

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

УДК 616.151.511:616-005.6-097:575.174.015.3]-074:618.39

**ГРИНЕВИЧ**  
**Татьяна Николаевна**

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ТРОМБОФИЛИЙ И  
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ  
У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ  
БЕРЕМЕННОСТИ**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Минск, 2018

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет».

**Научный руководитель:** **Ляликов Сергей Александрович**,  
доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой клинической  
лабораторной диагностики и иммунологии  
учреждения образования «Гродненский  
государственный медицинский университет»

**Официальные оппоненты:** **Костюк Светлана Андреевна**,  
доктор медицинских наук, доцент, профессор  
кафедры эпидемиологии и микробиологии  
государственного учреждения образования  
«Белорусская медицинская академия  
последипломного образования»  
**Можейко Людмила Федоровна**,  
доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой акушерства и гинекологии  
учреждения образования «Белорусский  
государственный медицинский университет»

**Оппонирующая организация:** Учреждение образования «Гомельский  
государственный медицинский университет»

Защита состоится «19» апреля 2018 года в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.15.02 при ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» по адресу: 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корп. 3; тел. (017) 2920534; e-mail: dissovet@tut.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Автореферат разослан «9» марта 2018 года.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций  
кандидат медицинских наук, доцент



И. И. Бурко

## ВВЕДЕНИЕ

Невынашивание беременности (НБ) – одна из весьма актуальных современных проблем акушерства и гинекологии [А. Агаджанова, 2003; В. Сидельникова 2013; Г. Савельева, 2016]. Несмотря на значительные успехи акушерско-гинекологической службы, частота встречаемости данной формы патологии остается стабильно высокой и достигает 25% от общего числа всех клинически выявленных беременностей [С. Якутовская, 2004; О. Пересада, 2015].

Причины НБ чрезвычайно разнообразны [Л. Можейко, 2013; В. Сидельникова 2014]. По мнению ряда исследователей, в структуре причин привычного невынашивания беременности (ПНБ) тромбофилические состояния составляют от 40 до 65% [Н. Ford, 2009; В. Brenner 2013; А. Макацария 2016]. В связи с этим своевременная и точная диагностика состояния тромбофилии особо актуальна для акушерско-гинекологической практики, так как дефекты в системе свертывания крови могут долго себя не проявлять и возникают только при беременности [С. Benedetto, 2010; А. Макацария 2016].

Несмотря на большой интерес к проблеме тромбофилий в акушерской практике, диагностика данной патологии сложна и недостаточно разработана. Это объясняется неоднородностью патогенетических механизмов, лежащих в основе развития тромбофилических состояний [Г. Савельева, 2009; О. Аржанова, 2014]. Хотя механизм развития дисбаланса между про- и антитромботическими факторами в системе гемостаза может быть разным в зависимости от типа тромбофилии, большинство тромбофилий сопровождаются гиперкоагуляционным состоянием [F. Preston, 2006; R. Rai, 2013; А. Момот, 2015]. Лабораторная диагностика протромботического состояния – сложная задача, поскольку скрининговые коагулологические тесты лишь косвенно отражают тромбинемию [О. Аляутдина, 1999; К. Suega, 2011; Н. Оганесян, 2011]. Эти тесты характеризуют лишь отдельные блоки системы и не позволяют определить интегральное состояние гемостаза. Сегодня все больший интерес вызывают глобальные [А. Момот, 2015; Е. Липец, 2015] тесты системы гемостаза, позволяющие выявить гиперкоагуляционное состояние и провести оценку итогового гемостатического потенциала крови пациентки с учетом всех возможных факторов [M. Othman, 2010; R. Rai, 2013; H. Wolski, 2016].

Несмотря на то, что взаимосвязь между невынашиванием беременности и тромбофилией уже доказана, до сих пор отсутствуют надежные методы, позволяющие диагностировать тромбофилические состояния и прогнозировать риск возникновения тромботических осложнений во время беременности у женщин с привычным невынашиванием беременности. Актуальность решения данной проблемы и послужила основанием к выполнению настоящего исследования.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами**

Работа выполнена в рамках двух межкафедральных инициативных тем НИР: «Оценка диагностической и прогностической значимости факторов иммунного ответа при дисгормональных состояниях, воспалительных и опухолевых процессах» (№ госрегистрации 20111127 от 01.06.2011, срок выполнения: 01.01.2011-31.12.2015), «Состояние местного иммунитета при воспалительных, репаративных, дисгормональных и опухолевых процессах» (№ госрегистрации 20161616 от 18.05.2016, срок выполнения: 01.01.2016-31.12.2020).

Тема диссертационной работы соответствует п.п. 4.2 и 4.3 перечня приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2011-2015 гг., приведенных в постановлении Совета Министров Республики Беларусь от 19.04.2010 г. № 585, а результаты направлены на решение основных задач Национальной программы демографической безопасности на 2011-2015 гг., утвержденной Указом Президента Республики Беларусь от 12.09.2012 № 406, по укреплению репродуктивного здоровья населения, охране материнства и детства.

### **Цель и задачи исследования**

**Цель исследования:** на основании исследования молекулярно-генетических и гемостазиологических факторов, определяющих коагуляционный потенциал плазмы, условия тромбообразования и структурно-функциональные свойства сгустка крови, разработать алгоритм диагностики и критерий прогнозирования тромботических осложнений у женщин с привычным невынашиванием беременности.

### **Задачи исследования:**

1. Установить диапазоны показателей лабораторных тестов оценки формирования и структурно-функционального состояния кровяного сгустка, отражающих основные параметры технологического процесса ротационной тромбоэластометрии для небеременных и беременных женщин в разные периоды физиологически протекающей беременности.

2. Установить факторы, влияющие на коагуляционный потенциал плазмы, условия тромбообразования и структурно-функциональные свойства сгустка крови у женщин с привычным невынашиванием беременности.

3. Провести сравнительный анализ показателей оценки диагностической надежности стандартных коагулологических тестов (ПВ по Квику, АЧТВ, фибриногена; Д-димеров; лабораторных маркеров АФС (ВА,  $\beta$ -2-ГП I, аКЛ); АТ-III, ПрС, ПрS) и параметров метода ротационной тромбоэластометрии

для повышения на основе полученных данных эффективности прогноза формирования тромботических нарушений у женщин с привычным невынашиванием беременности.

4. На основании анализа полиморфизма генов свертывающей системы крови (FV, FII, FXIII, FGB), фолатного цикла (MTHFR), а также генов, принимающих участие в процессах имплантации (PAI-I) и тромбоцитарных рецепторов (GPIb $\alpha$ ) разработать интегральный критерий прогнозирования гиперкоагуляционного состояния при беременности у женщин с привычным невынашиванием.

5. Разработать алгоритм диагностики наследственных и приобретенных тромбофилий у женщин с привычным невынашиванием беременности.

### **Научная новизна**

Впервые установлены диапазоны значений показателей лабораторных тестов оценки формирования и структурно-функционального состояния кровяного сгустка, отражающих основные параметры технологического процесса ротационной тромбоэластометрии для небеременных и беременных в разные периоды физиологически протекающей беременности женщин белорусской популяции.

Впервые проведен сравнительный анализ диагностической надежности стандартных коагулологических тестов (ПВ по Квику, АЧТВ, фибриногена, Д-димеров, ВА,  $\beta$ -2-ГП I, аКЛ, АТ-III, ПрС, ПрS) и параметров метода ротационной тромбоэластометрии для повышения на основе полученных данных эффективности прогноза тромботических нарушений у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Впервые выявлены особенности распределения аллельного полиморфизма генов гемостаза (FV, FII, FXIII, FGB), фолатного цикла (MTHFR), гена, принимающего участие в процессах имплантации (PAI-I) и гена тромбоцитарных рецепторов (GPIb $\alpha$ ) у женщин с привычным невынашиванием беременности.

Разработана выраженная соответствующей формулой методология установления интегрального критерия оценки прогноза формирования гиперкоагуляционного состояния при беременности у женщин с привычным невынашиванием на основании анализа полиморфных вариантов генов факторов гемостаза и фолатного цикла.

