

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

---

*На правах рукописи*

**Баранов Дмитрий Алексеевич**

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ  
ОТ ЖЕНЩИН С МАРКЕРАМИ НАСЛЕДСТВЕННО  
ОБУСЛОВЛЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ**

14.01.08 – педиатрия

Диссертация

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор О.П. Ковтун

Екатеринбург

2014

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДСТВЕННО ОБУСЛОВЛЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ: ПОПУЛЯЦИОННО- ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ, КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	14
1.1. Тромботические и нетромботические эффекты тромбофилии, сопряженные с риском реализации мультифакторной патологии.....	14
1.2. Характеристика генетических маркеров, ассоциированных с развитием тромбофилии и нарушениями фолатного цикла .....	20
1.3. Роль полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного цикла в формировании патологических состояний в педиатрической практике .....	32
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
Глава 3. ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ОТ ЖЕНЩИН С МАРКЕРАМИ НАСЛЕДСТВЕННО ОБУСЛОВЛЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ .....	44
3.1 Оценка состояния здоровья матерей с отягощенным тромбофильным анамнезом, особенности течения беременности и родов .....	44
3.2. Анализ течения раннего и позднего неонатальных периодов у детей, рожденных от женщин с маркерами генетически детерминированной тромбофилии .....	49

3.3. Оценка связи факторов риска и клинической картины течения неонатального периода у детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом .....	57
3.4. Результаты катамнестического наблюдения за состоянием здоровья детей исследуемых групп в течение первого года жизни...	59
Глава 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ОТ ЖЕНЩИН С МАРКЕРАМИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ .....	77
4.1. Частота выявления генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии и нарушениями фолатного цикла среди матерей групп сравнения .....	77
4.2. Сравнительная характеристика представленности изученных функциональных генотипов у исследуемых групп детей.....	82
4.3. Анализ частоты патогенетически значимых ген-генных сочетаний у исследуемых групп детей.....	86
4.4. Оценка связи тромботических и нетромботических эффектов полиморфных вариантов генов гемокоагуляции и фолатного цикла с течением адаптационных процессов у детей .....	89
4.5. Сравнительная характеристика частоты встречаемости генетических полиморфизмов, ассоциированных с развитием тромбофилии и нарушениями фолатного цикла среди детей с ишемическим инсультом в анамнезе.....	93
4.6. Анализ частоты патогенетически значимых ген-генных сочетаний полиморфных аллелей у детей с ишемическим инсультом в анамнезе.....	106

Глава 5. РАЗРАБОТКА ЛОКАЛЬНОГО РЕГИСТРА И СХЕМЫ ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ДЕТЬМИ, РОЖДЕННЫМИ ОТ ЖЕНЩИН С ТРОМБОФИЛЬНОЙ ОТЯГОЩЕННОСТЬЮ.....	110
5.1. Концепция мониторинга за состоянием здоровья детей на первом году жизни, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом .....	110
5.2. Клинические примеры .....	122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	127
ВЫВОДЫ.....	137
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	139
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	143

## ВВЕДЕНИЕ

Современная медицинская наука и практика ориентированы на изучение многофакторных заболеваний, приобретающих наибольшую медико-социальную значимость. В основе данных заболеваний, как правило, лежат однонуклеотидные полиморфизмы геномной ДНК и различные их сочетания, которые определяют степень риска формирования патологии и возможности ее реализации [132,203]. Актуальность проблемы связана с увеличением удельного веса многофакторных заболеваний в структуре инвалидности и смертности населения (в том числе детского) особенно в странах с ограниченными возможностями [36].

Тромбофилия (ТФ), занимая одно из ведущих мест среди многофакторной патологии, вызывает все больший интерес не только у исследователей, но и у практикующих врачей [3,26,240]. Манифестация клинических проявлений тромбофилии происходит у людей различных возрастных групп, однако основополагающие причины закладываются на ранних этапах онтогенеза человека и обусловлены его генетическими особенностями [19]. Для наследственной тромбофилии характерно возникновение тромбозов даже без видимых причин, начиная с раннего детства [72]. Выполненными исследованиями показан значимый вклад тромбофилии в исходы многих заболеваний перинатального периода [1,29,34]. Данное состояние у детей, отчасти, являясь следствием неблагоприятного анамнеза матери, а также проявлением наследственной предрасположенности, реализуется под действием внешних провоцирующих факторов в виде сосудистых катастроф и нетипичного течения критических состояний. В детском возрасте проявления тромбофилии могут иметь самые драматические последствия [22].

Установлено, что проблема тромботических осложнений актуальна для педиатрической практики [177]. В ряде научных работ описаны генетические дефекты, имеющие прямое или опосредованное отношение к нарушениям

системы гемокоагуляции, гемореологии и состоянию сосудистой стенки, носительство которых ассоциировано с тромбофилией и, как следствие, риском развития тромбозов сосудов, инфарктов и ишемии органов [2,29,62,175].

Расстройства гемостаза возникают приблизительно у 1-2% новорожденных, а среди детей, нуждающихся в интенсивной терапии в 16-40% случаев [106]. Примерно у 40-47% умерших новорожденных на аутопсии находят геморрагии и тромбозы различной локализации [39,139]. На неонатальный период приходится 12% тромбозов, а возрасте от 1 месяца до 10 лет – до 50% всех тромботических состояний детского возраста [235]. Выявлено, что перинатальный ишемический инсульт встречается с частотой 1 случай на 2300–5000 детей, родившихся живыми [93,94]. При этом у новорожденных с острым нарушением мозгового кровообращения тромбофилия определяется в 20% случаев, а у детей старше одного месяца жизни – почти в 40% [20].

Перспективы клинической медицины связаны с идентификацией молекулярных маркеров заболеваний – специфических предикторов развития патологических процессов. Научные изыскания последних лет в значительной мере раскрыли наши представления о молекулярных механизмах формирования тромбофилических состояний. К настоящему времени продолжается накопление фактических данных, характеризующих наследственные факторы риска развития тромбозов, и поиск новых подходов к профилактике, лечению и динамическому наблюдению детей группы риска [53,151,192,206]. Вместе с тем, информация о распространенности генетических полиморфизмов, сопряженных с риском развития тромбофилии, и особенностях их фенотипической реализации среди детей в доступной литературе встречается единичными фрагментами [10,24,42,48,107,237]. Сведения о степени вовлеченности полиморфных аллелей прокоагуляционного спектра в патогенез тромбообразования, их вкладе в патологию нетромботического характера во всех возрастных периодах детства немногочисленны, противоречивы и часто носят дискуссионный характер [36].

Не определены критерии риска и обоснованность назначения антикоагулянтной и/или антитромботической профилактики у детей при носительстве маркеров генетически детерминированной тромбофилии без фенотипической реализации. Перспективным направлением считается установление наиболее «опасных» ген-генных сочетаний тромбофильных аллелей, их картирование и определение степени влияния на процессы дестабилизации реактивности организма. Особую актуальность приобретает данная проблематика в педиатрической практике в связи наличием критических этапов становления детского организма (периоды неонатальной адаптации, вакцинации, ростовых скачков, пубертатных перестроек).

Таким образом, нам представляется целесообразным проведение исследования по комплексной оценке состояния здоровья детей с маркерами тромбофилии в контексте связи «мать-дитя» с целью разработки схемы динамического наблюдения данной группы пациентов. Все выше перечисленное и послужило основанием для выполнения настоящего диссертационного исследования.

### **Цель исследования -**

оценить состояние здоровья детей на первом году жизни, рожденных от женщин с маркерами генетически детерминированной тромбофилии, разработать клинико-диагностический алгоритм определения степени риска тромбофильной опасности и схему динамического наблюдения.

### **Задачи исследования**

1. Охарактеризовать факторы риска и выявить особенности течения неонатального периода у младенцев, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом (ОТА) и полиморфизмом генов системы гемостаза и фолатного цикла.

2. Провести динамическое наблюдение данной группы детей на протяжении первого года жизни.

3. Проанализировать представленность протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла, а также структуру их сочетаний среди детей, рожденных от женщин с маркерами генетически детерминированной тромбофилии.

4. Установить взаимосвязь формирования нарушений функциональных систем у детей с наличием полиморфизмов генов системы гемостаза, фолатного цикла и их комбинацией.

5. Представить сравнительный анализ генетического полиморфизма среди детей, рожденных от женщин с отягощенностью по тромбофилии и младенцами, реализовавшими предрасположенность в виде тромботического сосудистого события.

6. Разработать клиничко-диагностический алгоритм определения степени риска тромбофильной опасности и схему динамического наблюдения на первом году жизни в отношении детей с установленным носительством протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла.

### **Научная новизна**

На основании анализа данных установлена связь факторов риска и клинической картины течения неонатального периода у детей, рожденных от женщин с ОТА. Выявлено, что младенцы из семей с отягощенностью по тромбофилии чаще рождались недоношенными, с меньшим сроком гестации, низкой и экстремально низкой массой тела ( $p < 0,05$ ). В отличие от ранее выполненных исследований, нами определено повышение шансов в отношении риска рождения недоношенными (ОШ=3,3), развития респираторного дистресс-синдрома (ОШ=4,1), формирования перинатального поражения ЦНС (ОШ=3,2), возникновения гипербилирубинемии (ОШ=12,1), потребности в ИВЛ (ОШ=3,8) и препаратах крови (ОШ=4,2) у новорожденных от матерей с маркерами наследственно обусловленной тромбофилии ( $p < 0,05$ ).

Установлены достоверные различия в структуре соматических (синдром срыгиваний, железодефицитная анемия, нейтропения, тромбоцитоз) и неврологических расстройств (синдром двигательных нарушений, вегетовисцеральная дисфункция, задержка психо-предречевого и статико-моторного развития), диагностированных у детей анализируемой группы на первом году жизни в сравнении с младенцами без наследственной отягощенности по тромбофилии ( $p < 0,05$ ).

Получены новые данные о частоте встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла, а также структуре ген-генных сочетаний среди детей, рожденных от женщин с предрасположенностью к тромбофилии. Младенцы из основной группы являются обладателями большего количества генетических дефектов системы гемокоагуляции и фолатного цикла с преобладанием полиморфных аллелей генов F1: -455G>A, F5: 1691G>A, ITGA2: 807C>T, ITGB3: 1565T>C, PAI-1:-675 5G>4G, MTHFR 677C>T. Определена взаимосвязь носительства альтернативных вариантов указанных генов среди новорожденных с возникновением критических состояний в периоде неонатальной адаптации. Кроме того, выделены комбинации протромботических полиморфных вариантов генов, определяющих нарушения одновременно в нескольких звеньях системы гемостаза, в сочетании с генами ферментов фолатного цикла и без них.

Впервые проанализирована наследственная предрасположенность младенцев из семей с отягощенным тромбофильным анамнезом в сравнении с детьми, перенесшими ишемический инсульт с дебютом до 3-летнего возраста. Проведенное генетическое сопоставление определило отсутствие различий в частоте регистрации анализируемых протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза (за исключением полиморфизма ITGA2: 807C>T) у представителей обеих групп и достоверное преобладание нуклеотидных замен в генах фолатного цикла (MTHFR 1298A>C, MTR 2756A>G, MTRR 66A>G) среди детей, реализовавших предрасположенность в

виде тромботического сосудистого события. Таким образом, полученные данные являются основанием для отнесения младенцев из группы анализа к категории пациентов с вероятностью реализации тромбоопасности.

На основании анализа данных семейного анамнеза, особенностей течения неонатального периода, а также результатов молекулярно-генетической диагностики носительства полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного цикла нами впервые выделена совокупность сигнальных факторов, включенных в характеристику степеней риска тромбофильной опасности.

### **Практическая значимость**

Доказана целесообразность диагностики носительства протромботических полиморфных вариантов генов системы гемокоагуляции и ферментов фолатного цикла у младенцев из семей с отягощенным тромбофильным анамнезом. Обоснована необходимость дополнительного обследования детей, рожденных от женщин с маркерами тромбофилии с целью контроля функционального состояния системы гемостаза, а, следовательно, фенотипической компенсации наследственной предрасположенности.

На основании полученных данных разработан алгоритм определения степени риска тромбофильной опасности. Внедрена в практику педиатров и неонатологов схема динамического наблюдения детей с установленным носительством полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного цикла. Обозначена необходимость определения степени риска реализации генетически детерминированной тромбофилии у данной группы пациентов. Внедрение алгоритма в практическую работу позволяет врачу-педиатру выявлять детей из группы риска тромбофильной опасности, определять участие врача-гематолога и врачей других специальностей, а также расширять объем дополнительного обследования в процессе динамического наблюдения на протяжении первого года жизни.

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

1. Факторы риска и наследственная предрасположенность к тромбофилии среди детей, рожденных от матерей с отягощенным тромбофильным анамнезом, проявляются осложненным течением неонатального периода на уровне функционального дисбаланса, напряжением основных физиологических систем ребенка (дыхательной, сердечно-сосудистой, центральной нервной систем), а также развитием отсроченных соматических и неврологических отклонений в здоровье, сохраняющихся в течение первого года жизни.

2. Младенцы, рожденные от женщин с отягощенностью по тромбофилии, являются носителями значительного количества протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза, ферментов фолатного цикла и их сочетаний.

3. Новорожденные от матерей с маркерами генетически детерминированной тромбофилии находятся в группе риска по реализации тромботических сосудистых событий, подлежат оценке степени риска тромбофильной опасности и динамическому наблюдению в последующие возрастные периоды.

### **Апробация работы**

Материалы и результаты исследования были представлены на 67-ой, 68-ой Всероссийских научно-практических конференциях молодых ученых и студентов с международным участием (Екатеринбург, 2012 г., 2013 г.); Втором конгрессе педиатров Урала с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Екатеринбург, 2012 г.); Второй немецко-российской неделе молодого ученого «Здоровье и общество» (Екатеринбург, 2012 г.); VI Всероссийской конференции «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» (Москва, 2013 г.); Научно-практической конференции «Современные проблемы анестезиологии и реаниматологии. Уральский форум» (Екатеринбург, 2013 г.), XI Всемирном конгрессе по перинатальной медицине – XI WCPM (Москва, 2013 г.), X конгрессе

Европейского общества детских неврологов – X EPNSC (Брюссель, 2013 г.); Втором Панславянском конгрессе детских неврологов (Екатеринбург, 2014 г.), а также на заседании проблемной комиссии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России (Екатеринбург, 2014 г.).

По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 6 в журналах, входящих в перечень ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты данного диссертационного исследования, проведенного в рамках междисциплинарного проекта «Изучение роли прокоагулянтных и протромботических полиморфизмов генов в формировании патологии человека на ранних этапах жизни» при грантовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, соответствуют критериям включения во Всероссийский регистр «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбозэмболических осложнений в онтогенезе».

Полученные результаты внедрены в клиническую практику МБУ «Детской городской больницы №10» Городского перинатального центра г. Екатеринбурга и ГБУЗ СО «Областной детской клинической больницы №1». Основные положения включены в тематику занятий интернов и ординаторов, циклов тематического усовершенствования для врачей-педиатров, неонатологов, а также специалистов в области перинатальной медицины на кафедре педиатрии и неонатологии ФПК и ПП ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Данные, представленные в диссертационном исследовании, включены в монографию «Генетически детерминированные тромбофилии: теория и практика».

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора состоит в составлении обзора литературы по профилю диссертационного исследования, непосредственном формировании анализируемых групп пациентов, проведении динамического наблюдения, выполнении статистического анализа, обработке и интерпретации полученных данных, разработке клинико-диагностического алгоритма, внедрении полученных результатов в практику, подготовке основных публикаций по выполненной работе.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, пяти глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы, содержащего 75 отечественных и 165 иностранных источников. Работа иллюстрирована 27 таблицами и 16 рисунками.

# **Глава 1. ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НАСЛЕДСТВЕННО ОБУСЛОВЛЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ: ПОПУЛЯЦИОННО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ, КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

## **1.1. Тромботические и нетромботические эффекты тромбофилии, сопряженные с риском реализации мультифакторной патологии**

Одной из приоритетных задач современной отрасли здравоохранения является реализация врачебным сообществом предиктивного, превентивного, партисипированного и персонифицированного подхода в клинической практике. Данный принцип содержит в себе концепция медицины XXI века – «медицины четырех «П»» [138]. Благодаря развитию молекулярной медицины, основанной на данных о структуре генома, появилась возможность диагностики, коррекции и профилактики патологических процессов у конкретного человека с учетом его уникальных особенностей.

Накопленные данные свидетельствуют о том, что значительное число болезней имеют многофакторную природу. Многофакторные заболевания (мультифакторные) — это большая и нозологически разнообразная группа болезней, развитие которых определяется взаимодействием совокупности как врожденных, так и обусловленных средой, причин [7,19]. В основе данных заболеваний, как правило, лежат однонуклеотидные полиморфизмы геномной ДНК и различные их сочетания, которые определяют степень риска развития патологии [132,203].

Среди активно изучаемой многофакторной патологии нарушения в системе гемостаза, в том числе генетически детерминированная тромбофилия, вызывают все больший интерес не только у исследователей, но и у практикующих врачей [26,170,239240]. На XV Международном конгрессе по тромбозам и гемостазу (Иерусалим, 1995) и на XIII собрании Европейского и

Африканского отделений Международного общества гематологов (Стамбул, 1996) термины «тромбоэмболический синдром» и «гиперкоагулемия» были объединены в единое понятие «тромбофилия» [6]. Под термином «тромбофилия» в настоящее время подразумевают нарушения гемостаза и гемореологии, характеризующиеся повышенной склонностью к развитию тромбозов кровеносных сосудов, инфарктов и ишемии органов, в основе которых лежат приобретенные и генетически обусловленные изменения в различных звеньях системы свертывания крови [3,102,149]. А.П. Момот и соавт. (2010 г.), основываясь на своем многолетнем клиническом опыте, предлагают свое трактование, утверждая, что тромбофилия не является какой либо болезнью, но представляет собой патологическое состояние, вызванное комбинацией врожденных и/или приобретенных факторов риска, реализованных развитием тромбоза, объективные сведения, о котором могут быть получены в настоящий момент или по данным индивидуального анамнеза [53]. Специалисты Алтайского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России приводят свое понятие «тромбофилии» – это наследуемый или приобретенный клинический фенотип, определяющий предрасположенность или восприимчивость к тромбозу в более молодом, чем в общей популяции возрасте, при ряде известных дефектов гемостаза, заболеваний и патологических состояний [62].

Научные работы последних лет в значительной мере раскрыли наши представления о молекулярных механизмах формирования тромбофилических состояний [1,29,34,111,225]. Изучение тромбофилий выявило многообразие встречаемости отдельных форм, разную степень их влияния на риск развития тромбозов и тромбоэмболий. Особое значение проблема тромбофильности приобрела в акушерстве и гинекологии, неврологии и кардиологии, а также педиатрии [36,55,187]. Показано значимое участие тромбофилических состояний различного генеза в развитии, течении и исходах многих заболеваний перинатального периода [9,27,80,200,219]. Открытие тромбофилических полиморфизмов позволило по-новому оценить причины и

патогенез привычного невынашивания беременности, синдрома задержки внутриутробного роста плода (СЗРП), преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты и других патологических состояний, которые представляют угрозу не только для женщины, но прямым или опосредованным образом влияют на жизнь и развитие ребенка [70,117,125, 201]. В настоящее время понимание перинатологами патогенетического влияния тромбофилии на процессы имплантации плодного яйца и инвазии трофобласта изменилось, что связано с накоплением новых данных о роли системы гемостаза и ее генетических дефектах [29,71]. Тромбофилия у детей, отчасти, являясь следствием неблагоприятного акушерского анамнеза матери, а также проявлением наследственной предрасположенности, реализуется под действием провоцирующих факторов на различных этапах становления организма [42].

Несмотря на то, что проблема ТФ активно изучается представителями различных медицинских специальностей, сведения о распространенности генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии и особенностях их фенотипической реализации среди детей немногочисленны [107,115,214,236]. Есть основания полагать, что степень риска при носительстве тромбогенных мутаций и полиморфизмов у детей и взрослых различается в соответствии с возрастом [53]. Современные исследования демонстрируют, что проблема тромботических осложнений актуальна для педиатрической практики. В литературе недостаточно данных, характеризующих наследственные факторы риска развития тромбозов у детей, хотя проблемы ранних тромботических эпизодов уже не являются казуисткой [53,145,151,192,206]. В детском возрасте проявления тромбофилии могут иметь самые драматические последствия [22].

Расстройства гемостаза возникают приблизительно у 1-2% новорожденных, а среди детей, нуждающихся в интенсивной терапии – у 16-40% [106]. Примерно у 40-47% умерших новорожденных на аутопсии находят геморрагии и тромбозы различной локализации [139]. Установлено, что

тромбозы распространены в педиатрической практике, хотя встречаются реже, чем у взрослых и составляют в среднем 0,07-0,14 на 10 тыс. Частота тромбозов у детей, находящихся на лечении в стационаре составляет 5,3 на 10 тыс., среди новорожденных, потребовавших интенсивной терапии, распространенность данного осложнения достигает 24 на 10 тыс. [177,228]. На неонатальный период приходится 12% тромбозов, а возрасте от 1 месяца до 10 лет – до 50% всех тромботических состояний детского возраста [235]. По опубликованным данным, распространенность тромбофилий в популяции пациентов, перенесших венозные или артериальные тромбозы, варьируется от 13% до 79% [145,197]. Выявлено, что перинатальный ишемический инсульт, вследствие тромбоза сосудов головного мозга, встречается с частотой 1 случай на 2300–5000 детей, родившихся живыми [93]. По другим данным, частота инсультов в педиатрической практике составляет 3-8 на 100 тыс., в неонатальном периоде ишемические инсульты регистрируются с большей частотой – 25-35 на 100 тыс. новорожденных [108,162,191].

По данным литературы ранние эпизоды тромбоэмболий в детском возрасте ассоциируются с наличием двух и более полиморфизмов генов гемокоагуляции [192]. Наиболее значимыми для развития тромбозов являются наследственные тромбофилии и их сочетание с циркуляцией антител к фосфолипидам [17]. Тромбозы артериальных и венозных сосудов играют значительную роль в патогенезе наиболее частых и опасных заболеваний. Природа сосудистых тромбозов многофакторна, определяется сложным характером взаимодействия генетических и экзогенных предикторов риска, которые лежат в основе патологических сдвигов в системе гемостаза или провоцируют их развитие [82,172,202,218]. В литературе есть указание на то, что наличие титра антител к протромбину может являться пусковым механизмом развития тромбозов у детей, что подтверждает мультифакторность данной патологии [194].

Немаловажной причиной, способствующей тромбообразованию, является катетеризация сосудов на фоне наследственной предрасположенности

[165,177,223]. Ряд исследователей придерживаются другой точки зрения. Так, анализ национальных регистров по тромбозам в педиатрической практике Канады и Нидерландов не выявил повышенную распространенность полиморфизмов генов тромбофилии среди детей, перенесших катетер-ассоциированные тромбозы.

Среди работ, посвященных педиатрическим аспектам тромбофилии, в последние годы появились достаточно противоречивые публикации. Ряд авторов отмечают, что те или иные отклонения функционирования органов и систем не оказали существенного воздействия на состояние детей в периоде новорожденности. Они довольно быстро купируются и не препятствуют их своевременной выписке из стационара [25]. Существуют данные, указывающие на большую распространенность тромбофилических полиморфизмов у детей, родственники (первого и второго порядка) которых имели ранний отягощенный тромботический анамнез, по сравнению с общей популяцией [136,239]. В литературе есть указания на то, что дети от матерей со склонностью к тромбофилическим осложнениям, чаще рождаются с признаками задержки внутриутробного развития, недоношенными. Ранний неонатальный период у таких младенцев протекает с осложнениями [42,47]. Отмечаются напряжение процессов адаптации, высокая частота конъюгационных желтух, синдрома дыхательных расстройств, внутриутробных инфекций, синдрома дезадаптации сердечно-сосудистой системы, перинатальное поражение центральной нервной системы [2,38,196]. Наряду с этим, у детей достоверно чаще выявлено наличие тромбогеморрагического синдрома в виде петехиальной экзантемы, гематемезиса, внутрижелудочковых кровоизлияний и тромбозов сосудов головного мозга [47].

Известно, что плод, развитие которого происходит в условиях недостаточной плацентарной перфузии, в значительно большей степени подвержен гипоксическим повреждениям жизненно важных органов в процессе внутриутробного развития и риску травматизации в родах [46]. Имеются сведения, что пре-/эклампсия, синдром задержки внутриутробного роста плода,

тромбозы в периоде новорожденности ассоциируются с развитием тромботической васкулопатии в плаценте [126]. В литературе приводятся данные о том, что фетальная васкулопатия на фоне врожденной тромбофилии в будущем является причиной формирования неврологического дефицита у детей [152].

Ряд авторов отмечают связь между наличием сочетаний нескольких точечных мутаций у плода и развитием субкомпенсированных и декомпенсированных форм плацентарной недостаточности и синдрома задержки внутриутробного роста [40]. Количество выявленных полиморфизмов коррелирует со степенью тяжести фетоплацентарной недостаточности. В развитии данных нарушений имеют важное прогностическое значение как материнские, так и фетальные приобретенные тромбофилии [73]. Новорожденные от матерей, имевших проявления недостаточности плаценты, относятся к группе риска по перинатальной заболеваемости и смертности [46]. Частота заболеваемости новорожденных при плацентарной недостаточности составляет 802‰ [73,133]. Как предполагается, в раннем неонатальном периоде такие дети склонны к нетипичному течению критических состояний.

У детей, родившихся с СЗРП, наблюдаются патологические отклонения нервной системы, для которых характерно сочетание нескольких неврологических синдромов, с ранним появлением и длительным течением синдрома двигательных нарушений [57]. Данные о состоянии детей, рожденных от матерей с пре-/эклампсией, HELLP-синдромом и тромбофилией, представлены в ретроспективном исследовании, проведенном группой европейских специалистов [204]. Анализируя ранние исходы, авторы не выявили различий в состоянии детей, рожденных от матерей с тромботическими и без тромботических заболеваний. Однако в возрасте девяти месяцев жизни уровень развития был значительно ниже у детей, матери которых имели тромботические заболевания в анамнезе.

В настоящее время разработаны лечебные мероприятия, в частности, применение низкомолекулярных гепаринов, внутривенного иммуноглобулина,

гормонотерапии, высоких доз витамина Е, группы В, фолиевой кислоты, способствующие вынашиванию плода при формировании недостаточности плаценты. Между тем, до конца не установлено, насколько эти лечебные мероприятия позволяют компенсировать фетоплацентарные нарушения, тем самым, способствуя нормальному созреванию органов и систем плода [25,210].

Современные подходы к организации медико-профилактической помощи населению требуют дополнительного анализа, переосмысления и в связи с этим проведения новых исследований, связанных с молекулярно-генетическими основами по изучению этиологии и патогенеза многофакторных заболеваний, имеющих наибольший удельный вес в структуре инвалидизации и смертности населения [36,143].

## **1.2. Характеристика генетических маркеров, ассоциированных с развитием тромбофилии и нарушениями фолатного цикла**

Одним из наиболее прогрессирующих научных направлений в настоящее время является молекулярная медицина. Прогресс принципиально изменил методологию изучения генетического аппарата человека [7]. Так, в начале XXI века была завершена программа по расшифровке генома человека. Получено множество новых данных о количественных и качественных характеристиках структурных компонентов наследственной информации [1,179]. В настоящее время внимание ученых обращено в сторону изучения variability генетического материала и особенностям его фенотипической реализации в рамках понимания природы многофакторной патологии.

В процессе изучения индивидуальной изменчивости и механизмов наследования были сформулированы определения «мутация» и «генетический полиморфизм». Мутациями называются скачкообразные и устойчивые модификации единиц наследственности, которые несут в себе изменение в структурах, проявляющиеся на различных уровнях организации генетического материала (геном, хромосома, ген, ДНК) [51].

Генетический полиморфизм – наличие в популяции нескольких различных вариантов гена (аллелей), которые способны оказывать неодинаковое влияние на качественные или количественные характеристики кодируемого белкового продукта. Генетический полиморфизм определяет сосуществование в пределах популяции двух или нескольких различных наследственных форм, находящихся в динамическом равновесии в течение нескольких и даже многих поколений [37,69]. Нуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphisms «SNPs») – это однонуклеотидные мутации, которые встречаются в популяции чаще 1%.

### **1.2.1. Дефекты генов плазменного звена гемостаза**

#### **Полиморфизм гена фибриногена (F1): G-455A**

При нуклеотидной замене G-455A гена FGB определяется высокий уровень фибриногена в плазме. Распространенность в популяции составляет 5-10%. В условиях мутации усиливается способность факторов транскрипции к связыванию промотора гена что, в свою очередь, приводит к увеличению скорости транскрипции и, как следствие, нарастанию уровня секреции зрелого фибриногена гепатоцитами [96,224]. Научные работы подтверждают, что носительство данного полиморфизма является важным наследственным фактором, отвечающим за повышение уровня фибриногена в крови у представителей кавказской популяции. Высокие цифры концентрации фибриногена зафиксированы среди носителей гомозиготного варианта аллеля [205,215].

Изучается влияние данного полиморфизма на формирование акушерской патологии. Так, Ticconi С. с коллегами (2011 г.) определили, что генотип - 455AA может повышать риск потери плода у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе [221]. Происходит накопление информации о связи нуклеотидной замены в гене фибриногена с сердечно-сосудистой и церебральной патологией [96]. В одном из исследований была обнаружена ассоциация G-455A полиморфизма гена FGB с риском развития инсульта у

больных с артериальной гипертензией [41]. Кроме того, имеются данные, что повышение концентрации фибриногена существенно ускоряет процесс прогрессирования атеросклероза преимущественно в артериях малого калибра, впоследствии проявляющегося множественными лакунарными инсультами [208,213]. В отдельных работах было показано, что курение потенцирует протромботические эффекты полиморфного аллеля -455А гена фибриногена, проявляясь нарастанием уровня прокоагулянтов и прогрессированием сердечно-сосудистой патологии [209]. Особо неблагоприятно данная мутация клинически проявляется в сочетании с носительством полиморфных генов, кодирующих рецепторы тромбоцитов ITGA2 и ITGB3 [155]. Нуклеотидная замена в гене фибриногена может рассматриваться в качестве маркера формирования аневризмы аорты, либо выступать предиктором развития тромботических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий [88,214].

#### **Полиморфизм гена протромбина (FII): G20210A**

Наиболее значимой и изучаемой заменой ДНК в гене протромбина считается полиморфизм G20210A, находящийся на 3'-нетранслируемом конце гена и характеризующийся заменой нуклеотида гуанина на аденин. Полиморфизм в данном случае носит название «молчащего», так как не проявляется на уровне аминокислотной последовательности, но приводит к повышению уровня протромбина в плазме. Частота аллеля 20210A в европейской популяции составляет примерно 2-3% [133]. У людей, являющихся носителями полиморфизма гена протромбина G20210A, повышен риск возникновения тромбоза глубоких вен, тромбоза эмболии, ишемического инсульта [98,119,199], для женщин также установлен риск невынашивания беременности, развития преэклампсии, фетоплацентарной недостаточности, синдрома задержки роста плода [159]. Benedetto С. с соавт. (2002 г.) выявили ассоциацию полиморфного гена FII с гестозом. Исследователи расценивают тромботический эффект мутации, как важный патогенетический механизм

возникновения гестоза, реализующийся на этапе инвазии трофобласта в связи с тромбозом спиральных артерий [95].

**Полиморфизм гена проакцелерина (FV): G1691A, Лейден мутация**

Молекулярный дефект фактора V может служить причиной развития первичной тромбофилии. Замена аденина на гуанин в положении 1691 нуклеотидной последовательности, и соответствующая ей аминокислотная замена аргинина (506) на глутамин, обуславливает резистентность к активированному протеину C, так называемая «АПС–резистентность» (APC-R). Повышается напряженность гемостатического потенциала в связи с тем, что инактивация акцелерина, в условиях данного дефекта, носит незавершенный характер [110,141,186].

Мутация V фактора G1691A (Лейден мутация) открытая в 1993 году, является клинически значимым генетическим дефектом, обуславливающим первичную тромбофилию [81,104]. Как предполагается, данное изменение нуклеотидной последовательности произошло примерно 21-34 тысячи лет назад у представителей, населявших территорию северной Европы [78,105]. Мутация V фактора привнесла в популяцию определенные биолого-эволюционные преимущества. Гиперкоагуляция, обусловленная аллелем R506Q, обеспечивала защиту от фатальных кровотечений после повреждений или травм, выкидышей и преждевременных родов. В соответствии с гипотезой, Lindqvist с соавторами (1998 г.) удалось установить, что носительницы данного аллеля имеют значительно меньший риск появления геморрагических осложнений в послеродовом периоде [160]. Полиморфизм G1691A гена FV занимает краеугольное положение в ряде причин врожденной тромбофилии. Тип наследования – аутосомно-доминантный. Среди здорового населения европейских стран распространенность носительства Лейденской мутации V фактора колеблется от 1,4-13%, составляя в среднем 5,5%. Очень мало носителей данной аномалии в Китае, Японии, среди афроамериканцев, индейцев Мексики [186,195,198]. По частоте мутации F5 Лейден русская популяция занимает промежуточное положение между азиатскими и

большинством европейских (2,6%) [21]. Среди пациентов с тромбозами распространенность составляет 15-20% [114].

Риск тромбозов возрастает за счет резкого увеличения в крови концентрации V и VIII факторов свертывания. При APC-R типичным является развитие венозного тромбоза и тромбоза, реже артериального. Риск развития тромботических осложнений в 3-7 раз выше у носителей гетерозиготного варианта аллеля и в 40-80 раз – у гомозигот [207]. Характерными клиническими проявлениями тромбофилии, обусловленной фактором V Лейден, являются тромбозы глубоких вен и тромбоз легочной артерии. Церебральные вены, портальная вена и вены сетчатки поражаются реже. У больных с венозными тромбозами и тромбозами легочной артерии аллель 1691A выявляется в 30-40% случаев. Большое практическое значение приобрели знания о мутации FVL в акушерско-гинекологической практике [79,220]. Так, в структуре причин синдрома потери плода полиморфизму данного гена отводят до 15%, а в развитии преэклампсии – почти 30%. Наличие у женщин Лейден мутации в 8 раз повышает риск развития тромбозов в течение всей беременности и в 10 раз – преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты [29]. Некоторые исследователи находят увеличение частоты Лейденской мутации у женщин с привычным невынашиванием беременности [118,120,149,188,234], другие не подтверждают ассоциации данного полиморфизма с указанной патологией [85,187,221]. Неоднозначность выводов можно объяснить как различиями в размерах выборок, схемах отбора пациентов при формировании групп, так и наличием региональных популяционных особенностей.

### **Полиморфизм гена проконвертина (FVII): G10976A**

Трансверсия гуанина на аденин в положении 10976 на 8 экзоне гена FVII определяет замену аминокислоты аргинина (Arg353) на глицин. Гомозиготы по R353Q аллелю демонстрируют значительное (72%) снижение плазменной концентрации фактора [182]. В одном из иностранных исследований, была показана сниженная коагуляционная активность фактора VII у пациентов

страдающих ожирением, носителей генотипа 10976GA, но значение его в качестве фактора риска возникновения коронарной недостаточности доказать не удалось [122]. Вместе с тем остается открытым вопрос о влиянии аллеля 10976A на развитие ишемической болезни сердца. Так, Мо Х. с коллегами (2011 г.) выявили ассоциацию носительства указанного аллеля с возникновением ишемической болезни сердца у представителей азиатской популяции [171]. Противоположная информация была представлена учеными из Японии. Их данные свидетельствуют о возможном протективном действии аллеля 10976A в отношении раннего возникновения инфаркта миокарда [193].

### **Полиморфизм фибрин стабилизирующего фактора (FXIII): G103T**

В случае полиморфизма G103T, аминокислотная замена валина на лейцин в положении 34 влияет на скорость активации фактора XIII – она протекает быстрее и требует значительно меньшей концентрации тромбина. При этом каталитическая эффективность тромбина возрастает в два раза [83,86,92]. Все больше накапливается сведений относительно защитной функции полиморфизма G103T в отношении развития церебральной ишемии [192]. И наоборот, указанный полиморфизм является генетическим предиктором геморрагического инсульта [123]. Механизм этого феномена связывают с нарушением кинетики реакции сшивания мономеров фибрина на фоне усиления активации фактора XIII [152].

## **1.2.2. Дефекты генов фибринолитической системы**

### **Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена (РАI-1): 5G-675 4G**

Делеция гуанина в 675 положении от стартовой точки промотора гена РАI-1 является его наиболее частой мутацией, ассоциированной с высоким риском сосудистых осложнений. Полиморфизм 5G-675 4G гена РАI-1 ассоциирован с его активностью в крови, при этом аллель 4G сопряжен с повышенным содержанием РАI-1 в плазме крови [158]. Данный полиморфизм рассматривается в качестве фактора риска развития тромбозов, инфаркта

миокарда, гестоза, гипотрофии плода, мертворождения и т.д. [146,183,211,227]. Концентрация PAI-1 в плазме у гомозиготных носителей аллеля 4G на 25% выше, чем у гомозигот по 5G. Целенаправленные исследования типа случай-контроль распространенности полиморфизма 4G/5G у пациентов с ишемическим инсультом (и в частности у пациентов, перенесших инсульт в молодом возрасте) не выявили достоверных различий риска [184,216].

### **1.2.3. Дефекты генов тромбоцитарного звена гемостаза**

#### **Полиморфизм генов тромбоцитарного Rec ITGA2: C807T и Rec ITGB3: T1565C**

На мембране тромбоцитов находится большое количество адгезивных рецепторов, относящихся к семейству интегринов. Интегрины – трансмембранные гликопротеины, характеризующиеся общностью протеиновых цепей, антигенных свойств и функции. Благодаря способности образовывать связи со многими белками интегрины участвуют в процессах распознавания, адгезии, миграции клеток на матриксе, репаративных, иммунных и других реакциях [16,103].

Комплекс GPIa-IIa – интегриновый рецептор мембраны тромбоцита, осуществляющий свое взаимодействие с коллагеном является специализированным рецептором, обеспечивающим адгезию тромбоцитов с поврежденной стенкой сосудов. Полиморфизм гена ITGA2: C807T изменяет свойства рецептора, вследствие чего, отмечается увеличение скорости адгезии тромбоцитов [28,50]. У носителей полиморфного аллеля 807T в 3,76 раз чаще происходит гиперагрегация тромбоцитов. Согласно данным А.Д. Макацария (2007 г.), женщины, обладательницы гомозиготного генотипа (ТТ), имеют повышенный риск потери плода на ранних сроках беременности [29].

