генотипов по полиморфным вариантам генов агрегатного состояния крови и ключевого фермента обмена гомоцистеина у новорожденных исследуемых групп (доминантная модель наследования)

Полиморфизм	генотип	Основная группа	Контрольная группа	хи-квадрат	р	OR	95% CI	
FGB -455 G>A	GG	0,62	0,50	1,30	0,25	1,63	0,70	3,83
	GA+AA	0,38	0,50			0,61	0,26	1,44
F2 20210 G>A	GG	1,00	0,98	1,26	0,26	-	-	-
	GA+AA	0,00	0,03			0,00	-	0,00
F5 1691 G>A	GG	0,94	0,95	0,04	0,84	0,82	0,13	5,31
	GA+AA	0,06	0,05			1,21	0,19	7,81
PAI -1 -675 5G>4G	5G5G	0,08	0,20	2,77	0,10	0,35	0,10	1,23
	5G4G+4G4G	0,92	0,80			2,88	0,81	10,15
ITGA2 807 C>T	CC	0,32	0,37	0,04	0,84	1,24	0,69	2,2
	CT+TT	0,68	0,63			0,8	0,44	1,43
ITGB3 1565	TT	0,72	0,80	0,77	0,38	0,64	0,24	1,75

T>C	TC+CC	0,28	0,20			1,56	0,57	4,23
F7 10976 G>A	GG	0,82	0,75	0,65	0,42	1,52	0,54	4,24
	GA +AA	0,18	0,25			0,66	0,24	1,84
F13 G>T	GG	0,46	0,45	0,01	0,92	1,04	0,45	2,43
	GT+TT	0,54	0,55			0,96	0,41	2,24
MTHFR 677	CC	0,36	0,65	7,48*	0,01	0,30	0,72	0,13
C>T	CT+TT	0,64	0,35			3,30	1,39	7,86
Примечание -* различия статистически значимы, p <0,05								

4.4 Оценка раннего неонатального периода у новорожденных

Учитывая тяжесть состояния при рождении в 76 % (n=38) случаев новорожденные были переведены в отделение реанимации и интенсивной терапии.

Осложненное течение раннего неонатального периода у детей основной группы послужило основанием для более длительной госпитализации, 65% (28) детей проходили реабилитацию в отделение ранней реабилитации новорожденных, продолжительность госпитализации у этих детей составил от 7 до 81 суток.

Проведена оценка неврологического статуса новорожденных на 3-5 сутки. При анализе состояния новорожденных по данным нейросонографии, Церебральная ишемия диагностирована у 84 % (n=36) новорожденных основной группы, из них у 63% (n=27) новорожденных имела место неврологическая симптоматика (таблица 15).

Таблица 15 - Характеристика неврологических нарушений у новорожденных, по данным нейросонографии

Показатели	Основная группа (n=43)	Контрольная группа (n=40)
------------	---------------------------	------------------------------

	Абс	%	Абс	%
Без ЦИ	7	16	40	100
Церебральная ишемия I степени	9	21	0	-
Церебральная ишемия II степени	12	28	0	-
Церебральная ишемия III степени	15	35	0	-
Наличие неврологической симптоматики	27	63	0	-

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Плацентарная недостаточность до настоящего времени остается одной из актуальных проблем современного акушерства. В структуре перинатальной заболеваемости и смертности существенная доля принадлежит обусловленным с ней осложнениям [2,41,25].

Несмотря на то, что проблемой плацентарной недостаточности и задержки внутриутробного развития плода во всем мире занимаются акушеры, неонатологи и перинатологи уже более сорока лет, до сих пор не изучены в полной мере вопросы этиологии и патогенеза данного синдрома [59,17].

Проведя анализ и оценку полученных результатов при изучении проблемы ПН, хочется отметить, что на сегодняшний день в вопросах ранней диагностики и прогнозировании перинатальных осложнений остается еще много нерешенных вопросов:

- влияет ли мужской фактор на формирование суб-и декомпенсированной плацентарной недостаточности,
- возможно ли прогнозировать развитие плацентарной недостаточности до формирования ее клинических проявлений , когда способы ее коррекции

уже малоэффективны и оказывают только поддерживающее значение, так как компенсаторно - приспособительные резервы плаценты уже истощены.