Разработан алгоритм диагностики наследственных и приобретенных тромбофилий у женщин с привычным невынашиванием беременности.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Установлены диапазоны значений показателей лабораторных тестов оценки формирования и структурно-функционального состояния кровяного сгустка, отражающих основные параметры технологического процесса ротационной тромбоэластометрии (СТ, СFT, ALP, A10, A20, A30, MCF, MCE,

LI30, LI60, ML) EXTEM и INTEM тестов для небеременных и беременных женщин в разные периоды физиологически протекающей беременности, а также пороговые значения, определяющие диагностическую значимость лабораторных тестов выявления и оценки выраженности гемостазиологических нарушений.

2. У женщин с ИМТ менее 20 кг/м<sup>2</sup> определяется ослабление прокоагулянтного звена гемостаза и снижение фибринолитической активности, у женщин с ИМТ 24 кг/м<sup>2</sup> и более – повышение протромбогенного потенциала крови. У женщин, принимавших гормональные контрацептивы в качестве средств реабилитации после выкидыша или неразвивающейся беременности, отсутствуют признаки активации свертывающей системы крови, несмотря на тромбогенную направленность препаратов.

3. Стандартные коагулологические тесты (протромбиновое время по Квику, АЧТВ, фибриноген, Д-димеры, антитромбин III, протеин С, протеин S, ВА, антитела к  $\beta$ -2-ГП I и КЛ) обладают недостаточной диагностической надежностью для выявления активации тромбообразования у женщин с привычным невынашиванием беременности.

4. Сочетания полиморфизмов генов FV, FII, FXIII, FGB, MTHFR, PAI-I, GPIIb $\alpha$  достоверно чаще встречаются у женщин с привычным невынашиванием беременности. Предложенный интегральный критерий прогнозирования гиперкоагуляционного состояния позволяет на основании анализа совокупности полиморфных вариантов генов факторов гемостаза и фолатного цикла оценивать вероятность развития тромботических осложнений в случае наступления беременности у женщин с привычным невынашиванием.

5. Разработан алгоритм диагностики приобретенных и наследственных тромбофилических состояний у женщин с привычным невынашиванием беременности, включающий определение маркеров АФС, полиморфизмов генов гемостаза на прегравидарном этапе и показателей ротационной тромбоэластометрии во время беременности, что в совокупности повышает эффективность диагностического исследования.

#### **Личный вклад соискателя ученой степени**

Автором совместно с руководителем определены цель и задачи исследования, разработан дизайн диссертационного исследования. Самостоятельно проведен патентно-информационный поиск, выбор методов и объема исследований (100%). Лично автором выполнялись коагулологические, иммунохимические и другие методы лабораторных исследований (100%). Молекулярно-генетические методы (ПЦР) автором выполнялись как самостоятельно, так и совместно с сотрудниками НИЛ УО «ГрГМУ» (вклад соискателя – 80%). Самостоятельно проведены статистическая обработка данных и теоретическое обобщение результатов (вклад соискателя – 100%).

Научные результаты исследования представлены в статьях, материалах конференций и тезисах докладов. В публикациях вклад соискателя составил: [1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10] – 90%; [6, 11] – 100%. По теме диссертации разработана и утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению [23]. По результатам работы получен патент на изобретение (личный вклад диссертанта – 90%) [22], а также получено уведомление о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента Республики Беларусь – вклад соискателя 80% [24].

### **Апробация результатов диссертации и информация об использовании ее результатов**

Результаты исследования и основные положения диссертации были доложены на: Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Минский консилиум 2014» (Минск, 2014); областной конференции «Актуальные вопросы лабораторной диагностики» (Гродно, 2014); Республиканской научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2015, 2016); областном совещании «По итогам работы лабораторной службы Гродненской области» (Гродно, 2015, 2016); конференции студентов и молодых ученых (Гродно, 2015); I Евразийском форуме «YES» (Минск, 2015); Республиканской научно-практической конференции «Дни лабораторной медицины» (Гродно, 2016); II Международном Форуме «АнтиКоагулянтной Терапии (ФАКТ-2017)» (Москва, 2017).

Результаты исследования использованы при разработке инструкции по применению № 047-0916 от 14.04.2017. Получены 3 акта о внедрении результатов диссертационного исследования в работу лечебно-профилактических учреждений и 3 акта о внедрении в учебный процесс.

### **Опубликование результатов диссертации**

Основные результаты диссертации опубликованы в 21 научной работе, среди которых 9 статей в научных журналах, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь общим объемом 5,2 авторского листа (206790 печатных знаков); из них в единоличном авторстве – 1 статья (0,6 авторских листа), 2 статьи в сборниках научных работ, 10 тезисов докладов и выступлений на научных съездах и конференциях. Министерством здравоохранения Республики Беларусь утверждена инструкция по применению «Метод оценки риска гиперкоагуляционного состояния при беременности».

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа написана на русском языке, изложена на 100 страницах основного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материала и методов

исследования, шести глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложений. Диссертация содержит 42 таблицы (14 страниц), 8 рисунков (4 страницы), 2 формулы и 5 приложений. «Список использованных источников» включает 253 источника (110 русскоязычных авторов и 143 – иностранных).

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Материал и методы исследования

Работа выполнялась в период с 2009 по 2017 гг. на базе УЗ «ГК БСМП г. Гродно». Обследованы 284 женщины репродуктивного возраста, распределенные в основную группу и группу сравнения. В свою очередь из этих групп были сформированы две подгруппы: беременных и небеременных. Подгруппы беременных разделяли по триместрам беременности.

**Основную группу** составили 142 женщины с привычным невынашиванием беременности в возрасте от 20 до 43 лет: 61 небеременная и 81 беременная. *Критерии включения:* наличие в анамнезе женщины трех и более последовательных эпизодов самопроизвольного прерывания беременности (ВОЗ). *Критерии невключения:* наличие анатомических дефектов матки; генетических и эндокринных нарушений; инфекций, передающихся половым путем; острые заболевания или обострения хронической патологии, перенесенные в течение двух недель, предшествующих обследованию.

**Группу сравнения** составили 142 условно здоровые женщины в возрасте от 19 до 39 лет: 40 небеременных и 102 беременных. *Критерии включения:* наличие двух и более физиологических родов в анамнезе; отсутствие прерываний беременности по медицинским показаниям, самопроизвольных выкидышей и других акушерских осложнений. *Критерии невключения:* любые патологические отклонения в результатах коагулологических исследований; экстрагенитальная патология и гинекологические заболевания; наличие в личном и семейном анамнезе тромбгеморрагических осложнений; недавние гемотрасфузии и хирургическое вмешательство; прием медикаментозных препаратов, влияющих на свёртываемость крови; острые заболевания или обострения хронической патологии, перенесенные в течение двух недель, предшествующих обследованию.

**Молекулярно-генетическое исследование.** Геномную ДНК из лейкоцитов цельной крови выделяли с использованием набора комплекта реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех»). Исследование генетических полиморфизмов FV G1691A (Лейденская мутация) и гена протромбина (FII) G20210A проводилось аллель-специфической ПЦР с последующей детекцией методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле с использованием комплекта реагентов «SNP-экспресс»



производства НПФ «Литех» (Россия). Для качественного анализа наличия или отсутствия мутантных аллелей в генах метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) C677T и A1298C, ингибитора активатора плазминогена 1 типа PAI-1 675 4G/5G, гена коагуляционного фактора FXIII A1 G103T, гена тромбоцитарного гликопротеина 1b,  $\alpha$ -субъединицы GPIIb/IIIa C482T производилась ПЦР «SNP-экспресс-SHOT» с использованием реагентов «Литех». Качественный анализ наличия или отсутствия мутантных аллелей в гене фибриногена (бета FGB G455A) проводили с помощью комплекта реагентов для амплификации «SNP-экспресс-PB» (НПФ «Литех»). Детекция продуктов амплификации проводилась в режиме реального времени на амплификаторе «Rotor-Gene Q5» (QIAGEN, Германия).

**Коагулологические исследования.** Тесты – протромбиновое время (ПВ) по Квику, АЧТВ, уровень фибриногена, Д-димеры, волчаночный антикоагулянт (ВА), антитромбин III (АТ-III), протеин С (ПрС), протеин S (ПрS) – выполнялись на автоматическом анализаторе «Helena AC-4» с применением коммерческих наборов реактивов «Helena Biosciences Europe», Великобритания. Интегральная оценка состояния системы гемостаза осуществлена с использованием технологии ротационной тромбоэластометрии (ROTEM) «Pentapharm GmbH» (Германия). Выполнены основные, скрининговые – EXTEM и INTEM, и дополнительный – FIBTEM – тесты.

