

Блощинский Степан Андреевич

Биомикроскопия сосудов бульбарной конъюнктивы в диагностике
плацентарных нарушений у женщин с неблагоприятным исходом беременности
в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском

14.01.01 – акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Блощинская Ирина Анатольевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой акушерства и гинекологии краевого
государственного бюджетного образовательного учреждения
дополнительного профессионального образования «Институт
повышения квалификации сотрудников здравоохранения»
министерства здравоохранения Хабаровского края

**Галина Всеволодовна
Чижова**

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры
акушерства и гинекологии федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения высшего образования
«Кемеровский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Оксана Николаевна
Новикова**

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 20__ г. в 09.00 на заседании диссертационного совета
Д.208.096.03 при федеральном государственном образовательном учреждении высшего
образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ
Минздрава России (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107) и на сайте <https://www.ssmu.ru/>

Автореферат разослан « ____ » _____ 20__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Мустафина Лилия Рамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Свыше 52% женщин с акушерскими осложнениями несут в себе тромбофилические дефекты [Зарудская О.М., 2013; Краснопольский В.И., 2013; Момот А.П., 2013; Ahangari N. et al., 2019; Bereziuk O. M. et al., 2019; Bremme K., et al., 2019; Campello E., 2019; Fernández Arias M. et al., 2019; Lafalla O. et al., 2019; Mitriuc D., 2019; Schreiber K. et al., 2018].

Беременность является уникальным «тестом» на скрытую тромбофилию, способствуя её фенотипическому проявлению в различные сроки беременности в связи с влиянием на: процесс имплантации плодного яйца, формирования и роста ветвистого хориона; функционального состояния эндотелия; активации провоспалительного ответа; формирования прокоагулянтного потенциала свёртывающей системы крови [Макацария А.Д., 2017; Dłuski D. et al., 2017].

Избыточная генерация тромбина, тромботические повреждения плаценты при тромбофилии играют важную роль в развитии ранней и поздней преэклампсии (ПЭ), увеличивая риск ранней ПЭ в 4 раза, задержку роста плода (ЗРП) в 2 раза, родоразрешение до 28 недель в 3 раза, показатели перинатальной смертности в 6 раз. Среди женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском, материнская тромбофилия выявляется до 75%, из их числа: с преждевременной отслойкой плаценты у 80%; с венозной тромбэмболией у 100%; с антенатальной гибелью плода у 75%; с повторной ПЭ у 96,4% [Атабаева Х.Л., 2014; Нестерова, Э.А., 2014; Макацария А.Д., 2017; Nardoza L. M. et al., 2017; Sehgal A., 2019].

Решение проблемы профилактики плацента-ассоциированных нарушений течения беременности у носителей постоянных и приобретённых факторов тромбогенного риска представляет более сложную проблему в связи с длительностью периода беременности и возможностью реализации тромбоза в любые её сроки [Зайнулина М.С., 2010; Elayoubi J., 2018; Akdemir Y., 2019; Garmi G. et al., 2019]. Особую ценность приобретают результаты научных исследований по поиску маркеров тромбинемии, тромбогенной опасности, тромбогенной готовности [Радзинский В.Е., 2011; Путилова Н.В., 2014; Момот А. П., 2015; Wang Y. et al., 2015; Colucci G., 2017; Favaloro E. J., 2019; Levkova

M. et al., 2019].

Метод биомикроскопии сосудов бульбарной конъюнктивы (БМСБК) позволяет открыть «информационное окно» в сосудистую систему человека, проводить прямую оценку многих морфофункциональных параметров микроциркуляторного русла (МЦР), процессов микроциркуляции (МЦ) и отчасти состояния тканевого окружения [Сиротин Б.З., 2010; Abdo I. et al., 2014; Xu Z. et al., 2015; Karanam V.C. et al., 2019; Moka S. et al., 2019].

Степень разработанности темы. Имеющиеся данные недостаточно полно дают представление о состоянии МЦР на различных стадиях формирования тромботической ситуации в МЦ, приводящих к развитию плацентарной недостаточности (ПН). Изучением проблемы неблагоприятного исхода беременности, ассоциированного с тромботическим риском, занимались ведущие специалисты: А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, А.П. Момот, Г.Т. Сухих, D. Dłuski, E.M. Battinelli, L. Skeith, O.M. Bereziuk, C. Tromeur, D. Mitriuc.

Цель исследования – оценить возможности БМСБК в диагностике гестационных нарушений у женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском, для проведения профилактической терапии.

Задачи исследования.

1. Изучить состояние МЦР с использованием БМСБК при неосложнённом течении беременности и при различных видах акушерской патологии, приводящих к развитию плацентарной недостаточности, ассоциированной с развитием тромботической микроангиопатии.

2. Выявить возможности диагностики доклинической стадии плацентарной недостаточности у женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском.

3. Оценить возможность использования данных БМСБК о состоянии МЦР для начала и контроля эффективности использования антикоагулянтной терапии у женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском.

Научная новизна. На основании использования неинвазивного метода диагностики – БМСБК впервые проведено исследование состояния МЦР в различные сроки неосложнённого течения беременности и при различных видах акушерской патологии, приводящей к развитию ПН: обусловленной тромбофилией; обусловленной тяжёлой ПЭ.