- нет однозначного ответа влияет ли тромбофилия плода на нарушение гемокоагуляции в зоне контакта материнской крови и трофобласта, приводя к формированию плацентарной недостаточности,
- остается не изучено состояние системы гемокоагуляции у новорожденных от женщин с суб-и декомпенсированными формами ПН.

Согласно данным литературы, наличие отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза является одним из ведущих факторов риска в развитие суб-и декомпенсированных форм ПН, однако не стоит забывать, что и у относительно здоровых первобеременных первородящих женщин есть вероятность формирования плацентарной недостаточности. Возможно, отсутствие социально-бытовых, акушерско-гинекологических и внешних факторов в генезе ПН, свидетельствует о генетических механизмах формирования данной патологии [38,40,44].

По нашим данным, у пациенток с суб-и декомпенсированными формами ПН, достоверно чаще встречались патологические варианты полиморфизмов генов тромбофилии и фолатного обмена: PAI -1 675 5G>4G (PAI -1:675_4G), ITGB3 1565 T> C (ITGB3 1565 TC), F13 103 G> T (F13 103 G_), MTHFR 677 C> T (MTHFR 677 _T) .

При изучении структуры частоты встречаемости патологических полиморфизмов генов тромбофилии у пациенток с суб-и декомпенсированными формами ПН, было установлено, что наиболее часто встречаемыми полиморфизмами являются патологическая гомозигота гена PAI -1 675 (4G4G) и гетерозигота ITGB3 1565 (CT), которые встречались в 36 % случаев, и увеличивали риск формирования ПН в 2.5 и 5 раз соответственно.

Известно, что PAI-1 обеспечивает до 60% общей ингибиторной активности в отношении активатора плазминогена в плазме крови и тем самым играет важную роль в регуляции фибринолиза. При варианте 4G4G уровень PAI-1 в

плазме крови повышается на 25 %.. По некоторым данным аллель 4G ассоциирован с бесплодием, ранней потерей плода, преэклампсией, неудачами ЭКО [133,117]. Это объясняется тем, что аллель 4G ассоциирован с повышенной продукцией ингибитора активатора плазминогена 1, что приводит к ингибированию процессов фибринолиза, что имеет значение не только для лизиса тромбов, но и для деградации коллагена и процессов ангиогенеза.

Наличие в генотипе аллеля «риска» по полиморфным локусам гена GP1IIa, по данным литературы, служит предрасполагающим фактором для развития первичной ПН. Ген GP1IIa контролирует синтез клеточных рецепторов – интегринов, которые влияют на формирования «окна имплантации» [75].

Проведенные исследования показали протективный эффект аллеля T и генотипов GT и TT в отношении формирования ПН. Аллель G и генотип GG гена F13 103 G> T ассоциирован с риском формирования ПН, что подтверждает литературные данные о протективной роли аллеля 103T гена F13 по отношению к артериальному и венозному тромбозу [74,118].

Общепризнанно, что основным генетическим маркером фолатного обмена, в большей степени оказывающим влияние на формирование патологии гемокоагуляции является полиморфизм C677T гена MTHFR. Патологический полиморфизм по этому гену считается генетической гипергомоцистеинемией U гомозигот по полиморфному аллелю активность фермента (гомоцистеина) *in vitro* снижена на 70%, у гетерозигот – на 35%. Частота встречаемости патологической гомозиготы в популяции составляет 10%, гетерозиготы – 40% [7,68,71,112,127].

Нами получены ассоциации аллеля T и генотипов CT+TT гена MTHFR у женщин с ПН. Патологическая гомозигота 677TT гена MTHFR выявлена нами у 12% пациенток с ПН, Частота встречаемости гомозиготы 677TT и гетерозиготы 667CT у пациенток с ПН была выше, чем в популяции (12 % и 58 %). Носительство редкого аллеля гена MTHFR (T) в 2,4 раза увеличивало риск формирования ПН.

Доказано, что ведущая роль в нарушении гемодинамики плаценты принадлежит реокоагуляционным расстройствам. В норме, исходная физиологическая гиперкоагуляция крови, достигающая максимального развития к концу III триместра, обеспечивает локальный гемостаз в матке после родов. В случае патологии, приводящей к активации системы гемостаза, гиперкоагуляция теряет свою защитную функцию и способствуют нарушению гемодинамики в плаценте [70,65,56,46].