**Иммунологическое исследование.** Антитела к  $\beta$ -2-гликопротеину I ( $\beta$ -2-ГПИ), антикардиолипидные антитела (аКЛ) определялись методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) на иммуноферментном анализаторе «Chorus TRIO» (Италия) с использованием наборов для иммуноферментного анализа «DIESSE Diagnostica Senese» (Италия).

**Статистическая обработка данных** проводилась с использованием стандартного пакета прикладных статистических программ Statistica 10.0 (СН АХАР207F394425FA-Q). Результаты представлены в виде медианы (Me), 2,5; 25; 75 и 97,5 перцентилей. Для характеристики частоты изучаемых признаков использовались относительные (%) показатели. Для относительных показателей определялся 95% доверительный интервал (ДИ). Для сравнения переменных использовались непараметрические критерии: Манна-Уитни (для двух независимых групп) и Краскела-Уоллиса (для трех и более независимых групп). При сравнении долей (процентов) применен метод Фишера. Для составления решающего правила в задачах выбора использовался дискриминантный анализ. Диагностическая значимость рассчитанных критериев характеризовалась диагностической чувствительностью (ДЧ), диагностической специфичностью (ДС), прогностической значимостью (ценностью) положительных результатов (ПЦ+), прогностической значимостью (ценностью) отрицательных результатов (ПЦ-). Для определения критических значений проводился ROC-анализ.

## Результаты исследования и их анализ

### Диапазоны значений лабораторных тестов, отражающих основные этапы процесса формирования кровяного сгустка при использовании метода ротационной тромбоэластометрии (ROTEM)

Диапазоны значений показателей лабораторных тестов, характеризующих этапы процесса образования сгустка крови при использовании метода ротационной тромбоэластометрии (СТ, CFT, ALP, A10, A20, A30, MCF, MCE, LI30, LI60, ML) EXTEM и INTEM тестов для небеременных и беременных в разные периоды физиологически протекающей беременности, установлены на группе 40 соматически здоровых небеременных и 102 беременных женщин группы сравнения и представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Диапазоны значений EXTEM и INTEM тестов метода ROTEM для небеременных и беременных в разные периоды физиологически протекающей беременности

Параметры, характеризующие этапы процесса образования сгустка	Небеременные		Беременные					
	EXTEM тест	INTEM тест	EXTEM тест			INTEM тест		
			I тр.	II тр.	III тр.	I тр.	II тр.	III тр.
СТ (время начала образования сгустка), сек.	43-88	156-226	48-88			135-206**		
CFT (время формирования сгустка), сек.	77-167	57-125	45-115**			52-119		
ALP (угол альфа – начальная скорость образования сгустка), ° – градус	58-77	67-78	69-81**			68-80		
A10 (амплитуда тромбоэластограммы на 10-й мин исследования), мм	52-67	49-62	49-68		49-62		49-65*	
A20 (амплитуда тромбоэластограммы на 20-й мин исследования), мм	52-67	55-67	54-68	56-75*	54-67*	51-70**	58-72**	
A30 (амплитуда тромбоэластограммы на 30-й мин исследования), мм	52-68	55-67	51-68	58-76*	52-71**		58-73**	
MCF (максимальная плотность сгустка), мм	53-69	55-67	55-69	58-76*	55-67*	52-68**	59-73**	
MCE (максимальная эластичность сгустка), мм	112-223	120-206	114-275			111-252**		
LI30 (индекс фибринолиза на 30-й мин исследования), %	96-100	93-100	89-100			88-100	89-100	
LI60 (индекс фибринолиза на 60-й мин исследования), %	92-96	90-95	88-100			86-100	81-96	
ML (максимальный лизис), %	5-15	5-15	6-25	5-19	5-19		5-17	

Примечание – При сравнении показателя у беременных и небеременных женщин:

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ ; тр. – триместр беременности

При сравнении полученных значений показателей лабораторного исследования пациентов вне и во время беременности выявлено смещение параметров ротационной тромбоэластометрии в область гиперкоагуляции (СТ, CFT, ML – на 13,5-21% ниже, а A10, A20, MCF, ALP – на 4,6-18,3% выше) у беременных (во всех случаях сравнений  $p < 0,05$ ). По мере увеличения сроков нормально протекающей беременности происходит активация свертывания крови: повышение A20, A30, MCF, ALP на 2,7-10,5% и снижение LI60, ML на 4-24% (во всех случаях сравнений  $p < 0,05$ ). Граничные величины установления диапазонов показателей лабораторных тестов составляют пороговые их значения при диагностике гемостазиологических нарушений. Пороговыми значениями выявления гиперкоагуляционного состояния методом ROTEM у небеременных являются: СТ < 43 мм и CFT < 77 мм и ALP > 77° и/или MCF > 69 мм EXTEM тестов и/или СТ < 156 мм и CFT < 57 мм и ALP > 78° и/или MCF > 67 мм INTEM тестов; у беременных: СТ < 48 мм и CFT < 45 мм и ALP > 81° и/или MCF > 69 мм (I и II триместр), MCF > 76 мм (III триместр) EXTEM тестов и/или СТ < 135 мм и CFT < 52 мм и ALP > 80° и/или MCF > 67 мм (I триместр), MCF > 68 мм (II триместр), MCF > 73 мм (III триместр) INTEM тестов.

#### **Факторы, влияющие на систему гемостаза у женщин с ПНБ**

У женщин с ПНБ и ИМТ менее 20 кг/м<sup>2</sup> величина амплитуды тромбоэластограммы на 15, 20 и 30-й минутах (A15, A20, A30), значения показателей максимальной плотности и эластичности сгустка (MCF и MCE) в EXTEM тесте были на 8,3-20,2% ниже, чем в группе сравнения (во всех случаях  $p < 0,04$ ), что отражает ослабление прокоагулянтного звена гемостаза (структурная гипокоагуляция). Сниженное (на 4,3%) значение параметра индекса фибринолиза на 60-й минуте (LI60) в INTEM тесте у женщин данной группы ( $p < 0,03$ ) при сопоставлении с группой сравнения свидетельствует о пониженной активности фибринолиза. Повышенные (на 7,5-18,0%) значения параметров оценки амплитуды, максимальной плотности и эластичности сгустка (A15, A20, A30, MCF и MCE) в INTEM тесте, отражающие структурную гиперкоагуляцию, наблюдались при сопоставлении с группой сравнения у женщин с ПНБ при ИМТ более 24 кг/м<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует об увеличении потенциала тромбообразования у пациентов с повышенной массой тела.

У женщин с ПНБ, не принимавших комбинированные оральные контрацептивы (КОК), выявлена склонность к хронометрической структурной гиперкоагуляции. Усиление тромбообразования у этой категории женщин происходит за счет активации как внешнего пути свертывания крови, о чем свидетельствуют изменения МНО (более низкие значения,  $p = 0,01$ ) и параметров EXTEM теста (на 18,3-18,8% ниже СТ и CFT и на 7,5-11,2% выше A5, A15, A20, A30, MCF, начальная скорость образования сгустка – ALP), так и внутреннего

пути свертывания, на что указывают изменения параметров INTEM теста (выше A30, MCF, MCE – на 5,7-15,3%), главным образом за счет изменений «качественных» характеристик фибриногена, что подтверждается изменением показателей теста FIVTEM (выше A5, A10, A15, A20, A25, A30, MCF, MCE – на 33,3-43,5%) (при сопоставлении с показателями группы сравнения во всех случаях  $p < 0,05$ ). У женщин, принимавших гормональные контрацептивы для достижения реабилитации после выкидыша или неразвивающейся беременности, отсутствуют признаки активации свертывающей системы крови, несмотря на тромбогенную направленность препаратов (при сопоставлении с показателями группы сравнения во всех случаях  $p > 0,05$ ).