Комплекс GPIIb-IIIa – интегриновый рецептор мембраны тромбоцитов, который взаимодействует в первую очередь с фибриногеном, является наиболее широко распространенным рецептором мембраны тромбоцитов [154]. В динамике коагуляционного каскада GPIIb-IIIa-рецептор, на поверхности

активируемых агонистами тромбоцитов, подвергается конформационной перестройке и переходит в высокоафинную форму, способную связывать различные лиганды: фибронектин, витронектин, тромбоспондин, фактор Виллебранда, фибриноген. Взаимодействие с этими белками, в первую очередь с фибриногеном, опосредует агрегацию тромбоцитов [13,90]. Ген ITGB3 (интегрин бета-3) кодирует  $\beta_3$ -субъединицу фибриногенового рецептора тромбоцитов. Замена нуклеотидного остатка тимина на цитозин в позиции 1565 гена приводит к замещению аминокислоты лейцина на остаток пролина в позиции 33 кодируемого белка, что сопровождается конформационными изменениями в сайте связывания фибриногена [13]. По опубликованным данным, женщины, носители полиморфизма ITGB3: T1565C, имеют от 2,7 до 4,4 повышенный риск ранних потерь плода [28,50,117]. У 25% жителей Северной Европы в связи с нуклеотидной заменой в гене GPIIb-IIIa определяется ассоциация с развитием ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда в относительно молодом возрасте [16].

Таким образом, мутация гена ITGA2 приводит к увеличению плотности коллагенового рецептора на мембране [90], а гена ITGB3 – к повышению афинности фибриногенового рецептора, что, в целом, сопровождается повышенной агрегацией тромбоцитов и, следовательно, увеличением риска тромбообразования. Кроме того, для носителей указанных полиморфизмов характерна резистентность к проводимой антиагрегантной терапии аспирином, используемой в лечении и профилактике инфаркта миокарда и тромбозов [181].

#### **1.2.4. Дефекты генов, кодирующих ферменты фолатного цикла**

Гены ферментов фолатного цикла относятся к генам, определяющим состояние сосудистой стенки. Цепь биохимических реакций фолатного цикла необходима для образования метильных групп, побочным продуктом реакций является гомоцистеин. В плазме гомоцистеин представлен, главным образом, в виде окисленных форм: свободного гомоцистеина (5-15%), смешанных дисульфидов: гомоцистеин-цистеина (5-15%) и связанного с белком

гомоцистеина (70%). Восстановленная форма гомоцистеина представлена слабо (менее 1%). В случае генетически детерминированных нарушений фолатного цикла, ее величина экспоненциально нарастает. В плазме восстановленный гомоцистеин легко окисляется с образованием реактивных субстанций кислорода, токсичных для клеток эндотелия [61,150].

Нормальное содержание гомоцистеина в крови составляет 5-15 мкмоль/л. Известно, что с возрастом уровень его содержания в крови постепенно нарастает. До периода полового созревания содержание гомоцистеина в крови у девочек и мальчиков примерно одинаковое (около 5 мкмоль/л). В период полового созревания уровень гомоцистеина повышается до 6-7 мкмоль/л, у девочек это повышение менее выражено, чем у мальчиков.

Повышение уровня гомоцистеина в крови возможно по многим причинам. К ним относится повышение поступления метионина с пищей, витаминдефицитные состояния, курение, малоподвижный образ жизни [15]. Так как концентрация гомоцистеина в плазме обратно пропорциональна концентрации кофакторов реакций, регулирующих его обмен, фолиевой кислоты, витаминов В6 и В12, то недостаточное потребление любого из этих веществ может привести к гипергомоцистеинемии. Увеличение уровня гомоцистеина всего на 1 мкмоль/л ассоциировано приблизительно с 10% риском развития сердечно-сосудистой патологии [100]. Повышение данного белка наблюдается при различных заболеваниях – анемиях, онкологических заболеваниях, хронической почечной недостаточности, гипотиреозе и псориазе, при приеме лекарственных препаратов, которые уменьшают концентрацию в крови витаминов группы В, цитостатиков, противосудорожных средств, оральных контрацептивов [164]. Остальные случаи гипергомоцистеинемии связаны с дефектами в генах ферментов фолатного цикла. Вследствие недостатка фермента МТНFR происходит накопление гомоцистеина в плазме крови. Гипергомоцистеинемия может протекать в легкой (16-30 мкмоль/л), средней (31-100 мкмоль/л) и тяжелой форме (более 100 мкмоль/л) – гомоцистеинурия.

Гомоцистеин активирует факторы XII и V свертывания крови, усиливает экспрессию тканевого фактора, подавляет экспрессию тромбомодулина, тем самым, повышая коагуляционные свойства крови [61]. Наряду с этим, наблюдается повышенная агрегация тромбоцитов вследствие снижения синтеза эндотелием релаксирующего фактора и оксида азота, а также усиленного высвобождения поврежденными эндотелиоцитами фактора Виллебрандта [49]. Подъем уровня гомоцистеина в крови приводит к поражению сосудистой стенки, оказывает нейротоксическое действие, а так же способствует возникновению резистентности к активированному протеину С из-за ковалентного соединения с активированным фактором коагуляции [137,217]. Кроме того, гипергомоцистеинемия способствует развитию эндотелиальной дисфункции. Вследствие повреждения эндотелия, обнажаются субэндотелиальные структуры и гладкомышечные клетки, что способствует активации тромбоцитов и инициации процесса коагуляции [231].

Итак, генетические полиморфизмы ферментов фолатного цикла определяют снижение их активности, обеспечивающих метаболизм гомоцистеина.

### **Полиморфизмы гена фермента метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR): C677T (Ala222Val)/ A1298C (Glu429Ala)**

Фермент MTHFR относится к группе флавопротеинов и состоит из двух одинаковых субъединиц с молекулярной массой около 70 кДа. Ген MTHFR локализуется на коротком плече 1 хромосомы и состоит из 11 экзонов. Существует ряд аллельных вариантов данного гена, вызывающих тяжелую недостаточность фермента. Наибольшую практическую значимость имеют два полиморфизма: C677T в экзоне 4 и A1298C в экзоне 7 [142,157].

Полиморфизм C677T характеризуется точковой заменой нуклеотида цитозина (C) на тимин (T), приводящей к замене аминокислотного остатка аланина на валин в каталитическом центре фермента метилентетрагидрофолатредуктазы. Индивиды, гомозиготные по данному аллелю, демонстрируют снижение активности фермента на 60-70%,

гетерозиготные – на 35% [49]. В различных этнических группах частота аллеля 677Т колеблется в среднем от 5% до 40% [84]. Гомозиготный вариант полиморфизма гена МТНFR 677С>Т особенно часто встречается среди жителей Северного Китая (20%), Южной Италии (26%) и Мексики (32%), реже всего его можно выявить у лиц африканского происхождения [134]. В Европе частота встречаемости данного аллеля меняется с севера на юг – от 19% в Великобритании до 55% в Испании. В России у жителей московского региона частота встречаемости аллеля 677Т составляет 0,29 [21], у жителей Сибири – 0,32. Среди представителей Кавказского региона распространенность 677ТТ варианта составляет 13,7%, что соответствует показателям (13,9%) среди лиц, перенесших венозные тромбозы [113].

Было показано, что гомозиготное носительство аллеля 677Т гена МТНFR повышает риск венозного тромбоэмболизма примерно в 1,5 раза, а так же ассоциировано с троекратным увеличением относительного риска развития сердечно–сосудистой патологии [157,222]. Исследователи полагают, что носительство аллеля 677Т является независимым фактором риска развития гипертензии, указывая на выявленную связь полиморфизма с данным заболеванием у лиц как европейского, так и азиатского происхождения [1].

Другим вариантом полиморфизма гена МТНFR является замена нуклеотида аденина (А) на цитозин (С) в позиции 1298. Это приводит к замене аминокислотного остатка глутаминовой кислоты на аланина в регуляторном домене фермента. Полиморфизм А1298С также характеризуется снижением активности МТНFR, однако, в менее выраженной степени.

По данным ресурса SNP NCBI, частота встречаемости аллеля 677Т гена МТНFR в Европейской популяции составляет 24%, аллеля 1298С – 36%, соответственно [75]. Согласно результатам исследования, гомозиготные варианты генотипов (677ТТ и 1298СС) полиморфизма генов МТНFR среди новорожденных южной Италии встречаются с частотой 25% и 12,5%, соответственно. Гетерозиготное носительство аллеля 677Т выявлено у 50,5% обследованных, а гетерозиготный вариант аллеля 1298С – у 32,7% [237].

Индивидуумы, являющиеся гетерозиготами по нуклеотидным заменам 677C>T и 1298A>C, согласно данным Weisberg I. и соавт. (1998 г.), имеют снижение активности фермента на 40–50% и биохимический профиль, схожий с профилем носителей гомозиготного гентипа 677TT [77]. Обе мутации вносят весомый вклад в развитие ишемического инсульта в различных возрастных категориях [169,202].

**Полиморфизм генов фермента метионинсинтазы (MTR): A2756G и фермента метионинсинтазы редуктазы (MTRR): A66G**

Фермент метионинсинтаза (MTR) катализирует реметилирование гомоцистеина в метионин (с одновременным образованием тетрагидрофолата из 5-метил-тетрагидрофолата).

Полиморфизм A2756G выражается в замене аспарагиновой кислоты на глицин в сайте связывания кофактора – витамина B12 (изменяя вторичную структуру фермента), что сказывается на каталитической эффективности фермента [232] и, в конечном итоге, ведет к гипергомоцистеинемии. Частота аллеля в Европейской популяции составляет 17% [75]. Клиническое значение данного полиморфизма, очевидно, находится в зависимости от исследуемой популяции. Так, в ряде популяций (итальянская, китайская) «патологический» генотип 2756GG проявляет защитный эффект в отношении развития артериального тромбоза [238]. В корейской популяции у пациентов с ишемическим инсультом существенно более высокая концентрация гомоцистеина наблюдалась в случае носительства генотипа 2756AA [144].

Фермент метионинсинтаза редуктаза (MTRR), состоящий из 698 аминокислот и молекулярной массой 77.7 кДа, относится к группе флавопротеинов. Ген MTRR картирован на пятой хромосоме. Данный белок участвует в восстановлении активности фермента MTR [49]. Частота гетерозиготных носителей аллеля 66G составляет около 45–50%, а гомозиготных – 25% [185]. Полиморфизм приводит к 3-4-кратному снижению аффинитета MTRR к метионинсинтазе [180].

Сложное устройство всех звеньев системы гемостаза и взаимодействие с множеством биохимических процессов обуславливают необходимость комплексной оценки факторов риска нарушений в функционировании данной системы с выделением этиологически и патогенетически значимых аллельных вариантов генов, ответственных за ее работу. Выше приведенные данные свидетельствуют о многофакторности и разнообразии осложнений, связанных с носительством тромбофильных полиморфизмов, в связи с чем, требуется уточнение имеющихся и накопление новых знаний по данной междисциплинарной проблематике.

### **1.3. Роль полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного цикла в формировании патологических состояний в педиатрической практике**

Работы, посвященные изучению точечных нуклеотидных замен геномной ДНК у детей, приобретают широкую тематическую направленность [45]. Так, активно исследуются протромботические полиморфные варианты генов системы гемостаза и фолатного цикла при церебральных, кардио-васкулярных [11,54,68,93,95,140], метаболических [8,229], инфекционных заболеваниях [31,35], врожденных пороках развития [5], гипергомоцистеинемии и эндотелиальной дисфункции [58,89,131]. Осуществляется поиск ассоциативных связей носительства тромбофильных полиморфизмов с возникновением тромботических и нетромботических осложнений на фоне наследственной предрасположенности. Продолжается активное накопление и анализ данных о степени вовлеченности генетических дефектов в формирование различных патологических состояний в детской популяции.

Сведения о распространенности полиморфного аллеля -455А гена фибриногена и степени его влияния у детей в анализируемых источниках представлены скудно [31].

Информация о роли мутаций II и V факторов свертывания крови в структуре отдельных патологических состояний детского возраста имеет

доказательную базу [233]. Так, нуклеотидные замены в генах проакцелерина и протромбина являются факторами риска острого нарушения мозгового кровообращения в неонатальном периоде; определена их роль как предиктора рецидивирования ишемического инсульта у детей [52,119,121,128,190]. Установлено, что полиморфизм 20210G>A гена протромбина является независимым фактором риска артериальных тромбозов и инсультов у детей и лиц молодого возраста, причем даже гетерозиготный аллель увеличивает вероятность церебральной ишемии в 3,8 раза [189]. Доказано, что гетерозиготный вариант генотипа 20210GA встречается у 6-9% новорожденных с ишемическими инсультами. Риск развития инсультов у детей с мутацией гена протромбина в 5 раз выше, чем без нее [140].

Gibson C.S. с соавт. (2005 г.) установил что, сочетание полиморфизма гена протромбина 20210G>A и гомозиготного аллеля 677T фермента MTHFR увеличивает риск развития тетраплегии у новорожденных всех гестационных сроков [91].

АПС-резистентность на фоне носительства Лейден мутации, кроме влияния на развитие тромбоокклюзионных катастроф, ассоциируется с риском формирования пороков развития. Так, согласно исследованию А.С. Богдановой (2006 г.), резистентность Va фактора к активированному протеину С у больных с врожденными пороками развития встречается в 2,6 раз чаще, чем у здоровых детей. Отмечено, что у пациентов с множественными пороками развития АРС-Р наблюдается с большей частотой, чем у других пациентов [5]. Сведения о влиянии тромбофилических полиморфизмов в процессе формирования врожденной атрезии кишечника представлены в исследовании Johnson S.M., Meyers R.L (2001 г.). Было установлено, что полиморфизмы V (FVL) и VII факторов свертывания определяются чаще у детей с врожденной атрезией кишечника [148].

У больных с врожденными пороками развития на фоне первичной тромбофилии, особенно при наличии Лейден мутации, возникает иммунодефицитное состояние, что проявляется резким снижением

иммуноглобулинов класса М и G и его подклассов, но с компенсаторным повышением IgA. У детей с тромбофилией зафиксирована повышенная способность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности тромбоциты, что создает дополнительный фон для развития гиперкоагуляции и приводит к замыканию порочного круга, усугубляющего течение основного заболевания [5]. По данным Н.А. Миромановой (2006 г.), для прогнозирования тяжести инфекционного процесса рекомендуется проведение скрининг-диагностики на наличие полиморфизмов генов гемокоагуляции (FVL, MTHFR). Их выявление предполагает более тяжелое течение заболевания и развитие осложнений, ухудшающих прогноз [31].

В настоящее время наименее изученными остаются полиморфизмы тромбоцитарного и фибринолитического звеньев системы гемостаза. Так, значение дефекта гена ингибитора плазминогена-1 рассматривается с позиции нарушений в системе «мать – плацента – плод». В литературе есть указания на то, что нарушение инвазии трофобласта на ранних сроках беременности, обусловленное полиморфизмом PAI-1, является этиологическим фактором СЗРП, а при формировании протеазной недостаточности – и предиктором невынашивания беременности [70].

Weiss с соавт. (2006 г.), обнаружил достоверную ассоциацию носительства полиморфного аллеля 1565С тромбоцитарного рецептора ITGB3 с аутизмом и тенденцией в разнице по половой принадлежности [230].

Большой объем данных накоплен в отношении роли полиморфизмов, ассоциированных с нарушениями в работе фолатного цикла и гипергомоцистеинемией в формировании патологии среди детей. Установлено, что оба аллельных варианта полиморфизма гена MTHFR ассоциированы с повышенным риском рождения больных детей [142]. Нуклеотидные замены в гене MTHFR C677T и A1298C вносят весомый вклад в развитие ишемических катастроф в различных возрастных категориях [167,168,202]. Отмечается выраженная корреляционная связь между частотой лакунарных инсультов в детском возрасте (особенно у мальчиков) и полиморфизмом 677C>T [109].

Полиморфизм MTRR 66GG достоверно чаще встречается при ишемическом инсульте у детей [209]. В одной из работ было установлено, что носительство генотипа 677CT фермента MTHFR примерно в 2 раза увеличивает риск развития детского церебрального паралича у недоношенных детей [91].

Различные дефекты обмена гомоцистеина являются причиной формирования пороков развития плода, включая дефекты нервной трубки, дефекты лицевого черепа, пороки сердца [4]. Генетические полиморфизмы ферментов MTHFR 677C>T и MTRR 66A>G изучен наиболее полно. Показана выраженная ассоциация точечных мутаций этих ферментов с синдромом Дауна. Риск рождения ребенка с синдромом Дауна у носительниц полиморфизма C677T в гене MTHFR, одновременно являющихся гомозиготами по 66G в гене MTRR, возрастает в 3 раза по сравнению с женщинами без аллеля 66G [99, 178,185]. Вместе с тем, показано, что носительство C677T и A1286C в MTHFR, не сочетающееся с полиморфизмами других генов фолатного цикла, не влияет на риск рождения ребенка с синдромом Дауна [97]. Информация в отношении риска рождения ребенка с «несиндромной» расщелиной губы и неба на фоне носительства полиморфизма C677T содержит противоречивые данные. В одних исследованиях связь носительства точечной мутации с развитием вышеуказанной патологии установлена, в других – не находит подтверждения [129,226].

Большинство исследователей рассматривают перспективным дальнейшее изучение полиморфных вариантов генов, ассоциированных с развитием тромбофилии и гипергомоцистеинемии, с установлением наиболее «опасных» генных сетей (ген-генных сочетаний). Информации о выявлении и картировании подобных полиморфных ген-генных сочетаний в анализируемых источниках обнаружить не удалось.

Наличие множества стрессовых факторов в детском возрасте, влияющих на фенотипически нереализованный, до определенного момента, тромбофилический статус их обладателей, определяет персонифицированность в оценке степени риска реализации наследственной предрасположенности. По

нашему мнению, в отношении пациентов с мультигенными формами тромбофилии должна существовать настороженность по развитию тромботических и нетромботических нарушений на различных этапах становления организма.

На основании выше изложенной информации, мы установили наличие междисциплинарного и многоцентрового подхода к изучению тромбофилической патологии, проанализировали эпидемиологические данные, рассмотрели клинические варианты реализации тромбофильной предрасположенности, обобщили сведения о влиянии генетических полиморфизмов на функционирование ряда систем организма и состояние здоровья в целом.

Вместе с тем, сведения о носительстве других полиморфных аллелей прокоагуляционного и протромботического спектра, степени их вовлеченности в патогенез тромбообразования, вкладе в патологию нетромботического характера во всех возрастных периодах детства немногочисленны и противоречивы. Также не определены критерии степени риска и необходимости назначения антикоагулянтной и/или анти тромботической профилактики у детей при носительстве маркеров генетически детерминированной тромбофилии без фенотипической реализации. Это обосновывает актуальность данной научной проблематики в теоретической и практической медицине.

Таким образом, нам представляется целесообразным проведение исследования по комплексной оценке факторов риска и состояния здоровья детей, рожденных от женщин с маркерами тромбофилии. Важным направлением является создание прогностических моделей и разработка алгоритмов наблюдения данной группы пациентов.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование выполнялось в ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (ректор – д.м.н., профессор Кутепов С.М.) в период с 2010 по 2013 гг. (регистрационная карта №01201370618). Всего было обследовано 302 пациента, из них – 129 матерей и 173 ребенка в возрасте от 1-го дня до 36 месяцев жизни. В соответствии с поставленными задачами в работе выделены три основных этапа.

На **первом этапе** проведено нерандомизированное обсервационное когортное исследование. В основную группу были включены 71 новорожденный ребенок. Среди наблюдавшихся детей мальчики составили 52,1% (n = 37), девочки – 47,9% (n = 34).

Критерий включения детей в **основную группу** – наличие у матери отягощенного тромбофильного анамнеза с установленным фактом носительства четырех и более полиморфизмов генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии и нарушениями фолатного цикла.

Отягощенным по тромбофилии считался анамнез (соответствует критериям включения пациентов во Всероссийский регистр «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе» [53]):

- у женщин с эпизодом артериального или венозного тромбоза, в том числе, возникшим во время беременности, в послеродовом периоде или во время приема оральных контрацептивов, гормональной терапии;

- у женщин с синдромом потери плода (один или более самопроизвольных выкидыша на сроке 10 недель и более, мертворождение, неонатальная смерть морфологически нормального новорожденного, три и более самопроизвольных выкидыша на предимплантационной или ранней эмбриональной стадиях развития), преждевременной отслойкой нормально

расположенной плаценты, тяжелыми формами гестоза, фетоплацентарной недостаточностью, СЗРП II-III степени;

- у женщин с неоднократными тромботическими осложнениями имплантированных внутрисосудистых линий;

- у женщин, перенесших нетипичное или фульминантное течение критических состояний, резистентное к проводимой терапии.

Критерии исключения:

- способ зачатия с помощью методик экстракорпорального оплодотворения;

- наличие у матери системных заболеваний соединительной ткани, врожденных аномалий развития, наследственных хромосомных и моногенных заболеваний, онкологических заболеваний, сахарного диабета первого типа, иммунодефицитных состояний;

- генерализованные инфекционные процессы во время беременности;

- отказ родителей от проведения молекулярно-генетической диагностики их ребенку.

Все дети основной группы родились либо находились на лечении в отделениях патологии новорожденных МБУ «Детская городская больница №10». Городской перинатальный центр г. Екатеринбурга (главный врач – к.м.н. Мартиросян С.В.) и ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1» (главный врач – к.м.н. Беломестнов С.Р.).

**Контрольная группа** представлена 67 младенцами, сопоставимыми по полу и возрасту. Критерием включения детей в контрольную группу послужило отсутствие у матери отягощенного тромбофильного анамнеза и носительство не более трех протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла.

Критерием исключения детей из контрольной группы являлось, наличие у матери:

- системных заболеваний соединительной ткани, врожденных аномалий развития, наследственных хромосомных и моногенных заболеваний,

онкологических заболеваний, сахарного диабета первого типа, иммунодефицитных состояний;

- тромбоэмболических сосудистых катастроф в анамнезе;
- синдрома потери плода в анамнезе;
- генерализованных инфекционных процессов во время беременности;
- отказ родителей от проведения молекулярно-генетической диагностики их ребенку.

Данные о женщинах получены при анализе первичной документации в клинико-диагностическом центре при МБУ «ДГБ №10» (заведующая центром – врач высшей категории Салимова И.В.).

Анализ анамнеза, особенностей наследственности (включая наличие тромбофильной отягощенности в семье), роста и развития, сопутствующей патологии, а также фенотипической реализации тромбогенной опасности на первом году жизни осуществлялся при личном контакте с пациентами и их родителями с оценкой медицинской документации (амбулаторные карты формы №112/у и истории болезни).

В декретированные сроки (1, 3, 6, 12 месяцев) на базе детского стационара Городского перинатального центра в рамках катамнестического наблюдения осуществлялась оценка состояния здоровья детей, включенных в исследование. При этом оценивались физическое и нервно-психическое развитие, группа здоровья, наличие инвалидности, проводился анализ результатов лабораторно-инструментальных методов исследования.

**Второй этап** научной работы включал оценку частоты встречаемости и степени влияния полиморфизмов генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии и нарушениями фолатного цикла среди детей, включенных в исследование.

Молекулярно-генетическая диагностика 173 младенцам проводилась после подписания формы информированного согласия их родителями, в качестве законных представителей (в двух экземплярах). Форма и структура добровольного информированного согласия были одобрены локальным

этическим комитетом при ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России (выписка из протокола №11 от 16.12.2011). Для сопоставления данных проведена обработка 129 заключений молекулярно-генетических исследований их матерей: 68-ми женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, 61-ой – без отягощенности по тромбофилии.

На базе МБУ «Екатеринбургский консультативно-диагностический центр» (главный врач – д.м.н. Серебренников В.А.) в лаборатории ПЦР диагностики (заведующая лабораторией – Абрамова Т.С.) исследовались полиморфные гены системы гемостаза: FGB: -455G>A, F2: 20210G>A, F5: 1691G>A, F7: 10976G>A, F13: G>T, ITGA2: 807C>T, ITGB3: 1565 T>C, PAI-1: -675 5G>4G и ферментов фолатного цикла: MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C, MTRR 66A>G, MTR 2756A>G методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в препаратах ДНК человека, полученных из венозной крови либо буккального эпителия. Соскоб эпителия производился одноразовыми зондами с помещением материала в контейнер со средой, для забора 1 мл венозной крови использовались одноразовые стерильные системы.

Для выделения ДНК из анализируемого материала использовался комплект реагентов «Проба-РАПИД-ГЕНЕТИКА» (ООО «НПО ДНК-Технология»), включающий в себя: ПЦР-буфер, Taq-АТ-полимеразу, минеральное масло. Количество анализируемой ДНК составляло не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку. Для оценки количества выделенной ДНК использовался набор реагентов для контроля взятия материала методом ПЦР (ООО «НПО ДНК-Технология»). Выделение и амплификация ДНК из венозной крови либо буккального эпителия проводилось на детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»). Регистрация и учет результатов ПЦР проводился автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»).

На **третьем этапе** проведено ретроспективное кроссекционное исследование с целью анализа распространенности тромбофильных полиморфизмов у пациентов с установленным фактом состоявшейся

тромботической сосудистой катастрофы. Для решения поставленной задачи была сформирована **группа сравнения**. Группу сравнения составили 35 детей с ишемическим инсультом (ИИ) в анамнезе с дебютом до трехлетнего возраста, которые были обследованы на носительство нуклеотидных замен в генах системы гемостаза и фолатного цикла. Диагноз ишемического инсульта устанавливался при наличии клинических данных и результатов компьютерной либо магнитно-резонансной томографии головного мозга. Критериями исключения являлись: этап дифференциальной диагностики острых нарушений мозгового кровообращения; отсутствие результатов генотипирования; наличие аномалий развития церебральных сосудов. Анамнестические и клинические особенности пациентов, включенных в группу сравнения, оценивались по данным амбулаторных карт (учетная форма №112/у).

Необходимо отметить, что детям основной группы и группы сравнения осуществлена диагностика восьми полиморфизмов генов системы гемокоагуляции и четырех – фолатного цикла, перечисленных выше. Младенцы, включенные в группу контроля, обследованы по шести генам свертывания крови (FGB: -455G>A, F2: 20210G>A, F5: 1691G>A, ITGB3: 1565 T>C, PAI-1:-675 5G>4G) и одному гену фермента фолатного цикла (MTHFR 677C>T). Объем выполненных исследований представлен в таблицах 1 и 2.

Данное диссертационное исследование является частью научно-исследовательской работы, осуществляемой в рамках междисциплинарного проекта «Изучение роли прокоагулянтных и протромботических полиморфизмов генов в формировании патологии человека на ранних этапах жизни» при грантовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (номер проекта по классификации РФФИ 13-04-96084).

Таким образом, материал трех этапов исследования включал анализ и математическую обработку 2574 единицы информации. Для анализа данных использовались пакеты прикладных программ STATISTICA 8.0 for Windows и Microsoft Office Excel.

Таблица 1. Количество и объем выполненных молекулярно-генетических исследований у матерей, включенных в научную работу

Молекулярно-генетическая диагностика		Единицы информации		Всего
Звено гемостаза	Полиморфизмы	Группы		
		Женщины с ОТА (n = 68)	Женщины без ОТА (n = 61)	
Плазменное	F1: G-455A	204	183	387
	F2: G20210A			
	F5: G1691A			
Тромбоцитарное	ITGA2: C807T	136	122	258
	ITGB3: T1565C			
Фибринолитическое	PAI-1: 5G-6754G	68	61	129
Фолатный цикл	MTHFR C677T	68	61	129
Итого (единиц информации)		476	427	903

Таблица 2. Количество и объем выполненных молекулярно-генетических исследований у детей, включенных в научную работу

Молекулярно-генетическая диагностика		Единицы информации			Всего
Звено гемостаза	Полиморфизмы	Группы			
		Основная (n = 71)	Контрольная (n = 67)	Сравнения (n = 35)	
Плазменное	F1: G-455A	355	201	105	661
	F2: G20210A				
	F5: G1691A				
	F7: G10976A				
	F13: G>T				
Тромбоцитарное	ITGA2: C807T	142	134	70	346
	ITGB3: T1565C				
Фибринолитическое	PAI-1: 5G-6754G	71	67	35	173
Фолатный цикл	MTHFR C677T	284	67	140	491
	MTHFR A1298C				
	MTR A2756G				
	MTRR A66G				
Итого (единиц информации)		852	469	350	1671

Сравнение средних показателей в группах проводилось по критерию Стьюдента для независимых выборок с поправкой на различие дисперсий. Различия средних считались статистически достоверными, если уровень значимости не превышал 0,05. Допуская, что распределения некоторых показателей могут отклоняться от нормального распределения, выводы, полученные по критерию Стьюдента, проверялись по непараметрическому критерию Манна-Уитни (критерию Краскала-Уоллеса для более общего случая) для независимых выборок.

Распределения большинства рассматриваемых показателей асимметричны и отличаются от нормального, поэтому для описания показателей в группах использовался квартильный анализ, а проверка значимости различий между независимыми группами проводилась по непараметрическому критерию Краскала-Уоллеса [59].

### **Глава 3. СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ОТ ЖЕНЩИН С МАРКЕРАМИ НАСЛЕДСТВЕННО ОБУСЛОВЛЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ**

#### **3.1. Оценка состояния здоровья матерей с отягощенным тромбофильным анамнезом, особенности течения беременности и родов**

Для решения поставленных задач нами были проанализированы данные анамнеза 129 женщин, дети которых были распределены в основную и контрольную группы. При сборе анамнестических данных беседу с семьей проводили в форме интервью с заполнением анкеты установленного образца по форме Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе» [53]. Выяснялось наличие отягощенного тромботического анамнеза в семье (тромбофлебит, флеботромбоз, инсульт, транзиторные ишемические атаки, инфаркт миокарда, тромбозы различной локализации, условия их возникновения), у матерей – отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза (синдром потери плода, гиперпластические процессы эндометрия, гестоз различной степени тяжести, преждевременные роды, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты и др.).

Возраст матерей варьировал в пределах 18-38 лет. Средний возраст женщин основной группы на момент родоразрешения составил  $30,1 \pm 5,2$  лет, контрольной –  $28,8 \pm 5,4$  лет, что свидетельствует об отсутствии статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ). Структура акушерского анамнеза матерей из групп сравнения представлена в таблице 3.

Более чем у половины (60,3%) матерей с отягощенностью по тромбофилии в анамнезе имелись выкидыши на разных сроках гестации (от 1 до 7, в среднем  $1,9 \pm 1,2$ ). Преобладали регрессы и выкидыши на ранних сроках беременности (39,7%), поздние выкидыши выявлены у 20,6% пациенток. В

7,4% случаев беременность заканчивалась антенатальной гибелью плода. Факт преждевременных родов в анамнезе установлен у восьми (11,8%) пациенток с отягощенным тромбофильным анамнезом. Практически каждая четвертая женщина (23,5%) обращалась за искусственным прерыванием беременности.

В группе контроля синдром потери плода встречался достоверно реже. Так, выкидыши на ранних и поздних сроках диагностированы у семи (11,5%) пациенток ( $p < 0,001$ ), у трех – предыдущие беременности закончились преждевременно, ни одна из женщин не имела в анамнезе антенатальную гибель плода ( $p = 0,03$ ). Статистически значимые различия по частоте медицинских аборт в сравниваемых группах не выявлены ( $p = 0,18$ ). Отягощенный гинекологический анамнез, проявившийся нарушением менструального цикла, хроническим аднекситом, эндометритом, миомой матки и гиперплазией эндометрия, имели 27,9% женщин основной группы. Среди матерей без тромбофильных осложнений выше указанная патология по совокупности обнаружена у 21,3% ( $p = 0,38$ ).

Таблица 3. Особенности акушерско-гинекологического анамнеза матерей исследуемых групп

Факты из анамнеза	Женщины с ОТА (n = 68)	Женщины без ОТА (n = 61)	P
	асб., (%)	асб., (%)	
Первая беременность, первые роды	16 (23,5)	29 (47,5)	0,001*
Медицинские аборты	16 (23,5)	10 (16,4)	0,18
Регрессы и выкидыши на ранних сроках беременности	27 (39,7)	5 (8,2)	<0,001*
Выкидыши на поздних сроках беременности	14 (20,6)	2 (3,3)	0,002*
Антенатальная гибель плода	5 (7,4)	0	0,03*
Факт преждевременных родов	8 (11,8)	3 (4,9)	0,16
Отягощенный гинекологический анамнез	19 (27,9)	13 (21,3)	0,38

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Весьма важным у женщин с ОТА является сравнительный анализ соматических заболеваний и состояний, представленных в таблице 4.

Как видно из таблицы, геморрагические нарушения (обильные, длительные менструации, наличие носовых, десневых кровотечений, спонтанной синячковости) встречались у представительниц обеих групп сравнения ( $p=0,55$ ). Тромботический анамнез, представленный тромбозом вен верхних или нижних конечностей, транзиторными ишемическими атаками, был отягощен у каждой пятой пациентки основной группы ( $p<0,001$ ). Указания на наличие тромботических осложнений среди кровных родственников в три раза чаще определялись у матерей с предрасположенностью к тромбофилии ( $p=0,06$ ).

Таблица 4. Особенности соматического статуса матерей исследуемых групп

Признак	Женщины с ОТА (n = 68)	Женщины без ОТА (n = 61)	p
	асб., (%)	асб., (%)	
Геморрагический анамнез	9 (13,2)	6 (9,8)	0,55
Тромботический анамнез	12 (17,7)	0	<0,001*
Отягощенный тромботический анамнез у кровных родственников	15 (22,1)	6 (9,8)	0,06
Экстрагенитальная патология	39 (54,9)	29 (47,5)	0,26
Признаки дисплазии соединительной ткани	20 (29,4)	9 (14,8)	0,04*

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

В структуре экстрагенитальной патологии у женщин основной группы наиболее распространенными оказались хронический пиелонефрит (13,2%), артериальная гипертензия (17,6%), субклинический гипотиреоз (8,8%), варикозная болезнь вен нижних конечностей (20,6%) и остеохондроз (10,3%). Необходимо отметить, что экстрагенитальная патология регистрировалась в большинстве случаев не изолированно, а имела различные сочетания. Достоверных отличий по совокупности экстрагенитальных заболеваний в сравниваемых группах установлено не было (таблица 4).

Анализ данных выявил наличие маркеров соединительнотканной дисплазии у женщин с ОТА. Так, гипермобильность суставов, сколиоз, нестабильность шейного отдела позвоночника, пролабирование клапанов сердца, дополнительная хорда, миопия по совокупности обнаружены у 20 (29,4%) пациенток с предрасположенностью к тромбофилии.

В структуре осложнений настоящей беременности (таблица 5) преэклампсия средней и тяжелой степени тяжести зарегистрирована у 31 женщины (45,6%) с отягощенным тромбофильным анамнезом в сравнении с 20 пациентками (32,8%) из группы контроля ( $p=0,14$ ). Более чем у половины женщин первой группы беременность осложнялась угрозой прерывания (63,2%), в сравниваемой группе данное осложнение имело место в каждом третьем случае (34,4%,  $p<0,001$ ). У 37 матерей с ОТА (42,6%) беременность сопровождалась развитием фетоплацентарной недостаточности, что достоверно выше группы контроля (26,2%;  $p=0,001$ ). Необходимо подчеркнуть, что фетоплацентарная недостаточность, как установлено, приводит к нарушению обменных процессов между матерью и плодом, напряжению, а в дальнейшем и к «срыву» адаптационных возможностей плода.

Из интранатальных осложнений наиболее часто отмечалось преждевременное излитие околоплодных вод у 17,6% и 16,4% пациенток основной и контрольной группы, соответственно ( $p=0,85$ ). Длительный безводный период зафиксирован в двух случаях (2,9%) среди женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом и у пяти пациенток (8,2%) без наследственных факторов риска тромбофилии ( $p=0,18$ ). Грозным осложнением, создающим неблагоприятные условия для состояния плода, является преждевременная отслойка плаценты. Данное состояние в четыре раза чаще встречалось среди матерей с отягощенностью по тромбофилии (13,2%  $p=0,02$ ). Каждые вторые роды у женщин основной группы были оперативными, часть из них – по экстренным показаниям в связи с остро начавшейся гипоксией плода.

Как видно из таблицы 5, у половины женщин с ОТА родовая деятельность развивалась преждевременно (55,9%), что достоверно чаще в

сравнении с контрольной группой (37,7%;  $p=0,03$ ). Их дети чаще имели аномалии развития (22,1% в основной и 6,6% в контрольной;  $p<0,001$ ) и признаки внутриутробной гипотрофии ( $p=0,19$ ).

Таблица 5. Течение настоящей беременности, интранатального периода, способы родоразрешения и исходы беременностей у матерей в исследуемых группах

Признак	Женщины с ОТА (n = 68)	Женщины без ОТА (n = 61)	p
	асб., (%)	асб., (%)	
Угроза прерывания беременности	43 (63,2)	21 (34,4)	0,001*
Анемия смешанного генеза (легкой и средней степени тяжести)	28 (41,2)	9 (14,8)	<0,001*
ХФПН	37 (54,4)	16 (26,2)	0,001*
Преэклампсия средней и тяжелой степени тяжести	31 (45,6)	20 (32,8)	0,14
Преждевременная отслойка плаценты	9 (13,2)	2 (3,3)	0,04*
Родоразрешение путем операции кесарева сечения	34 (50,0)	18 (29,5)	0,017*
Преждевременное излитие околоплодных вод	12 (17,6)	10 (16,4)	0,85
Длительность безводного периода более 12 часов	2 (2,9)	5 (8,2)	0,18
Преждевременные роды	38 (55,9)	23 (37,7)	0,03*
Врожденные аномалии у детей	15 (22,1)	4 (6,6)	<0,001*
Задержка внутриутробного роста плода	10 (14,7)	5 (8,2)	0,19

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Резюмируя приведенные сведения, можно констатировать, что матери из групп сравнения были сопоставимы по возрасту и наличию экстрагенитальной патологии. Вместе с тем, согласно критериям включения в когорту, у женщин выявлены различия по отягощенности в акушерском и тромботическом анамнезах. Так, женщины с предрасположенностью к тромбофилии достоверно чаще имели регрессы и выкидыши на разных сроках гестации, антенатальную

гибель плода и, как следствие, большее количество беременностей в анамнезе. Практический интерес представляют сведения относительно представленности в большем проценте случаев признаков мезенхимальной дисплазии у женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом. Среди исходов беременностей у представительниц основной группы преобладали оперативный способ родоразрешения, преждевременные роды, а также рождение детей с аномалиями развития.

### **3.2. Анализ течения раннего и позднего неонатальных периодов у детей, рожденных от женщин с маркерами генетически детерминированной тромбофилии**

Нами проведен анализ течения раннего и позднего неонатальных периодов у детей исследуемых групп. Следует отметить, что сформированные когорты пациентов были сопоставимы по половому составу. В основной группе состояло 37 (52,1%) мальчиков и 34 (47,9%) девочки, в сравнении с 34 (50,7%) мальчиками и 33 (49,3%) девочками из группы контроля ( $p > 0,05$ ).

Нами были проанализированы такие важные оценочные характеристики развития перинатальной патологии, как срок гестации, масса и длина новорожденного при рождении, а также оценка по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни (таблица 6). Гестационный возраст варьировал от 26 до 41 недели в обеих исследуемых группах, с медианой, составляющей 35 недель у младенцев первой группы и 38 – во второй ( $p = 0,006$ ). Антропометрические характеристики детей из основной группы были меньше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Как следует из приведенных данных, оценка по шкале Апгар на 1 и 5 минутах жизни у младенцев, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, была достоверно ниже, что свидетельствует о наличии более выраженной асфиксии у данной группы детей ( $p < 0,05$ ).

Следует указать, что дети от женщин с ОТА родились недоношенными чаще (53,5%), чем в группе контроля (34,3%;  $p = 0,02$ ).