Для конкретизации коагулопатических расстройств материнского организма, ассоциированных с генетическими поломками и приводящих к формированию тяжелых форм ПН, нами проводилось углубленное исследование системы гемостаза как клоттинговыми тестами, так и при помощи ТЭГ. В результате исследования выявлены признаки активации внутрисосудистого микросвертывания крови за счет гиперкоагуляции во внутреннем звене гемостаза (повышение концентрации в плазме крови РФМК и ФГ, укорочение интервалов «R» и «K», увеличение угла α , повышение СИ) и снижении активности естественных антикоагулянтов (АТ III).

Полученные результаты подтверждают, литературные данные о роли состояния системы гемостаза в формировании ПН. Беременность, являясь фактором риска тромбозов, увеличивает опасность тромбоэмболических осложнений и является уникальным тестом наличия скрытой тромбофилии и способствует ее фенотипическому проявлению [7,12,18,37,47].

Если ранее обсуждалась лишь роль материнской тромбофилии в патогенезе акушерских осложнений, то на сегодняшний день появляются данные о роли плодовой тромбофилии в генезе репродуктивных потерь. Учитывая, что плацента является по своей гистогенетической сущности комплексным органом, в образовании которого принимают участие организм матери и плода, в свою очередь процесс коагуляции в зоне контакта материнской крови и трофобласта содружественно регулируется системными факторами свертывания матери и

клеточными регуляторными компонентами, экспрессирующимися на поверхности клеток трофобласта, что определяется генами плода [31,16].

Множественные врожденные аномалии коагуляции крови могут также передаваться по наследству плоду как от матери, так и от отца, что обуславливает тромбообразование в плаценте со стороны плода. Пока нет однозначного ответа, является ли риск патологии плаценты более высоким по причине материнской или плодовой тромбофилии, по отдельности или в сочетании, однако исследования последних лет свидетельствуют о важной роли наследственности плода в общем риске тромбоза [63,67].

В условиях материнской и плодовой тромбофилии происходит нарушение баланса про- и антикоагулянтных механизмов, пролиферации трофобласта, имплантации, плацентации, роста плода, наблюдается развитие системной эндотелиальной дисфункции, активация провоспалительного ответа и, следовательно, создаются условия для развития акушерских осложнений [151,52].

По результатам нашего исследования, у детей от женщин с осложненным течением беременности в виде суб- или декомпенсированной формы ПН также выявлены лабораторные признаки активации внутреннего звена гемостаза (..), имеет место достоверно значимое снижение количества тромбоцитов по сравнению с нормой ($231 \pm 9,50$ и $244 \pm 10,25 * 10^9$, соответственно) и их функциональной активности.

При анализе распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам получены патологические полиморфизмы генов: PAI -1 675 5 G>4G (PAI -1:675 4G4G); ITGA2 807 C> T (ITGA2 807 TT); MTHFR 677 C> T (MTHFR 677 CT).

Частота встречаемости патологической гомозиготы (4G4G) гена PAI -1 675 у новорожденных основной группы составила 42%, и была выше, чем у их родителей (36% у женщин и 38% у мужчин).

В настоящее время основным клиническим методом диагностики плацентарной недостаточности при беременности является ультразвуковая

фетометрия и доплерометрия кровотока в сосудах функциональной системы мать–плацента–плод. В основном при УЗ исследовании физиологические и морфологические процессы, развивающиеся в плаценте при ПН мы видим начиная со II триместра беременности. Однако, очевидно, что формируются эти процессы гораздо раньше и носят универсальный, на первом этапе адаптивный, а позднее патологический характер. Таким образом данный метод исследования не является прогностически значимым [22,10].

В настоящее время, мы не можем на преграведарном этапе и в течение беременности, не используя не инвазивные методы диагностики, оценить влияет ли плодовая тромбофилия на формирование суб- и декомпенсированных форм ПН. Однако, в соответствии с Менделевским типом наследования, плод унаследует гены белков свертывающего каскада, каждый из которых представлен двумя аллелями, один из которых он получил от матери, второй – от отца.

С целью выявления вклада отцовской тромбофилии в формирование родительно-плодовой тромбофилии проведено молекулярно - генетическое типирование мужчин.

У мужчин патологические гомозиготные варианты 4G4G и TT генов PAI - 1 675 и MTHFR 677, встречались достоверно чаще и выявлены в 38% и 14% случаев, наличие гомозиготного варианта 4G4G увеличивает риск формирования ПН в 2,9 раз.