### **Состояние гемостаза у женщин с ПНБ, сравнительная характеристика методов его оценки**

Результаты стандартных коагулологических тестов, отражающих состояние свертывающей и противосвертывающей системы крови (ПВ по Квику, АЧТВ, уровень фибриногена, АТ-III, ПрС, ПрS) в группе небеременных с ПНБ не выходили за пределы нормальных значений. Уровень Д-димеров выше порогового значения 200 мкг/л (нг/мл) в данной группе выявлен у 12,7% женщин ( $n=7$ ). Методом ROTEM с использованием установленных нами пороговых значений структурная гиперкоагуляция выявлена у 38,2% небеременных, причем только у 28,6% из них уровень Д-димеров был повышен. Показатель ДЧ теста определения Д-димеров (стандартного коагулологического теста), использованного для выявления гиперкоагуляционного состояния у небеременных с ПНБ, составил 85,7% (95% ДИ 76,4-95,0), ДС – 68,8% (95% ДИ 56,6-81,0), ПЦ- – 97,0% (95% ДИ 92,5-100), ПЦ+ – 28,6% (95% ДИ 16,7-40,5).

В группе беременных с ПНБ уровень Д-димеров превышал пороговые значения, изменяющиеся в разные сроки беременности в диапазоне 200-1120 мкг/л (нг/мл), у 19,8% женщин ( $n=16$ ). Укорочения АЧТВ выявлены у одной женщины (1,2%) во втором и у двух – (2,5%) в третьем триместрах беременности. У трех беременных (3,7%) выявлено снижение уровня АТ-III и у трех – снижение уровня ПрС. При анализе показателей лабораторных тестов, отражающих процесс свертывания крови, методом ROTEM структурная гиперкоагуляция (превышение порогового значения MCF, равного 76 мм в EXTEM тесте и/или MCF, равного 73 мм в INTEM тесте) выявлена у 43,2% беременных (у 45,7% – в первом, у 22,9% – во втором и 31,4% – в третьем триместрах). ДЧ теста определения Д-димеров по выявлению гиперкоагуляционного состояния у беременных с ПНБ составила 81,3% (95% ДИ 72,9-89,7), ДС – 66,2% (95% ДИ 55,9-76,5), ПЦ- – 93,5% (95% ДИ 88,1-98,8), ПЦ+ – 37,1% (95% ДИ 26,2-47,6), т. е. определение повышенного уровня Д-димеров у беременных с ПНБ позволяет выявить только 37,1% случаев

гиперкоагуляционных состояний. Рассчитанные с учетом установленных пороговых значений показатели ДЧ тестов определения АЧТВ, АТ-III и ПрС по выявлению гиперкоагуляционного состояния у беременных с ПНБ составили 100%, ДС – 41,0% (95% ДИ 30,3-51,7), ПЦ- – 100%, ПЦ+ – 8,6% (95% ДИ 2,5-14,7); таким образом, укорочение АЧТВ, снижение АТ-III и ПрС у беременных с ПНБ позволяет выявить только 8,6% случаев гиперкоагуляционных состояний.

При комплексной оценке стандартных коагулологических показателей диагностическая надежность тестов возросла: ДЧ стандартных коагулологических тестов по выявлению гиперкоагуляционного состояния у беременных с ПНБ составила 87,5% (95% ДИ 80,3-94,7), ДС – 75,4% (95% ДИ 66,0-84,8), ПЦ- – 93,5% (95% ДИ 88,1-98,8), ПЦ+ – 60,0% (95% ДИ 49,3-70,7). Однако даже при комплексной оценке стандартных коагулологических тестов (ПВ по Квику, АЧТВ, фибриногена, Д-димеров, АТ-III, ПрС, ПрS) гиперкоагуляционные состояния представляется возможным выявить только у 60,0% беременных с ПНБ.

Диагноз АФС был выставлен 21,3% женщинам с ПНБ. У небеременных пациенток с верифицированным диагнозом АФС показатели функционального состояния гемостаза, полученные с помощью метода ротационной тромбоэластометрии, не выходили за пределы диапазонов нормальных значений. Таким образом, небеременные с ПНБ в анамнезе и АФС не нуждаются в специальных мероприятиях по профилактике тромбозов вне беременности.

У 83,3% беременных с выставленным диагнозом АФС методом ROTEM с использованием установленных нами пороговых значений (превышение MCF, равного 76 мм в EXTEM тесте и/или MCF, равного 73 мм в INTEM тесте) установлена структурная гиперкоагуляция. В группе беременных без диагноза АФС структурная гиперкоагуляция определена у 54,0% женщин.

ДЧ лабораторного теста выявления гиперкоагуляционного состояния у беременных с ПНБ только с использованием тестов для диагностики АФС составила 83,3% (95% ДИ 75,2-91,4), ДС – 46,0% (95% ДИ 35,1-56,9), ПЦ- – 90,6% (95% ДИ 82,4-97,0), ПЦ+ – 30,6% (95% ДИ 20,6-40,6), т. е. если женщинам с ПНБ проводить только исследование на АФС, гиперкоагуляционные состояния будут выявляться всего лишь в 30,6% случаев.

### **Молекулярно-генетические исследования в прогнозировании нарушений системы гемостаза у женщин с ПНБ**

Достоверно чаще, чем в группе сравнения, у женщин с ПНБ встречались полиморфизмы генов PAI-I (72,4%), MTHFR A1298C (58,8%), фактора FXIII (54,2%), MTHFR C677T (48,6%) и FGB (36,7%). Полиморфизмы генов FII (6,6%), FV (5,7%) выявлены только в группе женщин с ПНБ. Количество мутаций у женщин с ПНБ варьировало от 1 до 5, в группе сравнения – от 1 до 4.

По одной из восьми исследованных мутаций выявлено у 12 (35,3%) женщин группы сравнения и у 16 (13,7%) женщин с ПНБ ( $p < 0,005$ ). Два и более полиморфизма имели место у 99 (84,6%) женщин с ПНБ и у 23 (67,6%) женщин из группы сравнения ( $p = 0,001$ ). Чаще у пациенток с ПНБ встречались сочетания полиморфизмов: МТНFR С677Т и FXIII (57,1%), PAI-I и FXIII (52,9%), МТНFR A1298С и PAI-I (50,6%), МТНFR С677Т и PAI-I (48,2%), МТНFR A1298С и FXIII (47,2%), МТНFR С677Т и МТНFR A1298С (20,5%). В группе сравнения подобные комбинации встречались существенно реже (сочетание МТНFR С677Т и FXIII – 17,6%,  $p < 0,001$ ; PAI-I и FXIII – 17,6%,  $p < 0,003$ ; МТНFR A1298С и PAI-I – 8,8%,  $p < 0,01$ ; МТНFR С677Т и PAI-I – 14,7%,  $p < 0,002$ ; МТНFR A1298С и FXIII – 23,5%,  $p < 0,02$ ; МТНFR С677Т и МТНFR A1298С – 17,6%,  $p < 0,02$ ).

На основании результатов молекулярно-генетического и гемостазиологического обследования 35 женщин (обучающая выборка), отобранных случайным образом из 70 беременных с ПНБ в анамнезе, с помощью дискриминантного анализа (прямой пошаговый метод) был установлен интегральный критерий ( $y$ ) прогнозирования гиперкоагуляционного состояния во время беременности, определение показателей которого производится по формуле [24]:

$$y = 0,24 * m_{(MTHFR\ C677T)} - 0,18 * m_{(MTHFR\ A1298C)} + 0,115 * m_{(PAI)} + 0,63 * m_{(F5)} + 0,56 * m_{(F2)} - 0,05 * m_{(F13)} + 0,37 * m_{(FGB)} - 0,85 * m_{(GPIIb\alpha)} - 0,17, \quad (1)$$

где  $m = 0$  при диком гомозиготном варианте соответствующего гена;

$m = 2$  при гетерозиготном генотипе;

$m = 5$  при мутантном гомозиготном генотипе.