Впервые проведено исследование состояния МЦР у женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском. Использование БМСБК в динамике позволило выявить признаки атонической формы нарушений МЦ в сроках беременности от 5 до 22 недель, до периода появления признаков ПН.

Впервые метод БМСБК использован в динамике для начала и контроля эффективности использования антикоагулянтной терапии для достижения благоприятного завершения беременности у женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты расширяют фундаментальные знания о состоянии МЦР в меняющихся условиях гемодинамики и реологии крови при неосложнённом течении беременности и при ПН, обусловленной тромбофилией и тяжёлой ПЭ. Результаты исследования акцентируют внимание на диагностике состояния тромботической готовности на основе использования неинвазивного метода БМСБК, как в период признаков ПН, так и на доклинической стадии.

Динамическое использование БМСБК с ранних сроков беременности позволяет выявлять состояние тромботической готовности до периода появления признаков ПН. Использование БМСБК в качестве маркера тромботической готовности (тромбинемии) в системе МЦ нацеливает на своевременное проведение антикоагулянтной терапии с целью избежать неблагоприятный исход беременности раннего срока, как и поздних гестационных осложнений у женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе. Динамическое использование метода БМСБК позволяет проводить коррекцию времени начала и контроля эффективности проведения

антикоагулянтной терапии для достижения благоприятного исхода беременности.

Методология и методы исследования. Методологической базой послужили труды отечественных и зарубежных учёных, посвящённые изучению вопросов: морфометрии и патофизиологии состояния МЦР; врождённых и приобретённых форм тромбофилии; плацентарных нарушений, ассоциированных с тромботическим риском; тромбопрофилактики.

Для выполнения поставленных задач исследование проведено в два этапа. На первом этапе проведено исследование состояния МЦР путём выполнения БМСБК при неосложнённом течении беременности в сравнении с небеременными женщинами. На основании клинических, лабораторных данных и проведения специальных методов исследования отобрана группа женщин с признаками ПН и нарушениями состояния МЦР конъюнктивы. Дополнительно исследовали состояние основных параметров системы гемостаза. На этом этапе исследования установлены признаки, характеризующие развитие тромботической ситуации в МЦР, приводящие и сопутствующие развитию ПН.

На втором этапе исследования обследованы женщины с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском. Дизайн исследования: проспективное когортное исследование. Путём проведения динамической БМСБК с интервалом через 2 недели с 5 до 22 недель беременности выделены группы исследования с установленными и не установленными нарушениями состояния МЦР конъюнктивы. Дополнительно всем беременным проведено исследование основных показателей гемостаза, врождённых и приобретённых форм тромбофилии. С момента выявления признаков нарушения состояния МЦР конъюнктивы рекомендована профилактическая антикоагулянтная терапия. Поскольку не все беременные дали согласие на применение антикоагулянтной терапии был проведён сравнительный анализ исхода беременности у женщин, получавших и не получавших антикоагулянтную терапию при выявленных нарушениях МЦ.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с

использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 22 (© «SPSS: An IBM Company», США).

Положения, выносимые на защиту:

1. Неосложнённое течение беременности характеризуется развитием гипердинамической формы состояния МЦ, не приводящей к микроциркуляторной недостаточности. У беременных с признаками ПН, обусловленными тромбофилией развивается атоническая форма, у беременных при ПЭ спастико – атоническая и ишемическая формы нарушения МЦ.

2. У женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском, диагностируется тромботическая готовность в системе МЦ до периода проявлений ПН (признаки атонической формы нарушений МЦ).

3. Динамическое использование БМСБК позволяет установить оптимальные сроки для начала и контроля эффективности использования антикоагулянтной терапии на основании выявления тромботической готовности в системе МЦ, и обеспечить благоприятный исход беременности.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности результатов работы обеспечивается достаточным объемом клинического материала, использованием современных методов исследования и статистических методов обработки полученных результатов.

Материалы диссертации представлены на: XVIII открытой конкурс-конференции молодых учёных ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Хабаровск, 2016); II Общероссийской конференции с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (г. Санкт-Петербург, 2016); Международной конференции «Репродуктивная медицина: взгляд молодых – 2016» (г. Санкт-Петербург, 2016); Дальневосточной региональной научно-практической конференции с международным участием «Новые технологии в акушерстве и гинекологии» (г. Хабаровск, 2016, 2018); XVII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя - 2016» (г.

Москва, 2016); 3-ем Всемирном Конгрессе «Controversies in Thrombosis and Hemostasis (CiTH)» совместно с 8-й Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии (г. Москва, 2016).

Личный вклад автора в работу. Автором лично осуществлён отбор женщин в группы исследования, определена цель исследования, сформулированы задачи. Разработана тематическая карта для сбора данных, проведено обследование женщин, анализ полученных лабораторных данных. Автор самостоятельно проводил исследование состояния МЦР конъюнктивы путём проведения БМСБК у всех входящих в программу исследования женщин. Систематизация полученной информации и статистическая обработка данных проведена лично автором.

Публикации. По результатам выполненных исследований опубликовано 14 печатных работ, 5 из них в научных изданиях, рекомендованных Перечнем Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста, содержит 20 таблиц, 8 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов собственных исследований (клинической части), обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и библиографического списка, включающего 296 литературных источников, из которых 155 отечественных и 141 иностранных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы степень ее разработанности, определены цель, задачи исследования, научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен обзор современной отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, а именно: даны анатомо-физиологические характеристики состояния МЦР и влияние лекарственной

терапии на его состояние; проведён анализ вариантов неблагоприятного исхода беременности, ассоциированного с тромботическим риском; представлены результаты современных исследований по проблеме тромбофилии и факторам тромбогенного риска; приведены результаты использования низкомолекулярных гепаринов у женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе.

Во второй главе описаны материал и методы исследования.

На первом этапе исследования группу сравнения (ГС) составили 30 женщин с неосложненным течением беременности и благоприятном исходе родов. В качестве контрольной группы (КГ) было обследовано 20 здоровых небеременных женщин в возрасте от 25 до 35 лет в первой фазе менструального цикла при условии отсутствия использования гормональной контрацепции. В основную группу (ОГ) вошли 50 беременных с установленными признаками ПН в сроке беременности 28-36 недель в стадии суб – и декомпенсации и установленными нарушениями состояния МЦР

При отборе беременных в ОГ использовали следующие критерии исключения: влияние инфекционного фактора; экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации; сахарный диабет; внутриутробные пороки развития плода. Из числа ОГ выделены подгруппы: ОГ-I с признаками ПН в связи с тромбофилией (n=24); ОГ-II с признаками ПН в связи с тяжёлой ПЭ (n=26). Женщины ОГ-I включены ретроспективно на основании результатов обследования на врождённые и приобретённые формы тромбофилии, проведённого после родоразрешения [Макацария А.Д., 2017].

Группы второго этапа исследования сформированы из числа женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированного тромботическим риском при исключении влияния инфекционного фактора. Критериями исключения служили: наличие анатомических причин потери беременности; аномалии кариотипа родителей; наличие несовместимости супругов по 3 и более аллелям системы HLA; инфекционный генез неблагоприятного исхода предыдущей беременности; наличие сведений о

хромосомной аномалии у плода при репродуктивной потере; отказ от участия в исследовании. Все беременные второго этапа исследования обследованы на предмет: влияния инфекционного фактора; наличия приобретенных форм тромбофилии (АФС, гипергомоцистеинемия); наличия врожденных факторов тромбогенного риска; состояния основных показателей системы гемостаза; состояния МЦР путем проведения БМСБК.

Всем женщинам второго этапа исследования от положительного теста на беременность с интервалом в 2 недели до родоразрешения проводилась БМСБК. В процессе наблюдения выделены группы исследования на основании диагностики состояния МЦР. ОГ-III составили 87 беременных с выявленными до 22 недель беременности нарушениями состояния МЦР. ГС-II составили 43 беременные без нарушения МЦР.

С момента выявления у беременных ОГ-III претромботической ситуации в МЦР, подтвержденной результатами исследования основных параметров системы гемостаза, была рекомендована антикоагулянтная терапия. По различным причинам отказались от проведения антикоагулянтной терапии 27 женщин. Проведён сравнительный анализ исхода беременности у получавших и не получавших антикоагулянтную терапию.

Исследование состояния МЦР. Оценку состояния МЦР проводили с использованием метода БМСБК. Визуализацию МЦР осуществляли с помощью щелевой лампы ЩЛ-25. Регистрирующую проводили с использованием цифровой видеокамерой Panasonic NV-GS500 (Япония). Общее увеличение установки составило 96 крат (оптика щелевой лампы 8 крат и оптика видеокамеры 12 крат). Видеоизображения сосудов выводили на монитор с помощью программы Ulead VideoStudio (сайт разработчика – <http://www.videostudiopro.com>) и проводили оценку состояния МЦ, записывая отдельные видеофрагменты сосудистого русла в компьютер. Морфологический анализ МЦ проводили с помощью программы, предназначенной для анализа подвижных или меняющих свои свойства объектов ВидеоТест-Динамика 4.0 (ООО «ВидеоТест», Санкт-Петербург).

Исследование основных параметров системы гемостаза.¹ Исследование основных параметров системы гемостаза выполнено на автоматическом коагулометре-анализаторе SYSMEX CA-560 (Sysmex, Япония). Выполнялись клоттинговые тесты: протромбиновое время (сек); протромбиновый показатель по Квику (%); фибриноген (г/л) – реагент Multifibren®U; АЧТВ (сек) - реагент Pathromtin®SL; тромбиновое время (сек) – реагент Test Trombin Reagent; хромагенный тест на содержание антитромбина III (%) – реагент Berichrom®Antitrombin III и иммунологический тест на содержание Д-димера (мкг/л) – реагент INNOVANCE®D-Dimer. Определение РФМК проводили ортофенантролиновым тестом (ООО «Технология Стандарт», г. Барнаул). Спонтанную фибринолитическую активность (%) определяли методом М.А. Котовщиковой и Б.И. Кузника, подсчет количества тромбоцитов проводили методом фазово-контрастной микроскопии в камере Горяева. Состояние агрегационной функции тромбоцитов индуцированной АДФ (реагент CHRONOLOG Corporation) и ристомицином (реагент ООО «Технология Стандарт», г. Барнаул) оценивали на агрегатометре «БИОЛА».