Проведенные исследования и полученные результаты позволили предложить для клинического использования способ прогнозирования риска формирования суб – и декомпенсированных форм ПН в семьях с тромбофилией обоих родителей, путем проведения молекулярно-генетического типирования супружеской пары, заключающийся в том, что при сочетании патологических полиморфизмов генов ITGB3 (1565T> C) и MTHFR (677C> T) у матери и патологических полиморфизмов генов PAI-1 (5G>4G) и MTHFR (677C> T) у отца, с учетом акушерского анамнеза, вычисляют прогностический индекс D по

формуле (приоритетная справка по заявке на патент рег. № 2017104043 от 07.02.2017):

$$D = K_1 \times X_1 + K_2 \times X_2 + K_3 \times X_3 + K_4 \times X_4 + K_5 \times X_5 + \text{Const}$$

где:

D – прогностический индекс

X₁ – наличие у женщины отягощенного акушерского анамнеза: если есть -1, если нет – 0;

X₂ – наличие у женщины в генотипе полиморфного варианта 1565 TC/CC гена ITGB 3 T 1565 C: если есть -1, если нет – 0;

X₃ – наличие у женщины в генотипе полиморфного варианта 677 CT/ TT гена MTHFR C677T: если есть -1, если нет – 0;

X₄ – наличие у мужчины генотипа 675 4G4G гена PAI-1 5G6754G: если есть -1, если нет – 0;

X₅ – наличие у мужчины генотипа 677 TT гена MTHFR C677T: если есть -1, если нет – 0,

K_1, K_2, K_3, K_4, K_5 – коэффициенты,

при $K_1 = 2,64$ $K_2 = 0,95$ $K_3 = 0,44$ $K_4 = 0,55$ $K_5 = 1,28$

$Constant = -1,67$

При значении $D \geq 0$ делают заключение о высоком риске развития суб- и декомпенсированных форм ПН, а при значении $D < 0$ делают заключение о низком риске развития суб- и декомпенсированных форм ПН.

Чувствительность правила прогноза составляет 74%, специфичность 98,5%, эффективность 84,5%.

Полученное правило прогноза позволило сформулировать алгоритм обследования супружеских пар и ведения беременности у пациенток группы риска формирования ПН (рисунок 3).



Рисунок 3 – Алгоритм обследования супружеских пар и ведения беременности у пациенток группы риска формирования ПН

Согласно предложенному алгоритму, при определении $D < 0$, супружеская пара имеет низкий риск формирования суб- и декомпенсированной ПН,

беременная не нуждается в специфической терапии и требует лишь динамического наблюдения за течением беременности.

При определении $D \geq 0$, пациентке требуется расширенное исследование гемостаза, патогенетически обоснованная коррекция гемостазиологических нарушений с динамическим контролем за состоянием свертывающего потенциала, фетоплацентарного комплекса и новорожденного.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток с суб- и декомпенсированными формами ПН не отмечалось особенностей в соматической патологии. Акушерско-гинекологический анамнез был представлен привычным невынашиванием беременности (16%), регрессирующей беременностью (22%), самопроизвольными выкидышами (24%), преждевременными родами (16%), плацентарной недостаточностью, с исходом в СЗРП (18%), ПОНРП (12%), АГП (10%). Зарегистрирован высокий удельный вес женщин с бесплодием (26%). Течение беременности в 64 % случаев осложнилось субкомпенсированной формой ПН, в 36 % - декомпенсированной формой ПН, из них в 22% случаев имелось острое течение ПН в виде ПОНРП и в 14 % АГП.
2. У пациенток с суб- и декомпенсированными формами ПН выявлены гиперкоагуляционные нарушения во внутреннем звене гемостаза (укорочение интервалов «R» и «K», увеличение угла α , повышение CI по данным ТЭГ), признаки активации внутрисосудистого микросвертывания крови (повышение РФМК) и снижение активности естественных антикоагулянтов (АТ III), ассоциированные с патологическими полиморфизмами (PAI -1 675 (4G4G), ITGB3 1565 (CT), MTHFR 677 (CT, TT), в сочетании с патологическими полиморфизмами генов тромбофилии отца (PAI -1 675 (4G4G) и MTHFR 677 (TT), передаваемыми плоду по наследству на основании Менделевского распределения, обуславливают васкулярную патологию плаценты, как с

материнской, так и с плодовой стороны и **увеличивают риск формирования ПН в 5 раз.**