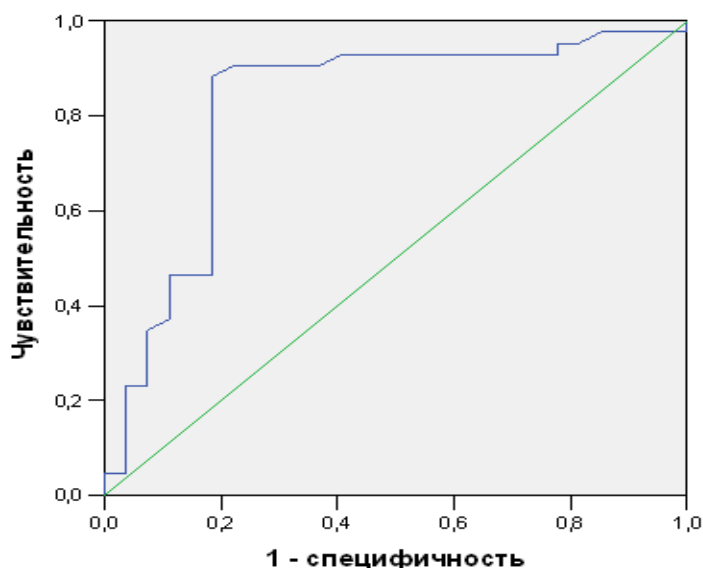
При  $y \leq 0$  прогнозируют низкую вероятность гиперкоагуляционного состояния во время беременности, при значении  $y > 0$  – высокую.

Проверка предоставляемой формулой возможности прогнозирования гиперкоагуляционного состояния была осуществлена с использованием результатов обследования 35 беременных с привычным невынашиванием в анамнезе (контрольная выборка).

Всем женщинам контрольной и обучающей выборок по указанной формуле рассчитан прогностический критерий ( $y$ ), а затем на основании этого критерия проведен ROC-анализ (рисунок 1).

Площадь под ROC кривой, равная 0,82 (95% ДИ 0,71-0,93,  $p = 0,0001$ ), свидетельствует о высокой лабораторно-диагностической значимости предложенной формулы. При помощи анализа ROC-кривой установлена оптимальная точка разделения – 0,0025. Если значение  $y > 0,0025$ , при наступлении беременности у женщин с ПНБ прогнозируется

гиперкоагуляционное состояние: ПЦ+ – 87,8% (ДИ 80,1-95,5%), ПЦ- – 75,9% (ДИ 65,9-85,9%). При значении «у» больше 1,15 с высокой вероятностью прогнозируется гиперкоагуляционное состояние: ПЦ+ составляет 99,8% (ДИ 98,8-100,0%), при значении «у», равном или менее -1,15, риск повышенной свертываемости минимальный, ПЦ- равна 92,6% (95% ДИ 86,5-98,7).



**Рисунок 1. – ROC-кривая, характеризующая соотношение чувствительности и специфичности в зависимости от величины критерия у**

### **Валидация алгоритма диагностики наследственных и приобретенных тромбофилий у женщин с ПНБ**

На основании полученных результатов разработан алгоритм диагностики приобретенных и наследственных тромбофилий у женщин с ПНБ. Предложенный алгоритм диагностики тромбофилий был валидирован при анализе результатов обследования 115 женщин с ПНБ (45 небеременных и 70 беременных). В результате генетического обследования небеременных выявлены 4 женщины с гетерозиготным полиморфизмом фактора V Leiden и 7 пациенток – с гетерозиготным полиморфизмом гена протромбина. У всех этих женщин диагностирована гиперкоагуляция методом ротационной тромбоэластометрии с использованием установленных нами пороговых значений.

Прогноз тромботических гестационных осложнений оценен путем подстановки результатов ПЦР-анализа в разработанную формулу (1). Повышенный риск гиперкоагуляционного состояния во время беременности ( $y > 0$ ) с использованием тестов метода ротационной тромбоэластометрии в группе небеременных был прогнозирован у 29 (64,4%) женщин, низкий ( $y \leq 0$ ) – у 16 (35,6%). При значении интегрального показателя «у» более 0 пациентам с гиперкоагуляционным состоянием системы свертывания крови рекомендовано назначение низкомолекулярных гепаринов (НМГ) с начала беременности.

При «у», равном и меньшем 0, было рекомендовано тромбоэластометрическое обследование при наступлении беременности.

В группе беременных, включенных в алгоритм, диагноз АФС выставлен 9 женщинам. Ведение этих женщин проводилось в соответствии с приказом МЗРБ от 08.06.2012 № 694 «Об утверждении клинического протокола диагностики, профилактики и лечения пациентов с антифосфолипидным синдромом».

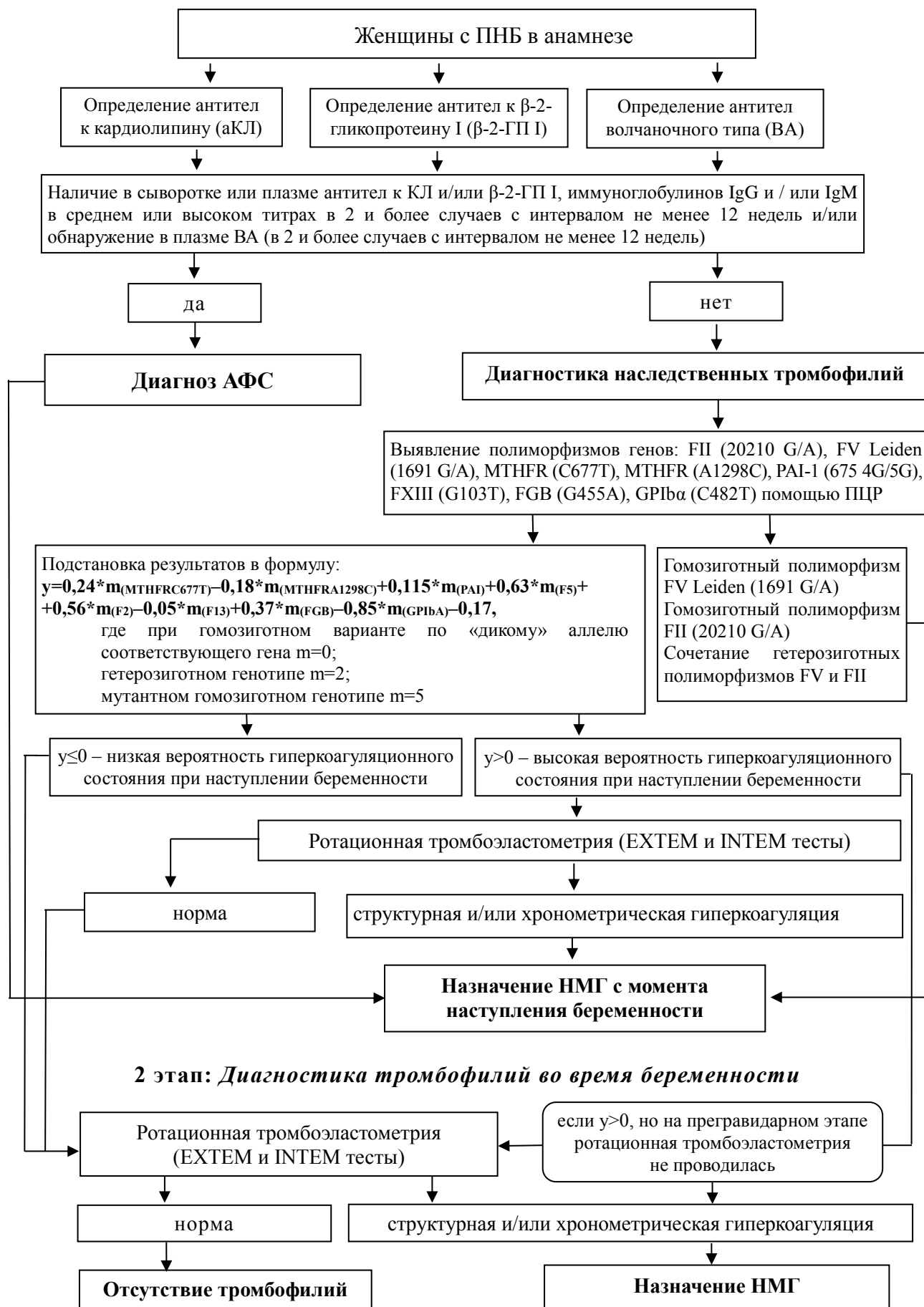
По результатам генетического обследования в группе беременных наличие гиперкоагуляционного состояния во время беременности ( $y > 0$ ) прогнозировано у 41 женщины (58,6%), отсутствие ( $y \leq 0$ ) – у 29 женщин (41,4%). Гиперкоагуляция методом ротационной тромбоэластометрии выявлена у 43 (61,4%) беременных с ПНБ. 34 женщины без АФС с гиперкоагуляцией, подтвержденной тромбоэластометрически, были отнесены в группу риска по тромботическим осложнениям. Антикоагулянтная терапия проведена 16 (47,1%) из них, у всех этих женщин беременность завершилась срочными родами. У 5 (27,8%) из 18 пациенток с гиперкоагуляцией, не получавших антикоагулянты, беременность закончилась спонтанным прерыванием ( $p = 0,045$ ). Число осложнений беременности в группе женщин, не принимавших антикоагулянты, было достоверно выше (88,9%), чем у пациенток, получавших НМГ (37,5%). Без антикоагулянтной терапии достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) наблюдались преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, плацентарная недостаточность, родоразрешение посредством кесарева сечения.