Оценка генетических² и приобретенных факторов тромбофилии. Выделение ДНК проводили с помощью фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование однонуклеотидных замен проводили в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Проводили определение полиморфизмов в генах: F2 - протромбин (20210 G>A); F5 - Leiden (1691 G>A); F7 (10976 G>A); FGB - фибриноген (455 G>A); Serpin1 (PAI-1) - ингибитор активатора плазминогена (675 5G>4G); ITGA2 - λ_2 -интегрин-тромбоцитарный к коллагену (807 C>T); ITGB3-b - интегрин-тромбоцитарный фибриногена (176 T>C); PROC-протеин С (2014,3 G>A). С целью выявления генетических полиморфизмов в генах, связанных с обменом фолиевой кислоты, нами исследованы следующие гены:

¹ Исследование выполнено в биохимической лаборатории КГБУЗ «Краевая клиническая больница №1 им. Профессора С.И. Сергеева» врачом-лаборантом высшей категории, к.м.н. Т.А. Паршиной.

² Исследование выполнено в лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск).

МТНFR - метилтетрагидрофолатредуктазы (С665 С>Т); МТRR – метионинсинтазыредуктазы (А>G); МTR - метионинсинтазы (А>G). Диагностика приобретенных форм тромбофилии проводилась иммуноферментным методом (диагностические наборы Био-ЛА-Тест компании «Erba Rus», Россия).

Третья глава посвящена оценке состояния основных компонентов МЦР при неосложненном течении беременности и при различных видах акушерской патологии, приводящих к развитию ПН.

Четвертая глава посвящена изучению возможности диагностики доклинической стадии ПН у беременных с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированного с тромботическим риском.

Заключение посвящено анализу и обсуждению полученных результатов с привлечением данных современной литературы по изучаемой теме.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика клинических наблюдений. Нами проведён анализ течения беременности и исхода родов. Досрочное родоразрешение проведено 26 (100%) беременным ОГ-II и 11 (45,83%) женщинам из числа ОГ-I от нескольких часов до одних суток от момента поступления в лечебное учреждение. Из числа женщин ОГ-I в 13 (54,17%) случаях родоразрешение произошло в сроки беременности после 37 недель. Оперативное родоразрешение среди беременных первого этапа исследования проведено в 37 (74,00%) случаях, из них в ОГ-I в 17 (70,83%), в ОГ-II в 20 (76,92%). Масса плодов при рождении была от 1100 до 2600 г. Случаев перинатальных потерь в ОГ первого этапа исследования не было. В ГС первого этапа исследования завершение родов произошло в сроки доношенной беременности во всех случаях.

На основании результатов диагностики состояния МЦР в сроках беременности до 22 недель выделены группы второго этапа исследования: ОГ-III (n=87) с установленными признаками нарушения состояния МЦР; ГС-II (n=43) без признаков нарушения состояния МЦР. В ОГ-III признаки состояния МЦР установлены в сроках беременности: до 16 недель у 48 (55,17%); от 16 до 22 недель у 39 (44,83%) беременных. Поскольку из числа женщин ОГ-III терапию

надропарином кальция получали 60 беременных и не получали 27, важным явился анализ исхода беременности в обеих группах. Из числа женщин, получавших НМГ в 56 (93,33%) случаях произошло завершение беременности родами в срок, при этом только в 3-х случаях (5,00%) отмечены явления ПЭ умеренной степени. Во всех случаях отмечен исход беременности без признаков ПН. В группе беременных (n=27), отказавшихся по различным причинам от проведения антикоагулянтной терапии у 6 (22,22%) беременных произошли роды в срок, во всех случаях сопровождаясь признаками ПН. В ГС-II произошло завершение беременности родами в срок у 36 (83,72%) женщин, и преждевременными родами у 7 (16,28%) женщин в связи с преждевременным разрывом плодных оболочек, во всех случаях без признаков ПН.

Состояние основных компонентов микроциркуляторного русла при неосложненном течении беременности и при различных видах акушерской патологии, приводящих к развитию плацентарной недостаточности

Установлено, что к третьему триместру течения беременности у женщин ГС относительно КГ происходят изменения артериовенозных взаимоотношений и частичные структурные изменения микрососудов с возрастанием собирательного звена МЦР ($p < 0,001$). Присутствуют признаки гипердинамических циркуляторных изменений МЦ, преимущественно функционального характера. Повышение тонуса артериол ($p < 0,001$) сопряжено с увеличением скорости кровотока как в приводящем, так и в отводящем звене МЦР. Отмечаются первые признаки повышения агрегационной активности форменных элементов крови в капиллярном сегменте МЦР во II и III триместрах беременности ($p < 0,05$).

Выявленные изменения в состоянии МЦР в ГС относительно КГ в полной мере соответствуют гипердинамической форме состояния МЦ [Сиротин Б.З., 2010]. Данные изменения отражают преимущественно функциональные, обратимые сдвиги в МЦ, не приводящие к микроциркуляторной недостаточности. Изменения МЦР объяснимы с точки зрения понимания процессов адаптации МЦ к новым условиям гемодинамики при беременности

[Abdo I. et al., 2014]. Основные показатели системы гемостаза соответствовали референсным интервалам в различные сроки неосложненного течения беременности [Иванец Т.Ю., 2016; Olson J.D., 2015]. Выявленные изменения в МЦР при неосложненном течении беременности, при отсутствии значимых изменений параметров системы гемостаза исключают возможность развития в системе МЦ тромботической ситуации и свидетельствуют в пользу компенсаторно-приспособительных реакций в МЦ, направленных на благоприятное завершение беременности.

У беременных ОГ отмечены признаки выраженного изменения состояния МЦР. В подгруппе ОГ-I на фоне нормативных показателей центральной гемодинамики в МЦ отмечается тенденция к уменьшению диаметра приносящего сосуда с выраженным увеличением диаметра венул ($p < 0,001$), уменьшение скорости кровотока как в артериолах ($p < 0,05$), так и в венулах ($p < 0,001$), что на фоне выявленного у женщин ОГ-I повышения агрегационной активности клеток крови во всех звеньях МЦР способно привести к развитию тромботической ситуации в МЦ. Показатели системы гемостаза в полной мере подтвердили развитие у беременных ОГ-I признаков высокого риска тромботической готовности.

У беременных с признаками ПН обусловленными тромбофилией (подгруппа ОГ-I) нами выявлена атоническая форма нарушений МЦ, что на начальном этапе может отражать преимущественно функциональный характер поражения МЦР, но способно привести к развитию тромботической микроангиопатии и всех её фатальных последствий [Сиротин Б.З., 2010; Макацария А.Д., 2017; Dłuski D., 2017; Dugalic S. et al., 2019]. Наиболее выраженные изменения МЦР отмечены у беременных с признаками ПН, обусловленной развитием тяжелой ПЭ (подгруппа ОГ-II). На фоне спастического состояния приносящего звена МЦР ($p < 0,001$), реактивной перестройки венул ($p < 0,001$), уменьшения (A/V) отношения в 1,9 раза отмечаются признаки тяжёлой степени МЦ недостаточности. Уменьшение плотности функционирующих капилляров ($p < 0,001$), то есть rareфикация или

разрежение капиллярной сети сокращает суммарную площадь функционирующих сосудов в 4 раза, повышает сосудистое сопротивление, служит причиной неадекватной перфузии, ведущей в ишемии органов и тканей [Сафонова Т.Н., 2016]. Максимальные проявления агрегационной активности форменных элементов крови во всех звеньях МЦР происходят на фоне более чем трехкратного ограничения скорости кровотока во всех звеньях МЦР, что способствует развитию органной дисфункции/недостаточности. Только у женщин ОГ-II отмечены периваскулярные изменения, характеризующиеся мутным фоном конъюнктивы вследствие отёка и возникновения отдельных геморрагий. При проведении корреляционного анализа нами установлена прямая связь между диаметром венул и степенью агрегации форменных элементов крови: в артериолах ($r = +0,75$) и в венулах ($r = +0,87$) в ОГ-I; в артериолах ($r = +0,85$) и в венулах ($r = +0,72$) в ОГ-II. При исследовании основных показателей системы гемостаза у беременных подгруппы ОГ-II установлены изменения идентичные данным подгруппы ОГ-I. Таким образом, при исследовании состояния МЦР у беременных с признаками ПН, обусловленными развитием ПЭ (подгруппа ОГ-II), нами установлена спастико-атоническая и ишемическая формы нарушений МЦР, отражающие структурно-функциональные и как правило необратимые нарушения МЦР, ведущие к микроциркуляторной недостаточности [Сиротин Б.З., 2010]. Тромботическая микроангиопатия является патогенетическим механизмом развития органной недостаточности, в данном случае ПН у пациенток ОГ-I и ОГ-II. Критическое состояние МЦР у беременных ОГ-II способно привести к полиорганным проявлениям (дисфункции/недостаточности).

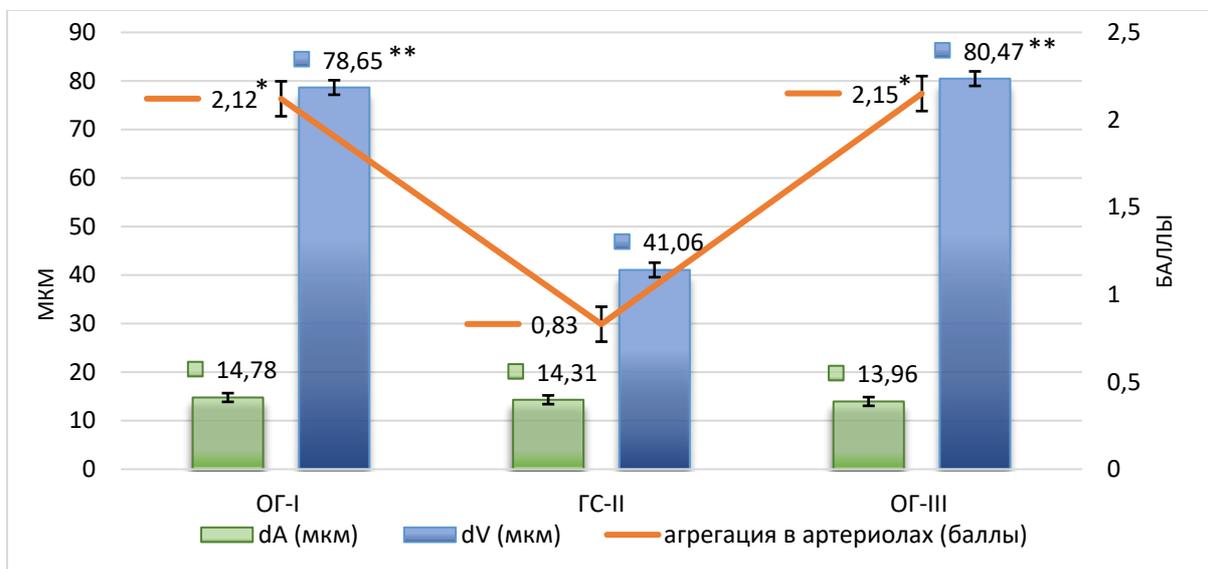
Возможности диагностики доклинической стадии плацентарной недостаточности у беременных с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском

Изменения состояния МЦР по данным БМСБК в ОГ-III в целом характеризовались нарушением венозного оттока при явлениях агрегации форменных элементов крови, способствующих затруднению кровотока в

системе МЦ. У женщин ГС-II агрегация в системе МЦ отсутствовала во всех исследованиях в аналогичные сроки беременности.

В ОГ-III в отличие от данных первичного осмотра в сроке беременности 5 недель, при обследовании до 22 недель при неизменном диаметре артериол произошло значительное увеличение диаметра венул ($42,39 \pm 1,22$ мкм и $80,47 \pm 1,61$ мкм, $p < 0,001$), увеличение площади капиллярной сети ($5,44 \pm 0,67$ кап/мм² и $11,58 \pm 1,24$ кап/мм², $p < 0,001$) с уменьшением артериовенозного отношения ($0,31 \pm 0,02$ и $0,16 \pm 0,06$, $p < 0,05$). Нарушения МЦ происходили при появлении признаков агрегации форменных элементов крови как в артериолах ($0,83 \pm 0,29$ баллов и $2,15 \pm 2,27$ баллов, $p < 0,05$), так и в значительно большей степени в венулах ($0,27 \pm 0,25$ баллов и $2,16 \pm 0,39$ баллов, $p < 0,001$). Затруднение венозного оттока проявлялось значительным уменьшением скорости кровотока в венулах ($1,65 \pm 0,11$ мм/с и $0,74 \pm 0,14$ мм/с, $p < 0,001$). При морфометрии МЦР конъюнктивы в ГС-II изменений не выявлено. При сопоставлении показателей, характеризующих состояние МЦР у беременных ОГ-III без признаков ПН и беременных ОГ-I в период проявлений ПН, обусловленных тромбофилией установлены идентичные признаки. У беременных ОГ-III в период выявления нарушений состояния МЦР по данным БМСБК в сроках беременности до 22 недель без признаков ПН отмечено уменьшение артериовенозного отношения в 2 раза в отличие от исходных данных и данных беременных ГС-II в аналогичном сроке беременности ($p < 0,05$). Такое же соотношение установлено нами у беременных ОГ-I с признаками ПН, обусловленными тромбофилией, на первом этапе исследования, где показатель артериовенозного отношения был уменьшен в два раза относительно показателя ГС ($p < 0,05$). Таким образом, была выявлена общая закономерность при морфометрии МЦР в ОГ-I и в ОГ-III, при которой важным отличием было отсутствие проявлений ПН в ОГ-III (величина A/V-отношения $0,17 \pm 0,04$ и $0,32 \pm 0,01$ соответственно в ОГ-I и ГС первого этапа исследования, $p < 0,05$; $0,16 \pm 0,06$ и $0,34 \pm 0,04$ соответственно в ОГ-III и ГС-II второго этапа исследования, $p < 0,05$). При отсутствии изменений приносящего сегмента МЦР в ОГ-III, как и в ОГ-I произошло значимое изменение диаметра

венул ($80,47 \pm 1,61$, $78,65 \pm 2,21$ и $41,06 \pm 1,21$ мкм, соответственно в ОГ-III, ОГ-I и ГС-II, при $p < 0,001$) с выраженным замедлением в данном сегменте МЦР скорости кровотока ($0,74 \pm 0,14$ и $1,50 \pm 0,17$ мм/с, соответственно в ОГ-III и ГС-II, $p < 0,05$), соответствующим показателю ОГ-I ($0,76 \pm 0,23$ мм/с). Нарушения венозного оттока в МЦР у беременных ОГ-III, как и у женщин ОГ-I сопровождались высокой агрегационной активностью в артериолах ($p < 0,001$), венулах ($p < 0,001$), и капиллярах ($p < 0,05$). Соотношение величины диаметра артериоловеноулярного звена МЦР и степени агрегации в артериолах в ОГ-I, ОГ-III и ГС-II представлены на рисунке 1.



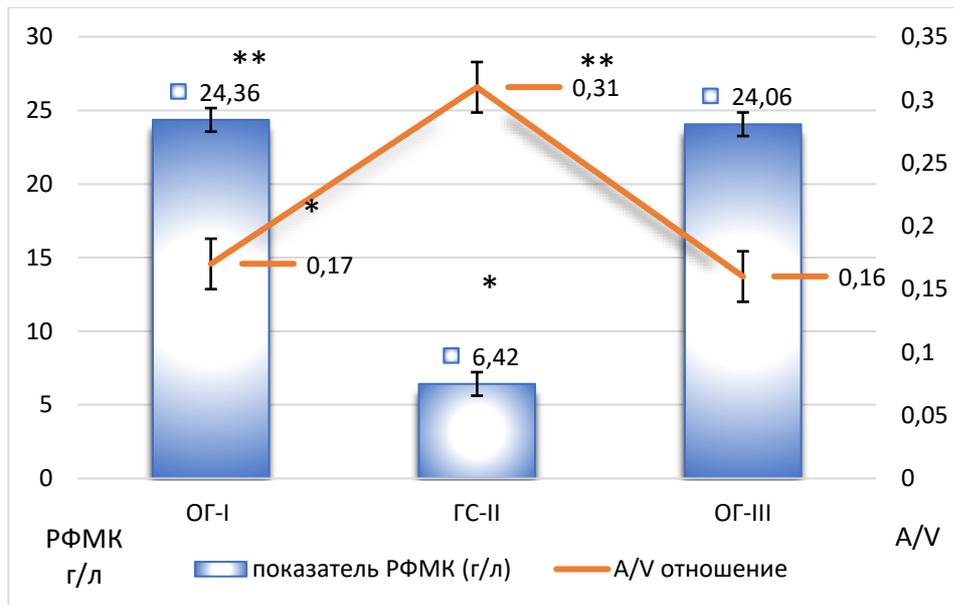
Примечание – * - различие достоверно между ОГ и ГС-II, $p < 0,05$; ** - различие достоверно между ОГ и ГС-II, $p < 0,001$.

Рисунок 1 – Соотношение величины диаметра артериоловеноулярного звена МЦР и степени агрегации в артериолах в ОГ-I, ОГ-III и ГС-II

На момент появления нарушений МЦ в ОГ-III в сроки беременности до 22 недель в сравнении с исходными показателями выявлены значимые различия, тогда как в ГС-II при отсутствии изменений МЦ, показатели системы гемостаза не менялись в сравнении с исходными данными.

При проведении корреляционного анализа нами установлена прямая положительная связь между показателями РФМК и признаками агрегации в артериолах ($r = +0,75$) и венулах ($r = +0,89$) у беременных в ОГ-III на период высокого риска развития тромботической ситуации. Соотношение тонуса

артериоловеноулярного сегмента МЦР и одного из показателей паракоагуляции (РФМК) представлено на рисунке 2.



Примечание – * - различие достоверно между ОГ и ГС-II, $p < 0,05$; ** - различие достоверно между ОГ и ГС-II, $p < 0,001$.

Рисунок 2 – Соотношение величины артериовенозного отношения и показателя РФМК у беременных ОГ-I, ОГ-III и ГС-II

Таким образом при исследовании состояния МЦР у беременных ОГ-III выявлена атоническая форма нарушения МЦ. При сравнительном анализе частот генотипов в ОГ-III и ГС-II с использованием χ^2 с поправкой Йейца, установлено влияние следующих факторов на процесс развития тромботической микроангиопатии: F5 – Leiden (10.072, $p < 0,001$); FGB (57.477, $p < 0,001$); PAI-1 (59.669, $p < 0,001$); ITAG 2 (41.462, $p < 0,001$); ITAGB 3 (15.775, $p < 0,01$). При анализе вариантов генотипов с использованием χ^2 с поправкой Йейца, установлено влияние мутаций генов, регулирующих фолатный цикл, на вероятность развития тромботической ситуации в МЦР: MTHFR (12.899, $p < 0,001$); MTRR (5.198, $p < 0,01$). Особый интерес представляют полученные нами данные о влиянии мультигенного носительства сочетания патологических аллелей генов PAI-1, FGB и ITAGA 2, при котором с использованием χ^2 с поправкой Йейца, установлено влияние данного фактора на вероятность развития тромботической ситуации в МЦР (41.462, $p < 0,001$).

Из числа беременных второго этапа исследования, отобранных на

основании неблагоприятного исхода беременности, ассоциированного с тромботическим риском, соответствовали общепринятым критериям тромбофилии 51,54%, что согласуется с данными ранее проведенных исследований. Из числа женщин ОГ-III 67 (79,76%) соответствовали общепризнанным критериям тромбофилии. У 20,24% из числа женщин ОГ-III, прошедших генетическое исследование) отсутствовали общепринятые критерии тромбофилии, но выявлены признаки тромботической готовности в МЦР и признаки высокого тромботического риска при исследовании основных параметров системы гемостаза. У данной категории беременных ОГ-III (20,24%) можно предполагать наличие так называемых «новых» тромбофилий (носительства сочетания патологических аллелей генов PAI-1, FGB и ITGA 2), поиску и доказательству роли которых в развитии плацента-ассоциированных нарушений течения беременности посвящены многочисленные исследования [Barlik M. et al., 2016; Seferovic, M.D., 2016; Aracic N. et al., 2016; Huang Z. et al., 2017; Adler G. et al., 2018].

ВЫВОДЫ

1. Изменения МЦР при неосложнённом течении беременности, с использованием БМСБК, происходят в третьем триместре и характеризуются: увеличением тонуса приносящего сегмента ($p < 0,001$); возрастанием собирательного сегмента МЦР ($p < 0,001$); увеличением скорости кровотока как в приводящем, так и в отводящем звеньях МЦР; появлением первых признаков агрегации форменных элементов крови в капиллярном сегменте ($p < 0,05$) при отсутствии изменений параметров системы гемостаза, что полностью исключает возникновение тромботической ситуации в МЦР и не приводит к микроциркуляторной недостаточности.

2. У беременных с признаками ПН, обусловленными тромбофилией выявляются микроциркуляторные нарушения, характеризующиеся: увеличением диаметра венул ($p < 0,001$); замедлением кровотока во всех сегментах МЦР; агрегационной активностью во всех сегментах МЦР; компенсаторным увеличением площади функционирующих капилляров, что

приводит к шунтированию кровотока в МЦР.

3. У беременных с признаками ПН, обусловленными ПЭ, выявляется тяжёлая степень МЦ недостаточности, характеризующаяся: спастическим состоянием приносящего звена МЦР; уменьшением в 1.9 A/V отношения; признаками rareфикации и уменьшения площади функционирующих капилляров в 4 раза; 3-х кратным ограничением скорости кровотока во всех звеньях МЦР.

4. В период беременности, ассоциированной с тромботическим риском, стадия тромботической готовности в МЦ диагностируется до 22 недель гестации в 66,92% случаев на основании выявления: нарушения венозного оттока; агрегатного состояния форменных элементов крови во всех звеньях МЦР; увеличения площади функционирующей капиллярной сети не менее чем в 2 раза. Установлена корреляционная связь между диаметром венул и степенью агрегации форменных элементов крови ($r = + 0,87$).

5. Признаки тромботической готовности в МЦР на доклинической стадии ПН подтверждаются изменениями показателей системы гемостаза, характеризующими развитие тромботической ситуации: рост продуктов паракоагуляции ($p < 0,001$); активация фибринолиза ($p < 0,001$); повышение агрегационной активности ($p < 0,001$). Установлена корреляционная связь между показателями РФМК и степенью агрегационной активности форменных элементов крови в артериолах ($r = + 0,75$) и венолах ($r = + 0,89$).

6. Среди женщин с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе, ассоциированным с тромботическим риском (при исключении инфекционного фактора) соответствие критериям тромбофилии выявляется в 51,54% случаев, и в 79,76% случаев при диагностике нарушений состояния МЦР, характеризующих развитие тромботической стадии при проведении динамической БМСБК в период гестации.

7. Мультигенное носительство патологических аллелей генов PAI-1, FGB, ITGA2 в 71,43% случаев ассоциируется с высоким тромбогенным риском, способным привести к неблагоприятному исходу беременности, наряду с

общепринятыми формами тромбофилии ($\chi^2=41,462$, $p<0,001$).

8. Признаки тромботической готовности в МЦР по данным БМСБК выявляются в период гестации, ассоциированной с тромбогенным риском до 16 недель у 55,17%, от 16 до 22 недель у 44,83%, что позволяет определять время начала проведения антикоагулянтной терапии и контролировать её эффективность на основании данных динамической БМСБК до родоразрешения.

9. Проведение антикоагулянтной терапии с момента выявления тромботической готовности в системе МЦР, по данным БМСБК, в период гестации в 93,33% случаев приводит к завершению беременности в срок без признаков ПН. Отсутствие использования антикоагулянтной терапии приводит к завершению беременности в срок в 22,22% во всех случаях с признаками ПН.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Динамическое использование метода БМСБК рекомендовать женщинам с неблагоприятным исходом беременности в анамнезе при исключении инфекционного фактора.

2. Использовать метода БМСБК при первой беременности у женщин, имеющих факторы высокого тромбогенного риска в качестве скрининга тромбинемии для обоснования назначения антикоагулянтной терапии:

- проведение БМСБК начинать со срока беременности 4-5 недель с интервалом через 2 недели;

- в случае выявления признаков атонической формы нарушения состояния МЦР конъюнктивы рекомендовать исследование системы гемостаза в течении 24-72 часов с последующим обследованием на тромбофилии;

- с момента выявления признаков тромботической готовности в МЦР рекомендовать антикоагулянтную терапию в профилактической дозе;

- контролировать эффективность антикоагулянтной терапии, рекомендовать использование лечебной дозы на основании данных динамической БМСБК в непрерывном режиме с отменой терапии НМГ за сутки до родоразрешения;

- возобновлять антикоагулянтную терапию в профилактической дозе через

6-10 часов после родоразрешения до 6-8 недель послеродового периода.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ ПЕРЕЧНЕМ ВАК

1. Блощинская, И. А. Биомикроскопия сосудов конъюнктивы в диагностике гестационных осложнений: тезисы доклада / И. А. Блощинская, С. А. Блощинский // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – №3, Приложение 1. – С. 63–64.
2. Блощинская, И. А. Оптимизация ведения беременных высокого риска развития тромбофилии / И. А. Блощинская, С. А. Блощинский // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – №4 (68). – С. 51–56.
3. Блощинский, С. А. Использование биомикроскопии сосудов бульбарной конъюнктивы в диагностике фетоплацентарных проблем связанных с тромбофилией во время беременности / С. А. Блощинский, И. А. Блощинская // Дальневосточный медицинский журнал. – 2016. – №2. – С. 23–28.
4. Блощинский, С. А. Роль генетических факторов риска тромбофилии при неблагоприятном исходе беременности в анамнезе / С. А. Блощинский, И. А. Блощинская // Дальневосточный медицинский журнал. – 2017. – №3. – С. 23–28.
5. Жмеренецкий, К. В. Биомикроскопия сосудов бульбарной конъюнктивы в диагностике гестационных осложнений, ассоциированных с развитием тромбофилии / К. В. Жмеренецкий, И. А. Блощинская, С. А. Блощинский // Гинекология. – 2018. – №20 (3). – С. 21–25.
6. Блощинский, С. А. Возможности использования биомикроскопии сосудов бульбарной конъюнктивы в диагностике плацентарных нарушений при беременности / С. А. Блощинский, К. В. Жмеренецкий, И. А. Блощинская // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 12. – С. 36–41.