3. Дети, от женщин с суб- и декомпенсированными формами ПН чаще были недоношенными (68%), имели более низкие антропометрические показатели, в связи с СЗРП, высокий удельный вес асфиксии при рождении (56%) и ЦИ (84%) с неврологической симптоматикой (63%) в раннем неонатальном периоде. При гемостазиологическом обследовании у новорожденных выявлены лабораторные признаки гиперкоагуляционных нарушений (укорочение интервалов R и K и увеличение угла α по ТЭГ; укорочение АЧТВ), а также достоверно значимое снижение количества и функциональной активности тромбоцитов, являющиеся реализацией генетических полиморфизмов генов тромбофилии и ключевого фермента обмена гомоцистеина (PAI -1 675 (4G4G); ITGA2 (TT); MTHFR 677 (CT)).
4. Проведенное комплексное исследование генетически детерминированной патологии системы гемостаза , позволило определить наиболее значимые критерии формирования суб – и декомпенсированной формы ПН в семьях с тромбофилией обоих родителей и разработать правило прогноза указанных осложнений, имеющее высокую степень информативности (чувствительность 74%, специфичность 98,5% , эффективность 84,4%) и позволяющее достоверно прогнозировать формирование суб-и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности. Полученное правило прогноза позволило сформулировать алгоритм обследования супружеских пар.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем супружеским парам необходимо проводить молекулярно-генетическое типирование полиморфизмов генов коагуляционного каскада

и ключевого фермента обмена гомоцистеина с целью выявления групп риска формирования ПН.

2. После молекулярно-генетического типирования супружеской пары с учетом акушерско-гинекологического анамнеза пациентки, необходимо определить степень риска формирования суб- и/или декомпенсированной формы плацентарной недостаточности с использованием решающего правила прогноза и прогностического индекса D.
3. Всем беременным, высокого риска формирования суб- и декомпенсированной формы плацентарной недостаточности ($D \geq 0$), необходимо проводить исследование состояния системы гемостаза, включающее, как клоттинговые тесты, так и тромбоэластографию и проводить динамическое наблюдение за состоянием фетоплацентарного комплекса.
4. При определении у пациентки низкого риска перинатальных осложнений ($D < 0$), показано обычное динамическое наблюдение за течением беременности.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	– артериальная гипертензия
АПС	– активированный протеин С
АТ-III	– антитромбин III
АТФФ (АСЕ)	– ангиотензинпревращающий фермент

АЧТВ	– активированное частичное тромбопластиновое время
ВТЭ	– венозный тромбоз эмболизм
ГСД	– гестационный сахарный диабет
ДВС	– диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИМ	– инфаркт миокарда
КС	– кесарево сечение
КТГ	– кардиотокография
МНО	– международное нормализованное отношение
НМПК	– нарушение маточно-плацентарного кровообращения
ПН	– плацентарная недостаточность
ПНБ	– привычное невынашивание беременности
ППЦНС	– перинатальное поражение центральной нервной системы
РФМК	– растворимые фибрин-мономерные комплексы
СД	– сахарный диабет
СЗРП	– синдром задержки роста плода
ТАП	– тканевой активатор плазминогена
ТВ	– тромбиновое время
ТГВ	– тромбоз глубоких вен
ТЭГ	– тромбоэластография
ТЭЛА	– тромбоэмболия легочной артерии
УАП	– урокиназный активатор плазминогена
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ФА	– фибринолитическая активность
ФГ	– фибриноген
ЦИ	– церебральная ишемия
ЦНС	– центральная нервная система
F5:1691G>A	– мутация Лейдена
F2	– ген протромбина

FBG	– ген фибриногена
ITGA2	– ген гликопротеинов рецепторов тромбоцитов
ITGB3	– ген гликопротеинов рецепторов тромбоцитов
MTHFR	– ген метилентетрагидрофолатредуктазы
MTR	– ген метионин-синтазы
MTRR	– ген метионин-синтазы-редуктазы
PAI-I	– ген ингибитора активатора плазминогена I типа
vWF	– фактор фон Виллебранда

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Sood R. Thrombophilia and fetal loss: Lessons from gene targeting in mice // *Thromb. Res.* — 2009. — Vol.123, Suppl.2. — P.S79–84,

Зайнулина М.С., Бикмуллина Д.Р., Корнюшина Е.А. ТРОМБОФИЛИЯ: ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР ИЛИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ОСЛОЖНЕННОГО ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2010. Т. LIX. № 1. С. 18-30.