Алгоритм диагностики приобретенных и наследственных тромбофилий у женщин с ПНБ представлен на рисунке 2.

Внедрение разработанной стационарзамещающей технологии позволяет добиться значительной экономической эффективности при снижении уровня репродуктивных потерь, обеспечивая общий удельный экономический эффект от исключения этапа стационарного лечения, составляющий 376 рублей 92 копейки в среднем на один случай.



**1 этап: Диагностика тромбофилий на прегравидарном этапе**



**Рисунок 2. – Алгоритм лабораторной диагностики приобретенных и наследственных тромбофилий у женщин с ПНБ**

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. Установлены диапазоны показателей лабораторных тестов, характеризующих этапы процесса образования сгустка крови при использовании метода ROTEM: времени начала образования сгустка (СТ), времени формирования сгустка (СFT), начальной скорости образования сгустка (ALP), амплитуды тромбоэластограммы на 10, 20, 30-й минутах (A10, A20, A30), максимальной плотности сгустка (MCF), максимальной эластичности сгустка (MCE), индексов фибринолиза на 30 и 60-й минутах (LI30, LI60), максимального лизиса (ML) EXTEM и INTEM тестов для небеременных и беременных в разные периоды физиологически протекающей беременности, демонстрирующие достоверное ( $p < 0,05$ ) смещение у беременных значений параметров (СТ, СFT, ML ниже на 13,5-21% и A10, A20, MCF, ALP выше на 4,6-18,3%) в область гиперкоагуляции. Статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) выявлены между показателями исследованных лабораторных тестов в разные trimestры беременности. По мере увеличения сроков нормально протекающей беременности происходит активация свертывания крови: повышение A20, A30, MCF, ALP на 2,7-10,5% и снижение LI60, ML на 4-24% [1, 6, 11].

2. У женщин с ПНБ и ИМТ менее 20 кг/м<sup>2</sup> значения показателей A15, A20, A30, MCF и MCE в EXTEM тесте достоверно ниже (на 8,3-20,2%), чем в группе сравнения (во всех случаях  $p < 0,04$ ), что свидетельствует об ослаблении прокоагулянтного звена гемостаза (структурная гипокоагуляция). Сниженное значение параметра LI60 (на 4,3%) в INTEM тесте у женщин данной группы ( $p < 0,03$  при сопоставлении с группой сравнения) свидетельствует о пониженной активности фибринолиза. Повышенные значения параметров A15, A20, A30, MCF и MCE на 7,5-18,0% в INTEM тесте (структурная гиперкоагуляция) наблюдались у женщин с ПНБ при ИМТ свыше 24 кг/м<sup>2</sup> ( $p < 0,05$  при сопоставлении с группой сравнения), что свидетельствует об увеличении потенциала тромбообразования.

У женщин с ПНБ, принимавших гормональные контрацептивы в качестве реабилитации после выкидыша или неразвивающейся беременности, отсутствуют признаки активации свертывающей системы крови ( $p > 0,05$ ), несмотря на тромбогенную направленность этих препаратов. У женщин с ПНБ, не принимавших комбинированные оральные контрацептивы, отмечается склонность к хронометрической структурной гиперкоагуляции. Усиление тромбообразования у данной категории женщин происходит за счет активации как внешнего пути свертывания крови, о чем свидетельствуют более низкие значения МНО и параметров EXTEM теста (на 18,3-18,8% ниже СТ и СFT; на 7,5-11,2% выше A5, A15, A20, A30, MCF и ALP), так и внутреннего пути свертывания (на что указывает

повышение (на 5,7-15,3%) A30, MCF, MCE в тесте INTEM), главным образом за счет изменения «качественных» характеристик фибриногена (выше на 33,3-43,5% – A5, A10, A15, A20, A25, A30, MCF, MCE в тесте FIVTEM) (при сопоставлении с показателями группы сравнения во всех случаях  $p < 0,05$ ) [3, 10, 16].

3. Стандартные коагулологические тесты (ПВ по Квику, АЧТВ, фибриноген, Д-димеры, АТ-III, ПрС, ПрS, ВА, антитела к  $\beta$ -2-ГП I, КЛ) обладают недостаточной диагностической надежностью их постановки для выявления активации тромбообразования у женщин с ПНБ. Уровень Д-димеров повышен только в 28,6 и 37,1% случаев гиперкоагуляционных состояний у небеременных и беременных женщин с ПНБ, соответственно. Результаты выполнения тестов определения АЧТВ, АТ-III и ПрС у женщин с ПНБ выходят за пределы референтных значений в 8,6% случаев гиперкоагуляционных состояний, притом только во время беременности. Тесты определения ПВ по Квику, уровень фибриногена, ПрS не позволяют выявить активацию тромбообразования у женщин с привычным невынашиванием беременности. При комплексной оценке показателей стандартных коагулологических тестов прогностическая значимость их положительных результатов при выявлении гиперкоагуляционного состояния у беременных с ПНБ возрастает до 60,0%. У небеременных с ПНБ и верифицированным диагнозом АФС отсутствует активация тромбообразования, поэтому они не нуждаются в специальных мероприятиях по профилактике тромбозов вне беременности. Прогностическая значимость положительных результатов лабораторного исследования по выявлению гиперкоагуляционного состояния у беременных с ПНБ с использованием тестов для диагностики АФС составляет 30,6% (95% ДИ 20,6-40,6) [5, 9, 12, 13, 14].

4. Сочетания двух и более полиморфизмов генов FV, FII, FXIII, FGB, MTHFR, PAI-I, GPIIbа достоверно чаще ( $p < 0,001$ ) встречаются у женщин с ПНБ. У пациенток с ПНБ чаще выявляются комбинации полиморфизмов MTHFR C677T и FXIII (57,1%), PAI-I и FXIII (52,9%), MTHFR A1298C и PAI-I (50,6%), MTHFR C677T и PAI-I (48,2%), MTHFR A1298C и FXIII (47,2%), MTHFR C677T и MTHFR A1298C (20,5%). В группе сравнения подобные комбинации встречаются существенно реже (сочетание MTHFR C677T и FXIII – 17,6%,  $p < 0,001$ ; PAI-I и FXIII – 17,6%,  $p < 0,003$ ; MTHFR A1298C и PAI-I – 8,8%,  $p < 0,01$ ; MTHFR C677T и PAI-I – 14,7%,  $p < 0,002$ ; MTHFR A1298C и FXIII – 23,5%,  $p < 0,02$ ; MTHFR C677T и MTHFR A1298C – 17,6%,  $p < 0,02$ ). По результатам молекулярно-генетического исследования установлен критерий прогнозирования гиперкоагуляционного состояния во время беременности у женщин с ПНБ, характеризующихся ПЦ+ – 87,8% (ДИ 80,1-95,5%), ПЦ- – 75,9% (ДИ 65,9-85,9%) [2, 4, 8, 17, 19].

5. Применение алгоритма диагностики приобретенных и наследственных тромбофилий позволяет прогнозировать риск тромботических гестационных

осложнений на прегравидарном этапе у 64,4% женщин с ПНБ, у 61,4% – диагностировать гиперкоагуляцию во время беременности. Клиническая значимость выявленной гиперкоагуляции подтверждена эффектом антикоагулянтной терапии. Назначение НМГ женщинам с гиперкоагуляцией без АФС сопровождалось сохранением беременности в 100% случаев. Без антикоагулянтной терапии у 27,8% женщин с гиперкоагуляцией без АФС беременность закончилась спонтанным прерыванием на ранних сроках ( $p=0,045$ ). Число осложнений беременности у пациенток, не получавших НМГ, оказалось достоверно выше (88,8%), чем в группе женщин, получавших антикоагулянты (37,5%). Достоверно чаще ( $p<0,05$ ) у женщин, не получавших НМГ, наблюдались преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, плацентарная недостаточность, родоразрешение посредством кесарева сечения [7, 15, 18, 20, 21].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. Для диагностики наследственных и приобретенных тромбофилий наряду со стандартными коагулологическими тестами (ПВ по Квику, АЧТВ, фибриноген, Д-димеры, АТ-III, ПрС, ПрS, ВА,  $\beta$ -2-ГП I, КЛ) рекомендуется исследование на наличие полиморфизмов генов FV, FII, FXIII, FGB, MTHFR, PAI-I, GPIIb $\alpha$  и проведение EXTEM и INTEM тестов метода ROTEM (параметры CT, CFT, ALP, A10, A20, A30, MCF, MCE, LI30, LI60, ML) [7, 9, 22, 23, 24].