Таблица 6. Гестационный возраст, антропометрические данные и оценка по шкале Апгар детей в сравниваемых группах

Признак	Срок гестации, нед.*	Масса тела, г.*	Длина тела, см.*	Оценка по шкале Апгар на 1-ой минуте жизни*	Оценка по шкале Апгар на 5-ой минуте жизни*
Основная группа (n = 71)	35** (30-39)	2578** (1540-3350)	49** (40-52)	6** (4-7)	7** (6-8)
Контрольная группа (n = 67)	38 (36-40)	3135 (2554-3500)	50 (47-52)	7 (6-7)	8 (7-8)
p	0,006	0,012	0,031	0,007	0,004

Примечание: \* - данные представлены в виде медианы и в скобках границ межквартильного интервала Ме; \*\* - различия достоверны при сравнении с контрольной группой

Данные о распределении недоношенных детей в зависимости от срока гестации представлены в таблице 7. Отметим, что достоверные различия установлены в отношении рождения детей на сроке 29 и менее недель (p=0,03).

Таблица 7. Гестационный возраст недоношенных детей из исследуемых групп

Признак	Срок гестации, нед.		
	>/=34	30-33	</=29
	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)
Основная группа (n = 38)	9 (23,7)	12 (31,6)	17 (44,7)
Контрольная группа (n = 23)	9 (39,1)	10 (43,5)	4 (17,4)
p	0,16	0,25	0,03*

Примечание: \* - различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Определенный интерес представляет анализ градации массы тела среди доношенных и недоношенных детей (таблица 8). Нами не выявлены значимые различия весовых показателей среди доношенных новорожденных из обеих групп.

Таблица 8. Градация по массе среди детей в сравниваемых группах

Признак	Доношенные			Недоношенные			
	>3500 г.	3000 – 3500 г.	2999 – 2500 г.	>2000 г.	1500 – 1999 г.	1000 – 1499 г.	<1000 г.
	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)
Основная группа (n = 71)	14 (19,7)	16 (22,5)	3 (4,2)	6 (8,5)	15 (21,1)	7 (9,9)	10 (14,1)
Контрольная группа (n = 67)	17 (25,4)	20 (29,9)	7 (10,5)	14 (20,9)	5 (7,5)	2 (3,0)	2 (3,0)
p	0,28	0,22	0,14	0,03*	0,02*	0,1	0,02*

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Масса большинства недоношенных младенцев, рожденных от женщин с отягощенностью по тромбофилии, варьировала в диапазоне от 1500 до 1999 грамм ( $p=0,02$ ), в сравнении с представителями контрольной группы, чья масса, в большинстве случаев, составляла более 2000 грамм ( $p=0,03$ ). Уместно подчеркнуть, что новорожденные основной группы достоверно чаще имели низкую (21,1% против 7,5%;  $p=0,03$ ) и экстремально низкую массу тела при рождении (14,1% в сравнении – с 3,0% в контроле;  $p=0,02$ ).

Мы проанализировали тяжесть состояния при рождении среди пациентов из групп сравнения. Так, было установлено, что дети от матерей с неотягощенным тромбофильным анамнезом достоверно реже рождались в тяжелом состоянии (9,0%;  $p<0,001$ ), из них доношенных – 1,5%, недоношенных – 7,5%. Напротив, только каждый третий новорожденный основной группы имел удовлетворительное состояние в первые часы жизни. Статистически значимых различий в отношении рождения детей в состоянии средней степени тяжести не зафиксировано. При последующем динамическом наблюдении, состояние при рождении коррелировало с данными о течении адаптационных и дезадаптационных процессов в неонатальном периоде. Согласно международным критериям, в комплексную оценку особенностей раннего неонатального периода включены такие прогностические характеристики, как нахождение ребенка в ПИТ/ОРИТН, проведение

продленной респираторной поддержки, назначение инфузионной и антибактериальной терапии, применение гемотрансфузионных сред, последующий перевод в лечебно-профилактические учреждения неонатального профиля (таблица 9).

Таблица 9. Характеристика течения раннего неонатального периода

Признак	Основная группа (n = 71)		Контрольная группа (n = 67)		p
	доношен. (n = 33)	недонош. (n = 38)	доношен. (n = 44)	недонош. (n = 23)	
	абс., (%)		абс., (%)		
Степень тяжести состояния при рождении:					
- удовлетворительное	24 (33,8)	1 (1,4)	37 (55,2)	10 (14,9)#	<0,001* 0,93 <0,001#
- средней степени	5 (7,0)	7 (9,9)	6 (9,0)	7 (10,5)	0,73 0,55 0,22
- тяжелое	4 (5,6)	28 (39,4)#	1 (1,5)	5 (7,5)	<0,001* 0,7 <0,001#
- крайне тяжелое	0	2 (2,8)	0	1 (1,5)	0,52 0,68
Нахождение ребенка в палате на 3-и сутки жизни:					
- Мать и дитя	22 (31,0)	1 (1,4)	37 (55,2)	10 (14,9)#	<0,001* 0,9 <0,001#
- ПИТ	6 (8,5)	12 (16,9)	5 (7,5)	7 (10,5)	0,2 0,3 0,58
- ОРИТН	5 (7,0)	25 (35,2)#	2 (3,0)	6 (9,0)	<0,001* 0,12 0,003#
Респираторная поддержка: ИВЛ	4 (5,6)	19 (26,8)#	2 (3,0)	4 (6,0)	<0,001* 0,21 0,01#
Перевод ребенка в ЛПУ	11 (15,5)**	37 (52,1)#	3 (4,5)	16 (23,9)	<0,001* 0,003** 0,003#
Отсроченность сроков вакцинации	15 (21,1)**	36 (50,7)#	5 (7,5)	13 (19,4)	<0,001* <0,001** <0,001#
Назначение антибактериальной терапии	9 (12,7)	36 (50,7)	5 (7,5)	18 (26,9)	<0,001* 0,07 0,06

Назначение инфузионной терапии	10 (14,1)**	36 (50,7)#	4 (6,0)	13 (19,4)	<0,001* 0,02** <0,001#
Назначение препаратов крови	5 (7,0)**	15 (21,1)#	1 (1,5)	2 (3,0)	<0,001* 0,049** 0,008#

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

\*\* - различия достоверны при сравнении доношенных новорожденных

# - различия достоверны при сравнении недоношенных новорожденных

У большинства новорожденных контрольной группы (70,1%), период ранней послеродовой адаптации протекал удовлетворительно. Детям, рожденным от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, в 42,3% случаев требовалось динамическое наблюдение в условиях отделения реанимации. Протезирование функции дыхания таким методом респираторной поддержки, как продленная искусственная вентиляция легких, применялось 23 (32,4%) младенцам из основной группы, что в четыре раза чаще в сравнении с контролем ( $p < 0,001$ ). Факт госпитализации на следующие этапы выхаживания либо в отделения хирургического профиля установлен у 67,6% новорожденных из первой группы и 28,4% – из второй ( $p < 0,001$ ). В таблице 9 приведены данные относительно достоверных различий в характеристике течения раннего неонатального периода с учетом особенностей доношенных и недоношенных детей.

Нами была проведена оценка синдромов и патологических состояний периода неонатальной адаптации (таблица 10). Респираторный дистресс-синдром, характеризующий дисфункцию системы дыхания, развился у 30 (42,3%) новорожденных от женщин с предрасположенностью к тромбофилии, в сравнении с 11 (16,4%) младенцами из контрольной группы ( $p < 0,001$ ). РДС достоверно чаще регистрировался у недоношенных новорожденных основной группы (40,8% против 13,4% – в контрольной группе, соответственно;  $p = 0,004$ ).

Таблица 10. Особенности течения и исходы неонатального периода  
у детей исследуемых групп

Признак	Основная группа (n = 71)		Контрольная группа (n = 67)		p
	доношен. (n = 33)	недонош. (n = 38)	доношен. (n = 44)	недонош. (n = 23)	
	абс., (%)		абс., (%)		
Респираторный дистресс-синдром	1 (1,4)	29 (40,8)#	2 (3,0)	9 (13,4)	<0,001* 0,82 0,004#
Перинатальное поражение ЦНС	12 (16,9)**	37 (52,1)#	5 (7,5)	16 (23,9)	0,003* 0,01** 0,003#
Энтеральная недостаточность на 7-ые сутки жизни	2 (2,8)	11 (15,5)	1 (1,5)	5 (7,5)	0,09 0,39 0,38
ЯНЭК	0	4 (5,6)	0	1 (1,5)	0,2 0,2
Нестабильность гемодинамики	4 (5,6)	10 (14,8)	2 (3,0)	2 (3,0)	0,015* 0,21 0,09
Транзиторная гипогликемия	3 (4,2)	10 (14,8)	6 (9,0)	4 (6,0)	0,38 0,83 0,32
Гипербилирубинемия	7 (9,9)	26 (36,6)#	14 (20,9)	7 (10,5)	0,06 0,23 0,004#
Анемия смешанного генеза (тяжелой степени)	0	14 (19,7)#	0	2 (3,0)	0,002* 0,014#
Геморрагический синдром	5 (7,0)**	7 (9,9)	1 (1,5)	2 (3,0)	0,017* 0,049** 0,26
Тромбоцитопения в 1-ые сутки жизни (<150x10 <sup>9</sup> /л)	2 (2,8)	9 (12,7)#	2 (3,0)	0	0,01* 0,57 0,009#
Врожденный порок сердца	0	6 (8,5)	3 (4,5)	0	0,28 0,18 0,05
Ретинопатия недоношенных	0	16 (22,5)#	0	6 (9,0)	0,03* 0,03#

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

\*\* - различия достоверны при сравнении доношенных новорожденных

# - различия достоверны при сравнении недоношенных новорожденных

Наряду с этим, статистически значимые различия получены в отношении частоты формирования перинатального поражения центральной

нервной системы (ППЦНС) у детей исследуемых групп. У пациентов из семей с отягощенностью по тромбофилии данная патология развивалась достоверно чаще как среди доношенных (16,9%), так и недоношенных (52,1%) новорожденных.

Каждый пятый ребенок (19,7%) от женщин с ОГА, имел нестабильную гемодинамику ( $p=0,015$ ). Вместе с тем, анализ по отдельным выборкам детей, рожденным в срок либо преждевременно, не выявил статистически значимых различий. Тромбоцитопения в первые сутки жизни достоверно чаще выявлялась у детей основной группы (15,5%) (что в большей степени было свойственно недоношенным), в сравнении с 3% – в контроле ( $p=0,01$ ). Кроме того, гипербилирубинемия в три раза чаще диагностировали у недоношенных младенцев из семей с отягощенностью по тромбофилии ( $p=0,004$ ).

Не менее показательны данные в отношении возникновения геморрагического синдрома и анемии тяжелой степени, потребовавших коррекции препаратами крови (эритроцитарная масса, свежемороженая плазма). Так, у каждого пятого (19,7%) представителя основной группы (все – со сроком гестации менее 37 недель) выявлена анемия тяжелой степени в сравнении с 3,0% в группе контроля ( $p=0,002$ ). Геморрагические проявления также значительно чаще встречались среди новорожденных от матерей с маркерами наследственно обусловленной тромбофилии. При этом достоверность различий была определена в подгруппе пациентов, родившихся в срок (7,0% и 1,5%;  $p=0,049$ ). В обеих группах были дети с врожденными пороками сердца (в первой – шесть (8,5%), во второй – три (4,5%;  $p=0,28$ ) младенца).

Следует отметить, что тромбофильная предрасположенность среди курируемых детей не реализовалась в виде тромбоэмболического синдрома, но были диагностированы ишемические процессы (церебральная ишемия, диффузные ишемические изменения в печени, почках, поджелудочной железе, кишечной стенке) в наиболее компрометированных органах основных систем организма.

С учетом изложенного выше, можно резюмировать, что дети исследуемых групп имеют достоверные различия по многим параметрам. Так, для новорожденных основной группы характерными являлись нарушения со стороны респираторной, сердечно-сосудистой и центральной нервной систем, функциональная напряженность желудочно-кишечного тракта и гепато-билиарной системы, гемостаза и гемопоэза. Дети от женщин с ОТА достоверно чаще рождались преждевременно, характеризовались меньшим сроком гестации, чаще имели низкую и экстремально низкую массу тела при рождении. Данной группе пациентов были свойственны более выраженные процессы дезадаптации, которые и обуславливали степень тяжести состояния с рождения. Следует подчеркнуть, что анализ данных в подгруппах доношенных и недоношенных новорожденных выявил достоверные различия в структуре особенностей течения неонатального периода. Установлено, что дети от матерей с маркерами наследственно обусловленной тромбофилии, рожденные преждевременно, статистически значимо отличались по ряду характеристик неонатальной адаптации (развитие РДС, ППЦНС, гипербилирубинемии, анемии тяжелой степени, тромбоцитопении) от недоношенных младенцев из контрольной группы. Перинатальное поражение ЦНС и геморрагические осложнения достоверно преобладали среди доношенных новорожденных, матери которых являлись носителями маркеров генетически детерминированной тромбофилии.

Отягощенный материнский анамнез в совокупности с особенностями клинической картины формирующихся патологических состояний, как мы полагаем, послужили основанием тому, что дети (как доношенные, так и недоношенные) основной группы более чем в два раза чаще госпитализировались из родильного дома в лечебно-профилактические учреждения неонатального профиля. Потребность в назначении антибактериальной и инфузионной терапии, применении гемотрансфузионных сред в большем проценте случаев, отсроченность вакцинации отличала

младенцев, рожденных женщинами с отягощенным тромбофильным анамнезом, от контроля.

### 3.3. Оценка связи факторов риска и клинической картины течения неонатального периода у детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом

Для комплексного анализа периода адаптации у младенцев, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, с помощью метода расчета отношения шансов, мы оценили связь анамнестических и клинических факторов с течением и исходами неонатального периода у данной группы детей. Полученные данные представлены в таблицах 11 и 12.

Весьма важным является тот факт, что шансы развития состояний, негативным образом сказывающихся на процессах, как внутриутробной, так и постнатальной адаптации, были выше у новорожденных из основной группы.

Таблица 11. Связь анамнестических факторов с течением неонатального периода у детей основной группы\*

Факторы	Отношение шансов (ОШ)	Границы 95% доверительного интервала (95% ДИ)
Наличие у матери во время беременности:		
- угрозы прерывания беременности	3,5	1,7-7,4
- хронической фетоплацентарной недостаточности	2,1	1,0-4,5
- анемии	4,0	1,7-9,7
Паритет беременности: $\geq 4$	7,8	2,5-24,6
Факт родоразрешения путем операции кесарева сечения	2,4	1,1-5,0

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Так, шансы возникновения угрозы прерывания беременности в 3,5 выше у матерей с ОТА. У детей из семей с тромбофильной отягощенностью шансы иметь в анамнезе матери указание на хроническую фетоплацентарную недостаточность составляют 3,5 [95%ДИ: 1,7-7,4], анемию во время беременности – 2,1 [95%ДИ: 1,0-4,5].

Полученные результаты отражают тот факт, что шансы родиться от 4-й и более беременности почти в восемь раз выше у детей от матерей с большим количеством полиморфизмов. Отношение шансов применения оперативного способа родоразрешения составляет 2,4 [95%ДИ: 1,1-5,0] среди женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом.

Кроме того, вероятность родиться недоношенными у детей основной группы достоверно выше (ОШ=2,2 [95%ДИ: 1,1-4,4]). При этом отношение шансов иметь очень или экстремально низкую массу тела при рождении составляет 5,0 [95%ДИ: 1,5-16,0] (таблица 12).

На 1-ой минуте жизни младенцы, рожденные от женщин с маркерами наследственной тромбофилии, имеют в 2,6 раза выше шансы развития асфиксии, определяемую наличием низкой оценки по шкале Апгар (менее 6 баллов). По данным нашего исследования к 5-ой минуте – данная тенденция среди детей основной группы сохраняется (ОШ=2,4 [95%ДИ: 1,2-4,8]).

Согласно приведенным сведениям, является закономерным более высокая вероятность проведения таким детям интенсивной терапии в условиях ОРИТН с последующей госпитализацией на следующие этапы выхаживания и реабилитации.

При анализе развития соматоневрологических синдромов и состояний отмечено достоверно значимое преобладание геморрагических осложнений (ОШ=4,3 [95%ДИ: 1,1-16,6]), проявлений перинатального поражения ЦНС ишемического генеза (ОШ=2,9 [95%ДИ: 1,4-6,2]) и геморрагического генеза (ОШ=3,3 [95%ДИ: 1,1-9,9]) у младенцев, включенных в основную группу, относительно группы детей, рожденных в семьях без тромбофильной отягощенности.

Таблица 12. Связь клинических факторов с течением неонатального периода у детей основной группы\*

Факторы	Отношение шансов (ОШ)	Границы 95% доверительного интервала (95% ДИ)
Оценка по шкале Апгар на 1-ой мин: $\leq 6$ баллов	2,6	1,3-5,2
Оценка по шкале Апгар на 5-ой мин: $\leq 7$ баллов	2,4	1,2-4,8
Недоношенность	2,2	1,1-4,4
Масса при рождении: $\leq 1500$ г.	5,0	1,5-16,0
Наличие ППЦНС		
- ишемического генеза	2,9	1,4-6,2
- геморрагического генеза	3,3	1,1-9,9
Наличие геморрагического синдрома	4,3	1,1-16,6
Нахождение ребенка в ОРИТН на 3-и сутки жизни	5,4	2,2-13,2
Перевод ребенка в ЛПУ	5,3	2,5-11,1
Назначение ребенку:		
- антибактериальной терапии	3,5	1,7-7,2
- инфузионной терапии	5,8	2,7-12,2
- гемотрансфузионной терапии	8,4	2,3-30,5

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

### 3.4. Результаты катamnестического наблюдения за состоянием здоровья детей исследуемых групп в течение первого года жизни

Для анализа особенностей состояния здоровья и степени реализации протромботической готовности у детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, было проведено катamnестическое наблюдение 85 младенцев в течение первого года жизни. Всем детям осуществлялась оценка соматического и неврологического статусов в декретированные сроки 1, 3, 6, 12 месяцев.

В возрасте 1 месяц было осмотрено 37 детей из основной группы (70,3% составили младенцы от доношенной беременности, 29,7% являлись

недоношенными) и 48 представителей контрольной (70,8% – доношенные новорожденные, 29,2% – недоношенные, соответственно).

Соматическое благополучие было отмечено всего у пяти младенцев (13,5%), рожденных от женщин с ОТА, напротив, каждый третий ребенок (31,3%) из семей без отягощенности по тромбофилии был соматически здоров ( $p=0,029$ ). Чаще всего (в 55,6% случаев,  $n = 20$ ), у пациентов основной группы отмечалось сочетание двух–трех проявлений соматической патологии. Доминирующими проблемами являлись синдром нарушения микрофлоры кишечника (45,9%), железодефицитная анемия легкой и средней степени (35,1%), синдром срыгиваний (16,2%), а также затяжная желтуха (32,4%). У двух младенцев (5,4%) был диагностирован ранее не проявивший себя врожденный порок сердца. Отметим, что среди детей контрольной группы на первом месяце жизни достоверно реже встречалась железодефицитная анемия (8,3%;  $p=0,003$ ). Новорожденные, от матерей с неотягощенным анамнезом по тромбофилии, чаще имели проблемы становления биоценоза кишечника (43,8%) и конъюгации билирубина (33,3%), но статистически значимых различий с представителями основной группы не установлено (таблица 13).

Ультразвуковое сканирование внутренних органов выявило наличие таких состояний, как гепатомегалию, пиелозктазию, диффузные изменения паренхимы поджелудочной железы у 13 пациентов (35,1%) основной группы и 16 (33,3%) – в контроле ( $p=0,52$ ).

При оценке нервной системы у детей в 1 месяц получены следующие результаты (таблица 14). Отсутствие проявлений перинатального поражения ЦНС зафиксировано у 10,4% обследованных нами детей из контрольной группы и всего у 5,4% младенцев, рожденных в семьях с отягощенным тромбофильным анамнезом ( $p=0,2$ ).

Двигательные нарушения выявлены у большинства обследованных (91,8% – основная группа и 81,2% – контрольная, соответственно), то есть были доминирующими в неврологическом статусе детей в возрасте 1 месяца.

Таблица 13. Структура соматической патологии у детей исследуемых групп на первом году жизни

Признак	Основная группа (n = 37)				Контрольная группа (n = 48)			
	Возраст, месяцы							
	1	3	6	12	1	3	6	12
	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)
Здоров	<b>5</b> <b>(13,5)</b>	<b>5</b> <b>(13,5)</b>	10 (27,0)	<b>13</b> <b>(35,1)</b>	<b>15*</b> <b>(31,3)</b>	<b>16*</b> <b>(33,3)</b>	17 (35,4)	<b>27*</b> <b>(56,3)</b>
Синдром срыгивай	<b>6*</b> <b>(16,2)</b>	<b>4*</b> <b>(10,8)</b>	1 (2,7)	0	<b>0</b>	<b>0</b>	1 (2,1)	0
Синдром раздраженного кишечника	0	2 (5,4)	2 (5,4)	<b>6*</b> <b>(16,2)</b>	4 (8,3)	4 (8,3)	2 (4,2)	<b>1</b> <b>(2,1)</b>
Кардиопатия	4 (10,8)	<b>7*</b> <b>(18,9)</b>	<b>5*</b> <b>(13,5)</b>	2 (5,4)	1 (2,1)	<b>2</b> <b>(4,2)</b>	<b>0</b>	0
Железодефицитная анемия	<b>13*</b> <b>(35,1)</b>	14 (37,8)	8 (21,6)	<b>2</b> <b>(5,4)</b>	<b>4</b> <b>(8,3)</b>	16 (33,3)	5 (10,5)	<b>8*</b> <b>(16,7)</b>
Нейтропения (<1,2x10 <sup>9</sup> /л)	1 (2,7)	<b>4*</b> <b>(10,8)</b>	<b>5*</b> <b>(13,5)</b>	3 (8,3)	0	<b>0</b>	<b>0</b>	0
Тромбоцитоз (>400x10 <sup>9</sup> /л)	3 (8,1)	<b>8*</b> <b>(21,6)</b>	<b>6*</b> <b>(16,2)</b>	1 (2,7)	0	<b>2</b> <b>(4,2)</b>	<b>1</b> <b>(2,1)</b>	0

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Обращает внимание тот факт, что пирамидная недостаточность встречалась у 37,8% младенцев основной группы и в половине случаев среди детей из группы контроля ( $p=0,097$ ), в то время как двигательные нарушения по миотоническому типу достоверно чаще имели новорожденные от женщин с ОТА (45,9%,  $n = 17$ ;  $p=0,008$ ). Симптомы вегетативной дисфункции в виде изменения кожной температуры, изменения окраски кожи, гипер- или гипосаливации отмечались у каждого второго ребенка (54,1%) с отягощенностью по тромбофилии и в 39,6% случаев среди младенцев контрольной группы ( $p=0,094$ ).

Таблица 14. Структура неврологической патологии у детей исследуемых групп на первом году жизни

Признак	Основная группа (n = 37)				Контрольная группа (n = 48)			
	Возраст, месяцы							
	1	3	6	12	1	3	6	12
	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)
Здоров	2 (5,4)	4 (10,8)	4 (10,8)	11 (29,7)	5 (10,4)	4 (8,3)	8 (16,7)	21 (43,8)
Синдром двигательных нарушений: - пирамидная недостаточность - миотонический синдром - парез/ паралич центрального и периферического характера	14 (37,8)	15 (40,5)	21 (56,8)	9 (24,3)	25 (52,1)	28 (58,3)	24 (50,0)	15 (31,3)
	<b>17*</b> <b>(45,9)</b>	<b>11*</b> <b>(29,7)</b>	8 (21,6)	6 (16,2)	<b>10</b> <b>(20,8)</b>	<b>6</b> <b>(12,5)</b>	7 (14,6)	3 (6,3)
	3 (8,1)	4 (10,8)	3 (8,1)	3 (8,1)	4 (8,3)	4 (8,3)	3 (6,3)	3 (6,3)
Синдром вегетовисцеральной дисфункции	20 (54,1)	<b>15*</b> <b>(40,5)</b>	<b>9*</b> <b>(24,3)</b>	2 (5,4)	19 (39,6)	<b>8</b> <b>(16,7)</b>	<b>5</b> <b>(10,4)</b>	0
Синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости (СПНРВ)	2 (5,4)	<b>8*</b> <b>(21,6)</b>	5 (13,5)	1 (2,7)	6 (12,5)	<b>2</b> <b>(4,2)</b>	1 (2,1)	0
Гипертензионно-гидроцефальный синдром (ГГС)	4 (10,8)	7 (18,9)	6 (16,2)	<b>1</b> <b>(2,7)</b>	8 (16,7)	12 (25,0)	9 (18,6)	<b>8*</b> <b>(16,7)</b>

Задержка статико-моторного развития	0	0	3 (8,1)	<b>7*</b> <b>(18,9)</b>	0	0	5 (10,4)	<b>2</b> <b>(4,2)</b>
Задержка психо-предечевого развития	0	0	0	<b>7*</b> <b>(18,9)</b>	0	0	0	<b>1</b> <b>(2,1)</b>

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Проявления гипертензионно-гидроцефального синдрома, в виде превышения нормальной прибавки окружности головы, патологического диастаза родничков и краниальных швов, несколько чаще выявлялись среди младенцев контрольной группы (16,7%), в основной – 10,8% ( $p=0,22$ ). Детей с синдромом повышенной нервно-рефлекторной возбудимости также было больше в группе контроля, но статистически значимой разницы не получено. У одного ребенка с отягощенным семейным тромбофильным анамнезом отмечалась сохраняющаяся судорожная готовность.

Анализ заключений нейросонографического исследования (НСГ) показал, что патологические изменения ультразвуковой «картины», в виде стриарной васкулопатии, расширения ликворных пространств, ишемии различной степени выраженности, имелись, практически, у половины младенцев в обеих исследуемых группах (58,3% и 52,1%;  $p=0,36$ ).

Дети контрольной группы реже имели хирургическую патологию (40,5% и 58,3% – в основной;  $p=0,09$ ). В структуре хирургических заболеваний у детей, рожденных женщинами с отягощенным тромбофильным анамнезом, чаще выявлялись пупочная грыжа (21,6%) и клинические симптомы дисплазии тазобедренных суставов (18,9%,  $n = 7$ ). Хирургическая патология у новорожденных из контрольной группы характеризовалась наличием гемангиом различной локализации (12,5%), формированием пупочной грыжи у пяти пациентов (10,4%), водянки оболочек яичек в 8,3% случаев. При консультации врачом офтальмологом по данным клинического и

инструментального исследования с достоверной разницей обнаружено преобладание ретинопатии недоношенных в группе детей, рожденных от матерей с ОТА (13,5%;  $p=0,01$ ).

При обследовании пациентов в 3 месяца (таблица 13), установлены достоверные различия в отношении клинических проявлений соматической патологии с преобладанием у детей основной группы (86,5% против 66,7% – в контроле,  $p=0,03$ ). К данному декретированному сроку отмечается увеличение доли младенцев с анемией в обеих группах. В динамике проблема становления микрофлоры кишечника стала встречаться реже. Анализ данных, основанный на результатах бактериологического посева с обнаружением условно-патогенной микрофлоры кишечника, жалоб родителей на нарушение стула показал, что к трем месяцам жизни дисбиотические проявления имели 10,8% детей основной и 27,1% – контрольной группы ( $p=0,033$ ). При этом синдром срыгиваний все еще преобладал среди пациентов основной группы (10,8%;  $p=0,01$ ). Явления постнатальной гипотрофии установлены у трех младенцев (8,1%) группы анализа. Нейтропения (10,8%) и тромбоцитоз (21,6%) достоверно чаще выявлялись у детей, рожденных от женщин с ОТА. Не было найдено статистических различий между сравниваемыми группами в частоте клинических проявлений атопии, синдрома раздраженного кишечника, частоте развития инфекций мочевыводящих путей.

Дополнительные инструментальные методы исследования сердечно-сосудистой системы позволили диагностировать признаки постгипоксической кардиопатии у семи (18,9%) пациентов основной группы. В группе контроля данное патологическое состояние было обнаружено у двух младенцев (4,2%), что статистически достоверно ( $p=0,033$ ).

При оценке данных неврологического статуса у большинства детей групп сопоставления в трехмесячном возрасте выявлены те или иные отклонения от физиологической нормы. Двигательные нарушения продолжали занимать первое место в изменениях неврологического статуса.

В основной, как и в контрольной группе преобладали дети с признаками двигательных нарушений. При этом каждый четвертый (29,7%) обследованный из основной группы имел миотонический синдром, в то время как, в группе контроля ведущим нарушением оставалась пирамидная недостаточность (58,3%). Вместе с тем, признаки парезов центрального и периферического характера демонстрировали только по четыре человека в каждой из групп (10,8% и 8,3%, соответственно). В данном сроке особенностью неврологического здоровья детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, являлось превалирование СПНРВ у каждого пятого ребенка (21,6%,  $p=0,016$ ) и преобладание нарушений вегетативной нервной системы, в сравнении с контролем (40,5% и 16,7%, соответственно,  $p=0,006$ ). Дети сравниваемых групп, в одинаковой степени имели клинические проявления гипертензионно-гидроцефального синдрома. Нельзя не отметить, что у одного ребенка из семьи с отягощенным тромбофильным анамнезом к возрасту 3-х месяцев состоялось сосудистое тромботическое событие в виде тромбоза венечного синуса.

К шести месяцам жизни соматическое благополучие отмечалось у 10 (27,0%) младенцев, рожденных от женщин с ОТА и 17 (35,4%) – из контрольной группы ( $p=0,206$ ).

Среди детей основной группы в структуре соматической патологии лидирующее положение оставалось за аллергическими проявлениями (16,2%), задержкой физического развития (18,9%), кардиопатией (13,5%). С достаточно высокой частотой выявлялась анемия (21,6%), достоверно чаще в данной группе детей, диагностировали нейтропению (13,5%;  $p=0,005$ ) и тромбоцитоз (16,2%;  $p=0,011$ ) по результатам общеклинического анализа крови. В отличие от основной, в группе контроля трое (6,3%) младенцев имели признаки паратрофии ( $p<0,05$ ). К полугоду жизни отсутствие хирургической патологии фиксировалась практически с одинаковой частотой в обеих группах (70,3%,  $n = 26$  и 62,5%,  $n = 30$ , соответственно;  $p=0,3$ ). Отметим, что улучшение

показателей в структуре хирургической патологии произошло среди детей основной группы.

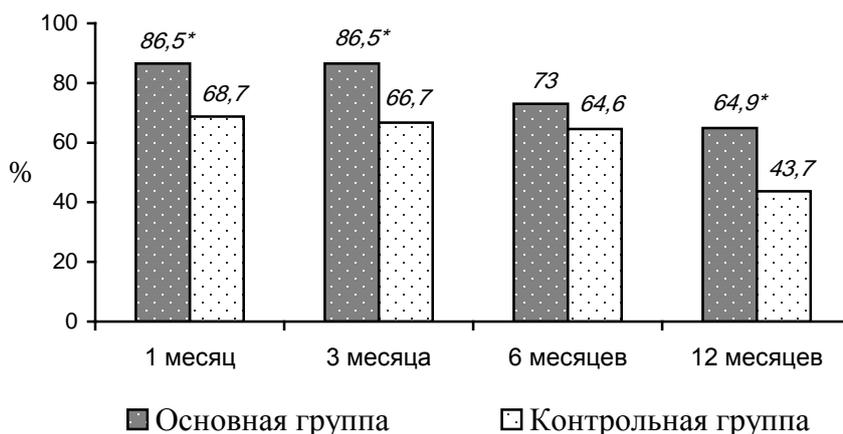
В возрасте 6 месяцев каждый шестой ребенок, рожденный в семье без отягощенности по тромбофилии, был неврологически компенсирован, при этом 88,9% младенцев основной группы имели как органические, так и функциональные нарушения ЦНС (таблица 14). Так, представителей у основной группы, продолжают доминировать моторные нарушения (83,8%), но достоверных различий в отношении представленности пирамидной недостаточности и миатонического синдрома в сравниваемых группах не установлено ( $p>0,05$ ). Задержка статико-моторного развития отмечалась у трех (8,1%) малышей, рожденных от женщин с ОТА, и пяти (10,4%) – из контрольной группы ( $p=0,76$ ).

Обращает внимание тот факт, что треть пациентов основной группы (35,1%) и половина обследованных – из контрольной (56,3%) к году были соматически здоровы ( $p=0,028$ ). В структуре патологии среди детей, рожденных от женщин с наследственной тромбофилией, чаще и статистически достоверно встречались гипотрофия (21,6%;  $p=0,015$ ), синдром раздраженного кишечника (16,2%;  $p=0,024$ ) и нейтропения (10,8%;  $p=0,011$ ). Анемия смешанного генеза к году жизни в три раза чаще диагностировалась у обследованных младенцев из группы контроля (16,7%;  $p=0,005$ ).

Оценка данных состояния здоровья в возрасте 12 месяцев позволила выявить наличие неврологической патологии у 70,3% детей основной группы и 56,2% младенцев – в контроле ( $p>0,05$ ). Анализ синдромологической структуры резидуальной неврологической симптоматики у детей основной группы показал следующее. Функциональные нарушения зарегистрированы в виде церебрастенического синдрома у 8,1% ( $n = 3$ ), астеновегетативного синдрома – у 5,4% ( $n = 2$ ), диссомнии – 10,8% ( $n = 4$ ) младенцев исследуемой группы. Симптомы органического характера в виде синдрома задержки статико-моторного развития выявлены у 18,9% ( $n = 7$ ), психо-предречевого развития – у 18,9% ( $n = 7$ ), пирамидной недостаточности – у 24,3% ( $n = 9$ ), миатонического

синдрома – у 16,2% (n = 6) детей, рожденных от женщин с ОТА. Судорожные приступы в структуре неврологической патологии фиксировались в 8,1% случаев среди обследованных пациентов. Следует отметить, что «грубые» симптомы органического поражения ЦНС, такие как парезы и параличи выявлены у трех (8,1%) малышей основной группы.

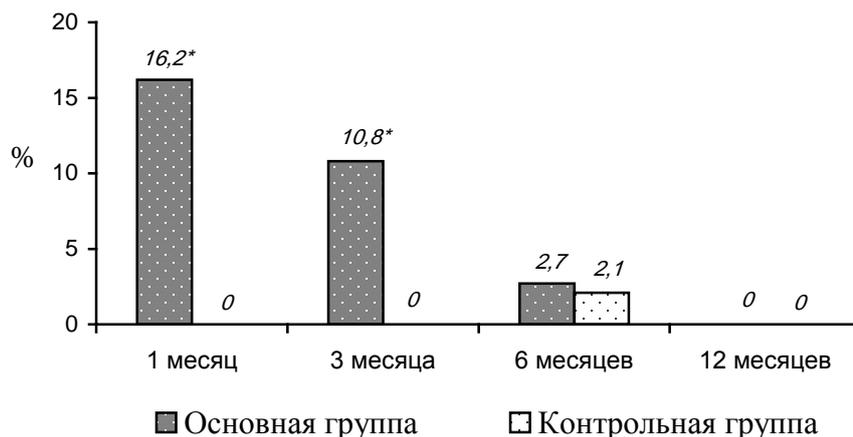
Суммируя выше изложенные факты, отметим, что дети контрольной группы достоверно реже имели проблемы в соматической сфере на протяжении первого года жизни (рисунок 1). У пациентов основной группы чаще выявлялось сочетание двух–трех проявлений соматической патологии. Важно подчеркнуть, что в течение 12-ти месяцев жизни отмечалась постепенная тенденция к улучшению соматического статуса среди детей в обеих сравниваемых группах.



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 1. Наличие соматической патологии у детей основной и контрольной групп на первом году жизни

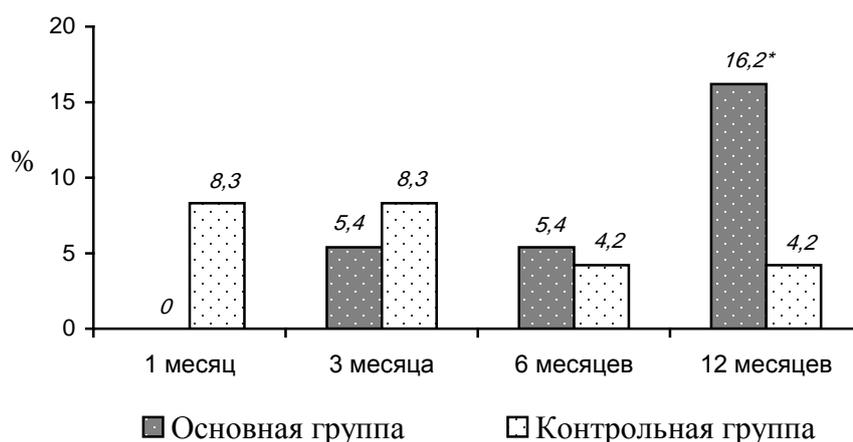
На рисунках 2, 3, 4 графически отражена динамика развития доминирующих проблем у пациентов анализируемых групп. Так, синдром срыгиваний достоверно чаще устанавливался у малышей, рожденных от женщин с ОТА, на протяжении первых шести месяцев жизни.



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

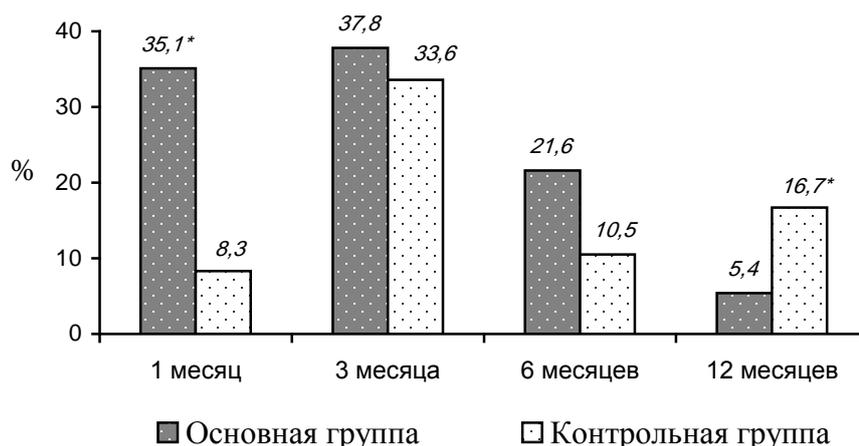
Рисунок 2. Динамика синдрома срыгиваний среди детей основной и контрольной групп на первом году жизни

К 12-ти месячному возрасту у детей основной группы с достоверным преобладанием формировались функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта. При анализе развития анемии (рисунок 4) было установлено ее преобладание к месячному возрасту среди новорожденных от женщин с отягощенностью по тромбофилии, напротив, к году жизни данное состояние достоверно чаще выявлялось у представителей группы контроля.



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

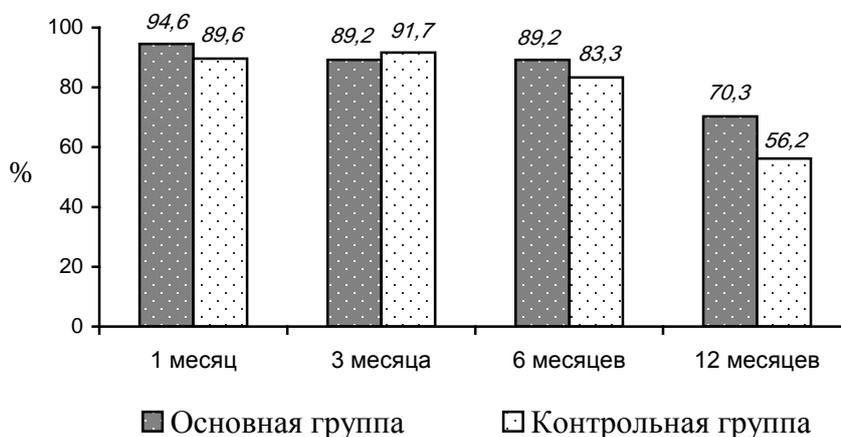
Рисунок 3. Динамика синдрома раздраженного кишечника среди детей основной и контрольной групп на первом году жизни



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 4. Динамика железодефицитной анемии среди детей основной и контрольной групп на первом году жизни

Параллельно со снижением проявлений соматической патологии, отмечались положительные изменения в структуре нарушений ЦНС, но неврологическая симптоматика оставалась доминирующей во все декретированные сроки (рисунок 5).

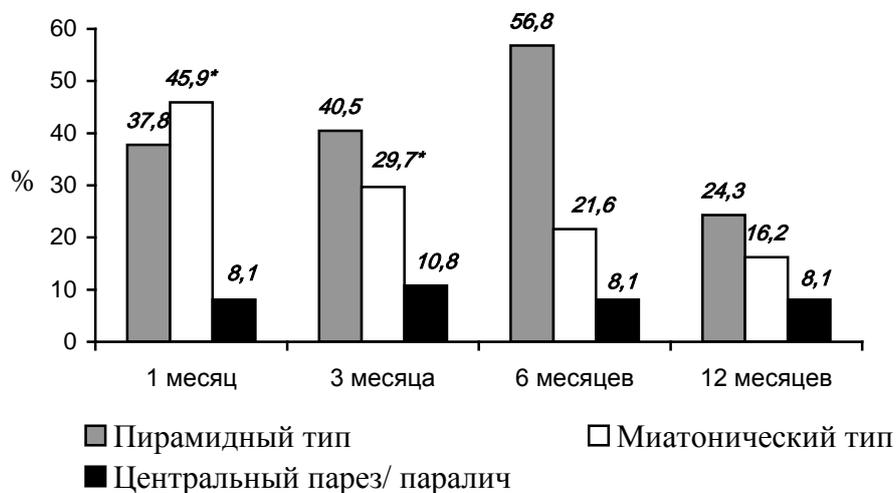


Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 5. Наличие неврологической патологии среди детей основной и контрольной групп на первом году жизни

Динамика формирования двигательных нарушений у пациентов обеих групп представлена на рисунках 6 и 7. Дети, рожденные от женщин с ОТА,

достоверно чаще имели проблемы, связанные со снижением мышечного тонуса на 1-ом, 3-ем месяцах жизни.



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении с контрольной группой

Рисунок 6. Динамика синдрома двигательных нарушений у детей основной группы на первом году жизни

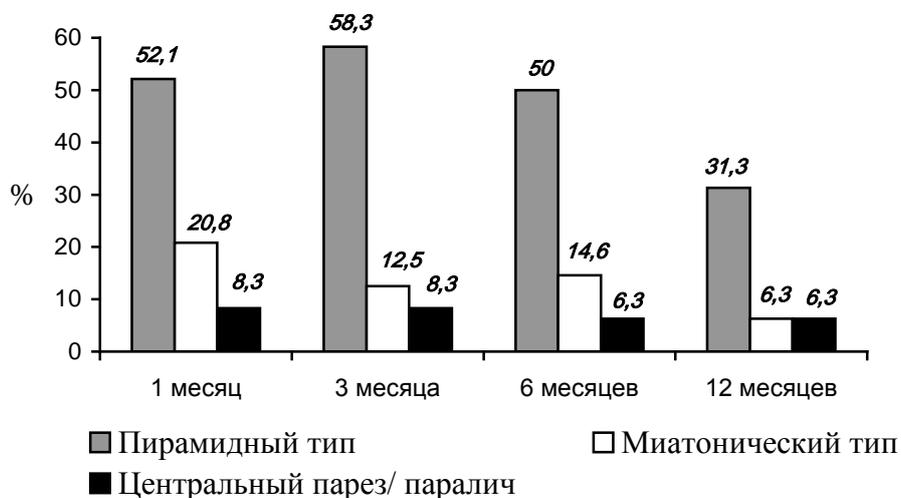
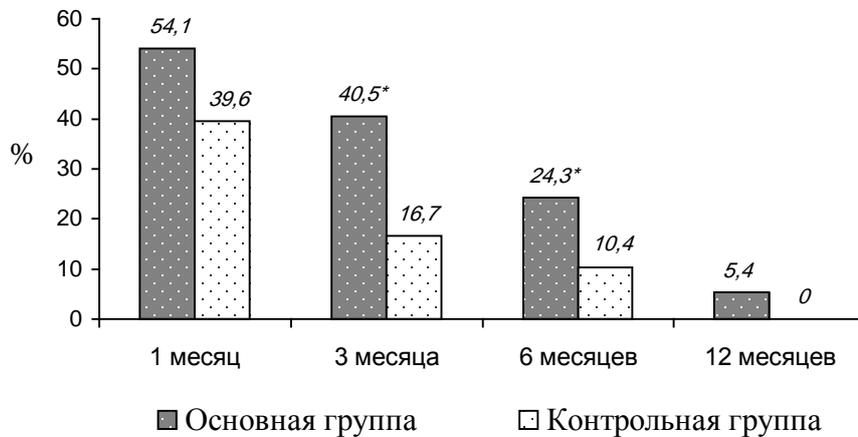


Рисунок 7. Динамика синдрома двигательных нарушений у детей контрольной группы на первом году жизни

Согласно графическому изображению (рисунок 8), проявления вегетативной дисфункции закономерно снижались в течение года у представителей обеих групп, по мере созревания нервной системы в целом.

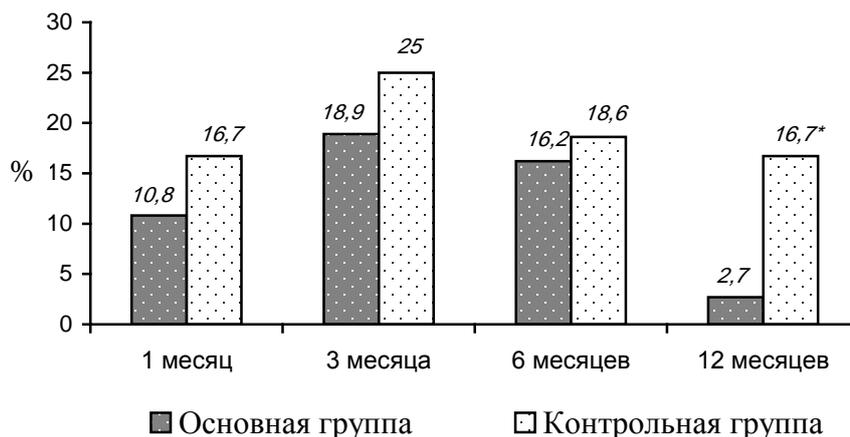
Статистически значимые различия были установлены в декретированные сроки на третьем и шестом месяцах жизни.



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 8. Динамика синдрома вегето-висцеральной дисфункции среди детей основной и контрольной групп на первом году жизни

Обращает на себя внимание преобладание ликворо-динамических нарушений у детей без отягощенности по тромбофилии (рисунок 9). В динамике отмечалось нарастание симптоматики к третьему месяцу жизни у младенцев в обеих группах с постепенным ее нивелированием к 12-ти месячному возрасту у детей, рожденных от женщин с ОГА. Статистически значимые различия установлены в отношении представленности синдрома ликвородинамических нарушений к концу первого года жизни в пользу младенцев, включённых в группу контроля.

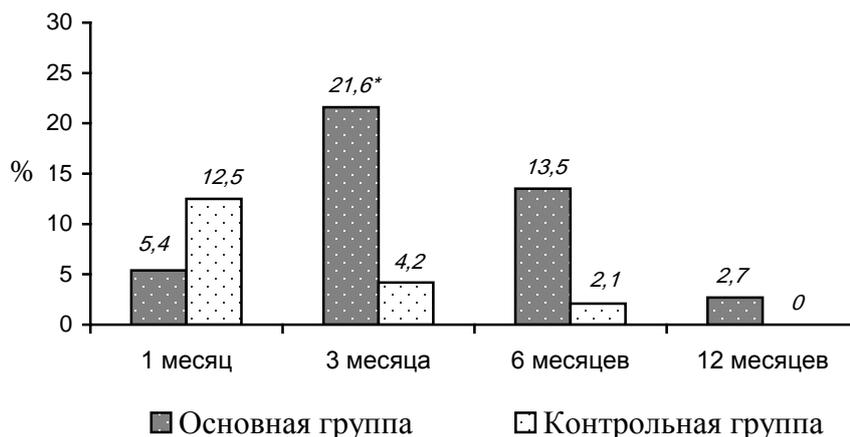


Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 9. Динамика гипертензионно-гидроцефального синдрома среди детей основной и контрольной групп на первом году жизни

Несмотря на преобладание ГГС у младенцев из контрольной группы, признаки повышенной нервно-рефлекторной возбудимости с 3-х месяцев жизни чаще выявлялись среди детей, рожденных от женщин с предрасположенностью к тромбофилии (рисунок 10).

По данным нашего исследования, к году жизни дети с отягощенным семейным тромбофильным анамнезом чаще имели отклонения в неврологическом статусе. Так, среди данной группы пациентов с достоверной разницей преобладали задержка статико-моторного и психо-предречевого развития. У трех детей имелся судорожный синдром на фоне тяжелого органического поражения ЦНС.

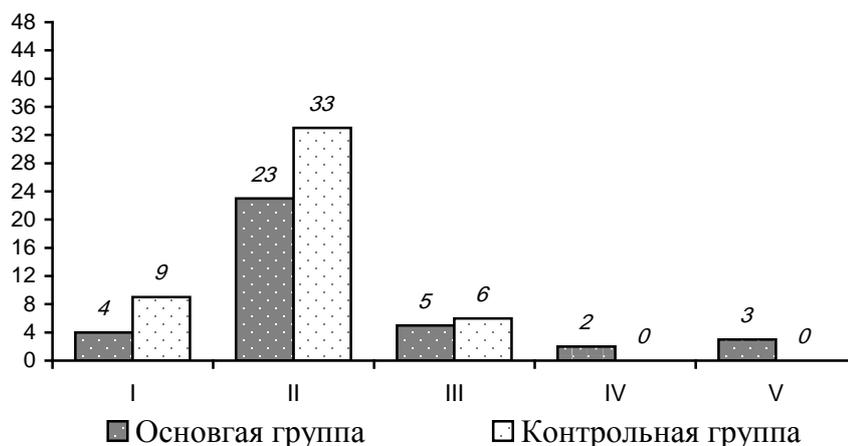


Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 10. Динамика синдрома повышенной нервно-рефлекторной возбудимости среди детей основной и контрольной групп на первом году жизни

Анализ распределения детей по группам здоровья к первому году жизни выявил следующее (рисунок 11). 10,8% представителей основной и 18,8% контрольной группы были причислены к группе здоровья I. К категории «здоров», но с наличием факторов риска в анамнезе относились до двух третей младенцев включенных в исследование (62,2% и 68,8%, соответственно;  $p=0,31$ ). Наличие какой-либо хронической патологии в стадии компенсации и/или функциональные отклонения патологически измененной системы или органа без клинических проявлений, определяющие, принадлежность пациентов к III группе здоровья, зафиксировано у пяти (13,5%) младенцев, рожденных от женщин с ОТА и шести (12,5%) – без отягощенного семейного тромбофильного анамнеза ( $p=0,55$ ). Нами установлено, что практически каждый седьмой ребенок основной группы (13,5%) имел IV ( $n = 2$ ) или V ( $n = 3$ ) группу здоровья ( $p=0,01$ ). Так, у пяти детей основной группы, к году жизни, была установлена инвалидность. Наличие инвалидности определялось тяжелым органическим поражением ЦНС ( $n = 3$ ), врожденным пороком сердца ( $n = 1$ ),

ранней манифестацией ювенильного артрита коленного сустава с тяжелым течением ( $n = 1$ ).



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 11. Распределения детей по группам здоровья к первому году жизни

Важной оценочной характеристикой состояния здоровья детей на первом году жизни для нас являлась реализация протромботической готовности среди детей основной группы. За время наблюдения зафиксировано единственное тромботическое сосудистое событие. К трем месяцам жизни у ребенка, рожденного от женщины с предрасположенностью к тромбофилии, был диагностирован тромбоз венечного синуса, определивший ишемизацию участков коры головного мозга.

Таким образом, факторы риска и наследственная предрасположенность к тромбофилии среди катamnестически наблюдаемых детей основной группы не имели характерной фенотипической реализации, но, как мы полагаем, проявились на уровне функционального дисбаланса, срывах адаптационных процессов и напряжения основных физиологических систем организма. Не исключено, что воздействие других стрессовых факторов в будущем может спровоцировать возникновение тромботических сосудистых катастроф.

Резюме.

Матери детей из основной и контрольной группы были сопоставимы по возрасту и экстрагенитальной патологии. Вместе с тем, согласно критериям включения в когорту, у женщин установлены различия по отягощенности акушерского и тромботического анамнезов. Так, женщины с предрасположенностью к тромбофилии достоверно чаще имели антенатальную гибель плода, регрессы и выкидыши на разных сроках гестации. Тромботический анамнез был отягощен у каждой пятой пациентки основной группы. Указания на наличие тромботических осложнений среди кровных родственников в три раза чаще определялись у матерей с предрасположенностью к тромбофилии. Признаки мезенхимальной дисплазии также чаще выявлялись у женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом. Среди исходов беременностей среди матерей основной группы преобладали оперативное родоразрешение, преждевременные роды, а также рождение детей с аномалиями развития.

Дети от женщин с ОТА достоверно чаще рождались недоношенными, характеризовались меньшим сроком гестации, чаще имели низкую и экстремально низкую массу тела. Данной группе пациентов были свойственны более выраженные процессы дезадаптации, которые и обуславливали степень тяжести состояния с рождения. Для новорожденных основной группы характерными являлись нарушения со стороны респираторной и центральной нервной систем, функциональная напряженность желудочно-кишечного тракта и гепато-биллиарной системы, гемостаза и гемопоэза. Дети, рожденные женщинами с отягощенным тромбофильным анамнезом, в два раза чаще госпитализировались из родильного дома в лечебно-профилактические учреждения неонатального профиля. Потребность в назначении антибактериальной и инфузионной терапии, применении гемотрансфузионных сред в большем проценте случаев, отсроченность вакцинации отличала данную группу младенцев, от контроля.

Динамическое наблюдение позволило установить, что дети контрольной группы достоверно реже имели проблемы в соматической сфере на протяжении первого года жизни. У пациентов основной группы чаще выявлялось сочетание двух–трех проявлений соматической патологии. В течение 12-ти месяцев жизни отмечалась постепенная тенденция к улучшению соматического статуса среди детей в обеих сравниваемых группах. Младенцы от женщин с отягощенностью по тромбофилии чаще имели проблемы, связанные с синдромом срыгиваний, железодефицитной анемией, транзиторной нейтропенией, тромбоцитозом, синдромом раздраженного кишечника, а также кардиопатией.

Параллельно со снижением представленности проявлений соматической патологии, наблюдались положительные изменения в структуре нарушений ЦНС, но неврологическая симптоматика оставалась доминирующей во все декретированные сроки.

## **Глава 4. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА И ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ДЕТЕЙ, РОЖДЕННЫХ ОТ ЖЕНЩИН С МАРКЕРАМИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ**

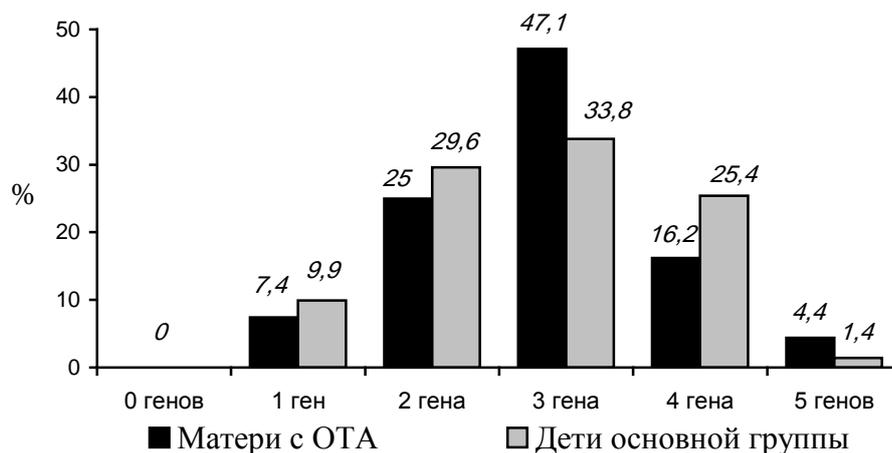
### **4.1. Частота выявления генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбозов и нарушениями фолатного цикла среди матерей групп сравнения**

Для анализа аллельных вариантов генов гемокоагуляции и фолатного цикла в паре «мать-дитя» было обследовано 138 младенцев в возрасте от двух недель до трех месяцев жизни (основная группа ( $n = 71$ ) и контрольная группа ( $n = 67$ )), проживающих на территории Свердловской области. Для сопоставления данных проведена обработка 129 заключений молекулярно-генетических исследований их матерей: 68 женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, 61 – без указаний на отягощенность по тромбозам. Сравнительный анализ осуществлялся по шести точечным нуклеотидным заменам в генах системы свертывания крови и одному полиморфному гену фермента фолатного цикла.

Структура распределения количества исследуемых генетических полиморфизмов среди пациентов групп сопоставления в паре «мать-дитя» представлена на рисунках 12 и 13.

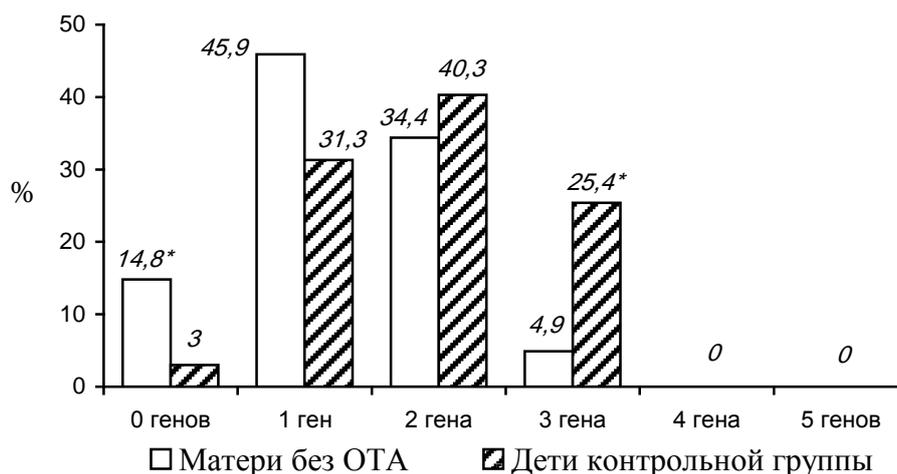
Исходя из критериев включения, закономерно следует, что матери с отягощенным тромбофильным анамнезом достоверно чаще являлись носителями трех и более полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного цикла. У девяти (14,8%) женщин без отягощенного тромбофильного анамнеза не обнаружено ни одной из искомым точечных мутаций. У большинства – выявлялись одна - две исследуемые однонуклеотидные замены (80,3%). Среди женщин с наследственной предрасположенностью к тромбозам каждая пятая (20,6%) являлась обладательницей от четырех до пяти искомым

полиморфизмов. Необходимо отметить, что, по данным литературы, обладатели трех и более тромбофильных полиморфизмов имеют более высокие шансы оказаться в группе риска по реализации мультифакторной патологии [45,174].



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 12. Частота регистрации количества исследуемых генетических полиморфизмов у детей основной группы и их матерей



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 13. Частота регистрации количества исследуемых генетических полиморфизмов у детей контрольной группы и их матерей

Представленные сведения отражают тенденцию более частой встречаемости исследуемых полиморфных генов у детей, рожденных от женщин из групп сравнения.

Анализ частоты встречаемости полиморфных генов предрасположенности к тромбофилии в 1-й и 2-й группах матерей представлен в таблице 15.

Таблица 15. Частота встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла у матерей исследуемых групп детей

Полиморфизм	Аллели	Частота встречаемости		p
		Матери с ОТА (n = 68)	Матери без ОТА (n = 61)	
		абс., (%)	абс., (%)	
F1: FGB -455 (G>A)	<b>GA</b>	<b>32 (47,1)</b>	<b>10 (16,4)</b>	<b>&lt;0,001*</b>
	AA	2 (2,9)	0	0,28
	<b>GA+AA</b>	<b>34 (50,0)</b>	<b>10 (16,4)</b>	<b>&lt;0,001*</b>
F2: 20210 (G>A)	GA	3 (4,4)	0	0,14
	AA	0	0	1,0
	GA+AA	3 (4,4)	0	0,14
F5: 1691 (G>A)	<b>GA</b>	<b>12 (17,6)</b>	<b>0</b>	<b>&lt;0,001*</b>
	AA	0	0	1,0
	<b>GA+AA</b>	<b>12 (17,6)</b>	<b>0</b>	<b>&lt;0,001*</b>
ITGA2: 807 (C>T)	<b>CT</b>	<b>28 (41,2)</b>	<b>11 (18,0)</b>	<b>0,004*</b>
	TT	9 (13,2)	3 (4,9)	0,09
	<b>CT+TT</b>	<b>37 (54,4)</b>	<b>14 (22,9)</b>	<b>&lt;0,001*</b>
ITGB3: 1565 (T>C)	TC	20 (29,4)	11 (18,0)	0,1
	CC	2 (2,9)	1 (1,6)	0,54
	TC+CC	22 (32,3)	12 (19,6)	0,08
PAI-1: -675 (5G>4G)	5G4G	30 (44,1)	23 (37,7)	0,29
	<b>4G4G</b>	<b>23 (33,8)</b>	<b>5 (8,2)</b>	<b>&lt;0,001*</b>
	<b>5G4G+4G4G</b>	<b>53 (77,9)</b>	<b>28 (45,9)</b>	<b>&lt;0,001*</b>
MTHFR 677 (C>T)	<b>CT</b>	<b>30 (44,1)</b>	<b>16 (26,2)</b>	<b>0,03*</b>
	TT	5 (7,4)	1 (1,6)	0,13
	<b>CT+TT</b>	<b>35 (51,5)</b>	<b>17 (27,8)</b>	<b>0,005*</b>

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

По данным нашего исследования, частота наследственных дефектов системы гемостаза была достоверно выше у женщин основной группы по следующим генам: фибриноген FGB ( $p < 0,001$ ), FV Лейден ( $p < 0,001$ ), ингибитор активатора плазминогена PAI-1 ( $p < 0,001$ ) и тромбоцитарный рецептор к коллагену ITGA2 ( $p < 0,001$ ).

Частота встречаемости генотипа FGB:-455GA у женщин с тромбофильным анамнезом составила 47,1%, что в три раза больше частоты выявления среди пациенток контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Распространенность дефекта в гене FV Лейден у матерей основной группы в целом составила 17,6%, что соответствует частоте встречаемости данной мутации у пациентов с тромбоэмболическими осложнениями [114].

Несмотря на отсутствие статистически значимого различия между сравниваемыми группами в гене протромбина FII, у женщин контрольной группы данная точечная мутация не была диагностирована, в отличие от трех пациенток основной группы ( $p = 0,14$ ). Гетерозиготный генотип полиморфизма ITGA2: 807TC встречался достоверно чаще среди женщин с отягощенностью по тромбофилии (41,2% и 18,0%;  $p = 0,004$ ). Мы не выявили статистически значимых различий в отношении частоты регистрации полиморфизма гена тромбоцитарного рецептора, осуществляющего взаимодействие с фибриногеном ITGB3: 1565(T>C) среди представительниц сравниваемых групп ( $p = 0,08$ ).

Известно, что гены ферментов фолатного цикла относятся к генам, определяющим состояние сосудистой стенки. Полиморфизмы генов фолатного цикла влияют на активность ферментов, обеспечивающих метаболизм фолиевой кислоты. Фенотипическим маркером реализации носительства генов ферментов фолатного цикла является уровень гомоцистеина в плазме крови. Одним из наиболее прогностически неблагоприятных полиморфизмов ферментов фолатного цикла считается нуклеотидная замена в гене фермента MTHFR в положении 677, вследствие чего возрастает риск гипергомоцистеинемии.

Частота мутации гена MTHFR 677C>T среди обследованных женщин 1-ой и 2-ой групп составила 52,1% и 32,8%, соответственно ( $p=0,02$ ). Генотип 677CT был обнаружен у 30 (44,1%) женщин с предрасположенностью к тромбофилии и у 16 (26,2%) – из группы контроля ( $p=0,03$ ). Гомозиготный вариант полиморфного варианта гена MTHFR 677TT чаще выявлялся среди матерей основной группы, статистически значимых различий не достигнуто. Концентрация гомоцистеина у обследованных женщин не определялась. Носительницам мутации MTHFR 677C>T, скрининг на содержание гомоцистеина в плазме крови, а также мониторинг его уровня в динамике может быть рекомендован.

Таким образом, особенностью матерей с отягощенностью по тромбофилии явилось наличие мультигенного носительства полиморфных генов системы гемостаза и фолатного цикла. Очевидным было и преобладание сочетаний гетерозиготных форм исследуемых генов. Комбинации из 3-х и более нуклеотидных замен в генах, ответственных за гемокоагуляцию и состояние сосудистой стенки, имели место у женщин с отягощенным акушерским и тромботическим анамнезами. Подобные сочетания, даже без представленности мутаций в генах FII и FV, по нашему мнению, могут объяснять ряд фенотипически реализованных патологических состояний (акушерской и соматической патологии, описанной выше) у женщин основной группы. Врачам-перинатологам следует принимать во внимание данные о дефектах в генах, контролирующих различные звенья сложной системы свертывания крови и фолатного цикла, поскольку это может быть основой для установления факта тромбофилии и предупреждения заболеваний, формирующихся на фоне данного состояния.

## 4.2. Сравнительная характеристика представленности изученных функциональных генотипов у исследуемых групп детей

Анализируя данные по новорожденным, мы установили частоту носительства аллельных вариантов генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии и нарушениями фолатного цикла у обследованных детей из групп сопоставления (таблица 16).

Таблица 16. Частота встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла у обследованных детей из групп сопоставления

Полиморфизм	Аллели	Частота встречаемости		p
		Основная группа (n = 71)	Контрольная группа (n = 67)	
		абс., (%)	абс., (%)	
F1: FGB -455 (G>A)	<b>GA</b>	<b>24 (33,8)</b>	<b>9 (13,4)</b>	<b>0,004*</b>
	AA	5 (7,1)	1 (1,5)	0,12
	<b>GA+AA</b>	<b>29 (40,9)</b>	<b>10 (14,9)</b>	<b>&lt;0,001*</b>
F2: 20210 (G>A)	GA	4 (5,6)	1 (1,5)	0,2
	AA	0	0	1,0
	GA+AA	4 (5,6)	1 (1,5)	0,2
F5: 1691 (G>A)	<b>GA</b>	<b>6 (8,5)</b>	<b>0</b>	<b>0,02*</b>
	AA	1 (1,4)	0	0,51
	<b>GA+AA</b>	<b>7 (9,9)</b>	<b>0</b>	<b>0,008*</b>
ITGA2: 807 (C>T)	CT	31 (43,7)	28 (41,8)	0,48
	<b>TT</b>	<b>10 (14,1)</b>	<b>1 (1,5)</b>	<b>0,006*</b>
	CT+TT	41 (57,8)	29 (43,3)	0,06
ITGB3: 1565 (T>C)	TC	25 (35,2)	19 (28,4)	0,25
	<b>CC</b>	<b>5 (7,0)</b>	<b>0</b>	<b>0,03*</b>
	TC+CC	30 (42,2)	19 (28,4)	0,06
PAI-1: -675 (5G>4G)	<b>5G4G</b>	<b>29 (40,9)</b>	<b>39 (58,3)</b>	<b>0,03*</b>
	<b>4G4G</b>	<b>23 (32,4)</b>	<b>7 (10,4)</b>	<b>0,002*</b>
	5G4G+4G4G	52 (73,2)	46 (68,7)	0,34
MTHFR 677 (C>T)	CT	28 (39,4)	21 (31,3)	0,21
	<b>TT</b>	<b>9 (12,7)</b>	<b>1 (1,5)</b>	<b>0,01*</b>
	<b>CT+TT</b>	<b>37 (52,1)</b>	<b>22 (32,8)</b>	<b>0,02*</b>

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Так, у каждого третьего пациента основной группы (40,9%) отмечена однонуклеотидная замена в гене фибриногена, что достоверно чаще в сравнении с контролем (14,9%;  $p < 0,001$ ). Установлено статистическое различие по носительству гетерозиготной формы данного полиморфизма (33,8% и 13,4%;  $p = 0,004$ ). Имеются данные, что за счет повышения уровня секреции фибриногена, обусловленного работой полиморфного гена, риск тромботических событий у таких пациентов увеличивается в 2,5 раза [127,161].

Частота мутации 20210G>A гена протромбина в европейской популяции составляет примерно 2-3%, но среди больных с тромбозами достигает 17-20% [98,133]. По результатам нашего исследования, четверо новорожденных основной (5,6%) и один ребенок (1,5%) из контрольной группы являлись носителями полиморфного аллеля гена F2: 20210G>A ( $p = 0,2$ ). У семи младенцев (9,9%), рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, выявлена мутация F5: 1691G>A (один ребенок являлся носителем гомозиготного варианта генотипа 1691AA), среди обследованных детей из контрольной группы данный полиморфизм обнаружен не был ( $p = 0,008$ ).

Отметим, что среди здорового населения европейских стран распространенность носительства лейденской мутации FV в среднем составляет 5,5%. Очень мало носителей данной аномалии в Китае, Японии, среди афроамериканцев, индейцев Мексики. Среди пациентов с тромбозами распространенность составляет 15–20% [188,195]. Мутации генов протромбина и проакцелерина ассоциируются с высоким риском тромбообразования, особенно под влиянием провоцирующих стрессовых факторов или в критические периоды становления организма.

Следует отметить, что одна девочка из основной группы являлась обладателем одновременно двух мутаций факторов свертывания FII и FV в гетерозиготном состоянии. Тромбоэмболических осложнений за время катамнестического наблюдения у нее не выявлено.

Генетический полиморфизм гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов тропных к коллагену (ITGA2) в гомозиготном варианте достоверно чаще

встречался у детей от женщин с отягощенным тромбофильным статусом (14,1% и 1,5%;  $p=0,006$ ). У новорожденных, без тромбофилической отягощенности, гетерозиготный вариант генотипа 807СТ выявлялся практически с одинаковой частотой, что и у младенцев основной группы (41,8% и 43,7%;  $p=0,48$ ).

Частота выявления полиморфизма гена тромбоцитарного рецептора ITGB3 среди детей из основной группы была выше, чем в контроле, но статистической достоверности не получено (42,2% и 28,4%, соответственно;  $p=0,06$ ). Считается, что увеличение плотности коллагеновых и повышение аффинности рецепторов к фибриногену на поверхности тромбоцитов не только активирует их способность к агрегации, но и формирует резистентность к традиционному препарату вторичной профилактики тромбозов – аспирину [163,166].

Обследование выявило, что нуклеотидная замена в гене ингибитора активатора плазминогена PAI-1:-675 5G>4G встречалась с похожей частотой среди пациентов обеих групп (73,2% и 68,7%;  $p=0,34$ ). При этом каждый третий младенец, рожденный от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, достоверно чаще являлся носителем гомозиготного варианта данного полиморфизма (32,4%;  $p=0,002$ ). Интересно, что в группе контроля обладателей гетерозиготного генотипа - 675 5G4G было достоверно больше (58,3%;  $p=0,03$ ). Полиморфизм 4G/5G гена PAI-1 ассоциирован с активностью PAI-1 в крови, при этом аллель 4G связан с более высоким уровнем PAI-1. Данный полиморфизм является фактором риска развития тромбозов, инфаркта миокарда, преэклампсии, гипотрофии плода, мертворождения и т. д. [130,183].

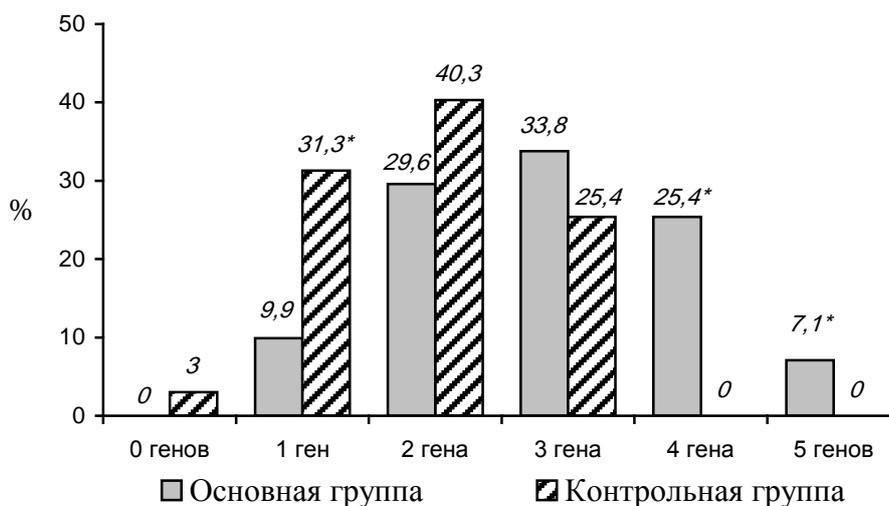
Среди детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, каждый второй новорожденный являлся носителем мутации MTHFR C677T, что достоверно чаще в сравнении с контрольной группой (52,1% и 32,8%;  $p=0,02$ ). Генотип 677ТТ, носительство которого в наибольшей степени связывают с развитием гипергомоцистеинемии, был обнаружен у девяти (12,7%) младенцев первой группы и всего у одного (1,5%) новорожденного из второй ( $p=0,01$ ).

Анализ распределения изученных генных вариантов показал достоверное преобладание полиморфных аллелей FGB: -455A, F5: 1691A, тромбоцитарного рецептора ITGA2: 807T, ингибитора активатора плазминогена 1-го типа, фермента MTHFR677 среди обследованных детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом. Наличие большого количества патологических аллелей может стать базой для реализации как тромботических, так и нетромботических эффектов у данной группы детей. Наиболее клинически значимые мутации FII и FV факторов свертывания в комбинации с другими полиморфизмами требуют мониторинга фенотипической реализации на протяжении всей жизни, особенно в критические этапы становления организма (периоды неонатальной адаптации, вакцинации, ростовых скачков, пубертатных перестроек, беременности и т.д.).

Частота встречаемости полиморфизмов изученных нами генов среди обследованных пациентов основной группы оказалась выше популяционных данных, представленных в литературе. С другой стороны, следует понимать, что в зависимости от территориальной принадлежности частотные характеристики могут различаться, поэтому сравнивать полученные результаты с международными данными сложно (например, установлено нарастание мутаций фибринолитического звена гемостаза и фолатного цикла по мере приближения к Азиатской части Евразийского континента). В России очень ограничены популяционные сведения по оцениваемым вариантам генов среди детского населения, тем более с учетом географии Уральского региона, расположенного на границе Европы и Азии, они могут отличаться от общероссийских.

### 4.3. Анализ частоты патогенетически значимых ген-генных сочетаний у исследуемых групп детей

Анализируя данные по новорожденным (рисунок 14), было установлено, что пациенты из основной группы являлись обладателями большего количества генетических дефектов системы гемостаза и фолатного цикла ( $2,8 \pm 1,0$ ) в сравнении с контролем ( $1,9 \pm 0,8$ ;  $p < 0,05$ ).



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 14. Частота регистрации количества исследуемых генетических полиморфизмов среди детей групп сопоставления

У детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, достоверно реже встречался один полиморфный аллель (9,9%) по сравнению с контрольной группой (31,3%;  $p = 0,002$ ), реже выявлялось сочетание двух точечных мутаций (29,6% и 40,3%;  $p = 0,13$ , соответственно), но чаще определялись сочетания трех (33,8% против 25,4%;  $p = 0,19$ ), четырех (25,4%;  $p < 0,001$ ) и пяти (7,1%;  $p = 0,03$ ) исследуемых полиморфизмов. Ни один ребенок из контрольной группы не являлся носителем четырех и более генов-кандидатов предрасположенности к развитию тромбофилических состояний. По-видимому, сочетания генетических полиморфизмов, т.е. наличие

мультигенного характера тромбофилии, может рассматриваться в качестве предикторов тромбогенной опасности [12,174].

В ходе исследования мы проанализировали комбинации полиморфизмов генов белковых продуктов, различных по принадлежности и значению в системе гемокоагуляции: плазменных, тромбоцитарных, фибринолитических, а также в сочетании с ферментами фолатного цикла. В настоящее время известно, что в популяции здоровых людей число описанных полиморфизмов, как правило, не превышает двух. В тоже время, количество однонуклеотидных замен не всегда играет решающую роль (за исключением некоторых наиболее тромбоопасных мутаций). Принимая во внимание наличие аддитивного эффекта полиморфных аллелей, следует рассматривать индивидуальные ген-генные сочетания и варианты их фенотипической реализации на биохимическом уровне.

Примером могут служить данные в отношении увеличения риска развития тромбоэмболии легочной артерии у носителей трех и более гомозиготных вариантов аллелей генов системы гемостаза (ОШ=22,2, ДИ=4,2-117,5;  $p<0,001$ ) (из анализа целенаправленно были исключены мутации FII и FV) [74].

Достоверные различия в отношении ген-генных взаимодействий, затрагивающих каких-либо два звена гемокоагуляции или одно звено гемостаза и одно – обмена фолиевой кислоты, установлены по следующим сочетаниям – F1+ITGA2+ITGB3, ITGA2+ITGB3+PAI-1, ITGA2+ITGB3+MTHFR677 (таблица 17).

В основной группе носителями комбинации F1+ITGA2+ITGB3 являлись четыре (5,7%) младенца, комбинации ITGA2+ITGB3+PAI-1 – 11 (15,5%) новорожденных ребенка. Среди детей контрольной группы сочетания аллельных вариантов указанных генов выявлены не были. Комбинация ITGA2+ITGB3+MTHFR677 значительно чаще встречалась у пациентов основной группы (12,7%), против 1,5% среди младенцев без семейной отягощенности по тромбофилии ( $p=0,012$ ).

Таблица 17. Варианты ген-генных сочетаний у обследованных детей  
из групп сопоставления

Варианты сочетаний полиморфизмов	Частота встречаемости		p
	Основная группа (n = 71)	Контрольная группа (n = 67)	
	абс., (%)	абс., (%)	
<b>F1 + ITGA2 + ITGB3</b>	<b>4 (5,7)</b>	<b>0</b>	<b>0,049*</b>
<b>F1 + ITGA2 + PAI-1</b>	<b>12 (16,9)</b>	<b>1 (1,5)</b>	<b>0,002*</b>
F1 + ITGB3 + PAI-1	8 (11,3)	2 (3,0)	0,77
F1 + ITGA2 + MTHFR677	6 (8,5)	2 (3,0)	0,17
<b>F1 + ITGB3 + MTHFR677</b>	<b>8 (11,3)</b>	<b>0</b>	<b>0,005*</b>
F1 + PAI-1 + MTHFR677	11 (15,5)	4 (6,0)	0,08
<b>ITGA2 + ITGB3 + PAI-1</b>	<b>11 (15,5)</b>	<b>0</b>	<b>0,001*</b>
ITGA2 + PAI-1 + MTHFR677	8 (11,3)	8 (11,9)	0,65
<b>ITGB3 + PAI-1 + MTHFR677</b>	<b>15 (21,1)</b>	<b>0</b>	<b>0,0001*</b>
<b>ITGA2 + ITGB3 + MTHFR677</b>	<b>9 (12,7)</b>	<b>1 (1,5)</b>	<b>0,012*</b>

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

У части детей, рожденных от женщин с ОТА, аллельные варианты включали комбинацию полиморфизмов генов плазменного звена, рецепторов мембраны тромбоцитов, фибринолиза и фермента MTHFR. Частота выявления сочетания полиморфизмов F1+ITGA2+PAI-1 у детей основной группы, составила 16,9%, что достоверно чаще, чем в контроле (1,5%; p=0,002). Комбинации полиморфных генов F1+ITGB3+MTHFR677 и ITGB3+PAI-1+MTHFR677 не зафиксированы у представителей контрольной группы, в то время как среди детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, в 21,1% случаев выявлялся триплет ITGB3+PAI-1+MTHFR677 (p<0,001), у каждого десятого – F1+ITGB3+MTHFR677 (p=0,005).

Итак, у детей обеих групп встречались комбинации аллельных вариантов по двум звеньям системы свертывания крови, а в некоторых случаях – и по трем, в сочетании с фолатным циклом и без. Полученные данные свидетельствуют о мультигенной предрасположенности к развитию тромботических событий у носителей исследуемых сочетаний.

#### 4.4. Оценка связи тромботических и нетромботических эффектов полиморфных вариантов генов гемокоагуляции и фолатного цикла с течением адаптационных процессов у детей

С помощью метода расчета отношения шансов мы сопоставили распространенность тромбофильных аллелей указанных генов среди детей основной группы с перенесенными критическими состояниями в периоде неонатальной адаптации (таблица 18).

Таблица 18. Связь носительства протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла с течением неонатального периода у детей основной группы

Исходы и состояния	Полиморфизм	Аллели	ОШ	95% ДИ	p
Недоношенность	<b>F1: FGB -455</b>	<b>G&gt;A</b>	<b>3,3</b>	<b>1,1 – 10,0</b>	<b>0,03*</b>
	F2: G20210A	G>A	3,7	0,4 – 38,8	0,25
	F5: 1691	G>A	-	-	
	ITGA2: 807	C>T	2,0	0,8 – 5,0	0,09
	ITGB3: 1565	T>C	1,6	0,6 -4,0	0,24
	PAI-1: -675	5G>4G	1,2	0,4- 3,0	0,49
	<b>MTHFR 677</b>	<b>C&gt;T</b>	<b>2,4</b>	<b>1,0 – 6,0</b>	<b>0,04*</b>
Перинатальное поражение центральной нервной системы	<b>F1: FGB -455</b>	<b>G&gt;A</b>	<b>3,2</b>	<b>1,2 – 8,9</b>	<b>0,02*</b>
	F2: G20210A	G>A	2,9	0,3 – 30,7	0,33
	<b>ITGA2: 807</b>	<b>C&gt;T</b>	<b>2,7</b>	<b>1,2 – 6,3</b>	<b>0,02*</b>
	ITGB3: 1565	T>C	2,1	0,9 – 5,2	0,07
	PAI-1: -675	5G4G	0,4	0,2 – 1,0	0,04*
	<b>PAI-1: -675</b>	<b>4G4G</b>	<b>3,3</b>	<b>1,1 – 10,3</b>	<b>0,03*</b>
	<b>MTHFR 677</b>	<b>C&gt;T</b>	<b>2,3</b>	<b>1,0 – 5,5</b>	<b>0,04*</b>
Респираторный дистресс синдром	<b>F1: FGB -455</b>	<b>G&gt;A</b>	<b>4,1</b>	<b>1,4 – 12,3</b>	<b>0,01*</b>
	F2: G20210A	G>A	-	-	
	F5: 1691	G>A	3,9	0,3 – 47,5	0,28
	ITGA2: 807	C>T	1,5	0,6 – 3,8	0,24
	<b>ITGB3: 1565</b>	<b>T&gt;C</b>	<b>2,4</b>	<b>0,9 – 6,2</b>	<b>0,05*</b>
	PAI-1: -675	5G>4G	0,9	0,3 – 2,6	0,67
	MTHFR 677	C>T	1,7	0,7 – 4,3	0,18

Гипербилирубинемия	<b>F1: FGB -455</b>	<b>G&gt;A</b>	<b>3,5</b>	<b>1,2 – 10,0</b>	<b>0,01*</b>
	F2: G20210A	G>A	2,9	0,2 – 35,1	0,38
	F5: 1691	G>A	-	-	
	<b>ITGA2: 807</b>	<b>C&gt;T</b>	<b>2,6</b>	<b>1,0 – 6,7</b>	<b>0,04*</b>
	ITGB3: 1565	T>C	1,2	0,5 – 3,3	0,43
	<b>PAI-1: -675</b>	<b>4G4G</b>	<b>12,1</b>	<b>1,4 – 108,7</b>	<b>0,008*</b>
	MTHFR 677	C>T	1,9	0,7 - 4,9	0,13
Проведение ИВЛ	<b>F1: FGB -455</b>	<b>G&gt;A</b>	<b>3,3</b>	<b>1,1 – 10,1</b>	<b>0,03*</b>
	F2: G20210A	G>A	-	-	
	F5: 1691	G>A	-	-	
	ITGA2: 807	C>T	2,0	0,8 – 5,0	0,11
	<b>ITGB3: 1565</b>	<b>T&gt;C</b>	<b>2,6</b>	<b>1,0 – 6,9</b>	<b>0,04*</b>
	PAI-1: -675	5G>4G	1,0	0,4 – 2,9	0,6
	<b>MTHFR 677</b>	<b>C&gt;T</b>	<b>3,8</b>	<b>1,4 – 10,4</b>	<b>0,008*</b>
Потребность в препаратах крови	<b>F1: FGB -455</b>	<b>G&gt;A</b>	<b>4,2</b>	<b>1,3 – 13,4</b>	<b>0,02*</b>
	F2: G20210A	G>A	-	-	
	F5: 1691	G>A	-	-	
	ITGA2: 807	C>T	2,1	0,7 – 6,0	0,12
	ITGB3: 1565	T>C	1,7	0,6 – 5,1	0,22
	PAI-1: -675	5G>4G	1,0	0,3 – 3,0	0,64
	MTHFR 677	C>T	2,3	0,8 – 6,4	0,09

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Было установлено, что носительство полиморфизма фибриногена F1: FGB -455G>A увеличивает риск развития ППЦНС в 3,2 раза (ОШ=3,2 [95%ДИ 1,2-8,9], p=0,02). Различия частот встречаемости нуклеотидной замены в гене Rec ITGA2: 807C>T свидетельствуют о повышении риска развития перинатального поражения головного мозга у детей – носителей данного дефекта в 2,7 раз (ОШ=2,7 [95%ДИ 1,2-6,3], p=0,02). Наличие гомозиготного генотипа 4G4G, очевидно, увеличивает риск развития ППЦНС в 3,3 раза (ОШ=3,3 [95%ДИ 1,1-10,3], p=0,03). Анализ данных распространенности нуклеотидной замены в гене ITGA2: 807C>T указывает на увеличение риска возникновения гипербилирубинемии у детей – носителей данного полиморфизма в 2,6 раз (ОШ=2,6 [95%ДИ 1,0-6,7], p=0,04).

Полиморфный аллель -455А гена фибриногена ассоциируется с повышенным риском гипербилирубинемии (ОШ=3,5 [95%ДИ 1,2-10,0],  $p=0,01$ ). Достоверные отличия установлены в отношении частоты представленности тромбофильных аллелей гена PAI-1:-675 5G>4G у пациентов с патологической желтухой. Носительство гомозиготного генотипа 4G4G увеличивает риск развития заболевания в 12,1 раз (ОШ=12,1 [95%ДИ 1,4-108,7],  $p=0,008$ ).

Полученные данные отражают повышение риска рождения недоношенными, детей с дефектом в гене фибриногена F1: FGB -455G>A (ОШ=3,3 [95%ДИ 1,1-10,0],  $p=0,03$ ). Указанный полиморфизм увеличивает риск потребности применения препаратов крови (ОШ=4,2 [95%ДИ 1,4-13,4],  $p=0,02$ ) и проведении ИВЛ (ОШ=3,3, [95%ДИ 1,1-10,1],  $p=0,03$ ) у новорожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом.

Достоверные отличия установлены в отношении частоты представленности полиморфизма рецептора ITGB3: 1565T>C у пациентов с РДС. Носительство данной точечной мутации увеличивает риск развития заболевания в 2,4 раза (ОШ=2,4 [95%ДИ 0,9-6,2],  $p=0,05$ ) и необходимость применения респираторной поддержки (ОШ=2,6 [95%ДИ 1,0-6,9],  $p=0,04$ ) у детей анализируемой группы.

Анализ генов коагуляционного гемостаза не выявил статистически значимых различий частоты встречаемости аллелей для мутации F5: G1691A и полиморфизма гена протромбина F2: G20210A ни по одной из рассмотренных нозологий.

При изучении распространенности полиморфных вариантов генов фолатной группы зафиксирована достоверная разница влияния мутации MTHFR677 на развитие перинатального поражения ЦНС у новорожденных основной группы (ОШ=2,3 [95%ДИ 1,0-5,0],  $p=0,04$ ). Полиморфизм MTHFR в положении 677 увеличивает риск недоношенности в 2,4 раза (ОШ=2,4 [95%ДИ 1,0-6,0],  $p=0,04$ ). Анализ данных встречаемости нуклеотидной замены в гене MTHFR677 свидетельствует о повышении риска потребности в проведении

ИВЛ у детей – носителей данного полиморфизма в 3,8 раз (ОШ=3,8 [95%ДИ 1,4-10,4],  $p=0,008$ ). Таким образом, дети основной группы имели более высокий риск отягощенного течения неонатального периода.

### Резюме

Итак, анализ аллельного полиморфизма генов системы гемостаза и фолатного цикла у детей, рожденных от матерей с ОТА, выявил ряд закономерностей.

Особенностью матерей с отягощенностью по тромбофилии явилось наличие мультигенного носительства полиморфных генов системы гемостаза и фолатного цикла. Очевидным было и преобладание гетерозиготных форм исследуемых генов. Комбинации из 3-х и более нуклеотидных замен в генах, ответственных за гемокоагуляцию и состояние сосудистой стенки, имели место у женщин с отягощенным акушерским и тромботическим анамнезами. Частота наследственных дефектов системы гемостаза была достоверно выше у матерей, чьи дети были включены в основную группу, по генам фибриногена, проакцелерина, ингибитора активатора плазминогена 1-го типа и тромбоцитарного рецептора к коллагену.

Анализ распределения изученных генных вариантов показал высокую частоту встречаемости альтернативных аллелей генов F1: -455G>A, F5: 1691G>A, ITGA2: 807C>T и MTHFR 677C>T в гетерозиготном состоянии, а в гомозиготном – ITGB3: 1565T>C, PAI-1: -675 5G>4G, у детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом.

Было установлено, что младенцы из основной группы являлись обладателями большего количества генетических дефектов системы гемокоагуляции и фолатного цикла. У пациентов обеих групп встречались комбинации аллельных вариантов по двум звеньям системы свертывания крови, а в некоторых случаях – и по трем, в сочетании с фолатным циклом и без. Нами проанализирована структура комбинаций тромбофильных полиморфизмов, имеющих достоверные различия в анализируемых группах.

Полученные сведения указывают на мультигенную предрасположенность к развитию тромботических событий у носителей сочетаний исследуемых генов.

С помощью метода расчета отношения шансов мы сопоставили распространенность тромбофильных аллелей указанных генов среди детей основной группы с перенесенными критическими состояниями в периоде неонатальной адаптации. Были получены данные о повышении шансов в отношении риска родиться недоношенными, развития перинатального поражения ЦНС, респираторного дистресс синдрома, потребности в ИВЛ и препаратах крови, возникновения гипербилирубинемии у новорожденных от матерей с ОТА.

Таким образом, дети, рожденные от женщин с наследственной тромбофилией, являясь «коллектором» полиморфных сочетаний, должны быть отнесены в группу риска по отягощенному течению неонатального периода и последующих адаптационных процессов. Врачам различных специальностей следует принимать во внимание данные о дефектах в генах, контролирующих различные звенья сложной системы свертывания крови и фолатного цикла, поскольку это может быть основой для установления факта тромбофилии и организации своевременных мероприятий, направленных на профилактирование заболеваний, формирующихся на фоне данного состояния.

#### **4.5. Сравнительная характеристика частоты встречаемости генетических полиморфизмов, ассоциированных с развитием тромбофилии и нарушениями фолатного цикла среди детей с ишемическим инсультом в анамнезе**

Для решения поставленной задачи были изучены 35 выписных эпикризов из родильных домов и/или лечебно-профилактических учреждений неонатального профиля пациентов, перенесших ишемический инсульт с дебютом до трехлетнего возраста, постоянно проживающих на территории

Свердловской области. Эти дети рассматриваются как группа, реализовавшая наследственную предрасположенность.

Средний возраст матерей составил  $27,5 \pm 4,6$  лет, т.е. статистически значимо не отличался от возраста женщин, чьи дети составили основную и контрольную группы. Профессиональных вредностей не выявлено. Отягощенности по туберкулезу, психическим и наследственным заболеваниям не установлено. Данные, характеризующие акушерский и соматический анамнезы, течение беременности и родов представлены в таблицах 19 и 20.

Таблица 19. Особенности акушерского анамнеза, течения настоящей беременности и родов у матерей исследуемых групп детей

Факты из анамнеза	1 группа Матери с ОТА (n = 68)	2 группа Матери без ОТА (n = 61)	3 группа Матери детей с ИИ (n = 35)
	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)
Первая беременность, первые роды	16 (23,5)	29 (47,5)	12 (34,3)
Медицинские аборты	16 (23,5)	10 (16,4)	6 (17,1)
Регрессы и выкидыши на ранних сроках беременности	27 (39,7)*	5 (8,2)	7 (20,0)
Выкидыши на поздних сроках беременности	14 (20,6)*	2 (3,3)	1 (2,9)
Отягощенный гинекологический анамнез	19 (27,9)	13 (21,3)	13 (37,1)
Угроза прерывания беременности	43 (63,2)	21 (34,4)	16 (45,7)
ХФПН	37 (54,4)*	16 (26,2)	11 (31,4)
Анемия смешанного генеза (легкой и средней степени тяжести)	28 (41,2)	9 (14,8)	14 (40,0)#
Преждевременная отслойка плаценты	9 (13,2)	2 (3,3)	1 (2,9)
Родоразрешение путем операции кесарева сечения	34 (50,0)*	18 (29,5)	10 (28,6)
Преждевременное излитие околоплодных вод	12 (17,6)	10 (16,4)	9 (25,7)
Длительность безводного периода более 12 часов	2 (2,9)	5 (8,2)	2 (5,7)

Преждевременные роды	38 (55,9)*	23 (37,7)#	4 (11,4)
Врожденные аномалии у детей	15 (22,1)	4 (6,6)	12 (34,3)#
Задержка внутриутробного роста плода	10 (14,7)	5 (8,2)	3 (8,6)

Примечание: \* - различия достоверны при сравнении 1 и 3 исследуемых групп  
# - различия достоверны при сравнении 2 и 3 исследуемых групп

С учетом выше приведенных сведений, можно резюмировать, что матери детей группы сравнения достоверно реже имели в анамнезе выкидыши на ранних и поздних сроках гестации в сравнении с женщинами с маркерами наследственной тромбофилии ( $p < 0,05$ ). Кроме того, у них реже формировалась фетоплацентарная недостаточность (31,4%;  $p = 0,02$ ), беременность чаще завершалась родоразрешением через естественные родовые пути (71,4%;  $p = 0,03$ ).

Таблица 20. Особенности соматического анамнеза у матерей исследуемых групп детей

Факты из анамнеза	1 группа Матери с ОТА (n = 68)	2 группа Матери без ОТА (n = 61)	3 группа Матери детей с ИИ (n = 35)
	абс., (%)	абс., (%)	абс., (%)
Геморрагический анамнез	9 (13,2)	6 (9,8)	8 (22,9)
Тромботический анамнез	12 (17,7)	0	4 (11,4)#
Отягощенный тромботический анамнез у кровных родственников	15 (22,1)	6 (9,8)	11 (31,4)#
Экстрагенитальная патология	39 (54,9)	29 (47,5)	18 (51,4)
Признаки дисплазии соединительной ткани	20 (29,4)	9 (14,8)	15 (42,9)#

Примечание: \* - различия достоверны при сравнении 1 и 3 исследуемых групп  
# - различия достоверны при сравнении 2 и 3 исследуемых групп

Определены статистически значимые различия и при сравнении с контрольной группой. Так, у женщин, чьи дети перенесли ОНМК, во время беременности достоверно чаще развивалась анемия (легкой и средней степени тяжести) – 40,0% ( $n = 14$ ;  $p=0,006$ ). В структуре соматического статуса установлены значимые отличия в отношении выявления признаков соединительнотканной дисплазии (42,9%;  $p=0,03$ ), по отягощенности тромботического анамнеза, как собственного (11,4%;  $p=0,02$ ), так и среди кровных родственников (31,4%;  $p=0,009$ ).

При анализе полового состава представителей группы сравнения установлено преобладание мальчиков (62,1%), девочки составили 37,9%, соответственно. Большинство детей являлись доношенными (89,2%). Недоношенными родились 10,8% новорожденных (со сроком гестации в диапазоне от 28 до 36 недель), что достоверно реже в сравнении с основной ( $p<0,001$ ) и контрольной группами ( $p=0,005$ ). Кроме того, дети с ИИ в анамнезе, как и младенцы от женщин с ОТА, в большем проценте случаев имели пороки и аномалии развития (34,3%;  $p<0,001$ ).

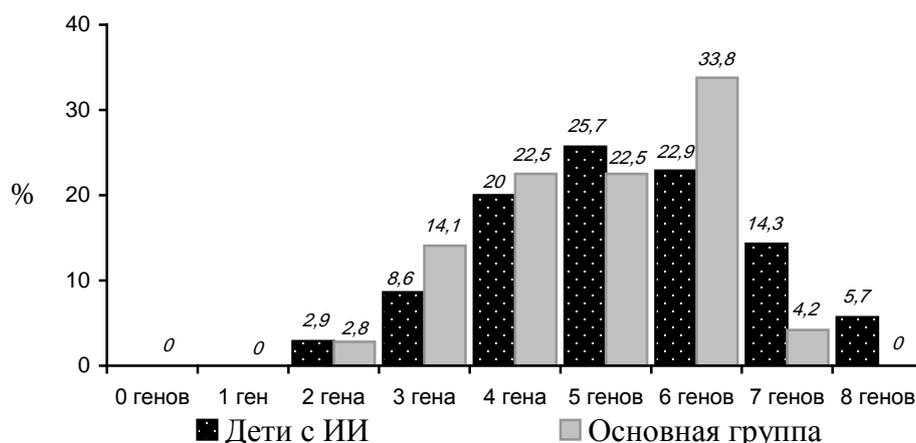
Мы изучили роль полиморфных аллелей пяти генов, кодирующих работу коагуляционного звена системы гемостаза, двух генов тромбоцитарного звена, гена ингибитора активатора плазминогена 1 типа и трех генов, ответственных за функционирование ферментов фолатного цикла у детей, перенесших ишемический инсульт до 3-х летнего возраста ( $n = 35$ ).

Общеизвестно, что наиболее частыми причинами ишемических инсультов детского и молодого возраста являются состояния, связанные с гиперкоагуляцией [14,54]. Продолжается активное накопление данных о связи полиморфных генов прокоагулянтного и протромботического спектра и их комбинаций с возможностью возникновения острого нарушения мозгового кровообращения [33,236].

Многие из клинически значимых генов активно участвуют в поддержании коагуляционного равновесия. Нарушение функционирования

кодируемых ими белков может приводить к качественному или количественному дисбалансу в системе свертывания, запуская процессы внутрисосудистого тромбообразования и ишемизации органов. Поэтому анализ состояния генного полиморфизма, значимого в развитии ишемического инсульта, представляется весьма актуальным.

У всех детей были выявлены те или иные тромбофильные аллели генов системы гемостаза и фолатного цикла. Количество измененных генов варьировало от двух до восьми ( $5,2 \pm 1,1$ ) у детей, перенесших ишемический инсульт. Новорожденные от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом являлись носителями до семи исследуемых полиморфизмов ( $4,8 \pm 1,1$ ;  $p=0,9$ ). Проведенный анализ показал отсутствие достоверных различий по количеству точечных нуклеотидных замен среди пациентов сравниваемых групп (рис. 15).



Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Рисунок 15. Частота регистрации исследуемых генетических полиморфизмов среди детей групп сравнения

Анализ распределения изученных генных вариантов показал высокую частоту встречаемости альтернативных аллелей генов FGB: -455A, ITGA2: 807T, ITGB3: 1565C, PAI-1: -6754G, MTHFR, MTR, MTRR у обследованных больных с острым нарушением мозгового кровоснабжения.

По данным нашего исследования (таблица 21), частота выявления полиморфизма гена фибриногена F1: -455G>A у детей с ИИ (группа сравнения) составила 54,3%; гомозиготное носительство – 5,7%, гетерозиготное – 48,6%.

Таблица 21. Частота встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла среди детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом и детей с ишемическим инсультом

Полиморфизм	Аллели	Частота встречаемости генотипа		ОШ	95% ДИ	p
		Дети с ИИ (n = 35)	Основная группа (n = 71)			
		абс, (%)	абс, (%)			
F1: FGB -455 (G>A)	GA	17 (48,6)	24 (33,8)	1,8	0,8-4,3	0,1
	AA	2 (5,7)	5 (7,1)	0,8	0,1-4,5	0,73
	GA+AA	19 (54,3)	29 (40,9)	1,7	0,8-4,0	0,14
F2: 20210 (G>A)	GA	2 (5,7)	4 (5,6)	1,0	0,2-6,1	0,65
	AA	0	0	-	-	
	GA+AA	2 (5,7)	4 (5,6)	1,0	0,2-6,1	0,65
F5: 1691 (G>A)	GA	1 (2,9)	6 (8,5)	0,3	0,04-2,9	0,95
	AA	0	1 (1,4)	-	-	1,0
	GA+AA	1 (2,9)	7 (9,9)	0,3	0,03-2,4	0,96
F7: 10976 (G>A)	GA	1 (2,9)	3 (4,2)	1,0	0,1-12,0	0,7
	AA	1 (2,9)	0	-	-	0,33
	GA+AA	2 (5,7)	3 (4,2)	1,4	0,2-8,9	0,54
F13: (G>T)	GT	10 (28,6)	10 (14,1)	2,4	0,9-6,7	0,07
	TT	2 (5,7)	3 (4,2)	1,4	0,2-8,9	0,54
	GT+TT	12 (34,3)	13 (18,3)	2,3	0,9-6,0	0,06
ITGA2: 807 (C>T)	CT	17 (48,6)	31 (43,7)	1,2	0,5-2,8	0,39
	<b>TT</b>	<b>13 (37,1)</b>	<b>10 (14,1)</b>	<b>3,6</b>	<b>1,4-9,6</b>	<b>0,008*</b>
	<b>CT+TT</b>	<b>30 (85,7)</b>	<b>41 (57,8)</b>	<b>4,4</b>	<b>1,5-12,9</b>	<b>0,003*</b>
ITGB3: 1565 (T>C)	TC	12 (34,3)	25 (35,2)	1,0	0,4-2,3	0,62
	CC	1 (2,9)	5 (7,0)	0,3	0,03-2,4	0,95
	TC+CC	13 (37,2)	30 (42,2)	0,8	0,3-1,9	0,76
PAI-1: -675 (5G>4G)	5G4G	18 (51,4)	29 (40,9)	1,5	0,7-3,5	0,2
	4G4G	11 (31,4)	23 (32,4)	1,0	0,4-2,3	0,62
	5G4G+4G4G	29 (82,8)	52 (73,2)	1,8	0,6-5,0	0,2

MTHFR 677 (C>T)	CT	14 (40,0)	28 (39,4)	1,0	0,4-2,4	0,56
	TT	3 (8,6)	9 (12,7)	0,6	0,2-2,6	0,83
	CT+TT	17 (48,6)	37 (52,1)	0,9	0,4-2,0	0,71
MTHFR 1298 (A>C)	AC	<b>18 (51,4)</b>	<b>14 (19,7)</b>	<b>4,3</b>	<b>1,8-10,6</b>	<b>0,001*</b>
	CC	2 (5,7)	3 (4,2)	1,4	0,2-9,0	0,54
	AC+CC	<b>20 (57,1)</b>	<b>17 (23,9)</b>	<b>4,2</b>	<b>1,8-10,2</b>	<b>&lt;0,001*</b>
MTR 2756 (A>G)	AG	<b>12 (34,3)</b>	<b>11 (15,5)</b>	<b>2,9</b>	<b>1,1-7,5</b>	<b>0,03*</b>
	GG	2 (5,7)	3 (4,2)	1,4	0,2-8,9	0,54
	AG+GG	<b>14 (40,0)</b>	<b>14 (19,7)</b>	<b>2,7</b>	<b>1,1-6,8</b>	<b>0,03*</b>
MTRR 66 (A>G)	AG	<b>15 (42,9)</b>	<b>17 (23,9)</b>	<b>2,4</b>	<b>1,0-5,7</b>	<b>0,04*</b>
	GG	10 (28,6)	12 (16,9)	2,0	0,7-5,2	0,13
	AG+GG	<b>25 (71,5)</b>	<b>29 (40,8)</b>	<b>3,6</b>	<b>1,5-8,8</b>	<b>0,003*</b>

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Новорожденные из основной группы являлись носителями гомозиготного генотипа -455AA – в 7,1% случаев, гетерозиготного -455GA – в 33,8% случаев ( $p=0,1$  и  $p=0,73$ , соответственно).

У семи детей (9,9%), рожденных от женщин с маркерами наследственной тромбофилии, обнаружена мутация F5 Лейден: 1691G>A (у одного младенца зафиксирован гомозиготный вариант генотипа 1691AA), в анализируемой группе носителем данной мутации являлся один ребенок (2,9%).

Полиморфизм гена протромбина F2: 20210G>A выявлен у четырех младенцев из основной группы и двух – в группе сравнения ( $p=0,65$ ). Носительство аномальных генов протромбина и проакцелерина ассоциируется с высоким риском тромбообразования, особенно под влиянием стрессовых факторов или в критические периоды становления организма.

Аномальный вариант гена проконвертина (FVII) был представлен только гетерозиготным генотипом 10976GA у детей, рожденных от женщин с ОТА (4,2%). Частота носительства аллеля 10976A среди пациентов с ишемическим инсультом составила 5,7% ( $p=0,54$ ).

Нуклеотидная замена в гене F13: 103G>T обнаружена у 13 обследованных пациентов (18,3%) из основной группы, в том числе

гомозиготный генотип 103ТТ определен у 4,1%, а гетерозиготный генотип – у 14,1% новорожденных. Среди детей с ИИ данный полиморфизм определялся в 34,% случаев (гетерозиготный вариант встречался в пять раз чаще гомозиготного – 28,6% и 5,7%, соответственно).

За функциональную активность тромбоцитарного звена гемостаза ответственны гены рецепторов тромбоцитов – интегрин альфа-2 (ITGA2) и интегрин бета-3 (ITBA3). Частота выявления аллеля Т гена ITGA2 составила 57,8% среди представителей основной группы и 85,7% среди пациентов с ОНМК ( $p=0,003$ ). Гомозиготный генотип 807ТТ достоверно чаще встречался у детей, с инсультом (37,1%,  $p=0,008$ ).

Частота выявления полиморфизма гена тромбоцитарного рецептора ITGB3: 1565 среди младенцев основной группы (42,2%) была близка частоте встречаемости аллеля С гена ITGB3 среди детей с нарушением мозгового кровоснабжения (37,2%,  $p=0,76$ ). Статистически значимых различий в отношении гомозиготных и гетерозиготных генотипов установлено не было.

Обследование выявило, что нуклеотидная замена в гене ингибитора активатора плазминогена PAI-1:-675 5G>4G встречалась несколько чаще среди пациентов с ИИ (82,8%,  $p=0,2$ ). Генотип 4G4G обнаружен у каждого третьего ребенка в обеих сравниваемых группах. Генотип 5G4G был унаследован 40,9% детей, рожденных от женщин с маркерами тромбофилии и в половине (51,4%) случаев выявился среди детей с ИИ ( $p=0,2$ ).

Анализ распространенности генов ферментов фолатного цикла выявил следующие закономерности (таблица 20). Распространенность генов-кандидатов предрасположенности к гипергомоцистеинемии (MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C, MTR 2756A>G), по нашим данным, была выше популяционных у пациентов с ИИ, генов MTHFR 677C>T и MTR 2756A>G – в обеих сравниваемых группах.

Мы не установили достоверной разницы в отношении частоты встречаемости мутации гена MTHFR677 среди детей обеих групп. Обращает внимание тот факт, что каждый второй ребенок с ИИ в анамнезе (48,6%)

являлся носителем данного полиморфизма (чаще гетерозиготного генотипа 677CT). Среди младенцев, рожденных от женщин с ОТА, аллельный вариант гена МТНFR677 выявлен у 37 (52,1%) пациентов ( $p=0,71$ ).

Другим вариантом полиморфизма гена МТНFR является замена нуклеотида аденина на цитозин в позиции 1298. Это приводит к замене аминокислотного остатка глутаминовой кислоты на аланина в регуляторном домене фермента. Полиморфизм 1298A>C также характеризуется снижением активности МТНFR, однако, в менее выраженной степени. По нашим данным, до 57,1% детей с ИИ имели нуклеотидную замену в гене фермента МТНFR1298, в том числе полиморфный гомозиготный генотип 1298CC определен в 5,7% случаев, гетерозиготный генотип 1298AC – у каждого второго (51,4%) ребенка. Частота выявления полиморфизма МТНFR1298 среди детей основной группы составила 23,9%, в том числе гомозиготные носители тромбофильного аллеля составили 4,2%, гетерозиготные – 19,7%.

Реже всего определялся полиморфный ген фермента метионинсинтазы (МTR). Вышеуказанный дефект был обнаружен у 19,7% обследованных младенцев основной группы и 40,0% детей с инсультом. Генотип 2756GG встречался с одинаковой частотой в обеих группах ( $p=0,54$ ). Гетерозиготный аллель 2756G практически в два раза чаще выявлялись среди пациентов с ОНМК (34,3%,  $p=0,03$ ).

Ген фермента метионинсинтазы редуктазы (МТRR) картирован на пятой хромосоме, он участвует в восстановлении активности фермента МTR [49]. Дефект гена МТRR66 достоверно чаще выявлялся у детей группы сравнения (71,5%,  $p=0,003$ ). Статистически значимые различия установлены в отношении носительства гетерозиготного генотипа 66AG, так среди младенцев, рожденных от матерей с ОТА указанный генотип выявлен у 23,9%, среди детей с ИИ в 42,9% случаев ( $p=0,04$ ).

Анализируя собственные данные, можно предположить, что представители основной группы находятся в зоне высокого риска возникновения многофакторного заболевания, которое, в частности, может

реализоваться в виде тромботического сосудистого события. В свою очередь, дети, перенесшие ИИ, уже имеют в анамнезе цереброваскулярное заболевание, следовательно, генетически запрограммированный риск был реализован.

Имеются данные о повышении риска тромботических событий в 2,5 раза у пациентов с полиморфизмом гена FGB: -455G>A, функционирование которого, определяет увеличение секреции фибриногена печенью [156,161]. Каждый второй ребенок с ИИ (54,3%) являлся носителем нуклеотидной замены в гене фибриногена, при этом, среди детей основной группы распространенность составила 40,9% ( $p=0,14$ ). Выявленная нами, частота встречаемости указанного генетического дефекта отличается от популяционных данных, представленных в литературе [1]. Полученные результаты можно рассматривать в пользу имеющихся данных о наличии ассоциации аллеля -455G>A гена FGB с риском развития инсульта.

Частота мутации 20210G>A гена протромбина в европейской популяции составляет примерно 2-3%, но среди больных с тромбозами достигает 17-20% [98,133]. Согласно исследованию Kenet G. и соавт., гетерозиготное носительство F2: 20210G>A обнаружено у 6-9% новорожденных с ишемическими инсультами, тогда как в контроле этот показатель не превышал 1% [140]. Среди обследованных нами пациентов, мутация протромбина выявлена у четырех младенцев основной группы (5,6%) и двух – в группе сравнения (5,7%,  $p=0,65$ ). Таким образом, не установив статистически значимых различий между исследуемыми группами, мы получили результаты, свидетельствующие о повышенной распространенности данного полиморфизма среди наших пациентов в сравнении с общей популяцией.

Мутация F5: 1691G>A, обнаруженная среди детей исследуемых групп, чаще встречалась у малышей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом. Отметим, что среди здорового населения европейских стран распространенность носительства лейденской мутации FV колеблется от 1,4% до 13%, составляя в среднем 5,5%. У пациентов с тромбозами распространенность составляет 15–20% [114].

Практический интерес представляет анализ частоты встречаемости точечных мутаций в генах тромбоцитарных рецепторов ITGA2: 807 и ITGB3: 1565. Именно с этими аллелями связывают развитие синдрома «липких тромбоцитов» и резистентности к традиционному препарату вторичной профилактики тромботических катастроф – аспирину.

Однонуклеотидные замены в генах рецепторов тромбоцитов, по данным некоторых авторов, могут являться независимым фактором риска инсульта у пациентов моложе 50 лет [212]. Полученные нами данные свидетельствуют о значительной распространенности полиморфизма ITGA2: 807C>T среди детей с ОНМК. С помощью метода расчета отношения шансов, мы выявили ассоциацию носительства полиморфизма ITGA2: 807C>T с возникновением ИИ (ОШ=4,4 [95%ДИ: 1,5-12,9], p=0,003).

Гены ферментов фолатного цикла относятся к генам, определяющим состояние сосудистой стенки. Полиморфизм генов фолатного цикла определяет снижение активности ферментов, обеспечивающих метаболизм фолиевой кислоты. Одним из наиболее прогностически неблагоприятных полиморфизмов ферментов фолатного цикла считается нуклеотидная замена в гене фермента MTHFR в положении 677, вследствие чего увеличивается риск возникновения гипергомоцистеинемии. По данным ресурса SNP NCBI, частота встречаемости аллеля 677T гена MTHFR в Европейской популяции составляет 24%, аллеля 1298C – 36%, соответственно [75]. По результатам нашего исследования, мутация MTHFR677 встречалась с одинаковой частотой среди исследуемых групп детей, в то время как, дефект гена MTHFR1298 достоверно чаще наблюдался среди младенцев с ОНМК. Мы выявили ассоциацию носительства данной мутации с развитием ИИ (ОШ=4,2 [95%ДИ: 1,8-10,2], p<0,001).

Менее распространенным в Европейской популяции является полиморфизм гена MTR (17%) [75]. Фермент MTR катализирует реметиляцию гомоцистеина в метионин. Полиморфизм A2756G выражается в замене аспарагиновой кислоты на глицин в сайте связывания кофактора – витамина B12 (изменяя вторичную структуру фермента), что сказывается на

каталитической эффективности фермента и, в конечном итоге, ведет к гипергомоцистеинемии. В рамках проведенного исследования, удалось выявить двукратное преобладание данного дефекта среди пациентов с ИИ. Распространенность аллеля 2756G среди новорожденных от матерей с отягощенным тромбофильным анамнезом соответствовала популяционным данным. Анализ показал повышение риска тромбоза церебральных сосудов у носителей полиморфизма MTR 2756A>G (ОШ=2,7 [95%ДИ: 1,1-6,8], p=0,03).

По литературным данным частота гетерозиготных носителей аллеля 66G гена MTRR составляет около 45–50%, гомозиготных – 25% [49,185]. Таким образом, данная нуклеотидная замена в гене фермента метионинсинтазы редуктазы среди обследованных нами пациентов встречалась с популяционной частотой. Несмотря на это, у пациентов с точечной мутацией MTRR 66A>G шансы возникновения ишемического инсульта оказались в 3,6 раз выше в сравнении с основной группой детей (ОШ=3,6 [95%ДИ: 1,5-8,8], p=0,003).

Частоты аллелей указанных генов в группе детей, перенесших ишемический инсульт, достоверно отличались от частоты распространенности промоторных аллелей исследуемых генов в группе контроля (таблица 22).

Различия частот встречаемости полиморфизма фибриногена свидетельствуют о повышении риска развития острого нарушения мозгового кровообращения (ишемического инсульта) у детей – носителей гетерозиготного генотипа в 6,1 раз [95%ДИ: 2,3-16,3] (p<0,001), гомозиготного + гетерозиготного – в 6,8 раз [95%ДИ: 2,6-17,8] (p<0,001).

Изучение генов коагуляционного гемостаза не выявило статистически значимые различия частот встречаемости аллелей для мутации FVL. При анализе частоты распространенности для полиморфизма гена протромбина G20210A также не обнаружено достоверных различий. Достоверные отличия установлены в отношении частоты представленности полиморфных аллелей гена PAI-1:-675 5G>4G у пациентов с ишемическим инсультом в анамнезе. Носительство гомозиготного генотипа 4G4G увеличивает риск развития заболевания в 3,9 раз [95%ДИ: 1,3-11,6] (p=0,01).

Таблица 22. Частота встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла у детей с ишемическим инсультом

Полиморфизм	Аллели	Частота встречаемости генотипа		ОШ	95% ДИ	p
		Дети с ИИ (n = 35)	Контрольная группа (n = 67)			
		абс, (%)	абс, (%)			
F1: FGB -455 (G>A)	<b>GA</b>	<b>17 (48,6)</b>	<b>9 (13,4)</b>	<b>6,1</b>	<b>2,3-16,3</b>	<b>&lt;0,001*</b>
	AA	2 (5,7)	1 (1,5)	4,0	0,3-48,1	0,27
	<b>GA+AA</b>	<b>19 (54,3)</b>	<b>10 (14,9)</b>	<b>6,8</b>	<b>2,6-17,8</b>	<b>&lt;0,001*</b>
F2: 20210 (G>A)	GA	2 (5,7)	1 (1,5)	4,0	0,3-48,1	0,27
	AA	0	0	-	-	
	GA+AA	2 (5,7)	1 (1,5)	4,0	0,3-48,1	0,27
F5: 1691 (G>A)	GA	1 (2,9)	0	-	-	0,34
	AA	0	0	-	-	
	GA+AA	1 (2,9)	0	-	-	0,34
ITGA2: 807 (C>T)	CT	17 (48,6)	28 (41,8)	1,3	0,6-3,0	0,33
	<b>TT</b>	<b>13 (37,1)</b>	<b>1 (1,5)</b>	<b>39</b>	<b>4,6-329,2</b>	<b>&lt;0,001*</b>
	<b>CT+TT</b>	<b>30 (85,7)</b>	<b>29 (43,3)</b>	<b>7,9</b>	<b>2,7-23,3</b>	<b>&lt;0,001*</b>
ITGB3: 1565 (T>C)	TC	12 (34,3)	19 (28,4)	1,3	0,5-3,2	0,35
	CC	1 (2,9)	0	-	-	0,34
	TC+CC	13 (37,2)	19 (28,4)	1,5	0,6-3,6	0,25
PAI-1: -675 (5G>4G)	5G4G	18 (51,4)	39 (58,3)	0,8	0,3-1,8	0,8
	<b>4G4G</b>	<b>11 (31,4)</b>	<b>7 (10,4)</b>	<b>3,9</b>	<b>1,3-11,6</b>	<b>0,01*</b>
	5G4G+4G4G	29 (82,8)	46 (68,7)	2,2	0,8-6,2	0,09
MTHFR 677 (C>T)	CT	14 (40,0)	21 (31,3)	1,5	0,6-3,5	0,26
	TT	3 (8,6)	1 (1,5)	6,2	0,6-64,8	0,16
	CT+TT	17 (48,6)	22 (32,8)	1,9	0,8-4,5	0,09

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Анализ данных распространенности нуклеотидной замены в гене Rec ITGA2 807 (C>T) свидетельствует о повышении риска развития ИИ у детей – носителей данного полиморфизма в 7,9 раз (ОШ=7,9 [95%ДИ: 2,7-23,3], p<0,001), а гомозиготного генотипа 807TT – в 39 раз (ОШ=39 [95%ДИ: 4,6-329,2], p<0,001).

По результатам исследования статистически значимых отличий встречаемости полиморфизма рецептора ITGB3 1565TC зафиксировано не было (ОШ=1,5 [95%ДИ: 0,6-3,6],  $p=0,25$ ). При изучении распространенности полиморфных вариантов генов фолатной группы не установлено достоверной разницы влияния мутации MTHFR677 на развитие ИИ.

Таким образом, анализ распределения изученных генных вариантов показал высокую частоту встречаемости альтернативных аллелей генов FGB: - 455G>A, F2: 20210G>A, ITGA2: 807C>T, PAI-1: -675 5G>4G, MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C, MTRR 66A>G, MTR 2756A>G у больных с ишемическим инсультом, дебютировавшим в раннем возрасте.

Отметим, что распространенность некоторых генов-кандидатов предрасположенности к гипергомоцистеинемии была выше популяционной. В тоже время, наличие таких мутаций не является роковым фактором, неизбежно ведущими к острым тромбозам. Роль каждого полиморфизма, ген-генных сочетаний, варианты комбинаций с мутациями других систем, контролирующих состояние сосудистой стенки и ее атромбогенность, еще нуждается в дальнейшем изучении

#### **4.6. Анализ частоты патогенетически значимых ген-генных сочетаний полиморфных аллелей у детей с ишемическим инсультом в анамнезе**

На данном этапе мы изучили различия в частоте встречаемости комбинаций полиморфных генов среди детей с ИИ в анамнезе и младенцами из основной и контрольной группы. При сопоставлении данных выявлено, что аллельные варианты включали различные комбинации полиморфизмов генов плазменного звена, рецепторов мембраны тромбоцитов, фибринолиза и ферментов фолатного цикла.

Как следует из таблицы 23, сочетание F1+ITGA2+ITGB3 встречалось у каждого пятого младенца, с перенесенным ОНМК в сравнении с 5,6% пациентов основной группы ( $p=0,026$ ).

Комбинации, затрагивающие все три звена системы гемостаза, F1+ITGA2+PAI-1 и F1+ITGA2+ITGB3+PAI-1 встречались в 42,9% и 20,0% случаев, соответственно, среди детей с ишемическим инсультом в анамнезе. Данные комбинации достоверно реже имели дети, рожденные от женщин с ОТА (16,9% и 2,8%,  $p=0,005$  и  $p=0,004$ ).

Таблица 23. Варианты ген-генных сочетаний у детей с ИИ в сравнении с основной группой\*

Варианты сочетаний полиморфизмов	Частота встречаемости		P
	Дети с ИИ (n = 35)	Основная группа (n = 71)	
	абс., (%)	абс., (%)	
F1 + ITGA2 + ITGB3	7 (20,0)	4 (5,6)	0,026
F1 + ITGA2 + PAI-1	15 (42,9)	12 (16,9)	0,005
F1 + ITGA2 + ITGB3 + PAI-1	7 (20,0)	2 (2,8)	0,004
F1 + MTHFR677 + MTHFR1298	7 (20,0)	3 (4,2)	0,01
MTHFR677 + MTR2756 + MTRR66	5 (14,3)	0	0,002

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Носителям сочетания F1+MTHFR677+MTHFR1298 являлся каждый пятый младенец (20,0%) с перенесенным тромбозом церебральных сосудов в сравнении с 4,2% детей основной группы ( $p=0,01$ ).

Частота выявления комбинации полиморфных генов ферментов фолатного цикла MTHFR677+MTR2756+MTRR66 у детей инсультом в анамнезе составила 14,3%, среди пациентов с семейной отягощенностью по тромбофилии данное сочетание не зафиксировано ( $p=0,002$ ).

Анализ данных о частоте встречаемости ген-генных сочетаний среди младенцев с ИИ в анамнезе и детей из контрольной группы представлен в таблице 24. Достоверные различия получены в отношении значительного количества комбинаций полиморфных генов.

Почти у половины (42,9%) детей с ОНМК выявлялось сочетание F1+ITGA2+PAI-1, у трети – F1+ITGA2+MTHFR677 или F1+PAI-1+MTHFR677, каждый четвертый ребенок являлся носителем ITGA2+ITGB3+PAI-1, 37,1%

младенцев данной группы имели комбинацию ITGA2+PAI-1+MTHFR677 и ряд других сочетаний генов, кодирующих плазменно-коагуляционное, тромбоцитарное, фибринолитическое звенья гемостаза и фермент MTHFR.

Таблица 24. Варианты ген-генных сочетаний у детей с ИИ в сравнении с контрольной группой\*

Варианты сочетаний полиморфизмов	Частота встречаемости		p
	Дети с ИИ (n = 35)	Контрольная группа (n = 67)	
	абс., (%)	абс., (%)	
F1 + ITGA2 + ITGB3	7 (20,0)	0	0,0003
F1 + ITGA2 + PAI-1	15 (42,9)	0	<0,0001
F1 + ITGB3 + PAI-1	8 (22,9)	2 (3,0)	0,0018
F1 + ITGA2 + MTHFR677	11 (31,4)	2 (3,0)	0,0001
F1 + ITGB3 + MTHFR677	5 (14,3)	0	0,002
F1 + PAI-1 + MTHFR677	11 (31,4)	4 (6,0)	0,001
ITGA2 + ITGB3 + PAI-1	9 (25,7)	0	<0,0001
ITGA2 + ITGB3 + MTHFR677	6 (17,1)	1 (1,5)	0,004
ITGA2 + PAI-1 + MTHFR677	13 (37,1)	10 (14,9)	0,012

Примечание: \*- различия достоверны при сравнении исследуемых групп

Полученные данные свидетельствует о предрасположенности к функциональной напряженности всех взаимодействующих компонентов системы свертывания крови и сосудистой стенки.

#### Резюме

Проведенный анализ показал отсутствие достоверных различий по количеству точечных нуклеотидных замен среди детей, рожденных от женщин с ОТА и детей, перенесших тромботическую сосудистую катастрофу.

Мы полагаем, что комбинация генетически детерминированных дефектов гемостаза и фолатного цикла, зафиксированная нами у детей с ишемическим инсультом, может считаться основным фактором риска дебюта ОНМК на ранних этапах жизни. Полученные результаты могут свидетельствовать в пользу того, что дети, рожденные от женщин с ОТА, являясь носителями значительного количества аномальных генов гемокоагуляции, также находятся

в группе риска по развитию тромботических событий различной локализации (кардио- и цереброваскулярных, тромбозов вен кишечника, конечностей, почек и пр.).

Поиск протромботических и прокоагуляционных однонуклеотидных замен в указанных генах-кандидатах должен стать неотъемлемой частью алгоритма обследования детей из семей с отягощенным тромбофильным анамнезом и пациентов с ОНМК. Именно младенцы с мультигенными формами тромбофилии нуждаются в клинико-лабораторном мониторинге во время критических периодов роста и развития (неонатальная адаптация, вакцинация, ростовые скачки, пубертатный период, беременность и т.д.), подборе персонализированных мер первичной профилактики острых сосудистых катастроф.

## **Глава 5. РАЗРАБОТКА ЛОКАЛЬНОГО РЕГИСТРА И СХЕМЫ ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ДЕТЬМИ, РОЖДЕННЫМИ ОТ ЖЕНЩИН С ТРОМБОФИЛЬНОЙ ОТЯГОЩЕННОСТЬЮ**

### **5.1. Концепция мониторинга за состоянием здоровья детей на первом году жизни, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом**

Как известно, проблема тромботической патологии волнует медицинскую общественность уже долгое время, но первые успехи в понимании наследственной составляющей этиологии тромбообразования были достигнуты только во второй половине прошлого столетия. Так, в 1956 г. Jordan и соавт. указали на наличие отягощенности семейного анамнеза у пациентов с тромбоэмболическими заболеваниями [149]. Десять лет спустя Egeberg (1965 г.) впервые определил роль дефицита антитромбина в развитии наследственных тромботических заболеваний.

В настоящее время доказано лишь несколько установленных причин наследственной тромбофилии, причем роль этих мутаций показательна для взрослой популяции. До 2010 г. в России не было проведено ни одного крупного популяционного исследования распространенности тромбогенных полиморфизмов ни у взрослых, ни у детей. Отсутствовал единый национальный регистр пациентов, перенесших тромбоз, имеющих врожденные факторы тромбогенного риска [53].

В 2010 г. на рабочем совещании в г. Барнауле был утвержден научно-исследовательский протокол Всероссийского многоцентрового популяционного исследования для определения частоты распространенности наиболее тромбофильно значимых полиморфизмов генов системы гемостаза и генов ферментов фолатного цикла. Данное исследование объединило представителей научной и практической сфер здравоохранения из 11 регионов России [53].

Главным исследовательским центром Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбоземболических осложнений в онтогенезе» является Федеральный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева (г. Москва).

В реализации данного исследования активно принимают участие научные сотрудники и практикующие врачи, работающие на территории Свердловской области и в городе Екатеринбурге. Региональной базой были выбраны ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России и ГБУЗ СО «ОДКБ №1».

В городе Екатеринбурге с 2009 г. в рамках целевой программы «Здоровье маленьких горожан» была разработана и принята к исполнению муниципальная подпрограмма диагностики тромбофильных полиморфизмов с целью улучшения оказания помощи беременным женщинам, снижения материнской и младенческой смертности, инвалидности от акушерской и перинатальной патологии (преэклампсия/ эклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, фетоплацентарная недостаточность, синдром задержки роста плода).

Вышеуказанные факты послужили основой для организации исследования по картированию 12-ти и более протромботических полиморфных вариантов генов системы свертывания крови и фолатного цикла, ассоциированных с развитием тромбофилии среди женского и детского населения Свердловской области. Отсутствие региональных эпидемиологических данных и накопленные собственные материалы определяют потребность в создании локального регистра пациентов с различной степенью риска тромбофильной опасности. Ведение локального регистра делает возможным организацию единого информационного пространства с целью управления потоками пациентов с предрасположенностью к тромбофилии, планирования профилактических,

лечебных и реабилитационных мероприятий на основе анализа региональных статистических данных.

В данной работе мы приводим схему динамического наблюдения на первом году жизни за детьми с соматоневрологической и гематологической патологией, рожденных от женщин с ОТА, с учетом того, что причины тромбозов у детей всегда многофакторны и представляют сочетание постоянных и временных факторов тромбогенного риска [31].

Система мониторинга за состоянием здоровья младенцев от матерей с маркерами генетически детерминированной тромбофилии включает несколько этапов, объединяющих ряд программных мероприятий.

**Первый этап** – выявление пациентов группы риска.

Базисный подход подразумевает повышение медицинской грамотности в отношении тромбогенной опасности, как самих пациентов, так и врачей, оказывающих первичную и специализированную помощь. Внедрение единых стандартов выявления факторов тромбогенного риска обеспечивает накопление информации в отношении распространенности данной патологии на территории Российской Федерации, в том числе и Свердловской области.

Научное обеспечение совершенствования организационных и медицинских технологий диагностики, лечения и профилактики тромбофилических состояний курируется профильными кафедрами ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России посредством проведения междисциплинарного цикла тематического усовершенствования «Генетические и фенотипические аспекты тромбозов и кровотечений в клинической медицине». За время обучения врач-курсанты имеют возможность подробно ознакомиться с содержанием Всероссийского регистра, уточнить особенности сбора анамнеза, получить пример специализированной анкеты для семьи, рассмотреть реалии и перспективы молекулярно-генетической диагностики тромбофилических состояний.

С практической точки зрения в диагностике тромбофилической патологии немаловажной составляющей остаются подробно собранные

анамнестические данные. В анамнезе у больных и их родственников имеются указания на тромбозы различной локализации, инфаркт миокарда, ишемический инсульт, тромбоэмболию легочной артерии, раннее развитие варикозного изменения вен с последующим их воспалением и тромбированием, синдром потери плода, нетипичное или фульминантное течение критических состояний, резистентное к проводимой терапии и т.д. Характерно также появление тромботических проявлений и диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови после травм, операции, во время беременности или в послеродовом периоде, при приеме гормональных контрацептивов и др. [72].

Как следует из собственных данных, приведенных в третьей главе, тромбофильный анамнез женщины ассоциируется с определенной соматической (тромбозы вен верхних или нижних конечностей, тромбофлебит, транзиторные ишемические атаки, артериальная гипертензия, признаки дисплазии соединительной ткани) и акушерско-гинекологической (регрессы и выкидыши на ранних и поздних сроках беременности, антенатальная гибель плода, угроза прерывания беременности, преждевременная отслойка плаценты) патологией. Установление наследственного характера тромбофилии в совокупности с фенотипическим мониторингом состояния системы гемостаза обеспечивает возможность выделения степеней риска тромбоопасности.

На территории города Екатеринбурга расположены три специализированных центра – ГБУЗ СО «ОДКБ №1» Областной перинатальный центр, ФГБУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий», МБУ «ДГБ №10» Городской перинатальный центр, штат и функционал которых, позволяет оказывать квалифицированную помощь женщинам и детям с низкой, средней и высокой степенью тромбофильного риска. Как нам представляется, одним из следующих ключевых организационных мероприятий, направленных на совершенствование качества и доступности медицинской помощи населению г. Екатеринбурга и Свердловской области с риском тромботических осложнений, является создание регионального гемостазиологического центра. В настоящее

время, единой подобной площадки, на базе которой мог бы быть реализован многопрофильный подход к решению вопроса тромбофильной отягощенности, не существует. Отдельным направлением работы центра должно стать ведение пациенток с отягощенным тромбофильным анамнезом, а следовательно, организация мониторинга за состоянием здоровья их детей.

**Второй этап** – определение степени риска тромбофильной опасности среди детей, рожденных от женщин с предрасположенностью к тромбофилии. Возможность реализации тромбофильной опасности обуславливает необходимость ведения данной группы пациентов с учетом их наследственной предрасположенности с обязательной оценкой соматического и неврологического благополучия, контроля функциональной стабильности системы гемостаза и метаболической реактивности. Что касается неонатальной практики, к сожалению, на сегодняшний день не существует единого утвержденного стандарта лечения новорожденных с тромбоэмболической патологией, тем более схем динамического наблюдения, направленных на реализацию первичной и вторичной профилактики среди младенцев с тромбофильной предрасположенностью.

Нами предложен собственный подход к градации степеней риска тромбофильной опасности (низкая, средняя, высокая) среди детей, рожденных от женщин с ОТА, на основе анализа анамнестических, клинических и лабораторных данных в конце периода неонатальной адаптации (рисунок 16). В первую очередь следует уделять внимание факту наличия отягощенного тромбофильного анамнеза у матери и кровных родственников, особенно 1-го и 2-го уровня родства. Напомним о том, что в популяции здоровых людей число тромбофильных полиморфизмов, как правило, не превышает двух (из 12-ти исследованных нами), а обладатели трех и более полиморфизмов генов системы гемостаза и фолатного цикла имеют более высокие шансы оказаться в группе риска по реализации многофакторной патологии [45]. Для некоторых генетических дефектов, таких как мутации F2: 20210(G>A) и F5: 1691(G>A) Лейден, полиморфизм фермента МТНFR 677(C>T)

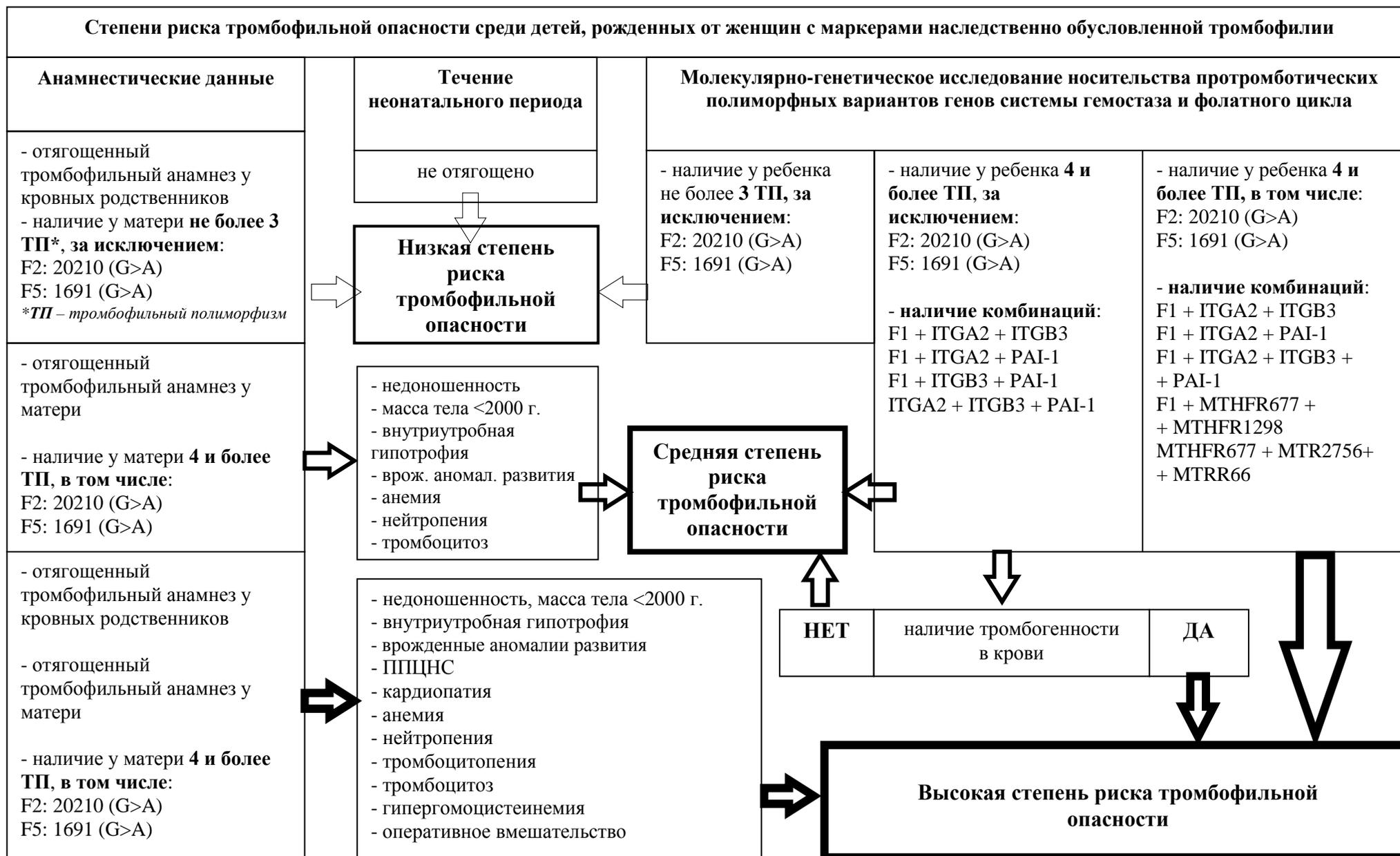


Рис. 16. Клинико-диагностический алгоритм определения степени риска тромбофильной опасности у детей, рожденных от женщин с маркерами генетически детерминированной тромбофилии

накоплено значительное количество доказательных данных в отношении их протромботической направленности в реализации сосудистых катастроф. Принимая во внимание выше приведенную информацию, наиболее отягощенным следует рассматривать анамнез при носительстве четырех и более тромбофильных полиморфизмов в сочетании с мутациями в генах протромбина и проакцелерина.

С учетом высокой информативной значимостью молекулярно-генетической диагностики носительства протромботических полиморфных вариантов генов системы свертывания крови и фолатного цикла, мы рекомендуем проведение данного исследования всем детям, рожденным от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом.

Согласно результатам собственных исследований, дети из семей отягощенностью по тромбофилии, чаще рождались недоношенными и незрелыми, имели проблемы адаптации в неонатальном периоде и, как следствие, данной группе детей требовался больший объем оказания медицинской помощи. В предыдущих главах были описаны отдельные синдромы и состояния в сомато-неврологическом статусе детей, рожденных от женщин с ОТА, достоверно чаще выявляемые на первом году жизни в сравнении с младенцами из контрольной группы.

Важно подчеркнуть, что имеющийся риск тромбоопасности, у большинства курируемых пациентов не реализовался, но, как известно, клинические проявления тромбофилии могут манифестировать в любой из возрастных периодов. Особенности течения неонатальной адаптации определяют процессы роста и формирования организма в последующие возрастные периоды, поэтому его анализ, как нам представляется, может быть важен в оценке тромбофильной опасности.

В рамках разработанного подхода впервые введено понятие – «сигнальный фактор тромбофильной опасности». Сигнальный фактор, представляя собой результаты молекулярно-генетических, биохимических и гемостазиологических методов диагностики, а также ряд временных

дополнительных факторов внешнего воздействия, является, в совокупности с данными семейного анамнеза и особенностями течения неонатального периода, базисной составляющей принципа определения степени тромбофильной опасности.

Данный принцип позволит врачу первичного звена, без применения математических расчетов, соопинтироваться в отношении тромбофильной опасности и обеспечить дальнейшее диспансерное наблюдение данного пациента в условиях специализированного центра, либо самостоятельно в рамках реализации комплекса первичной профилактики.

**Третий этап** – наблюдение детей первого года жизни в зависимости от степени риска тромбофильной опасности.

1. Низкая степень подразумевает стандартное динамическое наблюдение младенцев в амбулаторных условиях на первом году жизни согласно приказу Министерства здравоохранения и социальной защиты РФ от 28.04.2007 №307 и приказу Министерства здравоохранения РФ от 21.12.2012 №1346н (таблица 25).

Таблица 25. Низкая степень риска тромбофильной опасности

Параметры	Сигнальные факторы	Рекомендации
Анамнестические данные	- отягощенный тромбофильный анамнез у кровных родственников - наличие у матери не более 3 ТП*, за исключением: F2: 20210 (G>A), F5: 1691 (G>A)	- Динамическое наблюдение согласно стандарту диспансерного (профилактического) наблюдения ребенка в течение первого года жизни (приказ МЗСЗ РФ от 28.04.2007 №307; приказ МЗ РФ от 21.12.2012 №1346н)
Фенотипические данные	- обычное течение неонатального периода	
Генетические данные	- наличие у ребенка не более 3 ТП*, за исключением: F2: 20210 (G>A), F5: 1691 (G>A)	

Примечание: \* - тромбофильный полиморфизм (ТП)

2. Средняя степень определяет необходимость в динамическом наблюдении врачом первичного звена с привлечением дополнительных

специалистов «узкого» профиля (неонатолог – до 3-х месяцев жизни), гематолог (в 1 и 12 месяцев), иммунолог (в 3, 6 и 12 месяцев)), не включенных в обязательный перечень специалистов, наблюдающих детей на первом году жизни (таблица 26).

Таблица 26. Средняя степень риска тромбофильной опасности

Параметры	Сигнальные факторы	Рекомендации
Анамнестические данные	- отягощенный тромбофильный анамнез у матери - наличие у матери 4 и более ТП*, в том числе: F2: 20210 (G>A), F5: 1691 (G>A)	1. Динамическое наблюдение: - педиатр (ежемесячно) - невролог (в 1, 3, 6, 12 месяцев) - хирург (в 1, 6, 12 месяцев) - офтальмолог ( доношенный – в 1 и 12 месяцев, недоношенный – по индивидуальному графику) - оториноларинголог (в 12 месяцев) - стоматолог (в 12 месяцев) <i>специализированное:</i> - неонатолог (до 3-х месяцев жизни) - гематолог (в 1 и 12 месяцев) - иммунолог (в 3, 6, 12 месяцев)
Фенотипические данные	- недоношенность - масса тела <2000 г. - внутриутробная гипотрофия - врожденные аномалии развития - анемия - нейтропения - тромбоцитоз - отсутствие тромбогенности крови (отсутствие отклонений в показателях коагулограммы и тромбоэластограммы в сторону прокоагулянтной активности, отсутствие отклонений в показателях агрегатограммы в сторону усиления агрегационной и адгезивной активности тромбоцитов)	2. Объем обследования: - коагулограмма + тромбоэластограмма (в 1 месяц жизни, а также перед оперативным вмешательством, на фоне выраженного интоксикационного синдрома или травмы тяжелой степени);
Генетические данные	- наличие у ребенка 4 и более ТП, за исключением: F2: 20210 (G>A), F5: 1691 (G>A) - наличие комбинаций ТП: F1 + ITGA2 + ITGB3 F1 + ITGA2 + PAI-1 F1 + ITGB3 + PAI-1 ITGA2 + ITGB3 + PAI-1	- агрегатограмма (в 1 месяц).

Примечание: \* - тромбофильный полиморфизм (ТП)

Объем дополнительного обследования включает определение коагуляционной активности крови с помощью диагностического комплекса коагулограмма + тромбоэластограмма в возрасте одного месяца жизни ребенка. При необходимости уточнения результатов тромбоэластографии в отношении функциональной активности тромбоцитов рекомендуется контроль данных агрегатограммы.

При отсутствии проявлений тромбогенности в крови ребенку не требуется дополнительная коррекция гемостаза, он может быть вакцинирован согласно региональному или Национальному календарям прививок. В случае выявления данных, свидетельствующих о повышении тромбогенности, комплекс профилактических мероприятий определяется совместно с врачом-гематологом.

3. Дети с высокой степенью риска тромбофильной опасности должны состоять на учете и находиться под контролем специалистов регионального гемостазиологического центра. Сведения о молекулярно-генетическом статусе и степени фенотипической реализации следует систематизировать в рамках создания Областного регистра на основе рекомендаций Всероссийского регистра.

Динамическое наблюдение данной группы детей подразумевает расширенный список специалистов-консультантов на первом году жизни (таблица 27).

С целью контроля коагуляционной активности крови детям – носителям 4-х и более тромбофильных полиморфизмов, с отягощенным течением неонатального периода, рожденным от женщин с маркерами тромбофилии, в конце 1-го месяца жизни рекомендовано проведение диагностического комплекса.

Таблица 27. Высокая степень риска тромбофильной опасности

Параметры	Сигнальные факторы	Рекомендации
Анамнестические данные	<ul style="list-style-type: none"> <li>- отягощенный тромбофильный анамнез у кровных родственников</li> <li>- отягощенный тромбофильный анамнез у матери</li> <li>- наличие у матери 4 и более ТП*, в том числе: F2: 20210 (G&gt;A), F5: 1691 (G&gt;A)</li> </ul>	<p>1. Динамическое наблюдение:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- педиатр (ежемесячно)</li> <li>- невролог (в 1, 3, 6, 12 месяцев)</li> <li>- хирург (в 1, 6, 12 месяцев)</li> <li>- офтальмолог (доношенный – в 1 и 12 месяцев, недоношенный – по индивидуальному графику)</li> </ul>
Фенотипические данные	<ul style="list-style-type: none"> <li>- недоношенность</li> <li>- масса тела &lt;2000 г.</li> <li>- внутриутробная гипотрофия</li> <li>- врожденные аномалии развития</li> <li>- церебральная ишемия</li> <li>- ВЖК</li> <li>- кардиопатия</li> <li>- анемия</li> <li>- нейтропения</li> <li>- тромбоцитопения</li> <li>- тромбоцитоз</li> <li>- гипергомоцистеинемия (физиологические значения до 10 лет <math>\leq 5</math> мкмоль/л)</li> <li>- проявления тромбогенности в крови (отклонения в показателях коагулограммы и тромбоэластограммы в сторону прокоагулянтной активности, отклонения в показателях агрегатограммы в сторону усиления агрегационной и адгезивной активности тромбоцитов)</li> <li>- необходимость применения оперативных методов лечения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- оториноларинголог (в 12 месяцев)</li> <li>- стоматолог (в 12 месяцев)</li> </ul> <p><i>специализированное:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- неонатолог (до 6-ти месяцев жизни)</li> <li>- гематолог (в 1, 3, 6 и 12 месяцев)</li> <li>- иммунолог (в 3, 6 и 12 месяцев)</li> </ul> <p>2. Объем обследования:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- коагулограмма + тромбоэластограмма (в 1, 6 и 12 месяцев жизни; перед оперативным вмешательством; на фоне травмы средней и тяжелой степени; на фоне выраженного интоксикационного синдрома);</li> <li>- агрегатограмма (в 1, 6 и 12 месяцев);</li> <li>- определение концентрации гомотеина в плазме крови (в 1, 6 и 12 месяцев).</li> </ul> <p>3. Временный медотвод от вакцинации до получения данных о состоянии системы гемостаза и/или уровня концентрации гомотеина в плазме крови.</p>

Генетические данные	- наличие у ребенка 4 и более ТП, в том числе: F2: 20210 (G>A), F5: 1691 (G>A) - наличие комбинаций ТП: F1 + ITGA2 + ITGB3 F1 + ITGA2 + PAI-1 F1 + ITGA2 + ITGB3 + PAI-1 F1 + MTHFR677 + MTHFR1298 MTHFR677 + MTR2756 + MTRR66	
---------------------	--	--

Примечание: \* - тромбофильный полиморфизм (ТП)

Комплекс обследования включает проведение набора коагуляционных и агрегационных тестов, а также тромбоэластографию. При отсутствии отклонений в показателях коагулограммы и тромбоэластограммы в сторону прокоагулянтной активности, в агрегатограмме – в сторону усиления агрегационной и адгезивной активности тромбоцитов контроль показателей следует провести в возрасте 12 месяцев.

Гипергомоцистеинемия связана с дефектами в генах ферментов фолатного цикла. Подъем уровня гомоцистеина в крови приводит к поражению сосудистой стенки, оказывает нейротоксическое действие, а также способствует развитию эндотелиальной дисфункции. Следовательно, детям – носителям полиморфных вариантов генов ферментов фолатного цикла необходимо определение концентрации гомоцистеина в плазме крови на 1-ом месяце жизни с последующим контролем в 6 и 12 месяцев.

Первичная профилактика включает временный медотвод от вакцинации до получения данных о состоянии системы гемостаза. Медикаментозная профилактика может быть использована только на основании заключения врача-гематолога.

## 5.2. Клинические примеры

В качестве иллюстрации приводим описание клинических случаев рождения детей от женщин с отягощенностью по тромбофилии.

### Клинический пример №1.

Ребенок Р. родился от II беременности, II преждевременных родов в сроке 33 недели гестации. Возраст матери – 34 года, профессиональных вредностей не имеет, социальный статус – благополучный. Соматическая патология представлена хроническим циститом без эпизодов обострения. Данных за отягощенный семейный тромботический анамнез не выявлено. Первая беременность, протекавшая на фоне угрозы прерывания, гестоза с 24-ой недели, завершилась рождением недоношенного ребенка с массой тела 1640 г. и длиной 41 см. (оперативным способом родоразрешения по поводу отслойки нормально расположенной плаценты на сроке 32-33 недели гестации). Настоящая беременность протекала удовлетворительно. В 13-14 недель на основании анализа анамнестических данных и результатов гемостазиограммы (ортофенантролиновый тест – верхняя граница нормы) женщине рекомендовано проведение молекулярной диагностики носительства протромбогенных полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла. В молекулярно-генетическом статусе обнаружены тромбофильно значимые полиморфизмы высокой степени риска: гетерозиготное носительство мутации Лейден, гетерозиготный вариант полиморфизма VII фактора гемостаза (F7: 10976GA), гомозиготный генотип 4G4G гена ингибитора активатора плазминогена 1-го типа в сочетании с полиморфными вариантами четырех генов ферментов фолатного цикла (MTHFR 677CT, MTHFR 1298AC, MTRR 66AG, MTR 2756AG). С учетом данных о наследственном характере тромбофилии женщине систематически производилась оценка наличия нарушений в комплексе протеина С (Парус-тест). За период динамического наблюдения в связи со снижением показателей Парус-теста с 1,2 до 0,43 (N = более 0,7) с 28-ой недели гестации назначен препарат низкомолекулярного гепарина в профилактической дозировке. На

этом фоне к концу 31-ой недели показатели Парус-теста составили 0,8, т.е. вернулись в пределы физиологических значений. На сроке 30 недель проведено плановое скрининговое ультразвуковое исследование с заключением наличия синдрома задержки роста плода и установлением факта низкого предлежания плаценты.

Масса тела ребенка при рождении составила 1490 г., длина – 39 см., окружность головы – 30 см., окружность груди – 26 см. Тяжесть гипоксии на первой минуте оценена в 5 балла по шкале Апгар, на пятой минуте, после проведения реанимационных мероприятий, оценка по шкале Апгар составила 7 баллов. В транспортном инкубаторе, на респираторной поддержке функции дыхания методом СРАР ребенок переведен в условия отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных. Тяжесть состояния с рождения была обусловлена течением РДС, неврологической симптоматикой на фоне недоношенности и морфо-функциональной незрелости. К третьим суткам жизни новорожденный не нуждался в респираторной терапии, состояние расценивалось как стабильно тяжелое, что определило возможность его перевода на следующий этап в отделение выхаживания недоношенных детей.

Диагноз при поступлении: недоношенность 32-33 недели, очень низкая масса тела; перинатальное поражение ЦНС гипоксически-ишемического генеза, острый период, церебральная ишемия средней степени тяжести, синдром общего угнетения; перенесенный респираторный дистресс синдром недоношенных, дыхательная недостаточность (купируется); гипербилирубинемия смешанного генеза; энтеральная недостаточность, синдром срыгиваний.

Учитывая анамнестические и клинические данные новорожденному проведено молекулярно-генетическая диагностика носительства однонуклеотидных замен в генах системы гемостаза и фолатного цикла, ассоциированных с развитием тромбофилии и гипергомоцистеинемии. По данным исследования выявлено девять протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла: F5: 1691GA ( $p < 0,01$ ),

F7: 10976GA, ITGA2: 807CT, ITGB3: 1565TC, PAI-1: -675 5G4G, MTHFR: 677CT, MTHFR 1298AC, MTR 2756AG, MTRR 66AG.

Ребенок получал стандартные виды медицинской помощи: применялись базовые принципы неонатального ухода, респираторная поддержка методом СРАР (2-ое суток), заместительная терапия препаратом сурфактанта (одна доза), кислородотерапия (до десятых суток жизни), комбинированная антибактериальная терапия (семь дней), инфузионная и фототерапии. За период пребывания в стационаре тромботических сосудистых катастроф не зафиксировано. На 48 сутки жизни ребенок в удовлетворительном состоянии выписан под наблюдение специалистами по месту жительства с диагнозом: недоношенность 33-34 недели, очень низкая масса тела, маловесный к сроку гестации; перинатальное поражение ЦНС гипоксически-ишемического генеза, ранний восстановительный период, церебральная ишемия II степени (средней степени тяжести), псевдокиста сосудистого сплетения слева, синдром общего угнетения, синдром вегето-висцеральных нарушений; перенесенный респираторный дистресс-синдром недоношенных, дыхательная недостаточность (купирована); гипербилирубинемия смешанного генеза (купирована); энтеральная недостаточность, динамическая кишечная непроходимость, синдром срыгиваний (купирована), постгипоксическая нефропатия; группа риска по ретинопатии недоношенных.

Согласно разработанному нами алгоритму ребенок находится в группе высокого тромбофильного риска, что определяет особенности тактики его динамического наблюдения. Дополнительные рекомендации включают поддержание охранительного режима, включение младенца в локальный регистр пациентов группы высокого тромбофильного риска, диспансерное наблюдение врачом-гематологом, контроль состояния системы гемостаза и ферментов фолатного цикла, дополнительные консультации врачом неонатологом в течение полугода, временный медотвод от вакцинации.

## **Клинический пример №2.**

Ребенок С. родился от четвертой беременности, вторых срочных быстрых родов. Беременность протекала на фоне отягощенного акушерского анамнеза (два выкидыша на ранних сроках беременности), нейро-циркуляторной дистонии по гипертоническому типу, отеков беременных, патологической прибавки массы тела. Роды были проведены через естественные родовые пути. Из особенностей установлено преждевременное излитие околоплодных вод. Масса тела при рождении – 3250 г., длина – 51 см., окружность головы – 32 см., окружность груди – 33 см. Оценка по шкале Апгар составила 7/8 баллов. Период адаптации протекал удовлетворительно. Изменений в клинических анализах не выявлено. Из родильного дома выписан домой на четвертые сутки жизни с диагнозом: здоров, короткая уздечка языка.

В дальнейшем ребенок в декретированные сроки наблюдался в поликлинике по месту жительства. Физическое и нервно-психическое развитие соответствовало норме. В возрасте одиннадцати месяцев на относительно благополучном фоне развилась клиника правостороннего гемипареза. Ребенок был госпитализирован в неврологическое отделение Детской городской клинической больницы №9 г. Екатеринбурга. При анализе семейного анамнеза не установлено отягощенности в отношении тромбгеморрагической патологии. При проведении компьютерной томографии головного мозга диагностирован ишемический инсульт в бассейне левой среднемозговой артерии. При обследовании состояния гемостаза по данным тромбоэластографии выявлены гиперкоагуляция, небольшое снижение активности плазминогена. С учетом того, что тромбофилия, являясь фактором риска артериального либо венозного тромбоза, относится к одной из причин острого нарушения мозгового кровообращения, было проведено молекулярное исследование носительства генетических маркеров данного состояния в паре «мать-дитя». По данным анализа у ребенка обнаружено шесть протромботических полиморфных вариантов генов, контролирующих работу различных звеньев системы гемостаза и фолатного цикла: F1: -455GA, ITGA2:

807CT, ITGB3: 1565TC, PAI-1:-675 5G4G, MTHFR 1298AC, MTRR 66GG.

Определение уровня концентрации гомоцистеина в плазме позволило дополнительно установить состояние гипергомоцистеинемии у данного пациента, а, следовательно, подтвердить фенотипическую реализацию наследственной предрасположенности. Мать являлась носителем сложного мультигенного сочетания семи тромбофильно значимых полиморфизмов – F1: -455GA, F7: 10976GA, ITGB3: 1565TC, PAI-1:-675 4G4G, MTHFR 677CT, MTHFR 1298AC, MTRR 66AG.

На фоне проводимой терапии, коррегирующей гемостазиологические нарушения, отмечена положительная клинико-лабораторная динамика, нормализация неврологического статуса. Через 12 дней ребенок был выписан на амбулаторный этап под наблюдение участкового педиатра и невролога с комплексом рекомендаций вторичной профилактики ОНМК.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из приоритетов государственной политики Российской Федерации является сохранение и укрепление здоровья населения на основе формирования здорового образа жизни, повышения доступности и качества медицинской помощи, а также усиления роли мер профилактической направленности. Перспективу развития получила профилактика многофакторной патологии – нозологически разнообразной группы болезней, развитие которых обусловлено взаимодействием множества, как генетических, так и обусловленных средой причин [19].

Молекулярно-генетическая медицина, определяющая возможность диагностики наследственных маркеров развития многофакторных заболеваний, оценки индивидуальной чувствительности к лекарственным препаратам, актуализации информации пациентам при планировании семьи, становится все более востребованной согласно современной концепции развития здравоохранения.

Среди многофакторной патологии нарушения свертывающих и противосвертывающих свойств крови, в том числе тромбофилия, занимают одно из ведущих мест. Носительство полиморфных генов системы гемостаза и фолатного цикла, ассоциированных с формированием тромбофилического статуса, характеризуется повышением риска возникновения тромбозов сосудов, инфарктов и ишемии органов.

Тромбофилия, не являясь какой-либо болезнью, но представляя собой наследуемый или приобретенный клинический фенотип, определяющий восприимчивость к тромбозу в более молодом, чем в общей популяции возрасте, выступает как фактор риска тромбоопасности при различных заболеваниях и патологических состояниях. В некоторой степени ТФ можно рассматривать как неспецифический компонент многих специфических патологических процессов [66].

Манифестация клинических проявлений тромбофилии происходит у людей различных возрастных групп, однако основополагающие причины, закладываются на ранних этапах онтогенеза человека и обусловлены генетическими особенностями [19]. Для наследственной тромбофилии характерно возникновение тромбозов без видимых причин, начиная с раннего детства и у молодых лиц [72].

Актуальность и медико-социальная значимость данной проблематики послужили основанием для выполнения настоящего диссертационного исследования. Необходимо отметить, что данная научно-исследовательская работа является частью междисциплинарного проекта, осуществляемого в рамках грантового исследования при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (номер проекта по классификации РФФИ 13-04-96084; тема: «Изучение роли прокоагулянтных и протромботических полиморфизмов генов в формировании патологии человека на ранних этапах жизни»).

Цель работы заключалась в оценке особенностей состояния здоровья детей на первом году жизни, рожденных от женщин с маркерами генетически детерминированной тромбофилии, разработке клинко-диагностического алгоритма определения степени риска тромбофильной опасности и схемы динамического наблюдения.

Для решения поставленных задач было обследовано 173 ребенка в возрасте от 1-го дня до 36 месяцев жизни, с выделением в работе трех основных этапов.

Оценка состояния здоровья матерей с отягощенным тромбофильным анамнезом, особенности течения беременности и родов позволили установить следующие особенности. Матери детей исследуемых групп были сопоставимы по возрасту и наличию экстрагенитальной патологии. Закономерным является преобладание отягощенности в акушерском и тромботическом анамнезах у женщин с предрасположенностью к тромбофилии. Матери с ОТА достоверно чаще имели регрессы и выкидыши на различных сроках гестации,

антенатальную гибель плода и, как следствие, большее количество беременностей ( $p < 0,05$ ). Обращает на себя внимание факт выявления в большем проценте случаев признаков мезенхимальной дисплазии (29,4%;  $p = 0,04$ ) у женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом. Среди исходов беременностей в основной группе преобладали преждевременные роды, оперативный способ родоразрешения, а также рождение детей с аномалиями развития.

Нами проведен анализ течения неонатального периода у детей исследуемых групп, что позволило установить достоверные различия по многим параметрам. Так, дети от женщин с ОТА рождались недоношенными чаще (53,5%), чем в контрольной группе (34,3%;  $p = 0,02$ ), характеризовались меньшим сроком гестации, чаще имели массу тела при рождении менее 1500 грамм (23,9% против 6,0%;  $p = 0,006$ ). Для новорожденных от женщин с отягощенностью по тромбофилии были свойственны более выраженные процессы дезадаптации, которые определяли степень тяжести состояния с рождения. Только каждый третий ребенок основной группы имел удовлетворительное состояние в первые часы жизни ( $p < 0,001$ ). Детям, рожденным от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, в 42,3% случаев требовалось динамическое наблюдение в условиях отделения реанимации ( $p < 0,001$ ). Для данной группы пациентов характерными являлись нарушения со стороны респираторной и центральной нервной систем, нестабильность гемодинамики, функциональная напряженность желудочно-кишечного тракта, гемостаза и гемопоеза. Продленная искусственная вентиляция легких применялась 23 (32,4%) младенцам из основной группы, что в четыре раза чаще в сравнении с контролем ( $p < 0,001$ ). Дети анализируемой группы более чем в два раза чаще госпитализировались из родильного дома в лечебно-профилактические учреждения неонатального профиля. Потребность в назначении антибактериальной, инфузионной и гемотрансфузионной терапии в большем проценте случаев, отсроченность вакцинации отличала младенцев,

рожденных женщинами с отягощенным тромбофильным анамнезом, от представителей контрольной группы ( $p < 0,001$ ).

Для комплексного анализа периода адаптации у младенцев, рожденных от матерей с ОТА, с помощью метода расчета отношения шансов, мы оценили связь анамнестических и клинических факторов с течением и исходами неонатального периода у данной группы пациентов. Так, на первой минуте жизни младенцы, рожденные от женщин с маркерами наследственной тромбофилии, имели в 2,6 раза выше шансы развития асфиксии, определяемой наличием низкой оценки по шкале Апгар (менее 6 баллов). По данным нашего исследования к пятой минуте – данная тенденция среди детей основной группы сохранялась ОШ=2,4 [95%ДИ: 1,2-4,8]. При анализе развития соматоневрологических синдромов и состояний отмечено достоверно значимое преобладание геморрагических осложнений ОШ=4,3 [95%ДИ: 1,1-16,6], проявлений перинатального поражения ЦНС ишемического генеза ОШ=2,9 [95%ДИ: 1,4-6,2] и геморрагического генеза ОШ=3,3 [95%ДИ: 1,1-9,9] у младенцев, включенных в основную группу, относительно группы детей, рожденных в семьях без тромбофильной отягощенности.

Общеизвестно, что система гемостаза вовлекается во многие физиологические процессы, в том числе и в процессы неонатальной адаптации [16]. Напряжение системы свертывания крови при сопутствующей патологии, особенно на фоне недоношенности и незрелости, ведет к утяжелению критических состояний, и тем самым, к срыву адаптационных процессов. Описанные факты, являясь интегральными критериями качества адаптации новорожденных в раннем и позднем неонатальных периодах, по сути, являются «нетромботическими» эффектами тромбофильной предрасположенности.

Один из этапов научной работы включал оценку частоты встречаемости и степени влияния полиморфизмов генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии и нарушениями фолатного цикла среди детей, включенных в исследование. Для анализа аллельного полиморфизма в паре «мать-дитя» было

обследовано 138 младенцев с последующим сопоставлением данных 129-ти заключений молекулярно-генетических исследований их матерей.

Особенностью женщин с отягощенностью по тромбофилии явилось наличие мультигенного носительства протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла. Очевидным было преобладание сочетаний гетерозиготных форм исследуемых генов. Комбинации из трех и более нуклеотидных замен в генах, ответственных за гемокоагуляцию и состояние сосудистой стенки, имели место у матерей с отягощенным тромбофильным анамнезом.

Новорожденные из основной группы являлись обладателями большего количества генетических дефектов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла в сравнении с контролем. У детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, достоверно реже встречался один полиморфный аллель (9,9%) по сравнению с контрольной группой (31,3%;  $p < 0,05$ ), реже выявлялось сочетание двух точечных мутаций (29,6% против 40,3%, соответственно;  $p > 0,05$ ), но достоверно чаще определялись комбинации четырех и пяти (32,5%;  $p < 0,05$ ) исследуемых полиморфизмов. Ни один ребенок из контрольной группы не являлся носителем четырех и более генов-кандидатов предрасположенности к развитию тромбофилических состояний.

Анализ частоты встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла показал достоверное преобладание полиморфных аллелей FGB: -455A, F5: 1691A, тромбоцитарного рецептора ITGA2: 807T, ингибитора активатора плазминогена 1-го типа, фермента MTHFR 677T среди младенцев основной группы ( $p < 0,05$ ). Принимая во внимание возможность существования аддитивного эффекта полиморфных аллелей, нами впервые установлены достоверные различия в отношении носительства ген-генных сочетаний среди детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, в сравнении с контролем. Среди новорожденных обеих групп были проанализированы комбинации аллельных вариантов по двум и трем звеньям системы гемостаза, в сочетании с

фолатным циклом и без. Анализ данных подтверждает мультигенную предрасположенность к развитию тромботических событий у носителей исследуемых сочетаний. С помощью метода расчета отношения шансов мы сопоставили распространенность полиморфных аллелей исследуемых генов среди пациентов основной группы с перенесенными критическими состояниями в периоде неонатальной адаптации. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что дети, рожденные от женщин с ОТА, носители протромботических полиморфных вариантов генов системы свертывания крови и ферментов фолатного цикла, имеют более высокий риск отягощенного течения неонатального периода.

С целью сравнительного анализа встречаемости полиморфизмов, сопряженных с развитием тромбофилии и нарушениями фолатного цикла, у пациентов с установленным фактом состоявшейся тромботической сосудистой катастрофы была сформирована группа сравнения. Группу сравнения составили 35 детей с ишемическим инсультом в анамнезе с дебютом до трехлетнего возраста, которым также было проведено молекулярно-генетическое исследование. Выбор данной нозологии был обусловлен тем, что тромбофилия относится к одной из причин острого нарушения мозгового кровообращения, являясь фактором риска артериального либо венозного тромбоза. На ее долю в этом отношении приходится от 10% до 50% у пациентов разного возраста. У новорожденных детей с ОНМК тромбофилия определяется в 20% случаев, а у младенцев старше одного месяца жизни – почти в 40% [20,66].

Анализ распределения изученных генных вариантов показал высокую частоту встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов: фибриногена (FGB: G-455A), тромбоцитарного рецептора ITGA2: 807T, тромбоцитарного рецептора ITGB3: 1565C, PAI-1: -6754G – ингибитора активатора плазминогена, метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), метионин синтазы (MTR), метионин синтазы редуктазы (MTRR) у обследованных нами больных с острым нарушением мозгового кровообращения. Представленные данные отражают отсутствие достоверных

различий по количеству точечных нуклеотидных замен в генах системы гемостаза и фолатного цикла (за исключением полиморфизмов ITGA2: 807C>T, MTHFR 1298A>C, MTR 2756A>G, MTRR 66A>G) среди детей, рожденных от женщин с ОТА, и младенцев, перенесших ИИ. При этом встречаемость изученных полиморфизмов среди детей двух выше указанных групп по ряду генов статистически значимо превышала данные по группе контроля ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты могут свидетельствовать в пользу того, что дети из семей с отягощенным тромбофильным анамнезом, являясь носителями значительного количества аномальных генов гемокоагуляции и ферментов фолатного цикла, находятся в группе риска по развитию ишемических и тромботических процессов. В свою очередь, можно полагать, что представленность большого количества генетических дефектов гемостаза и фолатного цикла среди младенцев с ишемическим инсультом в анамнезе, вносит вклад в структуру причин данного заболевания.

Для анализа особенностей состояния здоровья и степени реализации протромботической готовности у детей, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, было проведено катамнестическое наблюдение 85 младенцев в течение первого года жизни.

Установлено, что к месяцу жизни всего 13,5% младенцев, рожденных от женщин с ОТА, не имели проблем в соматической сфере, напротив, каждый третий (31,3%) ребенок из семей без отягощенности по тромбофилии был соматически здоров. Достоверные различия в отношении представленности клинических проявлений соматической патологии с преобладанием у пациентов основной группы фиксировались и в 3-х месячном возрасте. В течение первого года жизни отмечалась постепенная тенденция к улучшению соматического статуса среди представителей обеих сравниваемых групп. Таким образом, только 35,1% детей, рожденных женщинами с отягощенностью по тромбофилии, и 56,3% младенцами из группы контроля в возрасте 12-ти месяцев не имели соматической патологии.

Среди пациентов основной группы доминирующими проблемами являлись железодефицитная анемия легкой и средней степени (35,1% – в 1 месяц жизни), транзиторная нейтропения и тромбоцитоз, чаще выявляемые в периоде с 3-го по 6-ой месяцы жизни, синдром срыгиваний и синдром раздраженного кишечника, обусловленные функциональными расстройствами ЖКТ, общей незрелостью, а также связанные с нарушениями процессов становления микрофлоры кишечника. Кардиопатию, как возможное проявление перенесенной гипоксии, диагностировали у детей из семей с отягощенностью по тромбофилии в первое полугодие жизни достоверно чаще в сравнении с младенцами из контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

При оценке состояния нервной системы у детей на первом году получены следующие результаты. Двигательные нарушения выявлены у большинства обследованных детей из групп сопоставления, и являлись доминирующими в неврологическом статусе на протяжении первого года жизни. Обращает внимание тот факт, что пирамидная недостаточность встречалась несколько чаще среди младенцев из группы контроля, в то время как двигательные нарушения по миотоническому типу достоверно чаще имели новорожденные от матерей с ОГА. Динамика синдрома вегето-висцеральной дисфункции среди младенцев основной и контрольной групп на первом году жизни отражает его преобладание среди детей, рожденных от женщин с отягощенностью по тромбофилии, с закономерным купированием симптоматики в течение года у представителей обеих групп, по мере созревания нервной системы.

По данным нашего исследования, к году жизни у детей с отягощенным семейным тромбофильным анамнезом чаще сохранялись отдельные нарушения в неврологическом статусе. Так, среди данной группы пациентов с достоверной разницей преобладали задержка статико-моторного и психо-предречевого развития ( $p < 0,05$ ). У трех детей имелся судорожный синдром на фоне тяжелого органического поражения ЦНС.

Важной оценочной характеристикой состояния здоровья детей на первом году жизни для нас являлась реализация генетической предрасположенности к

тромбообразованию среди детей основной группы. За период катамнестического наблюдения зафиксировано только одно тромботическое сосудистое событие. Так, на втором месяце жизни у ребенка (мальчик), рожденного от женщины с предрасположенностью к тромбофилии, был диагностирован тромбоз венозного синуса, определивший ишемизацию участков коры головного мозга. Сформировавшийся стойкий неврологический дефицит на фоне перенесенного ОНМК, в последующем, для семьи послужил причиной оформления инвалидности и решения вопросов социальной адаптации ребенка, а для специалистов – разработки мер вторичной профилактики и реабилитации.

Таким образом, факторы риска и наследственная предрасположенность к тромбофилии среди детей основной группы не получили фенотипическую реализацию, но, как мы полагаем, проявились на уровне функционального дисбаланса, срывах адаптационных процессов и напряжения основных физиологических систем организма. Не исключено, что возникновение иных внешних факторов, не имевших воздействия на первом году жизни, в будущем повлияет на формирование протромботических и прокоагулянтных нарушений.

На основании полученных результатов нами обоснована необходимость создания локального регистра детей, рожденных от женщин с маркерами наследственно обусловленной тромбофилии, а также предложена схема динамического наблюдения данной группы пациентов на первом году жизни. Ведение локального регистра делает возможным организацию единого информационного пространства с целью управления потоками пациентов с предрасположенностью к тромбофилии, планирования профилактических, лечебных и реабилитационных мероприятий на основе анализа региональных статистических данных.

Система мониторинга состояния здоровья детей, рожденных от матерей с ОТА включает несколько этапов, объединяющих комплекс диагностических и профилактических мероприятий. Первый этап – ознакомление медицинской общественности с методикой выявления пациентов группы тромбофильного

риска. Второй этап заключается в определении степени риска тромбофильной опасности непосредственно у детей, рожденных от женщин с маркерами наследственно обусловленной тромбофилии. Поиск протромботических и прокоагуляционных однонуклеотидных замен в генах системы гемостаза и фолатного цикла является неотъемлемой частью алгоритма обследования детей из семей с отягощенным тромбофильным анамнезом.

Третий этап определяет особенности курации данной группы младенцев на первом году жизни в зависимости от установленной степени риска. Именно младенцы с мультигенными формами тромбофилии нуждаются в клинко-лабораторном мониторинге во время критических периодов роста и развития (неонатальная адаптация, вакцинация, ростовые скачки, пубертатный период, беременность и т.д.), подборе персонализированных мер первичной профилактики острых сосудистых катастроф.

Разработанный нами алгоритм позволит врачу первичного звена, без применения математических расчетов, соопинтироваться в отношении тромбофильной опасности и обеспечить дальнейшее диспансерное наблюдение данного пациента в условиях специализированного центра, либо самостоятельно в рамках реализации комплекса первичной профилактики.

Результаты исследования, оформленные в виде выводов и практических рекомендаций, внедрены в клиническую практику специалистов МБУ «ДГБ №10» г. Екатеринбурга и ГБУЗ СО «ОДКБ №1», включены в тематику занятий на кафедре педиатрии и неонатологии ФПК и ПП ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России.

## ВЫВОДЫ

1. Женщины с маркерами наследственно обусловленной тромбофилии, в отличие от группы контроля, чаще имели семейную тромботическую отягощенность (22,1%), сопутствующую акушерскую патологию (регрессы и выкидыши на ранних – 39,7% и поздних – 20,6% сроках гестации), осложненное течение беременности и родов: преобладание угрозы прерывания (63,2%), хронической фетоплацентарной недостаточности (54,4%), преждевременных родов (55,9%) и родоразрешения путем операции кесарева сечения (50,0%),  $p < 0,05$ .

2. Новорожденные от матерей с отягощенностью по тромбофилии чаще были недоношенными, с меньшим сроком гестации, с низкой и экстремально низкой массой тела ( $p < 0,05$ ). Течение неонатального периода в данной группе младенцев характеризовалось декомпенсацией дыхательной, сердечно-сосудистой, центральной нервной систем, что определяло тяжесть состояния детей и потребность в проведении ИВЛ (32,4%), назначении инфузионной (64,8%), антибактериальной (63,4%) и гемотрансфузионной терапии (28,2%),  $p < 0,001$ .

3. При динамическом наблюдении детей основной группы в три месяца жизни регистрировались соматические расстройства, среди которых с достоверной разницей, в отличие от контрольной группы, преобладали синдром срыгиваний (10,8%), кардиопатия (18,9%), нейтропения (13,5%) и тромбоцитоз (21,6%),  $p < 0,05$ . К году – только 35,1% детей, рожденных от матерей с отягощенностью по тромбофилии, были соматически здоровы, в сравнении с 56,3% младенцами из группы контроля ( $p < 0,05$ ).

В неврологической сфере в этот период доминировали проявления перинатального поражения ЦНС в виде синдрома двигательных нарушений (81,1% и 79,2%, соответственно) с уменьшением частоты их регистрации в два раза к 12-ти месячному возрасту. В структуре неврологической патологии к одному году жизни у 18,9% детей основной группы отмечалась задержка

статико-моторного и психо-предречевого развития, в то время как в группе контроля – только у 4,2% ( $p<0,05$ ).

4. Анализ частоты встречаемости протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла показал достоверное преобладание полиморфных аллелей генов F1: -455G>A, F5: 1691G>A, ITGA2: 807C>T, ITGB3: 1565T>C, PAI-1: -675 5G>4G, MTHFR 677C>T среди младенцев, рожденных от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом ( $p<0,05$ ). Установлены достоверные различия в отношении представленности ген-генных сочетаний среди детей основной группы, в сравнении с контролем, включающие полиморфные варианты генов плазменного звена гемостаза, рецепторов мембраны тромбоцитов, фибринолиза и фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, что определяет наследственную предрасположенность к развитию тромботических событий у носителей мультигенных комбинаций.

5. Установлена взаимосвязь носительства полиморфизмов генов, ассоциированных с предрасположенностью к тромбофилии, среди пациентов основной группы и перенесенными критическими состояниями в периоде неонатальной адаптации. Определено повышение шансов в отношении риска рождения недоношенными ОШ=3,3 [95%ДИ: 1,1-10,0], развития респираторного дистресс-синдрома ОШ=4,1 [95%ДИ: 1,4-12,3], формирования перинатального поражения ЦНС ОШ=3,2 [95%ДИ: 1,2-8,9], возникновения гипербилирубинемии ОШ=12,1 [95%ДИ: 1,4-108,7], потребности в ИВЛ ОШ=3,8 [95%ДИ: 1,4-10,4] и препаратах крови ОШ=4,2 [95%ДИ: 1,3-13,4] у новорожденных – носителей генетических полиморфизмов системы свертывания крови и фолатного цикла ( $p<0,05$ ).

6. Проведенный молекулярно-генетический анализ показал отсутствие достоверных различий по количеству протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза среди новорожденных от матерей с отягощенным тромбофильным анамнезом ( $4,8\pm 1,1$ ) и детьми, реализовавшими предрасположенность в виде тромботического сосудистого события ( $5,2\pm 1,1$ ;

$p=0,9$ ). Не выявлено отличий в частоте регистрации точечных нуклеотидных замен анализируемых генов системы гемостаза (за исключением полиморфизма ITGA2: 807C>T,  $p<0,01$ ) у представителей обеих групп и достоверное преобладание полиморфных вариантов генов фолатного цикла (MTHFR 1298A>C, MTR 2756A>G, MTRR 66A>G) среди детей с ишемическим инсультом в анамнезе. Полученные данные являются основанием для отнесения младенцев из основной группы к категории пациентов с риском реализации тромбофильной опасности.

7. На основании оценки семейного тромботического анамнеза, особенностей течения неонатального периода, соматического и неврологического благополучия на первом году жизни детей с установленным носительством протромботических полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла разработаны клиничко-диагностический алгоритм определения степени риска тромбофильной опасности (легкой, средней, тяжелой) и схема динамического наблюдения.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Факт выявления отягощенного тромбофильного анамнеза матери (указание на тромбозы различной локализации, инфаркт миокарда, ишемический инсульт, тромбоэмболию легочной артерии, раннее развитие варикозного изменения вен с последующим их воспалением и тромбированием, синдром потери плода, нетипичное или фульминантное течение критических состояний, резистентное к проводимой терапии) следует считать важной характеристикой в оценке состояния здоровья ребенка, во все периоды развития, что является основанием для включения его в группу риска и проведения молекулярно-генетического обследования.

2. Всем младенцам, рожденным от женщин с отягощенным тромбофильным анамнезом, целесообразно проведение молекулярно-генетической диагностики носительства протромботических полиморфных вариантов генов системы свертывания крови и ферментов фолатного цикла.

3. Для врачей-педиатров первичного звена с целью своевременной профилактики тромботических осложнений у данной группы пациентов необходимо использовать алгоритм определения степени риска тромбофильной опасности.

4. Дети от матерей с маркерами наследственной тромбофилии подлежат динамическому наблюдению в течение первого года жизни педиатром и неврологом с привлечением неонатолога, гематолога и иммунолога.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ГГС	гипертензионно-гидроцефальный синдром
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ИВЛ	искусственная вентиляция легких
ИИ	ишемический инсульт
МЗСЗ	министерство здравоохранения и социальной защиты
НМТ	низкая масса тела
НСГ	нейросонография
ОТА	отягощенный тромбофильный анамнез
ОНМК	острое нарушение мозгового кровообращения
ППЦНС	перинатальное поражение центральной нервной системы
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РДС	респираторный дистресс-синдром
СВВД	синдром вегето-висцеральных дисфункций
СДН	синдром двигательных нарушений
СЗРП	синдром задержки роста плода
СПНРВ	синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости
ТФ	тромбофилия
ХФПН	хроническая фетоплацентарная недостаточность
ЦНС	центральная нервная система
ЭНМТ	экстремально низкая масса тела
ЯНЭК	язвенно-некротический энтероколит
APC-R	резистентность к активированному протеину С
Arg	аргинин
FGB	фибриноген
FII	протромбин
FV	проакцелерин
FVa	акцелерин

FVL	Лейден мутация
FVII	проконвертин
FXIII	трансглутаминаза/ фибрин стабилизирующий фактор
Ig	иммуноглобулин
ITGA2	тромбоцитарный рецептор к коллагену/ интегрин альфа-2
ITGB3	тромбоцитарный рецептор к фибриногену/ интегрин бета-3
MTHFR	метилентетрагидрофолатредуктаза
MTR	метионинсинтаза
MTRR	метионинсинтаза редуктаза
PAI-1	ингибитор активатора плазминогена - тип I
SNP	однонуклеотидный полиморфизм

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Баранов, В. С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В. С. Баранова. – Санкт-Петербург : Н–Л, 2009. – 528 с.
2. Барашнев, Ю. И. Перинатальная неврология / Ю. И. Барашнев. – Москва : Триада-Х, 2001. – 640 с.
3. Баркаган, З. С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий / З. С. Баркаган // Проблемы гематологии и переливания крови. – 1996. – № 3. – С. 5-15.
4. Бицадзе, В. О. Принципы профилактики развития дефектов нервной трубки плода / В. О. Бицадзе, А. Д. Макацария // Акушерство и профилактики развития дефектов нервной рубки плода. – 2007. – № 1. – С. 26.
5. Богданова, А. С. Гемостазиологические и иммунологические особенности у детей с врожденными пороками развития и тромбофилиями : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / Богданова Анна Сергеевна ; Читинская государственная медицинская академия – Чита, 2006. – 21 с.
6. Богоявленский, В. Ф. Профилактика и лечение тромбофилии в практике семейного врача / В. Ф. Богоявленский, Р. М. Газизов, О. В. Богоявленская // Казанский медицинский журнал. – 2004. – № 6. – С. 464-468.
7. Бочков, Н. П. Клиническая генетика: учебное пособие / Н. П. Бочков. – 3-е изд., испр. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2004. – 480 с.
8. Вавилин, В. А. Генетический полиморфизм глутатион-S-трансфераз М1 и Т1 у детей, больных бронхиальной астмой / В. А. Вавилин, О. Б. Часовникова, В. В. Ляхович // Вопросы медицинской химии. – 2000. – Т. 46, № 4. – С. 388-397.
9. Вклад наследственных нарушений гемокоагуляции в формирование перинатального поражения ЦНС тяжелой степени / О. П. Ковтун, Н. Н.

- Кузнецов, О. А. Львова [и др.] // Системная интеграция в здравоохранении. – 2012. – № 3. – С. 52-60.
10. Врожденные и приобретенные факторы тромбогенного риска у девушек-подростков – жителей Алтайского края / Л. А. Строзенко, Л. Н. Клименов, Ю. Ф. Лобанов [и др.] // Вестник «Акушерство и гинекология». – 2011. – № 6. – С. 220-225.
  11. Генетические полиморфизмы и волчаночный антикоагулянт как факторы риска дисциркуляторной энцефалопатии в молодом возрасте / А. П. Ельчанинов, С. И. Капустин, О. В. Сироткина [и др.] // Инсульт. – 2002. – № 5. – С. 37-42.
  12. Генетические факторы риска тромбофилии у женщин репродуктивного возраста в Западно-сибирском регионе / Г. А. Цветовская, Е. Д. Чикова, Г. И. Лифшиц [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 10. – С. 72-79.
  13. Гусина, А. А. Генетический полиморфизм гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов как фактор риска как фактор риска тромбообразования / А. А. Гусина // Кардиология в Беларуси. – 2009. – № 3. – С. 17-24.
  14. Дзяк, Л. А. Инсульт у молодых пациентов / Л. А. Дзяк, Е. С. Цуркаленко // Здоровье Украины. – 2009. – № 5/1. – С. 34-39.
  15. Доброхотова, Ю. Э. Тромботические состояния в акушерской практике: пособие / под редакцией Ю. Э. Доброхотовой, А. А. Щеголева, В. Е. Комракова. – Москва : ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 128 с.
  16. Долгов, В. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свирин. – Тверь : Триада, 2005. – 234 с.
  17. Жданова, Л. В. Встречаемость антител к фосфолипидам и генетических тромбофилий у детей без системных заболеваний соединительной ткани / Л. В. Жданова, М. Ю. Щербакова, Т. М. Решетник // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2009. – Т. 2, № 2. – С. 50-54.
  18. Зубаиров, Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д. М. Зубаиров. – Казань : Фэн, 2000. – 364 с.

19. Изменчивость генетических маркеров протромботических нарушений у детей / М. В. Гомелля, С. Е. Большакова, Е. С. Филиппов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 8. – С. 5-7.
20. Ишемический инсульт в детском возрасте / В. П. Зыков, С. А. Васильев, И. Б. Комарова [и др.] // Лечебное дело. – 2009. – № 2. – С. 12 – 20.
21. Калашникова, Е. А. Частоты мутаций в генах V фактора (FVLeiden), протромбина (G20210A) и 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (C677T) у русских / Е. А. Калашникова, С. Н. Кокаровцева // Медицинская генетика. – 2005. – № 8. – С. 27-29.
22. Каримова, Л. К. Факторы риска неонатальных ишемических инсультов / Л. К. Каримова, Д. Д. Гайнетдинова // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – № 1. – С. 48-53.
23. Классификация, молекулярные механизмы и новые методы диагностики тромбофилий / З. С. Баркаган, Л. П. Цывкина, Г. И. Костюченко [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2002. – № 2. – С. 51-55.
24. Клименко, О. В. Проблемы наследственного здоровья детей (при изучении тромбогенного риска у новорожденных Алтайского края) / О. В. Клименко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 1. – С. 286-286.
25. Клиническая характеристика новорожденных от матерей с привычным невынашиванием беременности в анамнезе / П. М. Крюков, А. В. Шабалдин, Л. М. Казакова [и др.] // Педиатрия. – 2005. – № 1. – С. 106-109.
26. Корнюшина, Е. А. Нарушения системы гемостаза, методы их коррекции и исходы беременности у больных с невынашиванием и тромбофилией / Е. А. Корнюшина, М. С. Зайнулина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2008. – № 4. – С. 89-95.
27. Кузнецов, Н. Н. Молекулярно-генетическая диагностика тромбофилических состояний – генетические основы материнской, плодовой и неонатальной патологии / Н. Н. Кузнецов, А. Н. Плаксина, О. П. Ковтун // Системная интеграция в здравоохранении. – 2012. – № 3. – С. 40-51.

28. Лишнеvская, В. Ю. Сегодняшний день антиромбоцитарной терапии / В. Ю. Лишнеvская // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2009. – № 2. – С.23-36.
29. Макацария, А. Д. Тромбозы и тромбозмболии в акушерско-гинекологической клинике: молекулярно-генетические механизмы и стратегия профилактики тромбозмболических осложнений : рук. для врачей / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе, С. В. Акиньшина. – Москва : ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 1064 с.
30. Макацария, А. Д. Тромбофилические состояния в акушерской практике / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе. – Москва : Russo, 2001. – 703 с.
31. Методология формирования группы высокого тромбогенного риска у подростков Алтайского края / Л. А. Строзенко, В. В. Гордеев, Ю. Ф. Лобанов [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013. – № 4. – С. 45-50.
32. Мироманова, Н. А. Особенности иммунитета и гемостаза у детей при некоторых инфекционных заболеваниях, отягощенных и неотягощенных тромбозмболией: автореф. дис. ... канд. мед. наук. 14.00.16 / Мироманова Наталья Анатольевна ; Читинская государственная медицинская академия – Чита, 2006. – 21 с.
33. Момот, А. П. Ранние ишемические инсульты и гематогенные тромбозмболии : методическое пособие для врачей / А. П. Момот // Барнаул : Изд-во Алтайского государственного медицинского университета, 2009. – С. 58.
34. Наследственная тромбозмболия – актуальная проблема современной медицины / С. И. Капустин, М. Н. Блинов, Л. П. Папаян [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2006. – Т. 1, № 1. – С. 183-192.
35. Наследственная тромбозмболия как фактор риска тяжелого течения гемолитико-уремического синдрома у детей / Х. М. Эмирова, А. А. Попо, Н. Л. Козловкая [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2014. – №2. – С. 11-19.

36. Наследственные тромбофилии у детей: современные представления об этиологии и патогенезе / В. Г. Пенелис, М. М. Литвинова, Л. М. Кузенкова [и др.] // Вестник Российской АМН. – 2011. – № 6. – С. 50-57.
37. Новиков, П. В. Состояние и проблемы клинической генетики / П. В. Новиков // Охрана здоровья матери и ребенка : материалы 5-го Российского научного форума. – 2003 Москва : Авиаиздат, 2003 – 484 с.
38. Особенности адаптации новорожденных с циркуляцией антифосфолипидных антител в раннем неонатальном периоде / Ю. Г. Мухина, А. Я. Ильина, Н. И. Кириллова [и др.] // Тезисы докладов. – Москва. – 2008. – С. 354 – 355.
39. Особенности гемостаза новорожденных детей / Э. Ф. Старых, А. П. Колесниченко, Н. Л. Прокопцева [и др.]. – Красноярск : КрасГМА, 2002. – 159 с.
40. Особенности периода ранней адаптации новорожденных от матерей с различными вариантами наследственной тромбофилии / П. В. Шумилов, А. Я. Ильина, А. Л. Мищенко [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2014. – № 1. – С. 10-16.
41. Острые цереброваскулярные катастрофы у больных артериальной гипертензией: молекулярно-генетические аспекты / М. А. Карпенко, Е. Г. Шацкая, В. Н. Солнцев [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2008. – № 1. – С. 33-38.
42. Павличенко, М. В. Особенности течения раннего неонатального периода у детей, рожденных от женщин с тромбофилическими состояниями в периоде беременности / М. В. Павличенко, Н. В. Путилова, Л. А. Пестряева // Уральский медицинский журнал. – 2011. – № 12. – С. 138-144.
43. Первичная тромбопрофилактика у детей Алтайского края на основе выявления и модификации постоянных и временных факторов тромбогенного риска: методические рекомендации для врачей педиатров, клинич. ординаторов и интернов / А. П. Момот, Л. А. Строзенко, Л. П. Цывкина [и др.]. – Барнаул : Изд-во АГМУ, 2013. – 83 с.

44. Петрищев, Н. Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Под. ред. Н.Н. Петрищева. – Санкт-Петербург : Изд-во СПбГМУ, 2003. – 184 с.
45. Плаксина, А.Н. Прогнозирование здоровья и качества жизни детей, рожденных с помощью вспомогательных репродуктивных технологий: автореф. ... дис. канд. мед. Наук : 14.01.08 : защищена 09.06.11 / Плаксина Анна Николаевна ; Уральская государственная медицинская академия.– Екатеринбург, 2011. – 27 с.
46. Плацентарная недостаточность: диагностика и лечение: учебное пособие / О. Н. Аржанова, Н. Г. Кошелева, Т. Г. Ковалева [и др.]. – Санкт-Петербург : Нормед, 2000. – 32 с.
47. Плюшкин, В. А. Перинатальные аспекты тромбофилических состояний у беременных / В. А. Плюшкин, И. О. Маринкин, Т. В. Белоусова // Медицина и образование в Сибири. – 2009. – № 2. – С. 22-25.
48. Плюшкин, В. А. Состояние здоровья и системы гемостаза у детей от матерей с тромбофилией : автореф. ... дис. канд. мед. наук : 14.01.08 ; 14.01.01 : защищена 27.03.12 / Плюшкин Валерий Александрович; Новосибирский государственный медицинский университет. – Новосибирск, 2012. – 18 с.
49. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека / И. Н. Фетисова, А. С. Добролюбов, М. А. Липин [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – Т. X., № 24. – С. 43-47.
50. Полиморфизмы генов системы гемостаза у лиц с отягощенным анамнезом по тромбофилии / М. М. Мироненко, Т. И. Долгих, И. Г. Утянская [и др.] // Тромбоз гемостаз и реология. – 2009. – № 2. – С.60-63.
51. Приходченко, Н. Н. Основы генетики человека / Н. Н. Приходченко, Т. П. Шкурат. – Ростов-на-Дону : Феникс, 1997. – 368 с.
52. Причины ишемических инсультов у детей и подростков / Л. В. Жданова, М. Ю. Щербакова, Г. М. Решетняк [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2011. – № 5. – С. 88-90.

53. Протокол ведения Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе» / А. П. Момот, Е. В. Ройтман, П. В. Свириин [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010. – № 3. – С. 30-78.
54. Протромботические нарушения у детей, перенесших ишемический инсульт / В. П. Зыков, С. А. Васильев, И. Б. Комарова [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С.Корсакова. – 2009. – № 12. – С. 18-24.
55. Путилова, Н. В. Современные принципы ведения пациенток с тромбофилией с позиций доказательной медицины / Н. В. Путилова, Н. В. Башмакова // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 6. – С. 15-20.
56. Пшеничная, К.И. Клинические проявления геморрагического синдрома у детей, перенесших внутричерепные кровоизлияния в периоде новорожденности / К. И. Пшеничная, В. Ю. Чистякова // Педиатрия. – 2007. – Т. 86, № 1. – С.52-56.
57. Пюрбеева, Е. Н. Значимость врожденной тромбофилии в патогенезе внутриутробной задержки развития плода / Е. Н. Пюрбеева, Е. Н. Зайнулина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. LVII, Спецвыпуск. – С. 32.
58. Роль полиморфных вариантов некоторых генов, участвующих в развитии эндотелиальной дисфункции, в формировании гестоза / Е. А. Трифонова, М. Г. Спиридонова, В. А. Степанов [и др.] // Молекулярная медицина – 2009. – № 1. – С. 3-9
59. Сергиенко, В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2000. – 256 с.
60. Сидельникова, В. М. Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему / В. М. Сидельникова // Вестник Российской ассоциации акушеров и гинекологов. – 2005. – № 2. – С. 62.

61. Соболева, Е. В. Гомоцистеинемия в патогенезе ишемической болезни сердца. Плеотропные эффекты статинов / Е. В. Соболева, П. А. Лебедев // Вестник Самарского государственного университета. – 2007. – № 2. – С. 242-255.
62. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности / А. П. Момот, Л. П. Цывкина, И. А. Тараненко [и др.]; под науч. ред. А. П. Момота – Барнаул : Изд. АГМУ, 2011. – 138 с.
63. Спиридонов, М. Г. О роли полиморфных вариантов гена 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний / М. Г. Спиридонов, В. А. Степанов, В. П. Пузырев // Клиническая медицина. – 2001. – № 2. – С. 10-16.
64. Стрижаков, А. Н. Фетоплацентарная недостаточность: патогенез, диагностика, лечение / А. Н. Стрижаков, Т. Ф. Тимохина, О. Р. Баев // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2003. – № 2. – С. 53-64.
65. Стрижаков, А. Н. Физиология и патологии плода / А. Н. Стрижаков, А. И. Давыдов, Л. Д. Белоцерковцева. – Москва : Медицина, 2004. – 356 с.
66. Сушкевич, Г. Н. Тромбофилия и острое нарушение мозгового кровообращения у детей / Г. Н. Сушкевич // Нейрохирургия и неврология детского возраста. – 2009. – № 1. – С. 26-34.
67. Тадтаева, З. Г. Наследственная тромбофилия при ишемическом инсульте у детей / З. Г. Тадтаева // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2012. – № 22. – С. 161-168.
68. Тадтаева, З. Г. Роль нарушений гемостаза в патогенезе мигрени / З. Г. Тадтаева, Ю. Л. Кацадзе // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2002. – № 2. – С. 18-25.
69. Тимофеев-Ресовский, Н. В. О генетическом полиморфизме в популяциях / Н. В. Тимофеев-Ресовский, Ю. М. Свирежев // Генетика. – 1967. – № 10. – С. 18-21.

70. Тромбофилии в акушерско-гинекологической практике / А. Д. Макацария, В. О. Бицадзе, С. М. Баймурадова [и др.] // Журнал Российского общества акушеров-гинекологов. – 2008. – № 1. – 11-18.
71. Тромбофилии и пути совершенствования антитромботической профилактики и терапии при беременности / Баркаган З. С., Котовщикова Е. Ф., Сердюк Г. В. [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2004. – № 5. – С. 62-68.
72. Урсуленко, Е. В. Современный взгляд на тромбофилию / Е. В. Урсуленко, Н. Н. Мартынович // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 127-129.
73. Фетальные тромбофилии и их роль в патогенезе плацентарной недостаточности / А. Н. Стрижаков, А. Д. Макацария, Е. В. Тимохина [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2009. – № 6. – С. 5-10.
74. Частота встречаемости полиморфизмов генов системы гемостаза у больных с тромбоемболией легочной артерии / А. И. Субботовская, А. Н. Шилова, Н. А. Кармадонова [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013. – № 3. – С.70-76.
75. Электронный ресурс: URL: <http://www.ncbi.nlm.gov/projects/SNP> (дата обращения: 26.02.2012).
76. A meta-analysis of association between C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and hypertension / X. Qian, Z. Lu, M. Tan [et al.] // Eur. J. Med. Genet. – 2007. – Vol. 15. – P. 1239-1245.
77. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity / I. Weisberg, P. Tran, B. Christensen [et al.] // Mol. Genet. Metab. – 1998. – Vol. 64. – P. 169-172.
78. A single genetic origin for a common Caucasian risk factor for venous thrombosis / A. Zivelin, J. H. Griffin, X. Xu [et al.] // Blood. – 1997. – Vol. 89. – P. 397-402.

79. Alfirevic, Z. How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review / Z. Alfirevic, D. Roberts, V. Martlew // *European Journal of Obstetric and Gynaecological Reproductive Biology*. – 2002. – Vol. 101, № 1. – P. 6-14.
80. Alfirevic, Z. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications / Z. Alfirevic, H. A. Mousa, V. Martlew // *Obstet. Gynecol.* – 2001. – Vol. 97, № 5. – P. 753–759.
81. Allele frequency distribution of 1691G>A F5 (which confers Factor V Leiden) across Europe, including Slavic populations / J. S. Clark, G. Adler, N. N. Salkic [et al.] // *Biomark Med.* – 2014. – Vol. 8, № 3. – P. 405-412.
82. Alt E. Blood rheology in deep venous thrombosis – relation to persistent and transient risk factors / E. Alt, S. M. Banyai, R. Koppensteiner // *Thrombosis Research*. – 2002. – Vol. 107. – P.101-107.
83. An update of the mutation profile of Factor 13 A and B genes / A. Biswas, V. Ivaskevicius, R. Seitz [et al] // *Blood Rev.* – 2011. – Vol. 25, № 5. – P. 193-204.
84. Analysis of the 677C-T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups / R. F. Franco, A. G. Araujo, J. F. Guerreiro [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 79, № 1. – P. 119-121.
85. Analyzes of three common thrombophilic gene mutations in German women with recurrent abortions / H. U. Pauer, T. Voigt-Tschirschwitz, B. Hinney [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2003. – Vol. 82, № 10. – P. 942–947.
86. Ariëns, R. A. The factor XIII V34L polymorphism accelerates thrombin activation of factor XIII and affects cross-linked fibrin structure / R. A. Ariëns, H. Philippou, C. Nagaswami // *Blood*. – 2000. – Vol. 96, № 3. – P. 988-995.
87. Arruda, V. R. The mutation Ala677-Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis / V. R. Arruda, P. M. von Zuben, L. C. Chiaparini // *Thromb.Haemost.* – 1997. – Vol. 77, № 5. – P. 818–821.
88. Association analysis of genetic polymorphisms of factor V, factor VII and fibrinogen  $\beta$  chain genes with human abdominal aortic aneurysm / K. Oszejca,

- K. Wroński, G. Janiszewska [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2012. – Vol. 4, № 3. – P. 514-518.
89. Association between endothelial nitric oxide synthase gene 4a/b polymorphism and IgA nephropathy / Q. Hong, R. Ding, X. M. Chen [et al.] // *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* – 2006. – Vol. 26, № 10. – P. 1421-1430.
90. Association of the -92C/G and 807C/T polymorphisms of the alpha2 subunit gene with human platelets alpha2beta1 receptor density / N. Jzenberg, C. Berroeta, I. Philip [et al.] // *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* – 2005. – Vol. 25, №8. – P. 1756-1760.
91. Associations between inherited thrombophilias, gestational age, and cerebral palsy / C. S. Gibson, A. H. MacLennan, W. M. Hague [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* – 2005. – Vol. 193, № 4. – P. 1437.e1-1437.e12.
92. Bagoly, Z. Factor XIII, clot structure, thrombosis / Z. Bagoly, Z. Koncz, J. Hársfalvi // *Thromb. Res.* – 2012. – Vol. 129, № 3. – P. 382-387.
93. Barnette, A. R. Evaluation and Management of Stroke in the Neonate / A. R. Barnette, T. E. Inder // *Clinics in Perinatology.* – 2009. – Vol. 36, № 1. – P. 125-136.
94. Benders, M. J. Perinatal arterial stroke in the preterm infant / M. J. Benders, F. Groenendaal, C. S. Uiterwaal // *Semin Perinatol.* – 2008. – Vol. 32, № 5. – P. 344-349.
95. Benedetto, C. Factor V Leiden and factor II G20210A in preeclampsia and HELLP syndrome / C. Benedetto, L. Marozio, L. Salton // *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.* – 2002. – Vol. 81, № 12. – P. 1095-1100.
96. Beta-Fibrinogen Gene -455 G/A Polymorphism in Korean Ischemic Stroke Patients / S. H. Lee, M. K. Kim, M. S. Park [et al.] // *J. Clin. Neurol.* – 2008. – Vol. 4, № 1. – P. 17-22.
97. Boduroglu, K. Methyltetrahydrofolate reductase enzyme polymorphisms as maternal risk for Down syndrome among Turkish women / K. Boduroglu, Y. Alanay, B. Koldan // *Am. J. Med. Genet.* – 2004. – Vol. 127. – P. 5-10.

98. Bombeli, T. Prevalence of hereditary thrombophilia in patients with thrombosis in different venous systems / T. Bombeli, A. Basic, J. Fehr // *Am. J. Haematol.* – 2002. – Vol. 70. – P. 126-132.
99. Bosco, P. Methionine synthase (MTR) A2756G polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/ methionine synthase reductase (MTRR) 66 AG, and elevated homocysteinemia are three factors for having a child with Down syndrome / P. Bosco, R. M. Gueant-Rodrigues, G. Anello // *Am. J. Med. Genet.* – 2003. – Vol. 121, № 3 – P. 219–224.
100. Boushey, L. D. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes / L. D. Boushey, S. A. Beresford, G. S. Omenn // *J.A.M.A.* – 1995. – № 274. – P. 1049-1057
101. Bradbeer, P. Testing for heritable thrombophilia in children at Starship Children's Hospital: An audit of requests between 2004 and 2009 / P. Bradbeer, L. Teague, N. Cole // *J. Paediatr. Child Health.* – 2012. – Vol. 48, № 10. – P. 921-925.
102. British Committee for Standards in Haematology (BCSH). Guidelines on the investigation and management of thrombophilia // *J. Clin. Pathol.* – 1990. – Vol. 43. – P. 703–710.
103. Calvete, J. J. Structures of integrin domains and concerted conformational changes in the bidirectional signaling mechanism of  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  / J. J. Calvete // *Exp. Biol. Med. (Maywood).* – 2004. – Vol. 229, № 8. – P. 732-44.
104. Castoldi, E. APC resistance: biological basis and acquired influences / E. Castoldi, J. Rosing // *J. Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 8, № 3. – P. 445-453.
105. Castoldi, E. Factor V Leiden: a disorder of factor V anticoagulant function / E. Castoldi, J. Rosing // *Curr. Opin. Hematol.* – 2004. – Vol. 11, № 3. – P. 176-181.
106. Chabernaud, J. L. Platelet transfusions in neonatology / J. L. Chabernaud // *Transfus Clin Biol.* – 1995. – Vol. 2, № 1 – P. 17-25.

107. Chalmers, E. A. Heritable thrombophilia and childhood thrombosis / E. A. Chalmers // *Blood Reviews*. – 2001. – Vol. 15, № 4 – P. 181-189
108. Chalmers, E. A. Perinatal stroke – risk factors and management / E. A. Chalmers // *Br. J. Haematol.* – 2005. – Vol. 130. – P. 333–343.
109. Children With Stroke: Polymorphism of the MTHFR Gene, Mild Hyperhomocysteinemia, and Vitamin Status / E. Cardo, E. Monrós, C. Colomé [et al.] // *J. Child Neurol.* – 2000. – Vol. 1, № 5. – P. 295-298.
110. Cripe, L. D. Structure of the gene for human coagulation factor V / L. D. Cripe, K. D. Moore, W. H. Kane // *Biochemistry*. – 1992. – Vol. 31, № 15. – P. 3777-3785.
111. Dahlbäck, B. Advances in understanding pathogenic mechanisms of thrombophilic disorders / B. Dahlbäck // *Blood*. – 2008. – Vol. 112, № 1. – P. 19-27.
112. Dahlbäck, B. The discovery of activated protein C resistance / B. Dahlbäck // *J. Thromb. Haemost.* – 2003. – Vol. 1, № 1. – P. 3-9.
113. De Stefano, V. Interaction between hyperhomocysteinemia and inherited thrombophilic factors in venous thromboembolism. Review / V. De Stefano, I. Casorelli, E. Rossi // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2000. – Vol. 26, № 3. – P. 305-311.
114. De Stefano, V. Testing for inherited thrombophilia and consequences for antithrombotic prophylaxis in patients with venous thromboembolism and their relatives. A review of the Guidelines from Scientific Societies and Working Groups / V. De Stefano, E. Rossi // *Thromb Haemost.* – 2013. – Vol. 110, № 4. – P. 697-705.
115. Deep venous thrombosis in children and adolescents / M. L. Levy, R. C. Granville, D. Hart [et al.] // *J. Neurosurg.* – 2004. – Vol. 101. – P. 32-37.
116. Elbaz A. The association between the Val34Leu polymorphism in the factor XIII gene and brain infarction / A. Elbaz, O. Poirier, S. Canaple // *Blood*. – 2000. – Vol. 95, № 2. – P. 586-591.

117. Etiology of hypercoagulable state in women with recurrent fetal loss without other causes of miscarriage from Southern. Italy: new clinical target for antithrombotic therapy / M. D'Uva, P. Di Micco, I. Strina [et al.] // *Biologics: Targets & Therapy* – 2008. – Vol. 2, № 4. – P. 897–902.
118. Evaluation of the association between hereditary thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis / G. Kovalevsky, R. Gracia, J. Berlin [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2004. – Vol. 164, № 5. – P. 558-563.
119. Factor V Leiden and prothrombin 20210G>A mutation and paediatric ischemic stroke: a case-control study and two meta-analyses / R. Laugesaar, T. Kahre, A. Kolk [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2010. – Vol. 99, № 8. – P. 1168-1173.
120. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages / Z. J. Foka, A. F. Lambropoulos, H. Saravelos [et al.] // *Human Reproduction.* – 2000. – Vol. 15, № 2. – P. 458–462.
121. Factor V Leiden and prothrombin gene G20210A mutation in children with cerebral thromboembolism / M. Bonduel, G. Sciuccati, M. Hepner [et al.] // *Am. J. Hematol.* – 2003. – Vol. 73, № 2. – P. 81-86.
122. Factor VII, blood lipids and fat intake: gene-nutrient interaction and risk of coronary heart disease with the factor VII R353Q polymorphism / R. Bowman, A. M. Joosen, A. A. Welch [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2009. – Vol. 63, № 6. – P. 771-777.
123. Factor XIII-A subunit Val34Leu polymorphism in fatal hemorrhagic stroke / B. Antalfi, E. Pongrácz, Z. Csiki [et al.] // *Int. J. Lab. Hematol.* – 2013. – Vol. 35, № 1. – P. 88-91.
124. Färkkilä, M. Raised plasma endothelin during acute migraine attack / M. Färkkilä, J. Palo, O. Saijonmaa // *Cephalalgia.* – 1992. – № 12. – P. 383-384.
125. Fetal inherited thrombophilias influence the severity of preeclampsia, IUGR and placental abruption / E. Y. Anteby, B. Musalam, A. Milwidsky [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2004. – Vol. 113, № 1. – P. 31-35.

126. Fetal Thrombotic Vasculopathy in the Placenta: A Thrombophilic Connection Between Pregnancy Complications and Neonatal Thrombosis? / M. J. Leistra, A. Timmer, F. J. van Spronsen [et al.] // *Placenta*. – 2004. – Vol. 25, № 1. – P.102-105.
127. Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke / M. Martiskainen, T. Pohjasvaara, J. Mikkelsen [et al.] // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34, № 4. – P. 886-891.
128. Ganesan, V. Investigation of risk factors in children with arterial ischemic stroke / V. Ganesan, M. Prengler, M. McShane // *Ann. Neurol.* – 2003. – Vol. 53. – P. 167-173.
129. Gaspar, D. A. Maternal MTHFR interacts with offspring's BCL3 genotypes, but not with TGFA, in increasing risk to non - syndrome cleft lip with or without cleft palate / D. A. Gaspar, S. R. Matioli, R. de Cassia Pavanello // *Eur. J. Human Genet.* – 2004. – Vol. 12. – P. 521-526.
130. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis / A. J. Buurma, R. J. Turner, J. H. Driessen [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. – 2013. – Vol. 19, № 3. – P. 289-303.
131. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations / D. Meyre, J. Delplanque, J.-C. Chevre [et al.] // *Nat. Genet.* – 2009. – Vol. 41, № 2 – P.157-159.
132. Genomics and public health research: can the state allow access to genomic databases? / J. Cousineau, N. Girard, C. Monardes [et al.] // *Iran J. Public Health*. – 2012. – Vol.41, № 5. – P. 13-30.
133. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant / F.R. Rosendaal, C.J. Doggern, A. Zivelin [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 79. – P. 706-708.
134. Geographical and ethnic variation of the 677C-T allele of 5,10 methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide / B. Wilcken, F. Bamforth, Z. Li [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2003. – Vol. 60. – P. 619-625.

135. Heller, Ch. Maternal thrombophilia and neonatal thrombosis / Ch. Heller, U. Nowak-Göttl // *Best Practice & Research Clinical Haematology*. – 2003. – Vol. 16, № 2. – P. 333-345.
136. High Prevalence of Thrombophilic Traits in Children with Family History of Thromboembolism / M.J. Calhoun, C.N. Ross, E. Pounder [et al.] // *The Journal of Pediatrics*. – 2010. – Vol. 157, № 3. – P. 485-489.
137. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C / A. Udas, E. B. Williams, S. Butenas [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 4389-4397.
138. Hood, L. Revolutionizing medicine in the 21<sup>st</sup> century through systems approaches / L. Hood, R. Balling, C. Auffray // *Biotechnol J.* – 2012. – Vol. 7, № 8. – P. 992-1001.
139. Ignjatovic, V. The coagulation system in children: developmental and pathophysiological considerations / V. Ignjatovic, E. Mertyn, P. Monagle // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2011. – Vol. 37, № 7. – P. 723-729.
140. Impact of thrombophilia on risk of arterial ischemic stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: a systematic review and meta-analysis of observational studies / G. Kenet, L. K. Lütkehoff, M. Albisetti [et al.] // *Circulation*. – 2010. – Vol. 121 – P. 1838-1847.
141. Impaired APC cofactor activity of factor V plays a major role in the APC resistance associated with the factor V Leiden (R506Q) and R2 (H1299R) mutations / E. Castoldi, J. M. Brugge, G. A. Nicolaes [et al.] // *Blood*. – 2004. – Vol. 103, № 11. – P. 4173-4179.
142. Implication on human fertility of the 677C-T and 1298A-C polymorphisms of the MTHFR gene: consequences of a possible genetic selection / A. Reyes-Engel, E. Munoz, M. J. Gaitan [et al.] // *Mol. Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 8. – P. 952-957.
143. Improving the prediction of complex diseases by testing for multiple disease-susceptibility genes / Q. Yang, M.J. Khoury, L. Botto [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2003. – Vol. 72, № 3. – P. 636-649.

144. Influence of combined methionine synthase (MTR 2756A>G) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR 677C>T) polymorphisms to plasma homocysteine levels in Korean patients with ischemic stroke / O. J. Kim, S. P. Hong, J. Y. Ahn [et al.] // *Yonsei. Med. J.* – 2007. – Vol. 48, № 2. – P. 201-209.
145. Inherited thrombophilia in children with venous thromboembolism and the familial risk of thromboembolism: an observational study / S. Holzhauser, N. A. Goldenberg, R. Junker [et al.] // *Blood.* – 2012. – Vol. 120, № 7. – P. 1510-1515.
146. Isordia-Salas, I. Association of the plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism with ST elevation acute myocardial infarction in young patients / I. Isordia-Salas, A. Leñós-Miranda, I. M. Sainz // *Rev. Esp. Cardiol.* – 2009. – Vol. 62, № 4. – P. 365-372.
147. Jastrzebska, M. Relationships between fibrinogen, plasminogen activator inhibitor-1, and their gene polymorphisms in current smokers with essential hypertension / M. Jastrzebska, I. Goracy, M. Naruszewicz // *Thrombosis Research.* – 2003. – Vol. 110, № 15. – P. 339-344.
148. Johnson, S. M. Inherited thrombophilia: A possible cause of in utero vascular thrombosis in children with intestinal atresia / S.M. Johnson, R.L. Meyers // *Journal of Pediatric Surgery.* – 2001. – Vol. 36, № 8. – P. 1146-1149.
149. Jordan, F. L. J. The familial tendency in thromboembolic disease / F. L. J. Jordan, A. Nandorff // *Acta Med. Scand.* – 1956. – Vol. 156. – P. 267-275.
150. Kelly, P. J. Homocysteine, MTHFR 677C→T polymorphism and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis / P. J. Kelly, J. Rosand, J. P. Kistler // *Neurology.* – 2002. – Vol. 59. – P. 529-536.
151. Kenet, G. Venous thromboembolism in neonates and children / G. Kenet, U. Nowak-Göttl // *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* – 2012. – Vol. 25, № 3. – P. 333-344.
152. Khong, T. Yee. Placental vascular development and neonatal outcome / T. Yee. Khong // *Seminars in Neonatology.* – 2004. – Vol. 9, № 4. – P. 255-263.

153. Kohler, H. P. A common coding polymorphism in the FXIII A-subunit gene (FXIIIVal34Leu) affects cross-linking activity / H. P. Kohler, R. A. Ariëns, P. Whitaker // *Thromb. Haemost.* – 1998. – Vol. 80, № 4. – P. 704.
154. Kunicki, T. J. Platelet collagen receptors and risk prediction in stroke and coronary artery disease / T. J. Kunicki, Z. M. Ruggeri // *Circulation.* – 2001. – Vol. 104, № 13. – P. 1451-1453.
155. Laboratory testing for thrombophilia in pediatric patients. On behalf of the subcommittee for perinatal and pediatric thrombosis of the scientific and standardization committee of the international society of thrombosis and haemostasis (ISTH) / M. J. Manco-Johnson, E. F. Grabowski, M. Hellgreen [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2002. – Vol. 88. – P. 155-156.
156. Laffan, M. A. Fibrinogen polymorphisms and disease / M. A. Laffan // *Eur. Heart J.* – 2001. – Vol. 22, № 24. – P. 2224-2226.
157. Leclerc, D. Molecular genetics of MTHFR: polymorphisms are not all benign / D. Leclerc, R. Rozen // *Med. Sci.* – 2007. – Vol. 23, № 3. – P. 297-302.
158. Lijnen, H. R. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1 / H. R. Lijnen // *J. Thromb Haemost.* – 2005. – Vol. 3, № 1. – P. 35-45.
159. Lin, J. Genetic thrombophilias and preeclampsia: a meta-analysis / J. Lin, P. August // *Obstetr. and Gynaecol.* – 2005. – Vol. 105. – P. 182-192.
160. Lindqvist, P. G. Factor V Q506 mutation (activated protein C resistance) associated with reduced intrapartum blood loss – a possible evolutionary selection mechanism / P. G. Lindqvist, P. J. Svensson, B. Dahlbäck // *Thromb. Haemostas.* – 1998. – Vol.79. – P 69-73.
161. Liu, Y. Beta-fibrinogen gene -455A/G polymorphism and plasma fibrinogen level in Chinese stroke patients / Y. Liu, J. Pan, S. Wang // *Chin. Med. J.* – 2002. – Vol. 115. – P. 214-216.
162. Lynch, J. K. Report of the National Institute of Neurological Disorders and Stroke workshop on perinatal and childhood stroke / J. K. Lynch, D. G. Hirtz, G. DeVeber // *Pediatrics.* – 2002. – Vol. 109, № 1. – P. 116-123.

163. Macchi, L. Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet P1A1 (GP IIIa) polymorphism but not with C807T(GP Ia/IIa) and C-5T Kozak (GP Ibalpha) polymorphisms / L. Macchi, L. Christiaens, S. Brabant // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2003. – Vol. 42, № 6. – P. 1115-1119.
164. Malinow, M. R. Homocyst(e)ine and arterial occlusive disease / M. R. Malinow // *J. Intern. Med.* – 1994. – Vol. 236. – P. 603-617.
165. Massicotte, M. P. Central venous catheter related thrombosis in children: Analysis of the Canadian Registry of Venous Thromboembolic Complications / M. P. Massicotte, D. Dix, P. Monagle // *The Journal of Pediatrics.* – 1998. – Vol. 133, № 6. – P. 770-776.
166. McKee, S.A. Aspirin resistance in cardiovascular disease: a review of prevalence, mechanisms, and clinical significance / S. A. McKee, D. C. Sane, E. N. Deliargyris // *Thromb. Haemost.* – 2002. – Vol. 88. – P.711-715.
167. Mejia Mohamed E.H. TT genotype of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is an important determinant for homocysteine levels in multi-ethnic Malaysian ischaemic stroke patients / E. H. Mejia Mohamed, K. S. Tan, J. M. Ali // *Ann Acad. Med. Singapore.* – 2011. – Vol. 40, № 4. – P. 186-191.
168. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are associated with ischemic and hemorrhagic stroke: Dual effect of MTHFR polymorphisms C677T and A1298C / A. Sazci, E. Ergul, N. Tuncer [et al.] // *Brain Res. Bull.* – 2006. – Vol. 71, № 3. – P. 45-50.
169. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are associated with ischemic and hemorrhagic stroke: Dual effect of MTHFR polymorphisms C677T and A1298C / A. Zazci, E. Ergul, N. Tuncer [et al.] // *Brain Res. Bull.* – 2006. – Vol. 11, № 3. – P. 45-50.
170. Miranda-Vilela, A. L. Role of Polymorphisms in Factor V (FV Leiden), Prothrombin, Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 (PAI-1), Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Cystathionine  $\beta$ -Synthase

- (CBS) Genes as Risk Factors for Thrombophilias / A.L. Miranda-Vilela // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2012. – Vol. 12, № 10. – P. 997-1006.
171. Mo, X. Association between polymorphisms in the coagulation factor VII gene and coronary heart disease risk in different ethnicities: a meta-analysis / X. Mo, Y. Hao, X. Yang // *BMC Med. Genet.* – 2011. – Vol.12. – P. 107.
172. Monagle, P. Hemostasis in neonates and children: pitfalls and dilemmas / P. Monagle, V. Ignjatovic, H. Savoia // *Blood Rev.* – 2010. – Vol. 24, № 2. – P. 63-68.
173. MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women / G. Kohashi, E. H. Kato, M. Morikawa [et al.] // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2005. – Vol. 31, N3. – P. 266–271.
174. Multiple SNP testing improves risk prediction of first venous thrombosis / H. G. de Haan, I. D. Bezemer, C. J. Doggen // *Blood.* – 2012. – Vol. 120, № 3. – P. 656-663.
175. Nowak-Gottl, U. Thrombophilia in the young / U. Nowak-Gottl, K. Kurnik // *Haemostaseologie.* – 2008. – Vol. 28, № 2. – P.16-20.
176. Nowak-Göttl, U. Thromboembolism in newborns, infants and children / U. Nowak-Göttl, A. Kosch, N. Schlegel // *Thromb. Haemost.* – 2001. – Vol. 86, №1. – P. 464-474.
177. Nowak-Göttl, U. Venous thromboembolism in neonates and children--update 2013 / U. Nowak-Göttl, V. Janssen, D. Manner // *Thromb. Res.* – 2013. – Vol.131. – P. 39-41.
178. O’Leary, V.B. MTRR and MTHFR polymorphism: link to Down syndrome? / V. B. O’Leary, A. Parle-VcDermott, A. M. Molly // *Am. J. Med. Genet.* – 2002. – Vol.107. – P. 151-155.
179. O’Leary, P. Genomics and public health: translating research into public benefit / P. O’Leary, R. Zimmern // *Public Health Genomics* – 2010. –Vol. 13, № 4. – P.193-196.

180. Olteanu, H. Differences in the efficiency of reductive activation of methionine synthase and exogenous electron acceptors between the common polymorphic variants of human methionine synthase reductase / H. Olteanu, T. Munson, R. Banerjee // *Biochemistry*. – 2002. – Vol. 41, № 45. – P. 13378-8535.
181. PI(A2) polymorphism of beta(3) integrins is associated with enhanced thrombin generation and impaired antithrombotic action of aspirin at the site of microvascular injury / A. Undas, K. Brummel, J. Musial [et al.] // *Circulation*. – 2001. – Vol. 104, № 22. – P. 2666-2672.
182. Plasma levels and distribution of gene polymorphisms of factor VII in Turkish population / M. Turfan, F. Poyraz, A.Ö. Kaymak [et al.] // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* – 2014. – Vol. 20, № 2. – P. 164-168.
183. Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G and -844G/A variants in idiopathic recurrent pregnancy loss / K. Magdoud, V.G. Herbepin, R. Touraine [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2013. – Vol. 70, № 3. – P. 246-252.
184. Plasminogen activator inhibitor-1-675 4G/5G and methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in young acute myocardial infarction and juvenile ischemic stroke / G. Bivona, C. Bellia, S. Cammarieri [et al.] // *Res. J. Biol. Sci.* – 2009. – Vol. 3, № 1. – P.1341-1343.
185. Polymorphisms in Genes involved in Folate Metabolism as maternal Risk Factors for Down syndrome / C.A. Hobbs, S.L. Sherman, P. Yi [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 67. – P. 623-630.
186. Prevalence of factor V Leiden mutation in non-European populations / G. Pepe, O. Rickards, O.C. Vanegas [et al.] // *Thromb. Haemostas.* – 1997. – Vol. 77 – P. 329-331.
187. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss / H. Carp, O. Salomon, D. Seidman [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2002. – Vol. 17, № 6. – P. 1633–1637.
188. Prospective evaluation of the risk conferred by factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in pregnancy / R. P.

- Murphy, C. Donoghue, R.J. Nallen [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. – 2000. – Vol. 20, № 1. – P. 266.
189. Prothrombin G20210A mutation is associated with young-onset stroke: the genetics of early-onset stroke study and meta-analysis / B. Jiang, K. A. Ryan, A. Hamedani [et al.] // *Stroke*. – 2014. – Vol. 45, № 4. – P. 961-967.
190. Prothrombotic Disorders and Abnormal Neurodevelopmental Outcome in Infants With Neonatal Cerebral Infarction / E. Mercuri, F. Cowan, G. Gupte [et al.] // *Pediatrics*. – 2001. – Vol. 107. – P. 1400-1404.
191. Prothrombotic mutations as risk factors for cryptogenic ischemic cerebrovascular events in young subjects with patent foramen ovale / N. Botto, I. Spadoni, S. Giusti [et al.] // *Stroke*. – 2007. – Vol. 38, № 7. – P. 2070-2073.
192. Prothrombotic Risk Factors in Children with Spontaneous Venous Thrombosis and Their Asymptomatic Parents: A Family Study / A. Kosch, R. Junker, K. Kurnik [et al.] // *Thrombosis Research*. – 2000. – Vol. 99, № 6. – P.531-537.
193. R353Q polymorphism, activated factor VII and risk of premature myocardial infarction in Japanese men / M. Ogawa, S. Abe, S. Biro [et al.] // *Circ. J.* – 2004. – Vol. 68, № 6. – P. 520-525.
194. Rask, O. Anti-prothrombin antibodies are associated with thrombosis in children / O. Rask, A. Hillarp, E. Berntorp // *Thrombosis Research*. – 2010. – Vol. 125, № 1. – P. 19-24.
195. Rees, D. C. World distribution of factor V Leiden / D. C. Rees, M. Cox // *Lancet*. – 1995. – Vol. 346. – P. 1133-1134.
196. Respiratory distress in newborns of mothers with factor V-Leiden thrombophilia / T. Pramatarova, B. Marinov, B. Slancheva [et al.] // *Akush. Ginekol. (Sofia)*. – 2013. – Vol. 52, № 4. – P. 21-24.
197. Revel-Vilk, S. Thrombophilia in children with venous thromboembolic disease / S. Revel-Vilk // *Thromb. Res.* – 2006. – Vol. 118. – P. 59-65.

198. Ridker, P. M. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening / P. M. Ridker, J. P. Miletich // *JAMA*. – 1997. – Vol. 277. – P. 1305-7.
199. Risk factors and clinical presentation of portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis systems / L. Amitrano, M. A. Guardascione, V. Brancaccio [et al.] // *J. Hepatol.* – 2004. – Vol. 40. – P. 736-741.
200. Risk of obstetric and thromboembolic complications in family members of women with previous adverse obstetric outcomes carrying common inherited thrombophilias / M. Villani, G. L. Tiscia, M. Margaglione [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2012. – Vol. 10, № 2. – P. 223-228.
201. Rodger, M.A. Anticoagulant prophylaxis for placenta mediated pregnancy complications / M. A. Rodger // *Thromb. Res.* – 2011. – Vol. 127, №3. – P. 76-80.
202. Rook, J. L. Pediatric stroke and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations / J. L. Rook, D. J. Nugent, G. Young // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2005. – Vol. 27, № 11. – P. 590-593.
203. Rowe, S. J. Human complex trait genetics: lifting the lid of the genomics toolbox - from pathways to prediction / S. J. Rowe, A. Tenesa // *Curr. Genomics.* – 2012. – Vol. 13, № 3. – P. 213-24.
204. Short- and long-term outcome of infants born after maternal (pre)-eclampsia, HELLP syndrome and thrombophilia: a retrospective, cohort study / Jooske M.F. Boomsma, Richard A. van Lingen, Jim van Eyck [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* – 2010. – Vol. 153, № 1. – P. 47-51.
205. Siegerink, B. Genetic variation in fibrinogen; its relationship to fibrinogen levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke / B. Siegerink, F. R. Rosendaal, A. Algra // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 7, № 3. – P. 385-390.

206. Silvey, M. Inherited thrombophilia in children / M. Silvey, S. L. Carpenter // *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care.* – 2013. – Vol. 43, № 7. – P. 163-168.
207. Simioni, P. Incidence of venous thromboembolism in families with inherited thrombophilia / P. Simioni, B-J. Sanson, P. Prandoni // *Thromb. Haemost.* – 1999. – Vol. 81 – P. 198-202.
208. Smith, E. B. Fibrinogen/fibrin in atherogenesis / E.B. Smith, W.D. Thompson, L. Crosbie // *Eur J Epidemiol.* – 1992. – Vol. 8. – P. 83-87.
209. Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factors for NTD in the Italian population / P. De Marco, M.G. Calevo, A. Moroni [et al.] // *J. Hum. Genet.* – 2002. – Vol.47, № 6. – P. 319-324.
210. Tan, W. K. Does low-molecular-weight heparin improve live birth rates in pregnant women with thrombophilic disorders? A systematic review / W.K. Tan, S.K. Lim., L.K. Tan // *Singapore Med. J.* – 2012. – Vol. 53, № 10. – P. 659-663.
211. The 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with severe preeclampsia / N. Yamada, T. Arinami, K. Yamakawa-Kobayashi [et al.] // *J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 45. – P. 138–141.
212. The alpha2 gene coding sequence T807/A873 of the platelet collagen receptor integrin alpha2beta1 might be a genetic risk factor for the development of stroke in younger patients / L.E. Carlsson, S. Santoso, C. Spitzer [et al.] // *Blood.* – 1999. – Vol. 93, № 11. – P. 3583-3586.
213. The apolipoprotein E and b-fibrinogen G/A-455 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke involving large-vessel disease / C. Kessler, C. Spitzer, D. Stauske [et al.] // *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – № 17. – P. 2880-2884
214. The association of beta-fibrinogen 455 G/A gene polymorphism with left atrial thrombus and severe spontaneous echo contrast in atrial fibrillation / V. Bozdemir, O. Kirimli, B. Akdeniz [et al.] // *Anadolu. Kardiyol. Derg.* – 2010. – Vol. 10, № 3. – P. 209-215.

215. The association of combined alpha and beta fibrinogen genotype on plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers / A.E. Thomas, F. Green, H. Lamlum [et al.] // *J. Med. Genet.* – 1995. – Vol. 32. – P. 585-589.
216. The PAI-1 4G/5G gene polymorphism and ischemic stroke: an association study and meta-analysis / J. Attia, A. Thakkestian, Y. Wang [et al.] // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2007. – Vol. 16, № 4. – P.173-179.
217. Thomsen, L. L. Investigation into the role of nitric oxide and the large intracranial arteries in migraine headache / L. L. Thomsen // *Cephalalgia.* – 1997. – № 17. – P. 873-895.
218. Thornburg, C. Neonatal thromboembolic emergencies / C. Thornburg, S. Pipe // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine.* – 2006. – Vol. 11, № 3. – P. 198-206.
219. Third-trimester unexplained intrauterine fetal death is associated with inherited thrombophilia / A. Many, R. Elad, Y. Yaron [et al.] // *Obstet. and Gynaecol.* – 2002. – Vol. 99. – P. 684-687.
220. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review / L. Robertson, O. Wu, P. Lanflore [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2006. – Vol. 132. – P. 171-196.
221. Ticconi, C. Beta-fibrinogen G-455A polymorphisms and recurrent miscarriage / C. Ticconi, F. Mancinelli, P. Gravina // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 2011. – Vol. 71, № 3. – P. 198-201.
222. Trimmer, E. E. Methylenetetrahydrofolate reductase: biochemical characterization and medical significance / E. E. Trimmer // *Curr. Pharm. Des.* – 2013. – Vol. 19, № 14. – P. 2574-2593.
223. Van Ommen, C. H. Venous thromboembolic disease in childhood / C.H. van Ommen, M. Peters // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2003. – Vol. 29, № 4. – P. 391-404.
224. Van't Hooft, F. M. Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration / F. M. Van't Hooft, S.J. von Bahr, A. Silveira // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1999. – Vol. 19, № 12. – P. 3063-3070.

225. Varga, E. Inherited thrombophilia: key points for genetic counseling / E. Varga // *J Genet Couns.* – 2007. – Vol. 16, № 3. – P. 261-277.
226. Variable contribution of the MTHFR C677T polymorphism to non-syndrome cleft lip and palate risk in China / J. Zlu, A. Ren, L. Hao [et al.] // *Am. J. Med. Genet.* – 2006. – Vol.14. – P. 551-557.
227. Vaughan, D. E. PAI-1 and atherothrombosis / D. E. Vaughan // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 3, №8. – P. 1879-1883.
228. Venous thromboembolism in childhood: a prospective two-year registry in the Netherlands / C.H. van Ommen, H. Heijboer, H.R. Bāler [et al.] // *J Pediatr.* – 2001. – Vol. 139. – P. 676–681.
229. Weight maternal cigarette smoking, metabolic gene, polymorphism, and infant birth weight / X. Wang, B. Zuckerman, C. Pearson [et al.] // *JAMA* – 2002. – Vol. 287, № 2. – P.195-202.
230. Weiss, L. A. ITGB3 shows genetic and expression interaction with SLC6A4 / L. A. Weiss, C. Ober, E. H. Jr. Cook // *Hum. Genet.* – 2006. – Vol. 120. – P. 93-100.
231. Welch, G. Homocysteine and atherothrombosis / G. Welch, J. Loscalzo // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 338, № 15. – P. 1042-1050.
232. Wettergren, Y. MTHFR, MTR, and MTRR polymorphisms in relation to p16INK4A hypermethylation in mucosa of patients with colorectal cancer / Y. Wettergren, E. Odin, G. Carlsson // *Mol. Med.* – 2010. – Vol. 16, № 10. – P. 425-432.
233. Woratanarat, P. Meta-analysis of hypercoagulability genetic polymorphisms in Perthes disease / P. Woratanarat, C. Thaveeratitharm, T. Woratanarat // *J. Orthop. Res.* – 2014. – № 1. – P. 1-7.
234. Wramsby, M. L. Primary habitual abortions are associated with high frequency of factor V Leiden mutation / M. L. Wramsby, M. Sten-Linder, K. Bremme // *Fertil. Steril.* – 2000. – Vol. 74, № 5. – P. 987–991.

235. Yang Janet, Y. K. Neonatal Systemic Venous Thrombosis. Review Article / Y.K. Yang Janet, K.C. Chan Anthony // *Thrombosis Research*. – 2010. – Vol. 1266. – P. 471-476.
236. Zadro, R. Inherited prothrombotic risk factors in children with first ischemic stroke / R. Zadro, D.C. Herak // *Biochem. Med. (Zagreb)*. – 2012. – Vol. 22, № 3. – P. 298-310.
237. Zappacosta, B. Genotype Prevalence and Allele Frequencies of 5,10 Methylene tetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T and A1298C Polymorphisms in Italian Newborns / B. Zappacosta, L. Romano, S. Persichilli // *Labmedicin*. – Vol. 4, № 12. – 2009. – P. 732-736.
238. Zhang, G. Gene polymorphisms of homocysteine metabolism-related enzymes in Chinese patients with occlusive coronary artery or cerebral vascular diseases / G. Zhang, C. Dai // *Thromb. Res*. – 2001. – Vol. 104, № 3. – P. 187-195.
239. Zöller, B. Familial risk of venous thromboembolism in first-, second- and third-degree relatives: a nationwide family study in Sweden / B. Zöller, H. Ohlsson, J. Sundquist // *Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 109, № 3. – P. 458-463.
240. Zöller, B. Thrombophilia as a multigenic disease / B. Zöller, P. García de Frutos, A. Hillarp // *Haematologica* – 1999. – Vol. 84, № 1. – P. 59-70.