2. Для прогноза риска развития гиперкоагуляционного состояния при беременности у женщин с ПНБ рекомендуется использовать формулу [23, 24]:

$$y=0,24*m_{(MTHFR\ C677T)}-0,18*m_{(MTHFR\ A1298C)}+0,115*m_{(PAI)}+0,63*m_{(F5)}+ \\ +0,56*m_{(F2)}-0,05*m_{(F13)}+0,37*m_{(FGB)}-0,85*m_{(GPIIb\alpha)}-0,17,$$

где  $m=0$  при диком гомозиготном варианте соответствующего гена;

$m=2$  при гетерозиготном генотипе;

$m=5$  при мутантном гомозиготном генотипе.

При  $y\leq 0$  прогнозируют низкую вероятность гиперкоагуляционного состояния во время беременности, при значении  $y>0$  – высокую.

3. С целью повышения качества диагностики тромбофилических состояний рекомендуется использовать разработанный алгоритм диагностики приобретенных и наследственных тромбофилий у женщин с ПНБ [7, 23, 24].

**СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ****Статьи в журналах, включенных в перечень научных изданий ВАК**

1. Гриневич, Т. Н. Референтные интервалы основных параметров ротационной тромбоэластометрии (ROTEM) / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов // Известия Национальной академии Наук Беларуси. Серия медицинских наук». – 2011. – № 4. – С. 67–72.
2. Гриневич, Т. Н. Прогнозирование гиперкоагуляционного состояния у женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов // Медицинская панорама. – 2014. – № 2. – С. 49–52.
3. Гриневич, Т. Н. Связь между индексом массы тела и состоянием гемостаза у женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, Т. И. Воробьёва // Тромбоз гемостаз и реология. – 2014. – № 2 (58). – С. 52–62.
4. Гриневич, Т. Н. Частота встречаемости и ассоциация полиморфных маркеров генов свертывания крови с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, Т. Л. Степура // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 186–198.
5. Гриневич, Т. Н. Сравнительный анализ целесообразности определения лабораторных маркеров антифосфолипидного синдрома для прогноза тромбофилических нарушений у женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, М. В. Кажина // Тромбоз гемостаз и реология. – 2016. – № 3(67). – С. 34–40.
6. Гриневич, Т. Н. Значения показателей ротационной тромбоэластометрии в различные периоды физиологически протекающей беременности / Т. Н. Гриневич // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 327–337.
7. Гриневич, Т. Н. Прогнозирование и ранняя диагностика нарушений гемостаза у беременных с привычным невынашиванием в анамнезе / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, М. В. Кажина // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2016. – Т. 6, № 5. – С. 622–633.
8. Гриневич, Т. Н. Прогнозирование вероятности гиперкоагуляционного состояния во время беременности путем анализа генетического статуса женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, Т. Л. Степура // Журнал Гродненского государственного медицинского университета: ежеквартальный научно-практический журнал. – 2016. – № 4 (56). – С. 50–54.
9. Гриневич, Т. Н. Значимость исследования уровня Д-димеров в комплексной клинико-лабораторной диагностике тромбофилий при привычном невынашивании беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2016. – Т. 5, № 4. – С. 581–593.

**Статьи в сборниках научных работ**

10. Гриневич, Т. Н. Действие комбинированных оральных контрацептивов на гемостаз у женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов // Сборник материалов республиканской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием (Минск, 10-11 июня 2014 года) / под ред. Ю. Е. Демидчика [и др.]. – Минск: БелМАПО, 2014. С.46–51.

11. Гриневич, Т. Н. Значение референтных показателей ротационной тромбоэластометрии вне и при физиологически протекающей беременности / Т. Н. Гриневич // Сборник научных статей «Современные перинатальные медицинские технологии в решении проблем демографической безопасности» 2016. Выпуск 9. – С 42–47.

**Материалы конференций и тезисы докладов**

12. Grinevich, T. Rotation thromboelastometry (ROTEM) and recurrent miscarriage / Abstracts of the 2nd Congress of Biochemistry and Cell Biology. 46 th Meeting of the Polish Biochemical Society and 11 st Conference of the Polish Cell Biology Society Krakow, Poland September 5th – 9th, 2011 / Tatiyana Grinevich, Alexander V. Naumov, Searhei Lialikau // Acta Biochimica Polonica – Krakow, Poland.– 2011. – Supplement 2. – P. 53.

13. Grinevich, T. Thrombophilias and recurrent pregnancy loss / Tatiyana Grinevich, Searhei Lialikau // Polish-German Biochemical Societies Joint Meeting Poznań, Poland, 11-14 of September 2012. – Vol. 59, № 3. – P. 220.

14. Гриневич, Т. Н. Оценка функционального состояния системы гемостаза у женщин с привычным невынашиванием беременности с диагнозом АФС / Т. Н. Гриневич // Материалы конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора Ю. Г. Бойко, 23-24 апреля 2015 г. – 2015. – С. 153–154.

15. Гриневич, Т. Н. Скрининг тромбофилий у женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов // Сборник материалов итоговой научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» 27 января 2015 года. – 2015. – Часть I. – С. 172–174.

16. Grinevich, T. Relationship between body mass index and the state of hemostasis in women with recurrent miscarriage / Tatiyana Grinevich, Sergey Lyalikov // ISSC. 23rd International students scientific conference: abstract book. – Gdansk. – 2015. – С.72.

17. Гриневич, Т. Н. Ассоциация полиморфных аллелей генов фолатного обмена с уровнем гомоцистеина у женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов. // Сборник материалов итоговой научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» 28–29 января 2016. – С. 145–147.

18. Гриневич, Т. Н. Оценка эффективности антикоагулянтной терапии в улучшении исходов беременности у женщин с привычным невынашиванием / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов // Сборник материалов Республиканской научно-практической конференции «Дни лабораторной медицины» 5 мая 2016. – С. 36–37.

19. Гриневич, Т. Н. Частота встречаемости наследственных тромбофилий у женщин с ПНБ / Т. Н. Гриневич // Сборник материалов Республиканской научно-практической конференции «Дни лабораторной медицины» 5 мая 2016. – С. 37–38.

20. Гриневич, Т. Н. Диагностика приобретенных и наследственных тромбофилий у женщин с привычным невынашиванием / Т. Н. Гриневич // Материалы УШ Съезда врачей клиничко-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь. Минск, 10-11 ноября 2016 // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. Приложение. – 2016. – С. 75–76.

21. Гриневич, Т. Н. Оценка эффективности антикоагулянтной терапии в улучшении исходов беременности у женщин с привычным невынашиванием / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов // Сборник тезисов 2-го международного форума Антикоагулянтной терапии Факт-2017, 23-25 марта 2017, Москва. – М.: Издательство ФГБОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова. – 2017. – С. 26.

### **Патент на изобретение**

22. Способ прогнозирования вероятности гиперкоагуляционного состояния у женщины с привычным невынашиванием беременности: пат. ВУ 20499 / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов. – Оpubл. 30.10.2016, «Афіц. бюл.» № 5, 2016.

### **Инструкция по применению, утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь**

23. Метод оценки риска гиперкоагуляционного состояния при беременности : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.04.2017, № 047-0916 / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, М. В. Кажина. – Гродно : ГрГМУ, 2017. – 7 с.

### **Прочее**

24. Способ прогнозирования вероятности гиперкоагуляционного состояния во время беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов. – Уведомление о положительном результате предварительной экспертизы заявки на выдачу патента на изобретение № а20160143 от 25.04.2016.

Грыневіч Таццяна Мікалаеўна

**Лабараторная дыягностыка тромбафілій і прагназаванне  
тромбатычных ускладненняў у жанчын са звыклым невыношваннем  
цяжарнасці**

**Ключавыя словы:** звыклае невыношванне цяжарнасці, тромбафілія, палімарфізм генаў, антыфосфаліпідны сіндром.

**Мэта даследавання:** на падставе даследавання малекулярна-генетычных і гемастазіялагічных фактараў, якія вызначаюць каагуляцыйны патэнцыял плазмы, умовы тромбаўтварэння і структурна-функцыянальныя ўласцівасці згустку крыві распрацаваць метады і крытэры прагназавання тромбатычных ускладненняў у жанчын са звыклым невыношваннем цяжарнасці.

**Метады даследавання і выкарыстаная апаратура:** малекулярна-генетычныя, гемастазіялагічныя, імуналагічныя, статыстычныя; ратацыйны тромбаэластометр (ROTEM, Германія), аўтаматычны аналізатар «Helena AC-4», імунаферментны аналізатар «Chorus TRIO» (DIESSE Diagnostica Senese, Італія), ампліфікатар «Rotor-Gene Q5» (QIAGEN, Германія).

**Атрыманая вынікі і іх навізна.** Упершыню ўстаноўлены дыяпазоны значэнняў паказчыкаў лабараторных тэстаў ацэнкі фарміравання і структурна-функцыянальнага стану крывянога згустку, якія адлюстроўваюць асноўныя параметры тэхналагічнага працэсу ратацыйнай тромбаэластаметрыі для нецяжарных і цяжарных ў розныя перыяды фізіялагічна працякалай цяжарнасці жанчын беларускай папуляцыі; праведзены параўнальны аналіз дыягнастычнай надзейнасці стандартных каагулалагічных тэстаў (ПВ па Квіку, МНА, АЧТГ, фібрынаген, Д-дымеры, ВА,  $\beta$ -2-ГП I, аКЛ, АТ-III, ПрС, ПрS) і параметраў метаду ROTEM для прагнозу тромбатычных парушэнняў у жанчын са звыклым невыношваннем; выяўлены асаблівасці размеркавання алельных палімарфізмаў генаў гемастазу (FV, FII, FXIII, FGB, PAI-I, GPIIb $\alpha$ ) і фалатнага цыклу (MTHFR) у жанчын са звыклым невыношваннем цяжарнасці; распрацавана выяўленая адпаведнай формулай метадалогія ўстанаўлення інтэгральнага крытэрыя ацэнкі прагнозу фарміравання гыперкаагуляцыйнага стану пры цяжарнасці ў жанчын са звыклым невыношваннем; распрацаваны алгарытм дыягностыкі спадчынных і набытых тромбафілій у жанчын са звыклым невыношваннем цяжарнасці.

**Рэкамендацыі па выкарыстанні:** атрыманая вынікі мэтазгодна выкарыстоўваць для павышэння эфектыўнасці лабараторнай дыягностыкі набытых і спадчынных тромбафілій ў жанчын са звыклым невыношваннем.

**Вобласць прымянення:** клінічная лабараторная дыягностыка, акушэрства і гінекалогія, гематалогія.



## РЕЗЮМЕ

Гриневич Татьяна Николаевна

**Лабораторная диагностика тромбофилий и прогнозирование  
тромботических осложнений у женщин с привычным невынашиванием  
беременности**

**Ключевые слова:** привычное невынашивание беременности, тромбофилия, полиморфизм генов, антифосфолипидный синдром.

**Цель исследования:** на основании исследования молекулярно-генетических и гемостазиологических факторов, определяющих коагуляционный потенциал плазмы, условия тромбообразования и структурно-функциональные свойства сгустка крови разработать метод и критерий прогнозирования тромботических осложнений у женщин с привычным невынашиванием беременности.

**Методы исследования и использованная аппаратура:** молекулярно-генетические, гемостазиологические, иммунологические, статистические; ротационный тромбоэластометр (ROTEM, Германия), автоматический анализатор «Helena AC-4», иммуноферментный анализатор «Chorus TRIO» (DIESSE Diagnostica Senese, Италия), амплификатор «Rotor-Gene Q5» (QIAGEN, Германия).

**Полученные результаты и их новизна.** Впервые установлены диапазоны значений показателей лабораторных тестов оценки формирования и структурно-функционального состояния кровяного сгустка, отражающих основные параметры технологического процесса ROTEM для небеременных и беременных в разные периоды физиологически протекающей беременности женщин белорусской популяции; проведен сравнительный анализ диагностической надежности стандартных коагулологических тестов (ПВ по Квику, АЧТВ, фибриногена, Д-димеров, ВА,  $\beta$ -2-ГП I, аКЛ, АТ-III, ПрС, ПрS) и параметров метода ROTEM для повышения на основе полученных данных эффективности прогноза тромботических нарушений у женщин с ПНБ; выявлены особенности распределения аллельного полиморфизма генов гемостаза (FV, FII, FXIII, FGB, PAI-I, GPIIb $\alpha$ ) и фолатного цикла (MTHFR) у женщин с ПНБ; разработана выраженная соответствующей формулой методология установления интегрального критерия оценки прогноза формирования гиперкоагуляционного состояния при беременности у женщин с ПНБ; разработан алгоритм диагностики наследственных и приобретенных тромбофилий у женщин с ПНБ.

**Рекомендации по использованию:** полученные результаты целесообразно использовать для повышения эффективности лабораторной диагностики тромбофилий у женщин с привычным невынашиванием беременности.

**Область применения:** клиническая лабораторная диагностика, акушерство и гинекология, гематология.

**SUMMARY****Grinevich Tatyana****Laboratory diagnosis of thrombophilia and prognosis of thrombotic complications in women with recurrent miscarriage**

**Keywords:** recurrent miscarriage, thrombophilia, genetic polymorphism, antiphospholipid syndrome.

**The object of study:** based on the study of molecular genetic and haemostasiological factors determining the coagulation potential of plasma, the conditions for thrombus formation and the structural and functional properties of the blood clot to develop methods and for predicting thrombotic complications in women with recurrent miscarriage.

**Methods of research and used equipment:** molecular genetics, gemostasiological, immunological, statistics; rotation thromboelastometer (ROTEM, Germany), «Helena AC-4» automatic analyzer, «Chorus TRIO» immunoassay analyzer (DIESSE Diagnostica Senese, Italy), «Rotor-Gene Q5» (QIAGEN, Germany).

**Results and their novelty.** We have established ranges of values of laboratory tests for evaluation of the formation and structural and functional state of the blood clot, reflecting the main parameters of the technological process of rotation thromboelastometry for non-pregnant and pregnant women in different periods of physiologically occurring pregnancy of women of the Belarusian population. We performed a comparative analysis of the diagnostic reliability of standard coagulometric tests (prothrombin time, INR, APTT, fibrinogen, D-dimer, LA (Lupus anticoagulants),  $\beta$ -2-GP I, aCL, AT-III, PrS, PrS) and parameters of the method of rotation thromboelastometry to improve the effectiveness of the prognosis of thrombotic disorders in women with recurrent miscarriage. We have revealed the features of the distribution of allelic polymorphism of hemostasis genes (FV, FII, FXIII, FGB, PAI-I, GPIb $\alpha$ ) and folate cycle (MTHFR) in women recurrent miscarriage. We developed the methodology of establishing an integral criterion for predicting the prognosis for the formation of a hypercoagulable state in pregnancy in women with recurrent miscarriage. We have developed an algorithm for diagnosing inherited and acquired thrombophilia in women with recurrent miscarriage.

**Directions for use:** the results should be used to improve the efficiency of laboratory diagnosis of acquired and inherited thrombophilia in women with recurrent miscarriage.

**Scope of application:** clinical laboratory diagnostics, obstetrics and gynecology, hematology.

Научное издание

**Гриневич** Татьяна Николаевна

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ТРОМБОФИЛИЙ И  
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ  
У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ  
БЕРЕМЕННОСТИ

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Подписано в печать 06.03.2018.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.  
Гарнитура Таймс. Ризография.  
Усл.-печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,42. Тираж 60 экз. Заказ 43.

Издатель и полиграфическое исполнение  
учреждение образования  
«Гродненский государственный медицинский университет».  
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно.