

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

**ВЛАСОВ  
ВЛАДИМИР СЕРГЕЕВИЧ**

**ФИБРИН-МОНОМЕР КАК ЛАБОРАТОРНЫЙ МАРКЕР АКТИВАЦИИ  
СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

**ДИССЕРТАЦИЯ**  
на соискание степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор,  
Заслуженный деятель науки РФ  
Вавилова Татьяна Владимировна

Санкт-Петербург - 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>4</b>
<b>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>15</b>
1.1 Изменения системы свертывания крови при физиологической неосложненной беременности	15
1.2 Влияние применения вспомогательных репродуктивных технологий на систему свертывания крови при беременности	27
1.3 Изменения системы свертывания крови при развитии преэклампсии	32
1.4 Изменения системы свертывания крови при предлежании и аномальной инвазии плаценты	36
1.5 Возможности использования искусственного интеллекта, машинного обучения и анализа больших данных в оценке состояния гемостаза у беременных	40
<b>Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	<b>43</b>
2.1 Характеристика лиц, включенных в исследование	43
2.2 Лабораторные методы исследования	46
2.3 Статистические и математические методы обработки данных	50
<b>Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ</b>	<b>53</b>
3.1 Показатели скрининговых клоттинговых исследований гемостаза и концентрации маркеров активации свертывания при использовании вспомогательных репродуктивных технологий	53
3.2 Показатели скрининговых клоттинговых исследований гемостаза, теста генерации тромбина и концентрации маркеров активации свертывания при развитии преэклампсии	55
3.3 Показатели скрининговых клоттинговых исследований гемостаза, теста генерации тромбина и концентрации маркеров активации свертывания у беременных с предлежанием и аномальной инвазией	63

плаценты

3.4 Прогнозирование повышения концентрации фибрин-мономера при беременности с использованием машинного обучения	70
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	<b>79</b>
<b>ВЫВОДЫ</b>	<b>81</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>	<b>83</b>
<b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ</b>	<b>84</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	<b>85</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>87</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b>	<b>116</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Изменения в системе гемостаза развиваются на всем сроке даже неосложненного периода гестации. Формирование физиологического гиперкоагуляционного состояния обеспечивает адекватность функционирования кровеносной системы матери и плода и, вместе с тем, обеспечивает защиту от кровопотери в процессе родоразрешения [30, 33]. Формирующийся гиперкоагуляционный синдром в комплексе с венозным застоем в органах малого таза и нижних конечностях увеличивают риск развития тромбоза глубоких вен приблизительно в 5-6 раз по сравнению с небеременными женщинами и являются главной причиной венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО) у женщин во время беременности и родов [18, 30, 37].

У значительного числа женщин беременность наступает не в естественном цикле, а в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), получивших широкое распространение и ставших частью рутинного подхода к решению проблемы деторождения. По данным отчета «European Society of Human Reproduction and Embryology» в мире ежегодно выполняются и контролируются почти 700 тысяч циклов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Общая распространенность ВТЭО при применении ВРТ составляет приблизительно 0,08 – 0,11% всех циклов, что, по сравнению с базовым риском ВТЭО у женщин репродуктивного возраста, представляет собой более чем 10-кратное увеличение риска [100, 132, 202]. При этом, реализация программ ВРТ не является самостоятельным показанием к назначению медикаментозной тромбопрофилактики, а научные исследования, позволяющие сделать заключение о степени активации свертывания крови в данной группе женщин, немногочисленны и не включают в себя оценку концентрации фибрин-мономера [22, 173].

Одними из тяжелейших осложнений беременности, связанных с выраженными изменениями в функционировании системы гемостаза, являются эклампсия и преэклампсия (ПЭ). Преэклампсия развивается у 2-8% всех

беременных, манифестация клинических проявлений обычно наступает после 20 недели гестации [18, 136]. В современной литературе представлены данные, что отклонения в стабильном функционировании систем коагуляции и растворения фибрина обусловлены, в том числе, развивающимися при ПЭ воспалительными процессами. Указанные отклонения являются причиной формирования более высоких, чем при неосложненной беременности, рисков ВТЭО у данных пациенток [115, 179, 186]. Однако, на сегодняшний день не разработаны критерии лабораторной оценки степени выраженности гиперкоагуляции и активации свертывания при ПЭ, позволяющие сделать обоснованное заключение об их наличии и возможной пользе применения препаратов низкомолекулярного гепарина (НМГ) в данной группе пациенток.

С другой стороны, предлежание, аномальная инвазия и преждевременная отслойка плаценты относятся к факторам высокого риска развития послеродовых кровотечений и занимают лидирующее место среди причин летальных исходов у беременных, ассоциированных с кровотечениями [19, 21]. Доказано, что один из основных факторов риска формирования аномальной инвазии плаценты - родоразрешение путем кесарева сечения (КС) в анамнезе [59, 110, 170]. При этом, предлежание и аномальная инвазия плаценты представляют собой абсолютное показание к родоразрешению путем КС, а общая распространенность КС увеличивается с каждым годом как в России, так и за рубежом [8, 16, 42]. Кроме того, использование антикоагулянтной фармакопрофилактики ВТЭО на фоне беременности, осложненной предлежанием плаценты, не допускается [22]. Существующие клинические возможности реализации органосохраняющих подходов при КС и сокращения объема кровопотери у данных пациенток описаны в большом количестве источников, однако доля публикаций, предоставляющих информацию о состоянии гемостатического баланса и активации системы свертывания при предлежании и аномальной инвазии плаценты крайне мала.

Вопрос о лабораторной оценке и динамическом мониторинге системы гемостаза при гиперкоагуляционных состояниях у беременных в указанных клинических ситуациях до настоящего времени не решен. Скрининговыми

методиками оценки плазменного гемостаза являются протромбиновое время (ПВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) и определение концентрации фибриногена. Время свертывания *in vitro*, измеряемое в методиках ПВ и АЧТВ, имеет тенденцию к укорочению даже в условиях неосложненной беременности, однако характеризует только 3-5% всего генерируемого в процессе свертывания тромбина, что не позволяет использовать результаты данных тестов для оценки активации системы свертывания [73, 149]. Информативность измерения концентрации фибриногена, являющегося белком острой фазы воспаления и обладающего тенденцией к прогрессивному увеличению своей концентрации на протяжении всего срока беременности даже в отсутствии осложнений, также сильно ограничена при необходимости выявления гиперкоагуляционных состояний на фоне беременности [116].

Повсеместно используемым маркером для исключения ВТЭО, прогнозирования рекуррентных тромботических эпизодов и дополнительной оценки эффективности антитромботической терапии является D-димер, однако затруднительным представляется вопрос интерпретации результатов его измерения у беременных женщин. Было установлено, что, в первом триместре физиологической неосложненной беременности у 84 %, во втором у 33 %, а в третьем триместре только у 1 % беременных был отмечен уровень D-димера ниже значения *cut-off* для используемой методики [41, 145]. Выявление более значимого повышения уровней продуктов деградации фибрина/фибриногена (включающих в себя D-димер) и комплексов плазмин-антиплазмин в маточном кровотоке по сравнению с их концентрациями в периферической крови, указывает на локализованную активность физиологических процессов генерации и лизиса фибрина в маточно-плацентарной области, а не на риск развития эпизода ВТЭО [128, 169, 243]. Таким образом, определение уровня D-димера для диагностики эпизодов тромбообразования на фоне беременности характеризуется низкой эффективностью и высокой долей ложноположительных результатов [22, 36]. Сформировавшийся фибрин при разрушении служит источником D-димера, однако данный процесс растянут во времени и не является как критерием

генерации тромбина, так и образования фибрина в текущий момент времени («здесь и сейчас»).

В связи с низкой информативностью применения основных методик оценки плазменного гемостаза в группе беременных женщин, актуален поиск лабораторного маркера, измерение уровня которого сможет предоставить достоверную информацию о состоянии активации системы гемостаза «здесь и сейчас». Наибольшим потенциалом в этом отношении обладает измерение концентрации фибрин-мономера (ФМ, FM), представляющего собой ранний маркер активации свертывания и молекулярная масса которого выше таковой у D-димера, что затрудняет его прохождение через сосудистую стенку. Современное технологическое решение (иммунотурбидиметрия с латексным усилением) вывело этот тест в ряд исследований с высокой аналитической точностью и специфичностью. Однако, клиническая значимость данного показателя при различных клинических ситуациях, в том числе при беременности, не определена. До настоящего времени в Российской Федерации не проводились комплексные исследования, направленные на изучение вопроса изменения концентрации фибрин-мономера при нормально протекающей и осложненной беременности, а также у женщин в программах ВРТ.

### **Степень разработанности темы**

ФМ представляет собой ранний маркер активации свертывания и образуется под действием тромбина на молекулу фибриногена при отщеплении от нее фибринопептидов А и В. Молекулы фибрин-мономера могут связываться и образовывать растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК) с продуктами деградации фибрина и фибриногеном. Выявление РФМК длительное время использовалось на территории стран СНГ в составе неавтоматизированных и низкоспецифичных «гелеобразующих» паракоагуляционных методик – этаноловом, протаминсульфатном и орто-фенантролиновом тестах [7, 10]. Современные иммунологические методики позволяют таргетно и корректно измерить концентрацию искомой структуры даже в составе комплексов [239].

Клиническая значимость измерения ФМ описана при различных состояниях, ассоциированных с выраженной активацией системы свертывания крови. Наибольшее количество литературных источников описывают клиническую значимость ФМ в качестве фибрин-ассоциированного маркера при диагностике синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) с использованием соответствующих шкал и алгоритмов, а также при необходимости выявления неявной (non overt) формы данного состояния [184, 214, 252]. Описана также и динамика изменения концентрации ФМ у пациентов с ВТЭО. Так, уровень данного биомаркера начинает повышаться за ~7 дней до начала клинических проявлений тромбоза, достигает пиковых значений в день тромбообразования и начинает снижаться на 2й-3й день после острой фазы тромботического события [88]. При этом, чувствительность и отрицательная прогностическая значимость концентрации ФМ в отношении ВТЭО не уступают, а специфичность и положительная предсказательная значимость даже превосходят значения, определенные для хорошо зарекомендовавшего себя маркера исключения тромбоза - D-димера [167]. В то же время, были продемонстрированы многообещающие результаты измерения ФМ как маркера эффективности проводимой антикоагулянтной терапии с нормализацией его концентрации в течение 3-6 дней после острой фазы ВТЭО и назначения адекватной терапии антикоагулянтами [15].

Перспективы измерения ФМ при беременности обусловлены стабильностью концентрации данного биомаркера на фоне неосложненной беременности, что, вероятно, связано с высокой, по сравнению с D-димером, скоростью элиминации из организма (~2,3 часа против ~16 часов соответственно) и выраженным повышением уровня в крови только при гиперпродукции тромбина в результате активации системы коагуляции [5, 146, 197, 221]. Другой важной характеристикой ФМ является его больший, по сравнению с D-димером, размер молекулы, что затрудняет неспецифическое повышение концентрации ФМ в кровотоке при экстравазальной генерации фибрина и позволяет селективно оценить концентрацию ФМ, образованного внутри сосудистого русла [117, 226].



В современной научной литературе не освещены вопросы изменения концентрации ФМ на фоне применения гормональной нагрузки в программах ВРТ, а также у беременных женщин с такими осложнениями как преэклампсия, ПП и ВП. Таким образом, актуальной областью научного поиска является измерение и анализ полученных результатов концентрации ФМ у женщин при реализации программ ВРТ, у беременных с ПЭ, ПП и ВП для получения объективных данных о состоянии активации свертывания крови в данных группах.

В то же время, ФМ остается биомаркером, измерение которого доступно в современной лабораторной диагностике, однако рутинное его назначение всем беременным женщинам с подозрением на активацию системы свертывания крови без должной селективности приведет к значительному увеличению финансовой нагрузки на лабораторию. В данной связи актуален поиск новых методов и алгоритмов предтестовой стратификации пациенток на группы риска выявления повышенного уровня ФМ с целью проведения последующего прямого измерения концентрации данного биомаркера.

**Цель исследования** - определить клинико-лабораторное значение измерения концентрации фибрин мономера методом иммунотурбидиметрии в оценке активации свертывания крови при нормально протекающей и осложненной беременности, а также в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

#### **Задачи исследования:**

1. Провести анализ результатов измерения концентраций фибрин-мономера и D-димера у женщин, получающих лечение на раннем этапе реализации программ вспомогательных репродуктивных технологий.
2. Проанализировать результаты измерения концентраций фибрин-мономера, D-димера и показателей теста генерации тромбина у беременных с развившейся преэклампсией.

3. Проанализировать результаты измерения и определить клиническое значение концентраций фибрин-мономера, D-димера и показателей теста генерации тромбина у беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты на позднем сроке гестации и после проведения кесарева сечения.
4. Разработать прогностическую модель превышения концентрацией фибрин-мономера верхнего предела референтного интервала при беременности с использованием методов машинного обучения и предложить алгоритм применения разработанной модели в лабораторной практике.

### **Научная новизна**

Впервые проведено комплексное измерение скрининговых клоттинговых тестов системы гемостаза, концентрации D-димера, показателей теста генерации тромбина и концентрации фибрин-мономера у женщин с осложненной беременностью; выполнена сравнительная оценка направленности изменений результатов рутинных клоттинговых тестов системы гемостаза, концентрации D-димера и показателей теста генерации тромбина с ранним маркером активации свертывания – фибрин-мономером при осложненной беременности; впервые выполнены комплексное измерение и анализ результатов скрининговых клоттинговых тестов гемостаза, а также концентраций фибрин-мономера и D-димера у женщин в программах ВРТ; оценено наличие корреляционных связей между результатами проведенных исследований в обследованных группах.

Впервые определено значение cut-off концентрации ФМ для предсказания развития послеродового кровотечения  $> 1000$  мл у пациенток с ПП и ВП после КС.

Впервые проведен математический анализ, разработана и валидирована на независимой выборке модель, а также предложен алгоритм прогнозирования повышения уровня фибрин-мономера у беременных женщин, основанный на определении тромбинового времени и D-димера.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Показано, что у женщин в программах ВРТ на этапе после переноса эмбриона в полость матки система свертывания крови пребывает в неактивном состоянии, что подтверждается низкими уровнями ФМ и D-димера, а измерение концентрации ФМ может рассматриваться как способ раннего выявления гемостатического дисбаланса и активации свертывания.

Установлено, что выраженность процессов активации свертывания крови и изменения концентрации ФМ у беременных с ПЭ характеризуется высокой межиндивидуальной вариабельностью, что позволяет выделить пациенток группы риска развития осложнений, требующих дополнительного наблюдения.

Продемонстрировано, что концентрация ФМ отражает наличие выраженной активации свертывания в результате поступления в кровь больших количеств тканевого фактора при родоразрешении путем КС. Также продемонстрировано, что увеличение концентрации ФМ ассоциировано не только с риском тромботических событий, но может выступать в роли прогностического маркера развития послеродового кровотечения  $> 1000$  мл при родоразрешении путем КС.

Доказано, что в повседневной лабораторной практике может быть использован прогностический алгоритм повышения концентрации ФМ у беременных, основанный на результатах измерения тромбинового времени и концентрации D-димера. Использование указанного алгоритма позволит идентифицировать беременных, количественное измерение концентрации ФМ для которых будет нести наибольшую значимость.

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

1. Измерение концентрации фибрин-мономера у женщин, получающих лечение в программах вспомогательных репродуктивных технологий на этапе после переноса эмбриона в полость матки, не несет дополнительной информации о состоянии свертывания крови и нецелесообразно в данной группе пациенток. Беременность, осложненная развитием преэклампсии, характеризуется повышением концентрации фибрин-мономера, который демонстрирует более

динамичную реакцию на процесс активации коагуляции, чем D-димер, и рекомендован к использованию в клинико-лабораторной оценке состояния внутрисосудистой активации свертывания крови «здесь и сейчас».

2. Внедрение в клиническую практику измерения концентрации фибрин-мономера у беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты позволяет выявить пациенток группы риска развития послеродового кровотечения при родоразрешении путем кесарева сечения.

3. Использование разработанного прогностического алгоритма позволяет стратифицировать беременных женщин на группы высокой и низкой вероятности выявления повышенного уровня фибрин-мономера, а также обеспечивает возможность селективного количественного измерения данного анализата с целью оценки выраженности активации свертывания.

### **Методология и методы исследования**

Диссертационная работа выполнена как ретроспективно-проспективное наблюдательное клинико-лабораторное исследование. При проведении исследования применялись современные приемы лабораторной диагностики: измерение времени образования фибринового сгустка в тестах ПВ, АЧТВ и фибриноген по методу Clauss, измерение концентрации D-димера и фибрин-мономера методом иммунотурбидиметрии с латексным усилением, а также определение показателей теста генерации тромбина по методу Hemker с использованием высокотехнологичного оборудования.

Полученные результаты измерений оценивались с учетом современных представлений о функционировании системы гемостаза у беременных женщин и женщин в программах ВРТ, а также при использовании актуальных версий программ для статистической обработки данных, математического анализа и методов машинного обучения.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность полученных результатов и их обработки обеспечена достаточным и репрезентативным объемом выборки обследованных женщин, использованием широкого спектра современных лабораторных и статистических методов обработки данных, а также применением методов математического анализа. Подробный анализ данных стал основой полученных результатов научной работы.

Материалы и основные положения диссертации докладывались и обсуждались на International Society on Thrombosis and Haemostasis Congress 2020, июль 2020; XXV Юбилейной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Наука и практика лабораторных исследований», Москва, сентябрь 2020 года; VII Общероссийской конференции с международным участием «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству», Санкт-Петербург, февраль 2021 года, 4 Клинико-лабораторном форуме, Санкт-Петербург, июнь 2022 года, XXVIII Всероссийской научно-практической конференции «Наукоемкие лабораторные технологии для клинической практики», Москва, март 2023 года, XII Международной научной конференции «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт», Санкт-Петербург, апрель 2023 года.

### **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, разработке дизайна, определении цели и задач исследования, подготовке образцов биоматериала и проведении большей части лабораторных исследований. Все представленные в диссертационном исследовании материалы получены, обобщены, статистически обработаны и проанализированы автором лично.

### **Публикация результатов исследования**

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты научной работы внедрены в учебный процесс кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ имени В.А. Алмазова» в виде лекции «Физиология системы гемостаза», семинара «Исследования системы гемостаза», программ постдипломного профессионального образования «Актуальные вопросы клинической лабораторной диагностики» и «Клинические и лабораторные проблемы патологии гемостаза», а также в практику работы клиничко-диагностических лабораторий медицинских организаций Камчатского края, оказывающих медицинскую помощь по профилю «Акушерство и гинекология».

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав и приложений. Иллюстрирована 11 рисунками и 13 таблицами. Список литературы содержит 253 источника (22 отечественных и 231 зарубежных).

## **Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

### **1.1. Изменения системы свертывания крови при физиологической неосложненной беременности**

При развитии нормальной беременности в организме женщины происходит множество физиологических изменений в функционировании различных систем и органов [106]. Большим значением в развитии данных процессов обладает адекватный синтез половых гормонов – эстрадиола и прогестерона. Синтез указанных половых гормонов первоначально осуществляется желтым телом, но на сроке ~9 недели беременности эта функция переходит к плаценте, а их уровень продолжает нарастать с увеличением срока гестации [63]. Полноценный синтез половых гормонов играет важную роль в увеличении объема циркулирующей крови и сердечного выброса, повышении скорости клубочковой фильтрации, а также развитии других, наблюдаемых в организме беременной женщины, изменений [66, 106, 215].

Помимо описанных адаптационных процессов нормальная беременность сопровождается выраженными изменениями гемостатического и фибринолитического потенциала, снижением естественной антикоагулянтной защиты. Переориентирование функциональной активности системы свертывания на создание физиологической гиперкоагуляции обусловлено необходимостью обеспечения потребностей организма беременной женщины, связанных с расширением и повышением нагрузки на кровеносную систему, а также сокращением рисков возникновения обильных кровотечений в ходе родоразрешения [187].

Повышение свертываемости крови в комплексе с затруднением венозного оттока, уменьшением его скорости и недостаточностью мышечного компонента венозных сосудов обуславливают нарастание частоты развития ВТЭО у данной группы пациентов. Распространенность ВТЭО варьирует и составляет, приблизительно, 12 эпизодов тромбоза на 10 тысяч успешных родов, что соответствует 6-кратному увеличению риска по сравнению с небеременными

женщинами репродуктивного возраста. Ассоциированные с беременностью эпизоды ВТЭО являются одной из ведущих причин материнской смертности и общего снижения качества жизни вследствие частого развития посттромботического синдрома [18, 37, 53, 175].

Механизм развития гиперкоагуляционных изменений в антенатальном периоде заключается в повышении активности белково-синтетической функции печени под действием отдельных компонентов гормонального профиля беременных женщин. Увеличение количества синтезируемых коагуляционных факторов ложится в основу расширения гемостатического ресурса крови и повышения его возможностей к фибринообразованию [35, 106]. В частности, изменяется активность различных факторов свертывания. Было показано, что активность одного из ключевых компонентов свертывания внешнего пути коагуляции - ф. VII статистически значимо нарастает на протяжении всего срока беременности. При этом, наиболее выраженное повышение его активности наблюдается во втором триместре гестации [13, 72, 74, 96, 217, 219]. Во время беременности значительно возрастает активность и реактанта острой фазы воспаления – ф.VIII, достигая к моменту родов более 300% [13, 96, 219]. Авторы исследований, описывающих уровень активности ф.IX и ф.XI при беременности отмечают стабильность их концентрации на протяжении всего срока гестации. При этом, активность ф.IX варьирует в широких пределах и может превышать таковую в общей популяции у более 50% обследованных женщин [40, 68, 219]. Активность ф.XII (фактор Хагемана) также умеренно нарастает с увеличением срока гестации и достигает своего пика на второй-третий день послеродового периода [13, 219]. Увеличение активности ф.X, являющегося частью протромбиназного комплекса, во время беременности выражено незначительно, а само повышение нестабильно и может как сохраняться на протяжении длительного времени, так и трансформироваться в слабовыраженный дефицит активности данного фактора [68, 74, 120, 217, 219]. Активность другого компонента протромбиназного комплекса - ф.V также существенно не изменяется с наступлением беременности [68, 217, 219]. При этом, активность ф.II,



необходимого для образования основного энзима плазменного гемостаза – тромбина, осуществляющего протеолиз фибриногена с последующим формированием поперечно-сшитого фибрина, остается стабильной на всем сроке гестации [74, 219]. В целом, можно заключить, что основным изменениям при беременности подвержены уровни активности ф. VII, VIII и IX, в то время как активность других факторов свертывания остается без значительных изменений [219].

Концентрация субстрата для заключительного этапа коагуляции и образования стабильного сгустка – фибриногена начинает увеличиваться с самых ранних сроков беременности и к дню родов достигает вдвое больших показателей, чем наблюдавшиеся до беременности. При этом, нормализация концентрации фибриногена после родов через естественные родовые пути происходит в течение 5 недель после родов [9, 13, 52, 217, 219].

Отдельного внимания требует и рассмотрение изменений, происходящих на фоне беременности с активностью главного активатора свертывания - тканевого фактора (ТФ), ценность которого еще больше повышается по причине необходимости закупорки сосудов и быстрой остановки кровотечения во время родов. В связи со своей значимостью для поддержания гомеостаза и гемостаза организма, тканевой фактор синтезируется в большом количестве органов и тканей, особенно им богаты ткани мозга, легких и плаценты, а также периваскулярные клетки [95, 241]. В обычных условиях контактирующие с кровью клетки не экспрессируют ТФ поддерживая антикоагулянтные свойства сосудистой стенки. Контакт ТФ с кровью обычно происходит при механическом или химическом повреждении сосудистой стенки, что приводит к связыванию ТФ с ф.VIIa и дальнейшей активации свертывания [57, 58]. Было показано, что источником ТФ являются также и внеклеточные везикулы (extracellular vesicles, EV) преимущественно моноцитарного и тромбоцитарного генеза [171]. Также были представлены данные о возможности переноса небольших количеств ТФ посредством внеклеточных везикул моноцитарного генеза и молекул адгезии (CD15) со включением его в состав  $\alpha$ -гранул тромбоцитов [171, 191, 192]. В

экспериментах на животных было продемонстрировано, что ТФ, высвобождаемый из клеток крови, также обладает выраженной прокоагулянтной активностью и приводит к развитию артериальных тромбозов у свиней вне зависимости от присутствия ТФ субэндотелия [101].

Согласно представленным отечественными авторами данным, активность ТФ увеличивается по мере развития беременности с превышением значением медианы его активности на поздних сроках гестации в 2,75 раза по сравнению с прегравидарным периодом. Максимальные значения активности были зафиксированы в ходе самопроизвольных родов и ассоциированной с ними травматизации [14].

Лабораторным маркером, изменение концентрации и активности которого характеризует состояние как первичного (сосудисто-тромбоцитарного), так и коагуляционного гемостаза, является фактор Виллебранда (vWF). Концентрация vWF начинает повышаться уже с самых ранних сроков беременности, достигает максимума в день родоразрешения и превышает концентрацию vWF вне беременности в более чем два раза [9, 60, 68, 158, 203, 217].

С точки зрения изменения активности и концентрации естественных антикоагулянтов при беременности в исследованиях отмечено умеренное повышение активности ингибитора пути тканевого фактора (TFPI), основными функциями которого является ингибирование комплекса ТФ-ф.VIIa и ф.Ха. Однако, изолированного повышения активности данного физиологического антикоагулянта недостаточно для купирования планомерного повышения активности ТФ [14, 85, 230]. Несмотря на одну из наиболее значимых ролей антитромбина в процессах ингибирования активации свертывания как на этапе образования теназного комплекса (ингибирование ф.Ха), так и при ингибировании ключевого фермента коагуляции – тромбина, активность данного естественного антикоагулянта при беременности подвержена лишь слабовыраженным изменениям [52, 68, 96, 217, 219]. При этом, отечественными авторами отмечается статистически значимое, но слабовыраженное снижение активности антитромбина на 35-40й неделе беременности [9]. Другим важным

естественным антикоагулянтом является протеин С, действие которого направлено на ингибирование ф.VIIIa и ф.Va реализуемое благодаря кофакторной активности свободного протеина S. В различных публикациях авторами было отмечена стабильность как активности, так и концентрации протеина С на всех сроках гестации [68, 91, 158, 219] хотя в исследовании коллег из Китая было отмечен тренд к повышению активности протеина С при увеличении срока гестации [96]. Напротив, активность протеина S и концентрация свободной формы протеина S значительно снижаются уже в первом триместре беременности с достижением минимальных значений в конце второго триместра [52, 68, 96, 159, 219]. При этом, снижение концентрации свободного протеина S при беременности существенно более выражено чем снижение концентрации общего протеина S. Данный факт может быть обусловлен нарушением баланса между связанной и свободной формами протеина S вследствие повышения концентрации С4-связывающего протеина (С4ВР) [69, 159, 162].

Одним из принципиально важных отличий гиперкоагуляции от активации свертывания является то, что смещение гемостатического потенциала крови в сторону гиперкоагуляции с возможной слабой локальной активацией свертывания на фоне беременности является физиологическим процессом, сопровождающим беременность, и не свидетельствуют о наличии выраженной активации свертывания с дальнейшим развитием эпизода ВТЭО [11, 83].

Маркеры активации свертывания представляют собой структуры, образующиеся в результате состоявшейся активации свертывания, обладают разным периодом полужизни и клинической значимостью. Наиболее активно изучаемыми маркерами активации свертывания являются D-димер, фибрин-мономер (ФМ), фрагменты протромбина 1+2 и комплекс тромбин-антитромбин (ТАТ) [197]. При этом, только первые два из указанных маркеров нашли широкое применение в лабораторной практике РФ и западных стран.

D-димер образуется в результате протеолитического действия плазмина на уже сформированную и стабилизированную ф.XIII фибриновую сеть, является как маркером активации свертывания, так и показателем эффективности

фибринолитических процессов [237]. Во многих исследованиях было продемонстрировано прогрессивное нарастание концентрации D-димера с увеличением срока гестации, что является причиной невозможности использования значения cut-off D-димера, определенного для общей популяции, для исключения тромбоза глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) при беременности [9, 13, 96, 219]. Так в исследовании Kawamura M. et al. доля беременных с концентрацией D-димера менее 0,5 мкг/мл на 34-40 неделе гестации составила всего 0,3% [141]. В клинических рекомендациях по профилактике, диагностике и лечению ВТЭО при беременности авторы указывают на низкую эффективность изолированного использования результатов измерения D-димера для выявления тромбозов и определения тактики их лечения в антенатальном и постнатальном периодах [22].

ФМ является ранним маркером активации свертывания, представляет собой промежуточный продукт на пути формирования стабилизированной фибриновой сети и образуется под действием тромбина на молекулу фибриногена при отщеплении от нее фибринопептидов А и В. Молекулы фибрин-мономера могут связываться и образовывать комплексы с продуктами деградации фибрина и фибриногеном, однако результаты современных иммунологических методик с использованием специфических антител не подвержены влиянию указанных процессов [239]. Одним из важных отличий ФМ от хорошо себя зарекомендовавшего маркера активации свертывания и фибринолиза – D-димера является минимальное влияние на концентрацию ФМ процессов экстравазальной генерации фибрина. Данный фактор связан с относительно крупным размером молекулы ФМ по сравнению с D-димером, что затрудняет её прохождение в сосудистое русло из экстравазального пространства. Таким образом, измерение концентрации ФМ в плазме крови предоставляет информацию об уровне ФМ, образованном в результате внутрисосудистой активации свертывания [77]. Другой важной отличительной чертой ФМ является более короткий период полувыведения по сравнению с D-димером (~2,3 часа и ~16 часов соответственно), объясняющий большую динамику изменения его концентрации,

например, при назначении адекватной антикоагулянтной терапии (АКТ) [140, 197, 221]. Данные, описывающие характеристики пациентов, которые могут влиять на результаты измерения ФМ, доступны в очень ограниченном объеме. В работе Grossman K.V. et al. авторами была обследована группа беременных женщин на 11-13 неделе гестации и показано, что концентрация ФМ может возрастать при увеличении веса беременной и, наоборот, снижаться при наличии у женщины хронической гипертензии и употреблении кокаина в анамнезе [107].

Ортофенантролиновый тест, по историческим причинам используемый на территории стран СНГ для детекции РФМК, не автоматизирован, не позволяет производить количественную оценку ФМ, а процесс его интерпретации субъективен, основан на зрительном анализаторе оператора и ассоциирован с высоким коэффициентом вариации получаемых результатов. Напротив, современные методы лабораторной диагностики, предназначенные для количественного определения уровня ФМ с использованием реакций антиген-антитело, обладают большим потенциалом использования в связи с возможностью селективного измерения в плазме крови конкретной структуры, быстротой получения результата и полной автоматизацией всех компонентов аналитического процесса [7, 10].

Одной из наиболее изученных областей применения теста ФМ является диагностика синдрома ДВС. Использование ФМ в качестве раннего маркера активации свертывания крови повышает диагностическую значимость шкалы ISTH для диагностики синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) по сравнению с использованием D-димера [77, 234]. Также в исследованиях различных авторов представлены данные о существенно большей эффективности измерения концентрации ФМ по сравнению с D-димером для дифференцировки пациентов без синдрома ДВС от пациентов с неявной (non overt) его формой [214, 233, 252].

Концентрация ФМ у пациентов с подтвержденным тромбозом повышается в течение ~7 дней до начала клинических проявлений ТГВ или ТЭЛА в то время как уровни D-димера нарастают медленнее и в меньшей прогрессии.

Максимальное снижение концентрации ФМ происходит на 2й-3й день после острой фазы тромбообразования, в то время как повышение D-димера сохраняется в течение ~ 2 недель. Таким образом, в зависимости от клинической ситуации, у пациента может наблюдаться как изолированное повышение концентрации ФМ, так и изолированное повышение концентрации D-димера. Авторы публикации указывают на необходимость сочетанного измерения концентраций ФМ и D-димера [237]. Такого же мнения придерживаются и авторы в публикации Mirshahi S. et al., где были определены чувствительность, специфичность, отрицательная прогностическая значимость (NPV) и положительная предсказательная значимость (PPV) получения патологических результатов измерения ФМ и D-димера при ТГВ и ТЭЛА. Было показано, что чувствительность и NPV ФМ и D-димера статистически значимо не отличаются в то время как специфичность и PPV ФМ существенно превосходили таковые у D-димера [167]. В работе отечественных авторов продемонстрирована динамика изменения концентрации фибрин-мономера при его измерении на фоне острого эпизода ВТЭО и дальнейшем проведении антикоагулянтной терапии. Показано, что концентрация ФМ на фоне острого эпизода ВТЭО превышает верхний предел референтного интервала в  $> 10$  раз и, при назначении антикоагулянтной терапии, резко снижается с нормализацией значений в течение 3 – 6 дней после тромбоза [15].

В различных публикациях исследователями также отмечена польза измерения ФМ для выявления риска развития тромботических событий, диагностики уже состоявшихся тромбозов и оценки достаточности антикоагулянтной поддержки в кардиологии [54, 84, 93, 130, 144, 195, 235, 246], неврологии [87, 90, 124, 176, 222], ортопедии [26, 118], онкологии [39, 44, 208, 228, 245], педиатрии [221], при использовании аппарата для искусственного кровообращения [47] и проведении экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) [127].

Измерение ФМ при беременности является перспективным направлением в современной медицине. Разными авторами отмечается высокая стабильность

медианы концентрации ФМ на всех сроках неосложненной беременности [5, 146, 178]. В исследовании авторов из Японии было продемонстрировано, что концентрация ФМ у женщин с неосложненной беременностью на 34-40 неделях гестации в 67,2% случаев не выходила за пределы нормального диапазона, определенного производителем реагента (6,1 мкг/мл). В то же время, авторами было использовано локально установленное значение cut-off ФМ (< 35 мкг/мл) для выявления беременных с подозрением на ТГВ, нуждающихся в проведении визуализирующих исследований. Было продемонстрировано, что у женщин с подтвержденным эпизодом ТГВ концентрация ФМ была существенно выше (> 80 мкг/мл) как верхнего предела референтного интервала для общей популяции, так и локально установленного cut-off. Также авторами была описана высокая динамика снижения концентрации ФМ после устранения фактора, провоцирующего активацию свертывания. В частности, доля беременных с повышенным уровнем ФМ на 3-4 день после родоразрешения через естественные родовые пути или путем кесарева сечения была существенно ниже, чем таковая на поздних сроках беременности [141].

Одним из лабораторных маркеров, позволяющих получить информацию о наличии активации свертывания крови и количестве образованного тромбина является комплекс ТАТ. Уровень данного маркера нарастает с увеличением срока гестации как при осложненной, так и при нормальной беременности. В то же время, выявление даже значимо повышенных уровней ТАТ при беременности не было ассоциировано с клиническими признаками тромбоза [46, 83, 198].

Самыми ранними, из возможных к измерению в лабораторных условиях, маркерами образования тромбина являются фрагменты протромбина 1+2. Данные фрагменты образуются при активации протромбина (ф.П) протромбиназным комплексом и превращением его в свою активную форму – тромбин (ф.Па). Период полужизни данного маркера относительно недолог (~2 часа), а концентрация нарастает с увеличением срока беременности [74, 83, 197]. При этом некоторыми авторами отмечается выявление значимого повышения концентрации данного маркера у беременных с венозным тромбозом в анамнезе

по сравнению с беременными без тромботических осложнений в личном анамнезе [253]. Значимое повышение концентрации фрагментов протромбина 1+2 также было отмечено при сравнении беременных женщин с подтвержденным антифосфолипидным синдромом (АФС) с беременными контрольной группы. При этом, повышение уровня фрагментов протромбина 1+2 у пациенток с АФС по сравнению с контрольной группой было продемонстрировано только на фоне беременности т.к. после родоразрешения данный маркер быстро снижался в обеих группах беременных [250].

На фоне развития гиперкоагуляционного состояния при беременности отмечаются также и изменения в функционировании системы фибринолиза. При этом, существуют отличия в описываемых изменениях при сопоставлении данных, полученных разными группами авторов. В частности, Thornton P. et al. и Ramsay M. в своих работах описывают снижение уровня тканевого активатора плазминогена (t-PA), а также существенное нарастание уровня активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI), высвобождение большого количества ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1) из эндотелиальных клеток и увеличение продукции ингибитора активатора плазминогена 2 (PAI-2) плацентой. Указанные изменения, приводят, по мнению авторов, к общему снижению активности системы фибринолиза, в то время как параллельное повышение концентрации D-димера с увеличением срока гестации объясняется локальными процессами фибринообразования в маточно-плацентарном кровотоке [190, 224]. Такой же точки зрения придерживаются и другие группы авторов, описавшие в своих работах более значимое повышение уровней продуктов деградации фибрина/фибриногена (включающих в себя D-димер) и комплексов плазмин-антиплазмин в маточном кровотоке по сравнению с их концентрациями в периферической крови [123, 217].

В публикациях отечественных авторов отмечено увеличение концентрации плазминогена начиная с самых ранних сроков беременности, а также повышение уровней урокиназного активатора плазминогена (u-PA), TAFI, PAI-1 и снижение отношения t-PA/PAI-1, что в целом свидетельствует об угнетении эффективности



процессов пристеночного фибринолиза. При этом, по мере приближения к родам отмечается прогрессивное снижение активности основного ингибитора плазмينا -  $\alpha_2$ -антиплазмينا, однако указанные данные находят свое подтверждение только в отдельных публикациях [14, 125, 229]. Также группой отечественных авторов выдвинута гипотеза о повышении концентрации D-димера на поздних сроках беременности вследствие лизиса растворимого фибрина, не достигшего состояния полноценного фибринового сгустка что свидетельствует об эффективности фибринолитических процессов в сосудистом русле беременных женщин, защищающих их от эпизодов тромбообразования [14].

Большинство лабораторных исследований характеризуются высокой селективностью оценки той или иной структуры в биологическом материале. В тоже время, сам измеряемый анализ может являться как одним из многих участников единого процесса, так и финальным/одним из финальных результатов указанного процесса. Ключевым ферментом всех коагуляционных процессов, способным оказывать влияние на наиболее значимых участников системы гемостаза и потенцировать собственную генерацию, является тромбин. Измерение активности тромбина в одной временной точке затруднено и не обладает существенной диагностической значимостью в связи с его очень малым (<60 сек) периодом полужизни и быстрой инактивацией антитромбином [197]. Однако, в специализированных лабораториях доступно выполнение методики «Тест генерации тромбина» (ТГТ) в модификации Hemker [199]. Методика автоматизирована и заключается в добавлении в реакционную смесь стартового количества ТФ, запускающего 3 фазы свертывания – инициацию, усиление и распространение. Система детекции анализатора чувствительна к изменениям сигнала при воздействии тромбина на синтетический субстрат, что приводит к окрашиванию или флюоресценции реакционной смеси. Получаемый сигнал фиксируется анализатором в динамике на основании чего строится кривая генерации тромбина и рассчитываются её показатели. Показатель LT (lag time, время задержки) характеризует время инициации свертывания и соответствует этапу образования сгустка в рутинных клоттинговых тестах, показатель ETP

(endogenous thrombin potential, эндогенный потенциал тромбина) предоставляет информацию об общем количестве образованного тромбина, а показатели Peak (пиковое значение) и ttPeak (time to Peak, время достижения пикового значения) характеризуют максимальную концентрацию тромбина и время её достижения соответственно [78]. Одним из ограничений методики является необходимость добавления ТФ в реакционную смесь для запуска процессов свертывания. Таким образом, измерение генерируемого количества тромбина для оценки гемостатического ресурса организма (сниженный, нормальный, повышенный) носит объективный характер, однако позволяет лишь смоделировать вероятный ответ организма на активацию коагуляции, а не оценить фактическое состояние активации свертывания в текущий момент времени [74, 199].

В условиях развития нормальной беременности показатели ТГТ нарастают с увеличением срока гестации по сравнению с прегравидарным периодом, при этом наиболее выраженные изменения наблюдаются в первом-втором триместре беременности. В частности, увеличиваются пиковая концентрация тромбина и общее количество образованного тромбина. Информация по изменению значений параметра ttPeak неоднозначна, разными авторами представлены данные о стабильности и, наоборот, повышении значений данного параметра с увеличением срока беременности [164, 199]. При этом, на фоне значительных изменений параметров ТГТ среди включенных в исследование беременных женщин не было зафиксировано акушерских или тромботических осложнений [74, 164]. Полученные результаты можно интерпретировать как увеличение гемостатического потенциала и физиологическую подготовку организма женщины к сокращению кровопотери в процессе родов без выраженной активации свертывания.

Возвращение основных показателей системы гемостаза к состоянию до беременности достигается через, приблизительно, 3-4 недели после родоразрешения [97].

## **1.2. Влияние применения вспомогательных репродуктивных технологий на систему свертывания крови при беременности**

У значительного числа женщин беременность наступает не в естественном цикле, а в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). ВРТ представляют собой методы лечения бесплодия, при применении которых отдельные или все этапы зачатия и раннего развития эмбрионов осуществляются вне материнского организма. В частности, Международный комитет по мониторингу вспомогательных репродуктивных технологий (The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies - ICMART) относит к ВРТ все процедуры, включающие в себя *in vitro* манипуляции как с человеческими ооцитами и сперматозоидами, так и с эмбрионами, выполняемые с целью репродукции [251]. Современные методы ВРТ, разработанные на основе классических методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и переноса эмбриона, насчитывают более 10 различных подходов. Исторически наиболее часто применяемым является метод ЭКО с переносом эмбриона в полость матки. Однако, начиная с середины 90-х годов наблюдается существенный рост и преобладание доли ЭКО с инъекцией сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки *in vitro* (ИКСИ), используемого при несостоятельности функциональной активности сперматозоидов, перед стандартным методом ЭКО. В соответствии с данными Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE), 71,1% всех протоколов ВРТ за 2018 год было выполнено с использованием ИКСИ [103]. Существуют также и менее распространенные подходы, такие как: интратубарный перенос гамет (ГИФТ) или интратубарный перенос зигот (ЗИФТ) в маточные трубы, использование донорских клеток, криоконсервация гамет и эмбрионов [139]. За более 40 лет с даты внедрения в клиническую практику классического метода ЭКО и рождения первого «ребенка из пробирки» в 1978 году, благодаря программам ВРТ появились на свет более 8 миллионов детей. Ежегодно во всем мире реализуются более 2,5 миллионов программ ВРТ, приводящих к успешным родам в более чем 500 тысячах случаев [92]. Актуальность ВРТ в Российской

Федерации находится на высоком уровне и составляет, по данным Российской Ассоциации Репродукции Человека и ESHRE, от 135 до 155 тысяч выполненных программ в год [17, 103].

Несмотря на ряд отличий, комплекс гормональных изменений в крови пациенток при лечении в программах ВРТ имеет единый вектор с таковым при физиологической беременности, хотя и характеризуется большей выраженностью, а также динамикой для обеспечения благоприятных условий одновременного созревания нескольких фолликулов, содержащих способные к оплодотворению ооциты [89].

Представленные в литературе данные свидетельствуют о том, что изменения концентраций половых гормонов, обусловленные применением гормональных контрацептивов, физиологической беременностью или использованием ВРТ оказывают существенное влияние на уровни различных компонентов системы гемостаза, что может являться необходимым плацдармом для действия триггерных факторов и развития тромботических событий [49, 61, 165, 185, 204, 225]. При этом наблюдается также и выраженность изменений гемостатического баланса от степени гормональной поддержки [55]. Например, в работе О.А. Громовой и соавторов описаны молекулярные механизмы протромботического воздействия эстрогенов при пероральном приеме. Указанные механизмы обусловлены малой (порядка 3%) биодоступностью эстрогенов при пероральном приеме и сопутствующей необходимостью назначения высоких доз препарата. В связи с тем, что эстрогены синтезируются в организме женщины и не поступают с пищей, то, проходя через желудочно-кишечный тракт, препарат не всасывается, попадает в порталный кровоток и метаболизируется. Часть препарата всасывается в гепатоциты при этом активируя транскрипцию многих генов, в том числе генов факторов свертывания, что повышает прокоагулянтный потенциал крови, а оставшаяся часть препарата поступает в таргетные органы [6]. В другом исследовании было показано, что использование оральных контрацептивов приводит к изменениям показателей теста генерации тромбина, характеризующим развитие у данной группы женщин состояния гиперкоагуляции [38].

Зарубежными авторами также было отмечено увеличение концентрации фибриногена у трансгендерных женщин после трех месяцев трансдермального использования эстрадиола [207]. С точки зрения клинической реализации указанных изменений при использовании гормональных контрацептивов было продемонстрировано, что использование пероральных форм эстрогенсодержащих препаратов ассоциировано с 2-6-кратным увеличением риска развития тромбозов [104, 129]. В то же время было показано, что при использовании препаратов эстрадиола с трансдермальной формой введения, риск развития ВТЭО был на 28% ниже, чем при пероральном приеме [148].

Реализация программ ВРТ включает в себя применение гормональных препаратов для успешного созревания фолликулов (18 – 20 мм) и достижения необходимой концентрации эстрадиола. При этом, пиковая концентрация эстрадиола в крови пациенток при стимуляции в программах ВРТ может повышаться до 20 – 50 раз относительно исходной [61]. Значимое повышение уровня эстрадиола при вступлении женщин в программы ВРТ и, особенно, при развитии их осложнения в виде синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ), ассоциировано с изменением результатов лабораторных исследований системы свертывания. К подобным изменениям относятся повышение активности факторов свертывания II, V, VIII, IX, ф. Виллебранда концентрации фибриногена, снижение уровней естественных антикоагулянтов (антитромбина, протеинов С и S) и повышение резистентности к активированному протеину С [12, 31, 238, 34, 45, 51, 61, 71, 142, 163, 174]. При этом, активность ф. VII может как оставаться без изменений, так и снижаться [31, 51].

Описанные изменения активности факторов свертывания на фоне снижения естественной антикоагулянтной защиты приводят к возможности генерации большего количества тромбина при активации процессов свертывания. Так в исследовании Westerlund E. et al. было продемонстрировано увеличение эндогенного потенциала тромбина и общего гемостатического потенциала при проведении программ ВРТ [238]. В работе Gerotziafas G. T. et al. авторы исследовали связь между повышением активности свертывающей системы и

успешностью реализации программы ВРТ оцениваемой по факту наступления беременности. Было показано, что у женщин, использование ВРТ у которых привело к беременности, результаты измерения теста генерации тромбина были значительно повышены по сравнению с группой женщин, беременность у которых не наступила [99]. При этом, на фоне повышения общего гемостатического потенциала, не было зафиксировано повышения уровней маркеров активации свертывания в виде комплекса ТАТ и фрагментов протромбина 1+2 [61, 157, 194].

Изменения биомаркеров системы фибринолиза при реализации программ ВРТ претерпевают изменения, схожие с изменениями, наблюдаемыми при физиологической беременности: наблюдается снижение уровней t-РА и PAI-1, однако увеличивается активность PAI-2 и концентрация комплексов плазмин-антиплазмин (ПАП) [61, 153, 157, 194].

Таким образом убедительно продемонстрирована зависимость изменений в системе гемостаза от гормонального статуса женщины, которые наиболее выражены при развитии СГЯ [61]. Значимость представленных изменений находит свое подтверждение в данных научных публикаций, описывающих большую частоту развития как тромботических, так и других видов осложнений, при беременности, наступившей в результате программ ВРТ, по сравнению со спонтанной беременностью [131, 160, 181, 200, 209, 216, 232]. Частота развития ВТЭО в процессе реализации программ ВРТ составляет, приблизительно, 0,08 - 0,11% всех циклов [61]. В некоторых случаях развитие тромботических осложнений беременности при использовании ВРТ вторично и обусловлено СГЯ, увеличивающим риск ВТЭО в первом триместре в ~100 раз (95% доверительный интервал 61,8 – 161,1) [75, 76, 200]. Однако, в соответствии с литературными данными, беременность, наступившая в результате использования ВРТ и не осложненная развитием СГЯ также является фактором риска ВТЭО. Относительный риск развития ВТЭО при беременности, наступившей в результате программ ВРТ был определен в исследовании Jacobsen et al. и составил 4.3 (95% доверительный интервал 2,0-9,4) [133]. В исследовании Rova K. et al. со включением более 950 тыс. женщин представлены данные о 10-кратном

повышении риска (95% доверительный интервал 6,7-14,3) развития ВТЭО у женщин в первом триместре беременности, наступившей в результате использования ВРТ, по сравнению с женщинами, беременность которых не была индуцирована. Отдельно авторами были отмечены результаты, указывающие на отсутствие значимых отличий в рисках развития ВТЭО между беременными женщинами после использования ВРТ и женщинами со спонтанной беременностью во втором и третьем триместре гестации [200]. Henriksson et al. было представлено исследование со включением более 20 тыс. женщин, беременность которых наступила в результате программ ВРТ и более 100 тыс. женщин со спонтанной беременностью. Было показано, что использование программ ВРТ по сравнению со спонтанной беременностью увеличивает риск развития ВТЭО почти в 2 раза. При этом, риск развития тромбоза значительно отличается между триместрами и максимален в ходе первого триместра беременности (отношение рисков 4,22, 95% доверительный интервал 2,46 – 7,26) [122]. Похожие данные были получены и исследователями из Франции, относительный риск ВТЭО и артериальных тромбозов у женщин в программах ВРТ по сравнению с физиологической беременностью составил 3,29 (95% доверительный интервал 2,24 – 4,81) и 2,63 (95% доверительный интервал 1,06 – 5,51) соответственно. Авторами также было подтверждено, что наибольший риск тромботических событий наблюдался в первом триместре беременности, наступившей с использованием ВРТ [94]. В исследовании Olausson et al., помимо дополнительного подтверждения приведенных данных, было продемонстрировано, что повышенные риски ВТЭО имеют место только при переносе свежего эмбриона и отсутствуют при использовании криопротокола [177].

Основные «критические» периоды риска развития тромбозов при использовании ВРТ зависят как от назначенной терапии, так и от локализации тромба. В соответствии с литературными данными, эпизоды артериального тромбоза наиболее часто развиваются на 10,5 день после переноса эмбриона в полость матки и зачастую ассоциированы с развитием СГЯ, в то время как эпизоды ВТЭО выявляются, в среднем, на 40-й день [61].

Таким образом показано, что изменения системы гемостаза при реализации программ ВРТ более выражены по сравнению со спонтанной беременностью, а риски развития ВТЭО более высоки и наблюдаются, преимущественно в первом триместре. Однако, описанные данные по измерению лабораторных параметров системы гемостаза ограничены, в большинстве случаев, только данными, позволяющими оценить гемостатический потенциал беременных, но не факт наличия активации свертывания в данной группе женщин.

### **1.3. Изменения системы свертывания крови при развитии преэклампсии**

Одним из наиболее тяжелых состояний, развивающихся у части женщин как при физиологической беременности, так и при беременности, наступившей в результате лечения в программах ВРТ, является преэклампсия (ПЭ). ПЭ осложняет течение от двух до восьми процентов всех беременностей и является причиной, приблизительно, 70 тыс. случаев материнской и 500 тыс. случаев перинатальной смертности ежегодно [189, 247]. Манифестация клинических проявлений при преэклампсии происходит после 20 недели беременности и клинически характеризуется выраженной гипертензией, протеинурией ( $\geq 0,3$  г/л в суточной моче) и случаями полиорганной недостаточности [18, 136]. Природа развития данного осложнения многокомпонентна, а звенья патогенеза продолжают быть темой для дискуссий [24, 147, 247]. Различными авторами были выделены основные положения, являющиеся основой развития преэклампсии: нарушение инвазии трофобласта и аномальное ремоделирование спиральных артерий, секреция плацентарных факторов в кровоток, развитие оксидативного стресса, системного воспаления и эндотелиальной дисфункции. Также, параллельно с активацией системы комплемента, запускаются процессы сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза [24, 119, 147].

Считается, что физиологическое повышение гемостатического потенциала в ходе беременности, направленное на подготовку женщины к родам и сокращению кровопотери, еще больше усиливается при преэклампсии и приводит к развитию



тромбозов микроциркуляторного русла и нарушению маточно-плацентарного кровообращения [114]. Несмотря на то, что механизмы, лежащие в основе изменения гемостатического баланса при преэклампсии еще до конца не изучены, основными, обсуждаемыми в научной литературе, звеньями патогенеза являются: развитие воспалительного ответа усиливающего эндотелиальную дисфункцию, активацию тромбоцитов и системы свертывания, высвобождение внеклеточных везикул различного генеза, изменения активности системы фибринолиза и другие факторы [56, 82, 186]. Таким образом, состояние беременности при развитии преэклампсии наглядно представляет собой триаду Вирхова, включающую такие компоненты как повышенная свертываемость крови, стаз и повреждение сосудистой стенки [108]. Одним из значимых триггерных факторов, приводящих к развитию прокоагулянтного состояния при преэклампсии является нарушение эндотелиального гликокаликса, приводящее к снижению NO и простаглицина, высвобождению тромбоксана A<sub>2</sub>, высокомолекулярных мультимеров фактора Виллебранда, активации тромбоцитов и вазоконстрикции [27, 67, 79, 105, 206].

Немаловажную роль в развитии иммунотромбоза играют и внеклеточные нейтрофильные ловушки (NETs). Их индуцирующее влияние на процессы тромбообразования заключается в связывании с молекулами фактора Виллебранда, привлечении и активации тромбоцитов, участии в активации ф. XII, снижении активности TFPI и тромбомодулина, а также взаимодействии с тканевым фактором, приводящим к активации системы плазменного гемостаза [23].

В современной литературе авторами уделяется все большее внимание влиянию внеклеточных везикул на изменения в системе свертывания. Внеклеточные везикулы представляют собой высоко гетерогенную группу клеточных частиц размером от 50 нм до 1 мкм, способных транспортировать различные биологически активные молекулы (белки, микроРНК, ДНК и др.), обеспечивать межклеточные взаимодействия и свойства которых во многом зависят от источника данных везикул [3, 154]. Внеклеточные везикулы образуются в результате экзоцитоза, апоптоза или повреждения клеток в

результате воспаления, ишемии, окисления или механического воздействия. Внеклеточные везикулы плацентарного генеза образуются в малых количествах даже при физиологической неосложненной беременности. Однако, было показано, что при развитии преэклампсии клетки трофобласта подвергаются циклам гипоксии и реоксигенации, что создает условия для генерации существенно большего количества внеклеточных везикул, чем при неосложненной беременности [65]. Образованные внеклеточные везикулы являются источником фосфатидилсерина и тканевого фактора, что обуславливает их способность к системной активации свертывания [32, 65, 112, 166, 182, 193]. При этом, воздействие внеклеточных везикул на тромбоциты приводит к активации последних и образованию еще больше количества микровезикул, но уже тромбоцитарного генеза [65, 112]. Авторами публикаций также отмечается прогностическая значимость общего количества внеклеточных везикул и внеклеточных везикул плацентарного генеза для выявления беременных женщин, обладающих высоким риском развития клинической симптоматики ПЭ с увеличением срока гестации [201].

Изменения концентрации и активности лабораторных параметров плазменного гемостаза описаны в очень ограниченном объеме. Отмечается повышение активности ф.VIII, концентраций ф. Виллебранда, комплекса ТАТ и тромбомодулина [82].

Изменения концентрации D-димера у беременных с развившейся ПЭ обладают тенденцией, преимущественно, к увеличению по сравнению с женщинами в ходе неосложненной беременности [50, 81, 143, 147]. Однако, существуют единичные публикации результатов исследований, в которых описывается отсутствие различий в концентрации D-димера между группами беременных с ПЭ и нормальной беременностью [65, 111]. При этом, в большинстве публикаций отмечается более выраженное повышение концентрации D-димера у беременных с тяжелой формой преэклампсии (ТПЭ) по сравнению с преэклампсией умеренной тяжести (УПЭ) [81, 111, 147, 196]. При этом, в исследовании Shao et al. не было обнаружено значимых отличий

концентрации D-димера между группами беременных с УПЭ и ТПЭ [211]. Указывается, что более выраженное повышение концентрации D-димера при преэклампсии сопряжено с большей тяжестью состояния, ишемией плаценты, развитием полиорганной недостаточности и повышенным риском необходимости срочного родоразрешения путем кесарева сечения [143, 196].

С точки зрения изменения активности системы фибринолиза при развитии преэклампсии описано повышение уровня комплекса t-PA-PAI-1, что свидетельствует о выраженности процессов как активации, так и ингибирования фибринолиза [65].

Результатами описанных изменений в системе гемостаза служат повышение ресурса свертывающей системы организма и развитие гиперкоагуляционного статуса, более выраженные по сравнению с таковыми, наблюдаемыми при неосложненной беременности. В научных публикациях исследователи обращают внимание на повышенные риски развития ВТЭО у беременных с преэклампсией как в антенатальном, так и в постнатальном периодах [86, 113, 114].

При этом, в исследовании со включением более 1 млн. случаев было продемонстрировано отсутствие повышения риска ВТЭО в антенатальном периоде у женщин с развившейся преэклампсией. Однако, развитие преэклампсии было ассоциировано с повышением риска ВТЭО в постнатальном периоде по сравнению с неосложненной беременностью [137]. Данные об отсутствии связи развития преэклампсии и риска ВТЭО в антенатальном периоде, а также повышение указанного риска в постнатальном периоде были подтверждены и в исследованиях других авторов [152, 188].

В современных клинических рекомендациях ПЭ не относится к абсолютным показаниям к назначению антикоагулянтной профилактики ВТЭО, однако включена в соответствующую шкалу оценки риска [22, 173].

Несмотря на то, что при развитии преэклампсии гемостатический баланс претерпевает сложные изменения и характеризуется гиперкоагуляцией, у отдельных пациенток, беременность которых была осложнена развитием тяжелой формы ПЭ, результаты некоторых лабораторных исследований характеризуют

наличие у данных пациенток риска кровотечений (в особенности, при тяжелой ПЭ на фоне снижения количества тромбоцитов  $< 100 \times 10^9/\text{л}$ ) [28]. Было отмечено, что описанные изменения характеризуются снижением плотности сгустка (МА, максимальная амплитуда) в интегральных методиках, снижением уровня фибриногена и, в отдельных случаях, удлинением результатов ПВ и АЧТВ [150, 212]. Соответственно, сложный баланс компонентов системы гемостаза у беременных с ПЭ подвергается серьезным изменениям, не характеризующимся только повышением факторов прокоагуляции и ассоциированных рисков ВТЭО. Функциональная перегрузка печеночного синтеза может приводить к недостатку компонентов свертывания, обладающему потенциалом усиления при развитии множественных тромботических событий в сосудах микроциркуляции на фоне распространенной активации системы гемостаза [115].

Таким образом, несмотря на широко представленные в литературе заключения о развитии у беременных с ПЭ состояния гиперкоагуляции и активации свертывания, фактическая распространенность эпизодов ВТЭО в антенатальном периоде у данной группы беременных не превышает таковую при неосложненной беременности. При этом, объем данных об изменениях показателей системы гемостаза, характеризующих гемостатический потенциал и наличие активации свертывания у беременных с ПЭ, весьма скромнен и нуждается в расширении и дополнении.

#### **1.4. Изменения системы свертывания крови при предлежании и аномальной инвазии плаценты**

Несмотря на значительно продвинувшееся развитие методов лабораторной оценки системы гемостаза, а также современные методы её коррекции с применением компонентов крови, эпизоды кровотечений в акушерской практике остаются одним из наиболее тяжелых осложнений беременности, приводящих к критическим состояниям «near miss». По официальной информации МЗ РФ за 2017 – 2019 года, осложнения беременности в виде кровотечений являются причиной материнской смертности в 14,5% случаев, уступая только

экстрагенитальной патологии. Отмечается также и позитивная тенденция к снижению данного показателя на 16,8 – 24,1% в год [19].

К факторам высокого риска развития послеродовых кровотечений относятся, в том числе, предлежание (ПП), плотное прикрепление или врастание плаценты (аномальная инвазия, ВП), при этом преждевременная отслойка и ПП занимают лидирующую (47,6%) позицию в структуре материнской смертности от кровотечений [19, 21].

Врастание или аномальная инвазия плаценты представляет собой нарушение имплантации плаценты вследствие как изменений инвазивной и пролиферативной активностей трофобласта, так и морфологических нарушений в децидуальной оболочке. В результате указанных изменений происходит избыточная инвазия ворсин в эндометрий и, в некоторых случаях, в миометрий, что значительно осложняет самостоятельное отделение плаценты [29, 183, 213, 223]. Согласно классификации FIGO 2019 года (Federation of Gynecology and Obstetrics), степень аномальной инвазии плаценты подразделяется на 3 класса: 1 степень (*placenta adherenta or creta*) – плотное прикрепление или приращение плаценты к мышечному слою, 2 степень (*placenta increta*) – когда ворсины прорастают мышечный слой, 3 степень (*placenta percreta*) – когда плацента прорастает все слои матки [134]. Распространенность ВП варьирует в зависимости от региона исследования и составляет от 1,4 до 4,6 случаев на 10 тысяч родов [1].

Одним из главных факторов риска ВП является операция по абдоминальному родоразрешению путем кесарева сечения (КС) в анамнезе. При этом, наличие рубца на матке после однократного проведения кесарева сечения повышает риск ВП в 1,51 – 3,02 раза, повторное КС повышает риск еще в 1,28 раза, а третье в 1,96 раз [59, 110, 170]. При этом, даже на фоне существенного повышения риска ВП, родоразрешение у беременных с ПП и ВП выполняется с использованием КС [16]. В то же время, распространенность применения КС при родоразрешении растет как в РФ, так и во всем мире [8, 42]. Таким образом, наблюдается повышение частоты встречаемости компонентов представленного

цикла событий с сопутствующим увеличением числа акушерских кровотечений и смертности: частота родоразрешений путем КС растет по всему миру, КС в анамнезе повышает риски ПП и ВП при последующей беременности, родоразрешение последующей беременности также, вероятно, будет выполняться путем КС с дальнейшим нарастанием рисков осложнений [43, 168].

Клинические характеристики пациенток с ПП и ВП, алгоритмы их родоразрешения и различные тактики по снижению кровопотери подробно представлены в современной литературе, однако информация о лабораторных показателях, позволяющих оценить состояние системы гемостаза у данных пациенток, крайне ограничена. При этом, поддержание адекватного гемостатического потенциала крайне важно в связи с высокой скоростью плацентарного кровотока (~ 700 мл/мин) и риском развития значимых кровотечений на фоне смещения гемостатического баланса в сторону гипокоагуляции [224].

В различных исследованиях была описана связь и прогностическая способность выявления пониженных концентраций фибриногена в отношении риска развития тяжелых послеродовых кровотечений [62, 70, 98]. Наиболее значимыми дискриминационными значениями концентрации фибриногена авторы приводят в своих работах 2 г/л и 4 г/л, при этом указывая на 100% положительную предсказательную значимость концентрации <2 г/л и 79% отрицательную прогностическую значимость концентрации >4 г/л в отношении развития тяжелых послеродовых кровотечений [62, 70]. Важность достаточного количества фибриногена в крови беременных женщин была отмечена и в другом исследовании где была продемонстрирована прогностическая способность выявления низкой концентрации фибриногена в отношении неэффективности использования баллонной тампонады матки [172]. При этом, в исследовании 2015 года было указано, что концентрация фибриногена при неосложненной беременности значимо не изменяется в результате родов через естественные родовые пути и не связана с риском развития кровотечений >1000 мл. Основным

фактором риска развития послеродовых кровотечений авторы указывают акушерские осложнения беременности [138].

В исследовании Shamshirsaz A.A. et al. было отмечено, что у 30,1% беременных с ВП о время родоразрешения путем кесарева сечения с гистерэктомией была выявлена коагулопатия, установленная на основании снижения количества тромбоцитов  $<100 \times 10^9/\text{л}$ , концентрации фибриногена  $<3$  г/л и/или значения МНО  $>1,5$ . Развитие коагулопатии было связано со значимым увеличением объема кровопотери и необходимостью использования заместительной терапии компонентами крови, а также с высокой долей осложнений в виде развития явного синдрома ДВС (~60%). При этом, степень аномальной инвазии плаценты не оказывала влияния на факт развития у беременных коагулопатии [210].

В исследовании отечественных авторов использовался интегральный метод ротационной тромбоэластометрии (ROTEM) для оценки состояния системы гемостаза у беременных с ПП и ВП, родоразрешение которых происходило с использованием кесарева сечения при применении органосохраняющих методик в плановом порядке, а также у беременных, кесарево сечение с экстирпацией матки у которых было выполнено в экстренном порядке. Было показано, что состояние системы гемостаза при плановом проведении кесарева сечения и использовании органосохраняющих методик характеризуется нормокоагуляцией в то время как проведение экстренного кесарева сечения с экстирпацией матки было ассоциировано с развитием состояния гипокоагуляции, выражающейся в увеличении времени образования сгустка, снижения его эластичности, начальной скорости образования, а также максимальной амплитуды 10 и 20 минут после времени коагуляции [2]. Было продемонстрировано, что проведение интраоперационной аутореинфузии крови при проведении кесарева сечения не оказывает значимого влияния на результаты измерения ПВ, концентрации фибриногена и D-димера, а также параметры ROTEM. При этом отмечалось слабовыраженное, но статистически значимое укорочение результатов АЧТВ [218].

### **1.5. Возможности использования искусственного интеллекта, машинного обучения и анализа больших данных в оценке состояния гемостаза у беременных**

Лабораторную диагностику, как и многие другие сферы медицины, в настоящее время уже сложно представить без тех или иных преимуществ, которые предоставило изучение искусственного интеллекта, машинного обучения, анализа больших данных и нейронных сетей. Попытки внедрения нейронных сетей в клиническую практику начались в 90-х годах прошлого века и получили широкое распространение благодаря получению лучших результатов по сравнению с традиционными методами регрессионного, линейного, дискриминантного и других видов анализа [220]. Так, например, машинное обучение использовалось для анализа медицинской базы данных пациентов Медицинского центра Стэнфордского университета за период 2008-2014гг. База данных содержала информацию о клиническом состоянии пациентов, а также результаты тринадцати видов лабораторных тестов. В результате проведенного исследования было показано, что большинство результатов повторных лабораторных тестов (выполненных в течение четырнадцати дней после первичного назначения) существенно не отличались ( $\pm 10\%$  или  $\pm 0,1$  SD) от ранее полученных результатов. Указанное наблюдение позволило идентифицировать перечень исследований, периодичность назначения которых может быть сокращена. В то же время, проведение подобного анализа обеспечивает убедительные доказательства в поддержку необходимости динамического измерения отдельных лабораторных параметров, результаты которых менее стабильны и могут повлиять на принятие клинических решений [25]. Аналогичный подход был описан и в других исследованиях [231, 244]. В то же время, применение методов машинного обучения позволило выделить 12 из 20 изученных типов рутинных лабораторных тестов, нормальные результаты которых при повторном назначении в течение 24 часов могут быть предсказаны с высокими чувствительностью и специфичностью ( $AUC > 0,90$ ) [244]. В другом исследовании со включением порядка 600 тыс. результатов лабораторных



исследований и более 5,5 млн структурированных записей о клиническом состоянии пациентов авторами была разработана, обучена и протестирована нейронная сеть, использование которой позволило сократить количество назначений лабораторных исследований на 15% при снижении точности результатов на ~5% [248]. При этом, данный подход получил свое развитие в дальнейших исследованиях, что позволило предсказывать получение нормального/патологического результата исследования с 98,27% точностью при сокращении количества тестов на 20,26%, а также возможностей нейросети к динамической перестройке на основании согласования или отклонения оператором предлагаемых решений [249].

Другой точкой приложения машинного обучения, искусственного интеллекта и анализа больших данных является вопрос разработки предиктивных моделей результатов лабораторных тестов, использующих в своей основе результаты других, более распространенных и/или более доступных видов лабораторных исследований. Актуальность данного вопроса подтверждается ситуациями, когда назначение определенных исследований сокращено ввиду недостаточного финансирования, отсутствия необходимого технического оснащения или по другим причинам. В настоящее время уже опубликованы результаты исследований с применением машинного обучения для разработки предиктивных алгоритмов в отношении, например, выявления уровня ферритина вне референтного интервала ( $AUC = 0,97$ ). Входными данными для указанного алгоритма является клиническая информация о пациенте, а также, как минимум, два результата разных лабораторных тестов, доступных для выполнения в большинстве неспециализированных лабораторий (общий анализ крови, АЛТ, АСТ и др.). Было отмечено, что в некоторых случаях результаты использования алгоритма были более точны или предоставляли дополнительную информацию по сравнению с результатами прямого измерения ферритина [155].

Результаты современных лабораторных исследований предоставляют точную и, часто, незаменимую информацию о состоянии организма пациента, а также используются в составе клинических рекомендаций для принятия

клинических решений. В результате анализа литературы было показано, что информация об изменениях лабораторных маркеров активации свертывания при физиологической и осложненной беременности фрагментарна, является предметом дискуссий и дальнейших исследований в указанной области. Существует необходимость определения места лабораторных исследований, направленных на выявление и оценку степени выраженности активации свертывания крови на всех сроках гестации, в клинических рекомендациях по диагностике и профилактике венозных тромбозмболических осложнений при беременности.

Также, актуальным является вопрос возможности и эффективности применения искусственного интеллекта, машинного обучения и других современных математических методов для прогнозирования изменения результатов лабораторных исследований, в том числе концентрации фибриномера.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Характеристика лиц, включенных в исследование

Исследование было выполнено на базе ФГБУ НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России (г. Санкт-Петербург) и ГБУЗ Центр СПИД (г. Петропавловск-Камчатский) в рамках договора о научном сотрудничестве. Дизайн исследования ретроспективно-проспективный обсервационный. Исследование проведено со включением 1170 женщин и формированием 5 групп в соответствии с поставленными задачами:

Группа 1 – женщины с бесплодием, получающие лечение в программах ВРТ, на этапе после переноса эмбриона в полость матки (n=69).

Группа 2 – беременные женщины с развившейся преэклампсией умеренной или тяжелой степени на сроках с 20-й по 40-ю неделю гестации (n=86).

Группа 3 – беременные женщины с полным предлежанием и аномальной инвазией плаценты, родоразрешенные путем кесарева сечения в плановом порядке (n=11). Измерение лабораторных параметров выполнялось для данной группы в двух точках: группа 3а – на 36-37 неделе гестации и группа 3б – в течение 24 часов после родоразрешения.

Группа 4 – контрольная группа, которую составили 107 женщин с нормальной беременностью (коды по МКБ X в соответствии с клиническими рекомендациями «Нормальная беременность» 2020 г.) в I (n=95) и II-III (n=12) триместрах гестации.

Характеристики групп 1-4 по количеству включенных женщин и срокам гестации представлены в Таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика женщин, включенных в исследование

Группа	Срок гестации, недели (M±SD (min-max))
Группа 1 (n=69)	Не применимо
Группа 2 (n=86)	34,43±4,72 (22-40)

Группа 3a (n=11)	36,27±0,47 (36-37)
Продолжение таблицы 1	
Группа 3b (n=11)	Не применимо
Группа 4 (n=107)	10,07±4,02 (5-34)

Медиана и межквартильный интервал объема кровопотери в результате родоразрешения в группе 3b составили 800 [524 – 3400] мл. Частота развития послеродового кровотечения > 1000 мл составила 36,36%.

Группа 5 – беременные на разных сроках гестации, результаты обследования которых послужили основанием для разработки и валидации модели прогнозирования повышения концентрации фибрин-мономера (n=897). Для отработки модели использовали результаты лабораторных измерений - ПВ, АЧТВ, концентрации фибриногена по Clauss, ТВ, концентрации D-димера, а также информацию о сроке гестации. В данную группу были включены все беременные женщины с известными результатами указанных лабораторных параметров, выполненных в пределах 24 часов от времени измерения ФМ, а также диагнозом по МКБ X и сроком гестации.

Беременные женщины в группе 5 были случайным образом разделены на 2 подгруппы: группа 5a (n=512) – результаты лабораторных параметров в данной группе использовались для разработки прогностической модели; группа 5b (n=385) – группа, результаты лабораторных параметров в которой использовались для валидации прогностической модели. Минимальный срок гестации в группе 5a составил 3 недели, а максимальный 39 недель. Медиана срока беременности в группе 5a составила 20 [11,5 – 30,0] недель. Количество беременных в группе 5a в первом триместре гестации составило 31,5%, во втором – 35,5% и в третьем – 33,0%. Минимальный срок гестации в группе 5b составил 4 недели, а максимальный 39 недель. В группе 5b медиана срока беременности была статистически значимо ниже чем в группе 5a ( $p < 0,01$ ) и составила 18 [14,0 – 28,0] недель. Количество беременных в группе 5b в первом триместре гестации составило 24,4%, во втором - 45,5% и в третьем - 30,1%.

Характеристика групп по встречаемости различных заболеваний и состояний в соответствии с МКБ X представлена в Таблице 2.

Таблица 2.

Диагнозы, установленные у беременных женщин в группах 5a и 5b.

Код по МКБ X	Расшифровка кода по МКБ X	Группа 5a		Группа 5b		Значение p
		n = 512	%	n = 385	%	
O10.0	Существовавшая ранее эссенциальная гипертензия, осложняющая беременность, роды и послеродовой период	1	0,20%	5	1,30%	Не применимо
O12	Вызванные беременностью отеки и протеинурия без гипертензии	22	4,30%	4	1,04%	p > 0,05
O20.0	Угрожающий аборт	2	0,39%	2	0,52%	p > 0,05
O21.0	Рвота беременных легкая или умеренная	2	0,39%	1	0,26%	Не применимо
O22	Венозные осложнения во время беременности	1	0,20%	4	1,04%	Не применимо
O23	Инфекция мочеполовых путей при беременности	21	4,10%	25	6,49%	p > 0,05
O26	Медицинская помощь матери в связи с другими состояниями, связанными преимущественно с беременностью	215	41,99%	141	36,62%	p > 0,05
O28	Отклонения от нормы, выявленные при антенатальном обследовании матери	47	9,18%	48	12,47%	p > 0,05
O30.0	Беременность двойней	7	1,37%	4	1,04%	p > 0,05
O34.2	Послеоперационный рубец матки, требующий предоставления медицинской помощи матери	10	1,95%	1	0,26%	Не применимо
O36.0	Резус-иммунизация, требующая предоставления медицинской помощи матери	2	0,39%	0	0,00%	Не применимо
O40	Многоводие	0	0,00%	1	0,26%	Не применимо
O43	Плацентарные нарушения	3	0,59%	2	0,52%	p > 0,05
O44.0	Предлежание плаценты, уточненное как без кровотечения	2	0,39%	0	0,00%	Не применимо
O47	Ложные схватки	2	0,39%	0	0,00%	Не применимо

Продолжение таблицы 2						
O98.5	Другие вирусные болезни, осложняющие беременность, деторождение или послеродовой период	2	0,39%	0	0,00%	Не применимо
O99	Другие болезни матери, классифицированные в других рубриках, но осложняющие беременность, роды и послеродовой период	63	12,30%	61	15,84%	$p > 0,05$
Z01.4	Гинекологическое обследование (общее) (рутинное)	2	0,39%	1	0,26%	Не применимо
Z32	Обследование и тесты для установления беременности	69	13,48%	76	19,74%	$p > 0,05$
Z34	Наблюдение за течением нормальной беременности	33	6,45%	9	2,34%	$p > 0,05$
Z35	Наблюдение за течением беременности у женщины, подвергающейся высокому риску	5	0,98%	0	0,00%	Не применимо
Z39.2	Рутинное послеродовое наблюдение	1	0,20%	0	0,00%	Не применимо

Критерии невключения в группы 1-4: проводимая на момент взятия крови антикоагулянтная терапия, наличие значимых видов тромбофилии, злокачественные новообразования, развитие синдрома гиперстимуляции яичников у пациенток в группе 1.

Критерии невключения беременных женщин в группы 5a и 5b не были определены, т.к. научный поиск был направлен на разработку и валидацию прогностической модели для всех беременных женщин вне зависимости от наличия у них коморбидной патологии и использования лекарственных препаратов.

## 2.2 Лабораторные методы исследования

Пациенткам из групп 1 и 4 выполнялись исследования ПВ по Quick (%), АЧТВ (сек), концентраций фибриногена (г/л), D-димера (мкг/мл FEU) и фибрин-

мономера (мкг/мл). Пациенткам из групп 2, 3a и 3b выполнялись исследования ПВ по Quick (%), АЧТВ (сек), концентраций фибриногена (г/л), фибрин-мономера (мкг/мл) и D-димера (мкг/мл FEU), а также параметров теста генерации тромбина. Беременным из групп 5a и 5b выполнялись исследования ПВ по Quick (%), АЧТВ (сек), ТВ (сек), концентраций фибриногена (г/л), фибрин-мономера (мкг/мл) и D-димера (мкг/мл FEU).

Венозную кровь для выполнения назначенных лабораторных тестов собирали утром, натощак и с использованием вакуумных систем взятия крови с наполнителем в виде цитрата натрия. С целью исключения интерферирующего влияния антикоагулянтной терапии на проводимые исследования, взятие крови у пациенток с развившейся преэклампсией осуществлялось до введения антикоагулянтных препаратов.

Пробоподготовка образцов крови для проведения исследований выполнялась в соответствии с официальными инструкциями к реагентам. В случае накопления биоматериала для отложенного выполнения исследований, проводилось освобождение плазмы от тромбоцитов (двойное центрифугирование), аликвотирование и замораживание при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Длительность хранения аликвот не превышала 1 месяца. Размораживание аликвот проводилось в термостате при  $37^{\circ}\text{C}$  до полного оттаивания.

Для измерения показателей плазменного гемостаза использовались автоматические анализаторы гемостаза STA-Compact и STA-Compact Max (Diagnostica Stago S.A.S., Франция), а также оригинальные реагенты, калибровочные и контрольные материалы производства Diagnostica Stago S.A.S., Франция.

Методика ПВ выполнялась клоттинговым методом с реагентом STA-Neoplastine CI PLUS. Принцип теста ПВ состоит в использовании тромбoplastина и ионов  $\text{Ca}^{2+}$  для активации системы свертывания по внешнему пути с определением времени образования фибринового сгустка.

Интерпретация результатов измерения ПВ выполнялась в соответствии с рекомендациями производителя реагента. Значения  $> 70 \%$  являются нормальными. Результаты, превышающие  $100 \%$ , не являются патологическими.

Методика АЧТВ выполнялась клоттинговым методом с реагентом STA-PTT А 5. Принцип теста АЧТВ состоит в использовании кефалина (тромбоцитоподобные фосфолипиды), активатора фактора XII (кремний, каолин, полифенольный активатор и др.) и ионов  $\text{Ca}^{2+}$  для активации системы свертывания по внутреннему пути с определением времени образования фибринового сгустка.

Методика фибриноген по Clauss выполнялась клоттинговым методом с реагентом STA-Fib 2. Измерение концентрации фибриногена по Clauss основано на определении времени свертывания при рекальцификации плазмы в присутствии избытка тромбина, что приводит к отщеплению от молекул фибриногена фибринопептидов А и В с образованием молекул фибрин-мономера, дальнейшей их полимеризацией и формированием сгустка.

Методика ТВ выполнялась клоттинговым методом с реагентом STA-Thrombin. Измерение тромбинового времени основано на определении времени свертывания при рекальцификации плазмы в присутствии стандартного количества тромбина, что приводит к отщеплению от молекул фибриногена фибринопептидов А и В с образованием молекул фибрин-мономера, дальнейшей их полимеризацией и формированием сгустка.

Измерение концентрации D-димера выполнялось методом иммунотурбидиметрии с латексным усилением (реагент STA-Liatest D-di). Методика основана на изменении светопропускания суспензии микрочастиц латекса, измеряемого фотометрически. Суспензию микрочастиц латекса, покрытых специфическими моноклональными антителами к D-димеру человека, смешивают с исследуемой плазмой, в которой измеряется концентрация D-димера. Происходит реакция антиген – антитело, ведущая к агглютинации микрочастиц латекса, что приводит к увеличению мутности и оптической плотности реакционной смеси, измеряемой фотометрическим методом. Степень



увеличения оптической плотности зависит от концентрации D-димера, присутствующего в исследуемой плазме.

При интерпретации результатов измерения АЧТВ, концентраций фибриногена и D-димера использовались референтные интервалы, специфичные для соответствующего срока гестации и послеродового периода [219]. Данные интервалы указаны в Приложении 1.

Измерение концентрации фибрин-мономера также выполнялось методом иммунотурбидиметрии с латексным усилением (реагент STA-Liatest FM). Методика основана на изменении светопропускания суспензии микрочастиц, измеряемого фотометрическим методом. Суспензию микрочастиц латекса, с которыми ковалентно связаны моноклональные антитела к фибрин-мономеру, смешивают с исследуемой плазмой. Происходит реакция антиген - антитело, ведущая к агглютинации латексных микрочастиц, увеличению мутности и оптической плотности реакционной среды. Степень увеличения оптической плотности зависит от количества фибрин-мономеров, присутствующих в исследуемой плазме как в свободной форме, так и в виде растворимых комплексов с другими фибрин-мономерами, молекулами фибриногена и ПДФ.

Измерение параметров теста генерации тромбина выполнялось методом, предложенным Hemker H.C. [121]. Для проведения ТГТ использовались реагенты компании Thrombinoscope B.V. (Маастрихт, Нидерланды), входящей в состав компании Diagnostica Stago S.A.S., Франция. Измерения выполнялись в 96-луночных планшетах для микротитрования. К 80 мкл плазмы, полученной путем двойного центрифугирования добавлялось 20 мкл стартового реагента (PPP реагент, содержащий смесь фосфолипидов в концентрации 4 пмоль/л и тканевого фактора в концентрации 5 пмоль/л) [64]. Считывание результатов интенсивности флуоресценции выполняли при 390/460 нм, формирование графиков образования тромбина и расчет показателей ТГТ (LT, ETP, Peak и ttPeak) выполнялось с использованием планшетного флюориметра Fluoroskan Ascent (Thermo Fisher SCIENTIFIC, Финляндия) и программного обеспечения Thrombinoscope версии

3.0.0.26. Графическое представление примера кривой генерации тромбина указано на Рисунке 1.

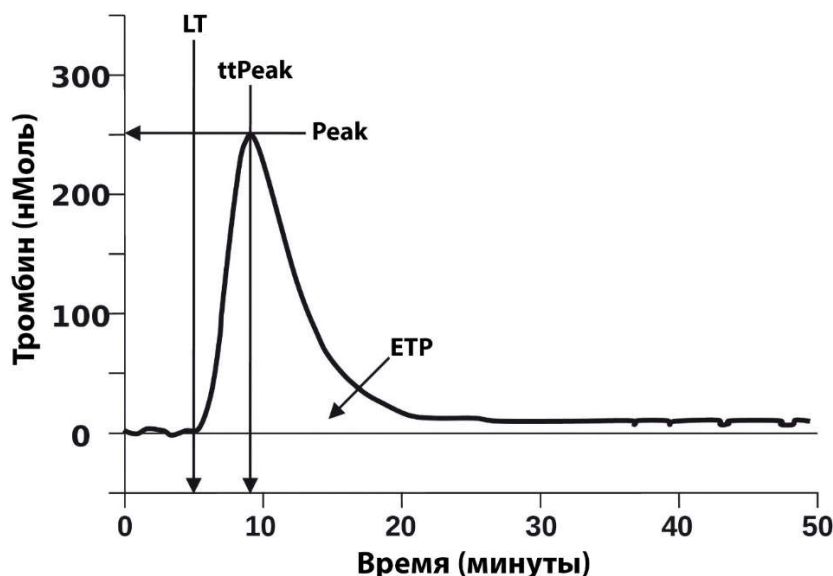


Рисунок 1. Пример кривой генерации тромбина и измеряемых в методике параметров.

При интерпретации результатов измерения параметров теста генерации тромбина использовались референтные интервалы, специфичные для соответствующего срока гестации и послеродового периода [13]. Данные интервалы указаны в Приложении 2.

### 2.3 Статистические и математические методы обработки данных

Статистический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel, Statistica 12.0 (TIBCO Software Inc.) и MedCalc 20.104 (MedCalc Software Ltd). Для описания количественных данных использовали значения медианы и интерквартильного размаха  $Me [Q1 - Q3]$ . Выбор статистических методов анализа данных осуществлялся в зависимости от объема и характера распределения данных в выборке. Проверка вариационных рядов на нормальность выполнялась с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро–Уилка.

Определение значимости различий количественных переменных в двух независимых группах выполнялось с использованием t-критерия Стьюдента, критерия Колмогорова-Смирнова и критерия Манна–Уитни (p).

Выявление и оценку значимости корреляционных связей между результатами лабораторных исследований проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Оценка силы выявленных значимых корреляционных связей выполнялась по шкале Чеддока: слабая — от 0,1 до 0,3; умеренная — от 0,3 до 0,5; заметная — от 0,5 до 0,7; высокая — от 0,7 до 0,9; весьма высокая (сильная) — от 0,9 до 1,0. Отрицательное значение r расценивалось как обратная (отрицательная) корреляционная связь с аналогичной градацией по шкале силы корреляции.

Критической величиной уровня значимости всех статистических тестов (p) считался  $p \leq 0,05$ .

**Математические методы.** Для разработки прогностической модели превышения концентрацией фибрин-мономера верхнего предела референтного интервала при беременности использовался метод символьной регрессии: с помощью генетического программирования из элементарных функций составляются формулы, наилучшим образом описывающие имеющиеся данные, после чего для выбора наиболее подходящей модели анализируется кривая Парето, соответствующая компромиссу между простотой и точностью моделей [48]. После нахождения общего вида модели ее параметры оптимизируются методом роя частиц [205]. При этом, в качестве целевой функции используется взвешенная точность (WA) являющаяся средним взвешенным значений чувствительности (true positive rate, TPR) и специфичности (true negative rate, TNR):

$$WA(w) = wTPR + (1 - w)TNR, 0 < w < 1$$

Здесь w — заранее выбранный фиксированный вес. Вес w сообщает программе-оптимизатору, в какой степени она должна обращать внимание на чувствительность, а в какой — на специфичность. При этом, параметры модели, максимизирующие взвешенную точность (при любом фиксированном w), всегда

будут давать оптимальный баланс значений чувствительности и специфичности. Такой подход к оптимизации обеспечивает лучшие результаты по сравнению с теми, которые достигаются вычислением только одного набора параметров, максимизирующих показатель AUC (area under curve, площадь под кривой). Процессы оптимизации параметров модели и кросс-валидации выполнялись в программной среде R. Все использованные программные команды опубликованы на ресурсе GitHub [102].

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1 Показатели скрининговых клоттинговых исследований гемостаза и концентрации маркеров активации свертывания при использовании вспомогательных репродуктивных технологий

При сравнении результатов измерения рутинных клоттинговых показателей системы гемостаза (ПВ, АЧТВ, концентрация фибриногена) у пациенток, получающих лечение в программах ВРТ, с результатами в группе женщин с неосложненной беременностью отмечено более высокое содержание фибриногена в плазме беременных женщин с неосложненной беременностью (Таблица 3).

Таблица 3.

Результаты рутинных клоттинговых исследований системы гемостаза у пациенток в программах ВРТ (группа 1) при сравнении с результатами, полученными в контрольной группе (группа 4), Ме [Q1 - Q3]

	Группа 1	Группа 4
ПВ по Quick (%)	101 [92 - 108]	100 [93 - 107]
АЧТВ (сек)	32,7 [30,7 - 34,7]	31,7 [30,1 - 33,0]
Концентрация фибриногена (г/л)	2,82 [2,4 - 3,22]*	4,03 [3,65 - 4,42]

Примечание: \* -  $p < 0,001$  – достоверность различий по отношению к группе 4 (контрольная группа).

Медианы значений ПВ по Quick и АЧТВ у женщин в программах ВРТ оставались в пределах установленных производителем реагентов референтных интервалов для общей популяции ( $> 70\%$  и 28,9 - 38,1 сек соответственно). У беременных в контрольной группе медиана результатов измерения ПВ по Quick соответствовала референтному интервалу, определенному производителем реагентов, а медиана результатов измерения АЧТВ не выходила за пределы референтного интервала для медианного срока гестации в данной группе – 10 недель (Приложение 1) [219]. Статистически значимые различия по данным показателям между группами отсутствовали. Полученные результаты соответствуют литературным данным, указывающим на то, что значения данных

скрининговых тестов не подвержены значительным изменениям при развитии беременности [219]. При этом, в группе женщин с неосложненной беременностью по сравнению с женщинами в программах ВРТ было отмечено достоверное, но не выходящее за пределы референтного интервала для медианного срока гестации в данной группе, повышение концентрации фибриногена (Приложение 1) [219]. Нарастание концентрации фибриногена в группе женщин с неосложненной беременностью объясняется повышением уровня данного маркера с увеличением срока гестации, в то время как женщины в программах ВРТ находятся еще на самом раннем этапе развития данного состояния.

При анализе результатов измерения концентраций фибрин-ассоциированных маркеров (фибрин-мономер и D-димер) у пациенток в программах ВРТ и женщин с неосложненной беременностью было отмечено отсутствие значимых повышений данных показателей в обеих группах (Таблица 4). При этом, концентрация ФМ в обеих группах была ниже 6 мкг/мл, представляющего собой верхний предел референтного интервала, определенного производителем для общей популяции. Статистически достоверные различия концентраций ФМ и D-димера между группами также отсутствовали ( $p > 0,05$ ).

Таблица 4.

Результаты измерения концентраций ФМ и D-димера у пациенток в программах ВРТ (группа 1) при сравнении с результатами, полученными в контрольной группе (группа 4), Me [Q1 - Q3]

	Группа 1	Группа 4
Концентрация ФМ (мкг/мл)	5,0 [5,0 - 5,0]	5,0 [5,0 - 5,0]
Концентрация D-димера (мкг/мл)	0,46 [0,30 - 0,75]	0,51 [0,32 - 0,76]

Степень риска развития ВТЭО при беременности, наступившей в результате применения ВРТ, а также необходимость антенатального назначения антикоагулянтной профилактики в данной группе женщин является предметом дискуссий, однако, в современных клинических рекомендациях использование ВРТ не является самостоятельным индикатором для назначения препаратов низкомолекулярных гепаринов и учитывается только как дополнительный фактор

риска развития ВТЭО [22, 173]. В то же время, полученные результаты измерения концентрации ФМ свидетельствуют об отсутствии выраженной активации свертывания на данном этапе реализации программ ВРТ, а уровень D-димера, не превышающий значение cut-off для общей популяции (0,5 мкг/мл), подкрепляет положение о том, что на раннем этапе реализации программ ВРТ гормон-ассоциированное повышение гемостатического потенциала крови не приводит к образованию значимого количества фибрина и кумуляции продуктов его деградации. Указанные факты обуславливают необходимость персонифицированного подхода к назначению антикоагулянтной профилактики в ходе реализации программ ВРТ.

Корреляционные связи, выявленные в группе пациенток, получающих лечение в программах ВРТ, характеризовались слабой силой и не удовлетворяли критерию признания их достоверными ( $p > 0,05$ ).

### **3.2 Показатели скрининговых клоттинговых исследований гемостаза, теста генерации тромбина и концентрации маркеров активации свертывания при развитии преэклампсии**

Согласно положениям актуальных клинических рекомендаций по ПЭ и другим осложнениям беременности, ассоциированным с повышением артериального давления, для общей оценки состояния системы гемостаза используется ряд рутинных клоттинговых тестов – ПВ, АЧТВ, концентрация фибриногена. При этом, авторами отмечено, что изменения результатов данных тестов недостаточно специфичны и не характеризуют тяжесть ПЭ, однако могут являться показанием для назначения профилактики тромбоэмболических осложнений или кровотечения [20]. При анализе полученных результатов измерения ПВ, АЧТВ и концентрации фибриногена у беременных женщин с преэклампсией было отмечено статистически значимое укорочение времени образования фибринового сгустка в результате активации коагуляции по внешнему (повышение % ПВ по Quick) и внутреннему (укорочение АЧТВ) путям

свертывания, а также при добавлении в реакционную смесь тромбина (повышение концентрации фибриногена) (Таблица 5).

Таблица 5.

Результаты рутинных клоттинговых исследований системы гемостаза у беременных с ПЭ (группа 2) при сравнении с результатами, полученными в контрольной группе (группа 4), Me [Q1 - Q3]

	Группа 2	Группа 4
ПВ по Quick (%)	118 [109 - 126]*	100 [93 - 107]
АЧТВ (сек)	27,6 [25,8 - 30,1]*	31,7 [30,1 - 33,0]
Концентрация фибриногена (г/л)	4,56 [3,95 - 5,47]*	4,03 [3,65 - 4,42]

Примечание: \* -  $p < 0,001$  – достоверность различий по отношению к группе 4 (контрольная группа).

При этом, в группе женщин с развившейся ПЭ медиана результатов измерения ПВ по Quick соответствовала референтному интервалу, определенному производителем реагентов ( $> 70\%$ ), а медианы результатов измерения АЧТВ и концентрации фибриногена не выходили за пределы референтных интервалов для неосложненной беременности при медианном сроке гестации в группе 2, составляющем 34 недели (Приложение 1) [219].

Результаты рутинных клоттинговых тестов (ПВ и АЧТВ) предоставляют общую информацию о состоянии системы плазменного гемостаза, но не обладают ценностью при необходимости выявления гиперкоагуляционных сдвигов. Для формирования сгустка *in vitro* достаточно только 5% всего, образуемого в процессе коагуляции, тромбина, а пик его генерации при использовании единичного стимула приходится на 5-6 минуту [161]. В свою очередь, детекция сгустка в тестах ПВ и АЧТВ происходит существенно раньше, во временном интервале 13 - 45 секунд. Другим важным фактором является сама попытка воссоздать процессы, происходящие *in vivo* в условиях *in vitro*. Известно, что одним из главных компонентов поддержания гемостатического баланса *in vivo* является система естественных антикоагулянтов (антитромбин, протеины С и S, а также ингибитор пути тканевого фактора). Однако, «изоляция» процессов активации свертывания *in vitro* от остальных компонентов системы гемостаза в



ходе проведения методик ПВ и АЧТВ не позволяет оценить их влияние на итоговые изменения в системе коагуляции. Например, было показано, что у лиц с дефицитом естественных антикоагулянтов развивается состояние тромбофилии с повышенным риском развития ВТЭО, однако данные изменения не приводят к укорочению времени свертывания в тестах ПВ и АЧТВ [227]. Указанные факторы существенно ограничивают использование результатов рутинных клоттинговых тестов в качестве клинически значимых показателей нарастания гемостатического потенциала и активации системы свертывания крови [149, 242].

При оценке уровней маркеров активации свертывания (ФМ, D-димер) в группе женщин с развившейся ПЭ по сравнению с контрольной группой было отмечено увеличение их концентрации (Таблица 6).

Таблица 6.

Результаты измерения концентраций ФМ и D-димера у беременных с ПЭ (группа 2) при сравнении с результатами, полученными в контрольной группе (группа 4), Me [Q1 - Q3]

	Группа 2	Группа 4
Концентрация ФМ (мкг/мл)	5,0 [5,0 - 6,76]*	5,0 [5,0 - 5,0]
Концентрация D-димера (мкг/мл)	1,67 [1,1 - 2,52]*	0,51 [0,32 - 0,76]

Примечание: \* -  $p < 0,001$  – достоверность различий по отношению к группе 4 (контрольная группа).

В то же время, на фоне сохранения медианы концентрации ФМ у беременных с ПЭ в пределах референтного интервала для общей популяции ( $< 6$  мкг/мл), у отдельных пациенток (26,74%) были выявлены значения концентрации ФМ, превышающие верхний предел референтного интервала для общей популяции в несколько раз (Рисунок 2). Данный фактор являлся причиной выявления статистически значимых отличий концентраций ФМ между указанными группами.

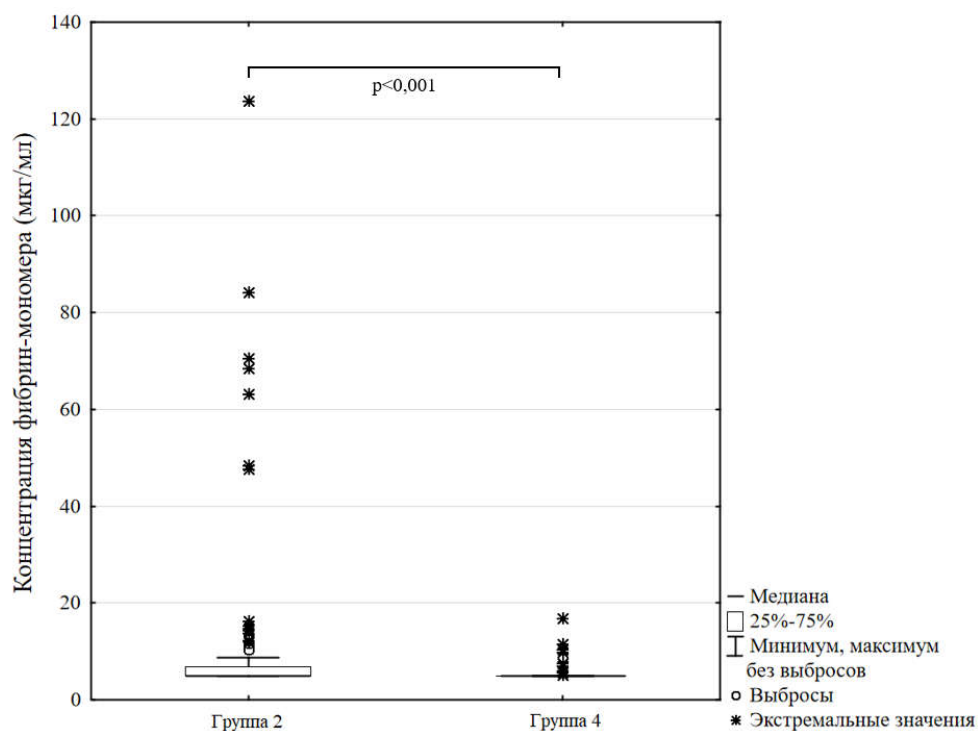


Рисунок 2. Концентрация фибрин-мономера у беременных с развившейся преэклампсией (группа 2) и в контрольной группе (группа 4).

Отдельной причиной, которая может объяснить отсутствие более выраженного увеличения медианы концентрации ФМ при ПЭ, является снижение уровня ФМ у беременных с хронической гипертензией, а также у пациенток, принимающих кокаин, описанное в работе Grossman et al. [107]. Оба указанных фактора ассоциированы с вазоконстрикцией и повышением артериального давления, что объединяет их с состоянием ПЭ и обеспечивает возможность частичного использования описанных результатов при анализе концентраций ФМ на фоне развития преэклампсии [180].

Медиана концентрации D-димера у беременных с ПЭ была в более чем 3 раза выше таковой в контрольной группе и превышала верхнюю границу референтного интервала для соответствующего срока гестации в 20,24% случаев (Приложение 1) [219] (Рисунок 3). Выявленные статистически значимые отличия концентрации D-димера могут быть объяснены как патогенезом развившегося клинического состояния, так и обстоятельством, что медиана срока гестации при

обследовании беременных с ПЭ была выше таковой при обследовании беременных контрольной группы.

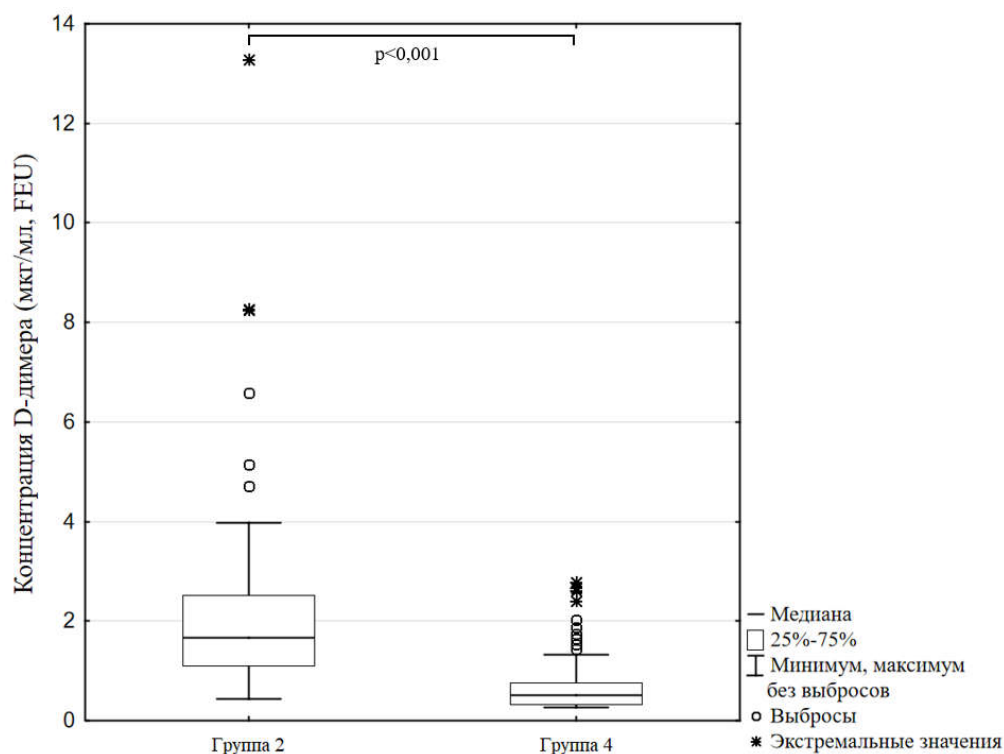


Рисунок 3. Концентрация D-димера у беременных с развившейся преэклампсией (группа 2) и в контрольной группе (группа 4).

Представленные данные о характере изменений концентраций D-димера и ФМ на фоне ПЭ свидетельствуют о неоднородности состояния активации свертывания в данной группе беременных. При проведении дополнительного анализа концентраций маркеров активации свертывания у беременных с ПЭ были применены опубликованные Kristoffersen et al. (<math>< 10,8</math> мкг/мл) и Kawamura et al. (<math>< 35</math> мкг/мл) референтные интервалы ФМ при беременности [141, 146]. Использование указанных референтных интервалов позволило сократить долю патологических значений ФМ до 17,44% и 8,14% соответственно. В то же время было показано, что, вне зависимости от выбранного верхнего предела референтного интервала концентрации ФМ (<math>< 10,8</math> мкг/мл или <math>< 35</math> мкг/мл), доля пациенток, у которых нарастание уровня ФМ было ассоциировано с повышением концентрации D-димера, существенно не изменялась (40,00% и 42,86% соответственно). В остальных случаях повышение уровня ФМ было изолировано

от уровня D-димера, что характеризует более выраженную остроту процессов активации свертывания. Данный факт позволяет сделать предположение о том, что у беременных с изолированным повышением ФМ процесс активации свертывания был инициирован незадолго до взятия крови для проведения исследований, в то время как у беременных с синхронным увеличением концентраций ФМ и D-димера процесс активации свертывания и образования фибрина присутствовал в сосудистом русле более длительное время, достаточное для частичного лизиса фибриновой сети и повышения уровня D-димера.

Таким образом, значительное повышение уровня ФМ у беременных с ПЭ, как совместно с D-димером, так и изолированно, может характеризоваться как фактор риска развития ВТЭО и акушерских осложнений. При этом, согласно актуальным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению преэклампсии 2021г, при некоторых случаях развития ПЭ обоснован вариант пролонгирования беременности до оптимального и зависящего от тяжести ПЭ срока гестации без родоразрешения в неотложном порядке [20]. Учитывая быструю кинетику снижения концентрации ФМ при исчезновении или супрессии фактора, провоцирующего активацию свертывания крови, на фоне использования антикоагулянтных препаратов, перспективной является возможность измерения концентрации ФМ для оценки эффективности действия НМГ и его влияния на улучшение клинических исходов при применении выжидательной тактики и пролонгации беременности у пациенток с ПЭ [140].

При анализе результатов измерения параметров ТГТ были использованы опубликованные отечественными авторами референтные интервалы для разных сроков гестации (Приложение 2) [13]. Отмечено, что изменение всех результатов, выходящих за пределы референтных интервалов, носило однонаправленный характер. Так параметры LT и ttPeak характеризовались исключительно удлинением значений, параметр ETP был повышен, а параметр Peak снижен (Таблица 7).

Параметры теста генерации тромбина у беременных с развившейся ПЭ (группа 2), Me [Q1 - Q3] и доли результатов, выходящих за пределы референтного интервала (Приложение 2) [13]

	Группа 2	Доля результатов, выходящих за пределы референтного интервала
LT (мин)	3,67 [3,0 - 4,83]	68%, ↑
ETP (нмоль/л×мин)	2585 [2055 - 2969]	41%, ↑
Peak (нмоль/л)	314,27 [221,77 - 355,71]	23%, ↓
ttPeak (мин)	7,75 [6,83 - 11,83]	59%, ↑

Примечание: стрелками указаны направленности изменений соответствующих параметров.

Полученные результаты свидетельствуют о более медленном, по сравнению с неосложненной беременностью, развитии процессов генерации тромбина и достижения им пиковых значений при активации свертывания. В то же время, основной параметр ТГТ, характеризующий общее количество образующегося тромбина - ETP, остается без изменений или несколько повышается даже у пациенток со сниженным показателем Peak, что свидетельствует о сохранении гемостатического потенциала плазмы, адекватного таковому при неосложненной беременности на соответствующем сроке гестации.

В соответствии с данными литературы, осложненная развитием преэклампсии беременность характеризуется изменением параметров ТГТ в виде нарастания показателей ETP и Peak [156]. При этом, авторами публикаций также описывается значимое удлинение показателя LT. Удлинение показателя LT при сохранении активности основных компонентов свертывающей системы является следствием ответной реакции эндотелия на его активацию с сопутствующим изменением уровней ингибитора пути тканевого фактора и тромбомодулина [80, 151].

Результаты ТГТ, полученные в данном исследовании для беременных с ПЭ, соответствовали литературным данным в части изменения показателей LT и ETP,

однако для отдельных пациенток (23%) были получены сниженные результаты пиковой концентрации тромбина.

В процессе анализа результатов лабораторных исследований, полученных в группе беременных с преэклампсией, также был выявлен ряд статистически значимых корреляционных связей (Рисунок 4).

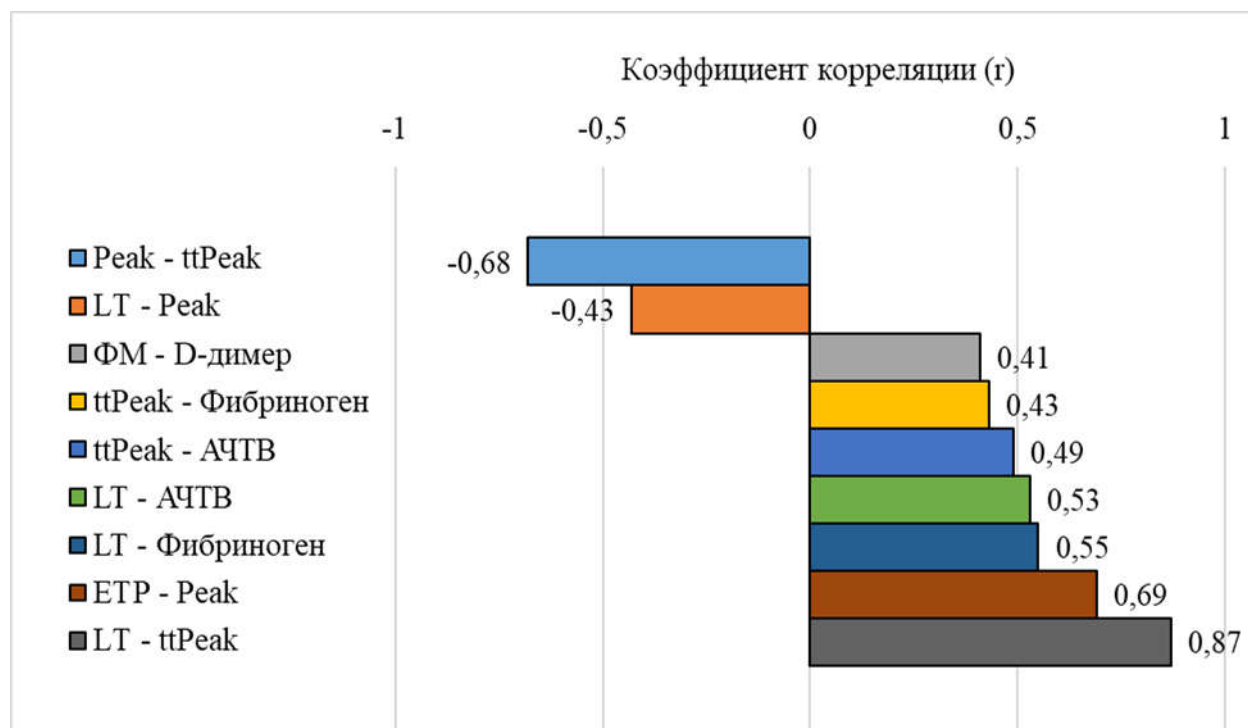


Рисунок 4. Статистически значимые ( $p < 0,05$ ) корреляционные связи, выявленные в группе беременных с преэклампсией (группа 2).

Выявление статистически значимых корреляционных связей между результатами измерения АЧТВ, концентрации фибриногена и параметрами теста генерации тромбина при отсутствии таковых с концентрациями D-димера и ФМ служит одним из доказательств ограниченного потенциала использования рутинных исследований гемостаза и показателей теста генерации тромбина при необходимости выявления активации коагуляционной системы. Напротив, использование рутинных клоттинговых тестов и параметров теста генерации тромбина позволяет оценить «гемостатический ресурс» организма, что не доступно при измерении маркеров активации свертывания. В то же время, была выявлена достоверная связь умеренной силы ( $r = 0,41$ ;  $p < 0,05$ ) между результатами

измерения концентраций ФМ и D-димера, что, с одной стороны, подтверждает факт наличия известной патофизиологической связи данных показателей, а с другой стороны не демонстрирует более высоких значений корреляции т.к. наличие и динамика изменений концентрации данных маркеров может существенно отличаться в зависимости от клинической ситуации.

### **3.3 Показатели скрининговых клоттинговых исследований гемостаза, теста генерации тромбина и концентрации маркеров активации свертывания у беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты**

В отличие от данных литературы, у беременных с ПП и ВП до и после родоразрешения путем КС не было выявлено статистически значимых изменений результатов ПВ по Quick (активность ПВ по Quick во всех случаях сохранялась >70%), однако было отмечено достоверное укорочение времени свертывания в тесте АЧТВ [210] (Таблица 8).

Таблица 8.

Результаты рутинных клоттинговых исследований системы гемостаза у беременных с ПП и ВП до (группа 3а) и после (группа 3б) КС при сравнении с результатами, полученными в контрольной группе (группа 4), Ме [Q1 - Q3]

	Группа 3а	Группа 3б	Группа 4
ПВ по Quick (%)	107 [96 - 113]	102 [96 - 109]	100 [93 - 107]
АЧТВ (сек)	26,7 [24,8 - 27,4]*	28,1 [25,0 - 31,7]**	31,7 [30,1 - 33,0]
Концентрация фибриногена (г/л)	3,72 [3,42 - 4,84]	2,8 [2,44 - 4,0]*, §	4,03 [3,65 - 4,42]

Примечание: \* -  $p < 0,001$  – достоверность различий по отношению к группе 4 (контрольная группа); \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий по отношению к группе 4 (контрольная группа); § -  $p < 0,05$  – достоверность различий по отношению к группе 3а (беременные с ПП и ВП до родоразрешения путем КС)

В отношении значений концентрации фибриногена у беременных с ПП и ВП до и после КС было отмечено снижение данного показателя относительно референтного интервала в 36,36% и 54,55% случаях соответственно (Приложение

1) [219]. Однако, статистическая значимость указанных изменений была выявлена только при сравнении группы 3b (беременные с ПП и ВП после КС) с группами 3a и 4 (беременные с ПП и ВП до КС и контрольная группа). При этом, в группе 3b медиана концентрации фибриногена выходила за пределы нижней границы референтного интервала для дня родоразрешения через естественные родовые пути (Приложение 1) [219]. Отмеченное снижение концентрации фибриногена после родоразрешения путем КС согласуется с данными исследования, описывающего большую выраженность изменений уровня фибриногена при КС на фоне осложненной беременности по сравнению с нормально протекающей беременностью [138].

Изменения маркеров активации свертывания при ПП и ВП также характеризовались большей степенью выраженности изменений, чем при развитии нормальной беременности (Таблица 9).

Таблица 9.

Результаты измерения концентраций ФМ и D-димера у беременных с ПП и ВП до (группа 3a) и после (группа 3b) КС при сравнении с результатами, полученными в контрольной группе (группа 4), Me [Q1 - Q3]

	Группа 3a	Группа 3b	Группа 4
Концентрация ФМ (мкг/мл)	5,51 [5,0 - 14,83]**	101,5 [65,44 - 150,0]*. §§	5,0 [5,0 - 5,0]
Концентрация D-димера (мкг/мл)	1,86 [1,25 - 3,89]*	6,8 [3,89 - 10,77]*. §	0,51 [0,32 - 0,76]

Примечание: \* -  $p < 0,001$  – достоверность различий по отношению к группе 4 (контрольная группа); \*\* -  $p < 0,01$  – достоверность различий по отношению к группе 4 (контрольная группа); § -  $p < 0,001$  достоверность различий по отношению к группе 3a (беременные с ПП и ВП до родоразрешения путем КС); §§ -  $p < 0,01$  достоверность различий по отношению к группе 3a (беременные с ПП и ВП до родоразрешения путем КС)

Так концентрация фибрин-мономера была статистически значимо повышена у беременных с ПП и ВП как до, так и после КС по сравнению с концентрацией данного анализа в контрольной группе. Уровень фибрин-мономера у беременных с ПП и ВП до КС был повышен относительно верхнего



предела референтного интервала для общей популяции ( $< 6$  мкг/мл) в 45,45% случаев, а у беременных с ПП и ВП после КС данный показатель был увеличен в 100% случаев. При этом, было отмечено многократное ( $>15$  раз) превышение значением медианы ФМ границы референтного интервала для общей популяции в группе беременных с ПП и ВП после КС (Рисунок 5). Столь выраженное повышение было ассоциировано с наличием достоверных различий концентрации ФМ в указанной группе по сравнению с беременными с ПП и ВП до КС и контрольной группой.

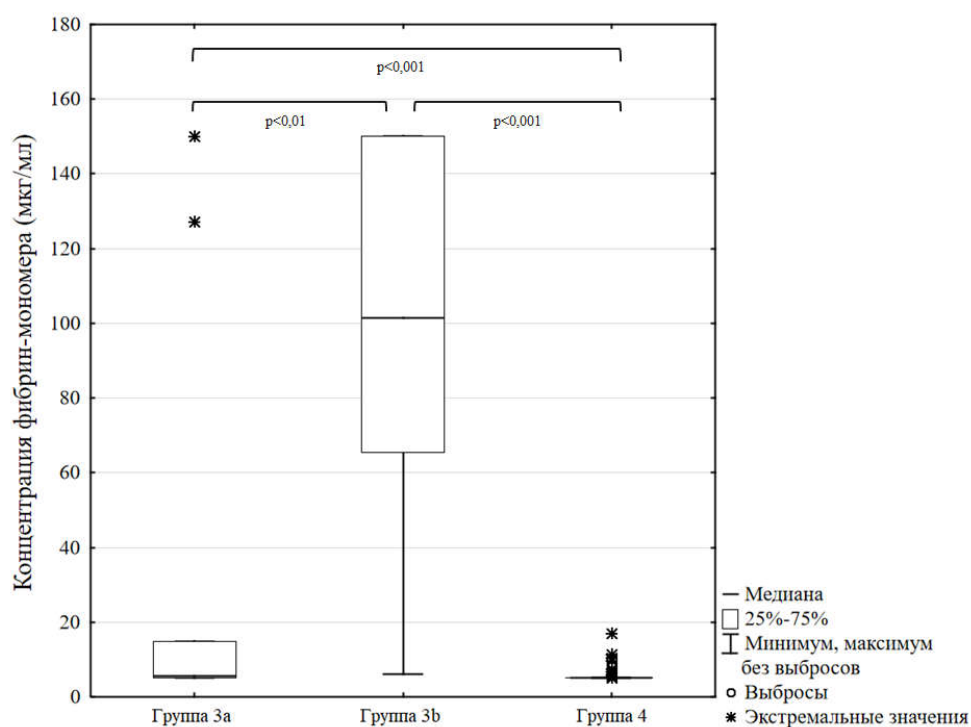


Рисунок 5. Концентрация фибрин-мономера у беременных с ПП и ВП до (группа 3a) и после (группа 3b) КС, а также в контрольной группе (группа 4).

Учитывая, что фибрин-мономер рассматривается именно как маркер активации свертывания и повышенного риска развития тромботических событий, интересной находкой стало выявление статистически значимой корреляционной связи уровня ФМ в группе с ПП и ВП до КС (группа 3a) с объемом кровопотери при родоразрешении ( $r=0,70$ ;  $p<0,05$ ), а также самим фактом развития послеродового кровотечения ( $r=0,67$ ;  $p<0,05$ ). С целью разработки порогового значения уровня ФМ в отношении риска развития послеродового кровотечения  $>$

1000 мл был проведен ROC-анализ и определена оптимальная точка cut-off концентрации фибрин-мономера, составившая 8,25 мкг/мл и характеризовавшаяся следующими аналитическими характеристиками: AUC  $0,893 \pm 0,118$  (95% ДИ 0,567 — 0,996),  $p=0,001$ , чувствительность 75%, специфичность 100% (Рисунок 6).

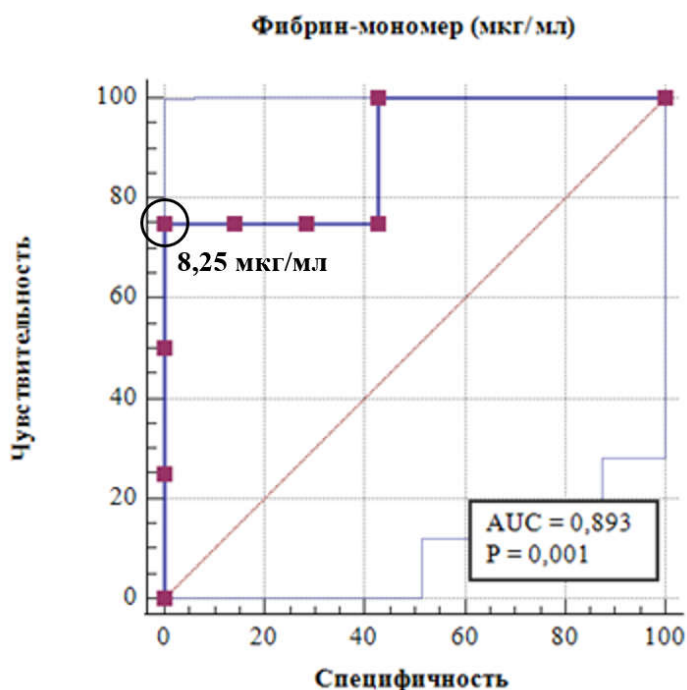


Рисунок 6. ROC-кривая прогнозирования развития послеродового кровотечения  $> 1000$  мл на основании значения концентрации фибрин-мономера, измеренного на 36-37 неделе гестации.

Изменения концентрации D-димера при ПП и ВП также характеризовались повышением по сравнению с таковыми, полученными в контрольной группе (Рисунок 7).

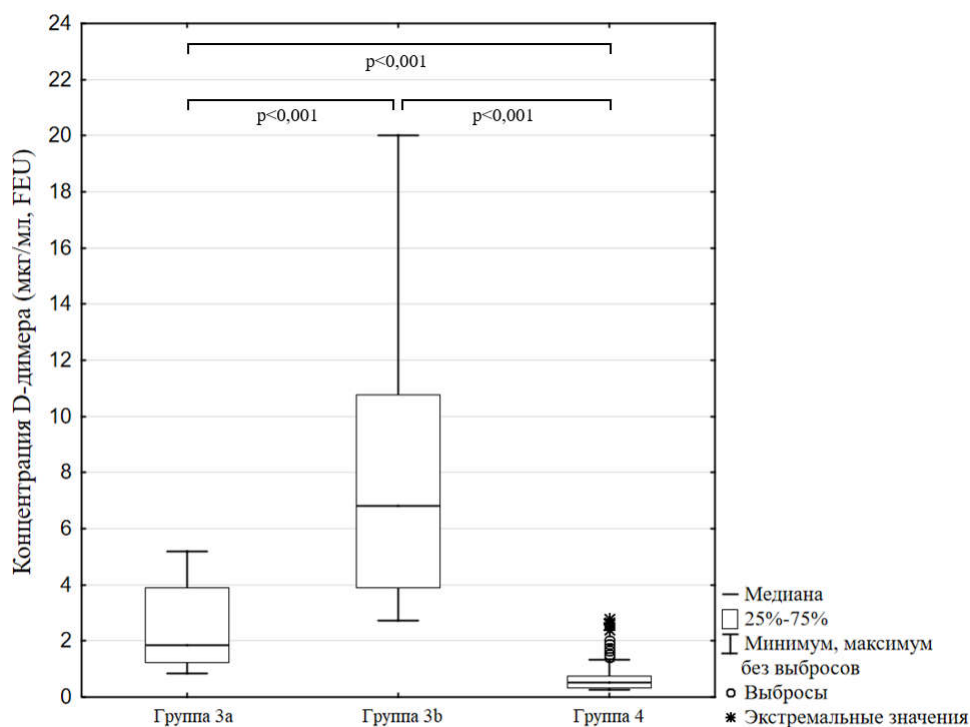


Рисунок 7. Концентрация D-димера у беременных с ПП и ВП до (группа 3a) и после (группа 3b) КС, а также в контрольной группе (группа 4).

При этом наибольшее повышение концентрации D-димера было выявлено у беременных с ПП и ВП после КС. Указанное повышение было достоверно значимо относительно значений D-димера, полученных в данной группе до КС. При этом, доля результатов измерения концентрации D-димера, превышающих соответствующий референтный интервал (для 36-37 недели гестации и для дня родоразрешения соответственно), была одинакова в обеих группах и составила 27,27% (Приложение 1) [219].

Как и в случае с фибрин-мономером, концентрация D-димера у беременных с ПП и ВП до КС обладала статистически достоверной связью с объемом кровопотери при родоразрешении ( $r=0,64$ ;  $p<0,05$ ), что было также описано и другими авторами [109]. Однако, связь данного показателя с фактом развития послеродового кровотечения  $>1000$  мл была статистически не значима.

При использовании опубликованных Kristoffersen et al. ( $<10,8$  мкг/мл) и Kawamura et al. ( $<35$  мкг/мл) референтных интервалов ФМ количество патологических результатов было сокращено в группе 3a с 45,45% до 27,27% и

18,18% соответственно, а также в группе 3b с 100% до 90,90% и 81,81% соответственно [141, 146]. При этом, увеличение референтного интервала с 10,8 мкг/мл до 35 мкг/мл не оказало влияние на долю пациенток с сочетанным повышением ФМ и D-димера. Их количество в группах 3a и 3b составило 18,18% и 27,27% соответственно. Указанные данные свидетельствуют о том, что D-димер является «запаздывающим» маркером активации свертывания и его повышение выявляется у пациенток тогда, когда концентрация ФМ уже значительно увеличилась до > 35 мкг/мл.

Описанные изменения уровней маркеров активации свертывания подкрепляют литературные данные, свидетельствующие об активности процессов фибринообразования и фибринолиза в сосудах микроциркуляции у беременных с ПП и ВП [135]. Многократное повышение уровней D-димера и ФМ у пациенток после проведения кесарева сечения (группа 3b по сравнению с группой 3a), патофизиологически связано с высвобождением в кровоток большого количества наиболее значимого активатора свертывания – тканевого фактора. Несмотря на данный факт, медиана концентрации D-димера в группе 3b не выходила за верхний предел референтного интервала для дня родоразрешения (Приложение 1) [219].

Сравнение полученных результатов показателей ТГТ проводилось с использованием опубликованных ранее референтных интервалов для разных сроков беременности (Приложение 2) [13]. Отмеченные изменения были сходны с изменениями, наблюдавшимися в группе беременных с ПЭ в части направленности данных изменений: параметры LT и ttPeak характеризовались удлинением значений, параметр ETP был повышен, а параметр Peak снижен (Таблица 10).

Таблица 10.

Параметры теста генерации тромбина у беременных с ПП и ВП до (группа 3а) и после (группа 3б) КС (Ме [Q1 - Q3]) и доли результатов, выходящих за пределы референтного интервала (Приложение 2) [13]

	Группа 3а		Группа 3б	
LT (мин)	3,33 [3,17 - 3,33]	82%, ↑	3,0 [2,67 - 3,5]	55%, ↑
ETP (нмоль/л×мин)	2381 [2107 - 2433]	9%, ↑	2221 [2095 - 2474]	36%, ↑
Peak (нмоль/л)	351,69 [327,12 - 386,11]	9%, ↓	367,71 [314,81 - 418,36]	9%, ↓
ttPeak (мин)	6,0 [5,67 - 6,67]	9%, ↑	5,5 [5,0 - 6,17]	27%, ↑

Примечание: стрелками указаны направленности изменений соответствующих параметров.

При этом, результаты ТГТ, полученные для беременных с ПП и ВП как до, так и после КС характеризовались меньшей вариабельностью и долей патологических результатов по сравнению с таковыми, полученными в группе беременных с преэклампсией. Влияние родоразрешения путем кесарева сечения на показатели ТГТ обследованных пациенток неоднозначно. С одной стороны, возрастала доля пациенток с повышенными значениями эндогенного потенциала тромбина и снижалась доля пациенток с удлиненным показателем LT, что характеризует увеличение гемостатического потенциала плазмы и сокращение времени инициации свертывания. С другой стороны, увеличивалась доля повышенных значений ttPeak характеризующая меньшую скорость достижения пиковой концентрации тромбина при воздействии активатора свертывания. Отдельно обращает на себя внимание и отсутствие достоверных различий по параметрам LT, ETP, Peak и ttPeak между беременными с ПП и ВП до и после родоразрешения путем КС. Данный факт позволяет предположить сохранение адекватного гемостатического потенциала у беременных с ПП и ВП после КС и возможности реализации риска ВТЭО при наличии дополнительных факторов риска.

В процессе анализа результатов лабораторных исследований, полученных в группе пациенток с ПП и ВП после КС был выявлен ряд статистически значимых

корреляционных связей (Рисунок 8). Корреляционные связи в группе беременных с ПП и ВП до КС были статистически не значимы ( $p > 0,05$ ).

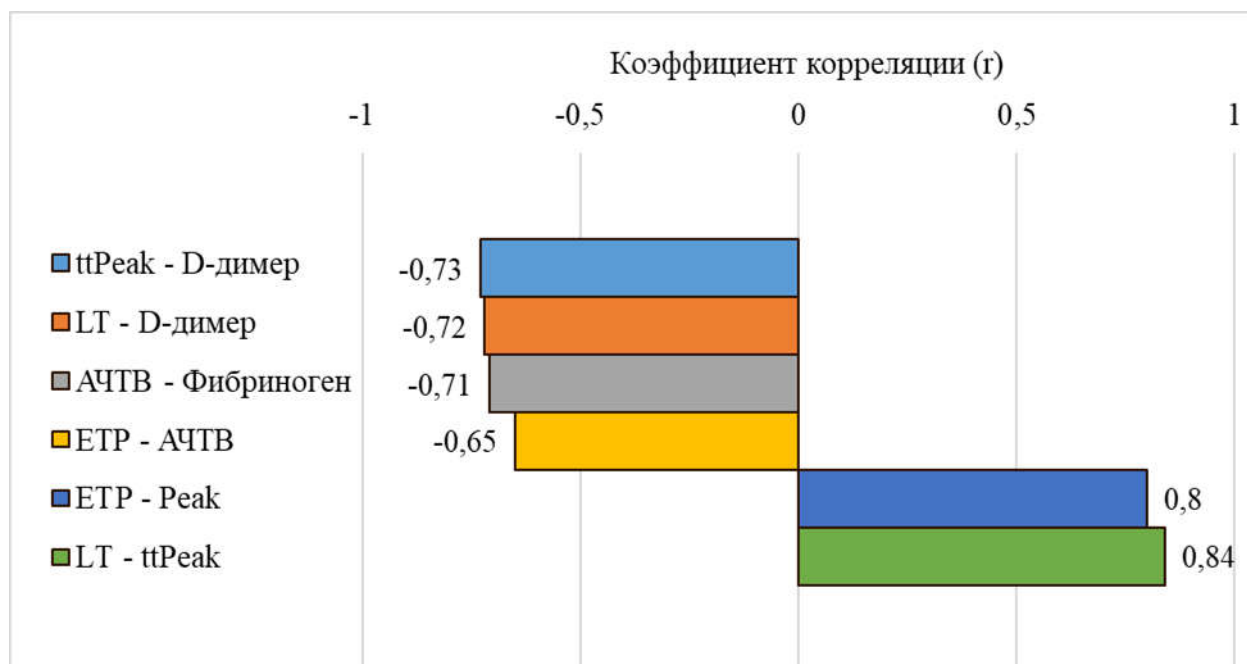


Рисунок 8. Статистически значимые ( $p < 0,05$ ) корреляционные связи, выявленные в группе беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты после кесарева сечения (группа 3b).

### 3.4 Прогнозирование повышения концентрации фибрин-мономера при беременности с использованием машинного обучения

С целью разработки прогностической модели в пул данных для обработки были включены такие показатели как: ПВ, АЧТВ, концентрация фибриногена, ТВ, концентрации D-димера и ФМ, а также срок беременности обследованных женщин. Полученные результаты лабораторных тестов, а также выявленные статистически значимые различия между обследованными группами представлены в Таблице 11.

Результаты исследований системы гемостаза у беременных в обучающей (группа 5a) и тестовой (группа 5b) выборках, Me [Q1 - Q3]

	Группа 5a (n = 512)	Группа 5b (n = 385)
ПВ (% по Quick)	102 [97 - 109]	103 [95 - 109]
АЧТВ (сек)	30,5 [29,1 – 32,3]	30,3 [28,9 – 31,8]
Концентрация фибриногена (г/л)	4,61 [4,03 – 5,28]	4,24 [3,75 – 4,99]*
ТВ (сек)	14,6 [14,2 – 15,1]	14,4 [14,0 – 14,9]*
D-димер (мкг/мл)	1,13 [0,64 – 1,88]	0,82 [0,48 – 1,44]*
Фибрин-мономер (мкг/мл)	5,00 [5,00 – 6,93]	5,30 [5,00 – 6,70]*

Примечание: \* -  $p < 0,001$  достоверность различий по отношению к группе 5a

На основании оценки лабораторных параметров и срока гестации в группе 5a с использованием метода символьной регрессии было выявлено, что наибольшей ценностью в предсказании повышения уровня ФМ характеризуются

значения  $\log(\text{ТВ})$ ,  $\log(\text{D-димер})$  и  $\log\left(\frac{\text{концентрация фибриногена}}{\text{неделя гестации}}\right)$ . Далее были сформированы две прогностические модели повышения концентрации ФМ  $> 10,8$  мкг/мл:

Модель 1:

Модель 2:

Примечание:  $\log$  – натуральный логарифм; a – коэффициент a; b – коэффициент b

Дальнейшее повышение предсказательных возможностей моделей на основании поиска максимально возможного значения взвешенной точности (WA) осуществлялось с использованием метода роя частиц, автоматически подбиравшего наиболее подходящие коэффициенты a и b при  $w = 0,176$  и  $w = 0,5$  для модели 1, а также при  $w = 0,176$  и  $w = 0.65$  для модели 2.

Указанные значения  $w$  были определены с учетом дальнейшего использования полученных моделей для наиболее эффективного разделения значений в группе 5a на три зоны — зону высокой вероятности выявления уровня ФМ  $> 10,8$  мкг/мл, зону низкой вероятности выявления уровня ФМ  $> 10,8$  мкг/мл и «серую зону» (зону неопределенности). При этом учитывалась и необходимость обеспечения устойчивости значений чувствительности и специфичности, рассчитанных при используемых значениях  $w$ , к процессу поэтапной кросс-валидации.

При анализе Рисунка 9 было отмечено, что субъективно определенные границы зон совпадают с границами, автоматически построенными алгоритмом.

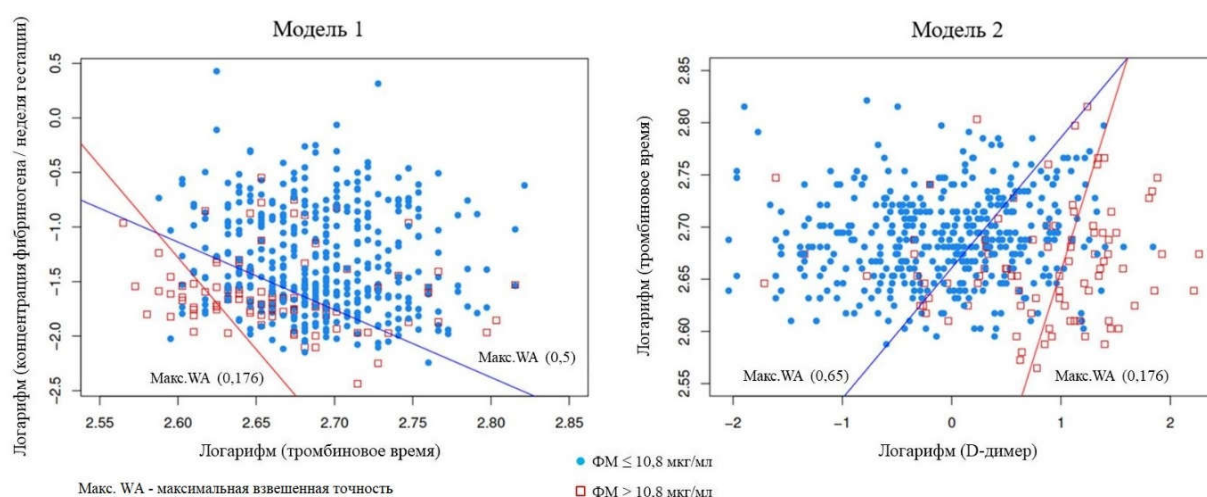


Рисунок 9. Визуализация применения полученных на основе моделей 1 и 2 линейных классификаторов для разделения беременных в обучающей выборке (группа 5a).

В Таблице 12 представлены результаты leave-one-out кросс-валидации (LOOCV) моделей 1 и 2 с расчетом показателей чувствительности (true positive rate, TPR) и специфичности (true negative rate, TNR).

Таблица 12.

Коэффициенты  $a$  и  $b$ , полученные путем оптимизации взвешенной точности на обучающей выборке (группа 5a), и результаты кросс-валидации данной

ОПТИМИЗАЦИИ



	Модель 1		Модель 2	
Значение w	0,176	0,5	0,176	0,65
Значение a	-16,848	-6,202	0,334	0,125
Значение b	42,523	14,987	2,324	2,661
TPR (95% ДИ)	22,2% (14,1–32,2%)	68,9% (58,3–78,2%)	40,0% (29,8–50,9%)	85,6% (76,6–92,1%)
Продолжение таблицы 12				
TNR (95% ДИ)	98,1% (96,3–99,2%)	75,1% (70,7–79,2%)	96,7% (94,5–98,2%)	63,5% (58,7–68,1%)

Примечание: TPR - true positive rate (истинно положительная пропорция, чувствительность); TNR - true negative rate (истинно отрицательная пропорция, специфичность)

Использование моделей с коэффициентами a и b, полученными при  $w = 0,176$ , позволило определить зоны высокой вероятности выявления концентрации ФМ  $> 10,8$  мкг/мл в которые попадут: для модели 1 — 22,2% (95% ДИ 14,1–32,2%) всех случаев повышенной концентрации ФМ и только 1,9% (95% ДИ 0,8–3,7%) всех случаев нормальной концентрации ФМ, а для модели 2 — 40,0% (95% ДИ 29,8–50,9%) случаев повышенной концентрации ФМ и только 3,3% (95% ДИ 1,8–5,5%) случаев нормальной концентрации ФМ.

Применение коэффициентов a и b для  $w = 0,5$  (модель 1) и  $w = 0,65$  (модель 2) позволило выделить зоны низкой вероятности выявления концентрации ФМ  $> 10,8$  мкг/мл в которые попадут: для модели 1 — 75,1% (95% ДИ 70,7–79,2%) всех случаев нормальной концентрации ФМ и 31,1% (95% ДИ 21,8–41,7%) всех случаев повышенной концентрации ФМ, а для модели 2 — 63,5% (95% ДИ 58,7–68,1%) случаев нормальной концентрации ФМ и 14,4% (95% ДИ 7,9–23,4%) случаев повышенной концентрации ФМ.

Результаты проведения валидации моделей с коэффициентами a и b на независимой тестовой выборке (группа 5b), представлены на Рисунке 10 и в Таблице 13.

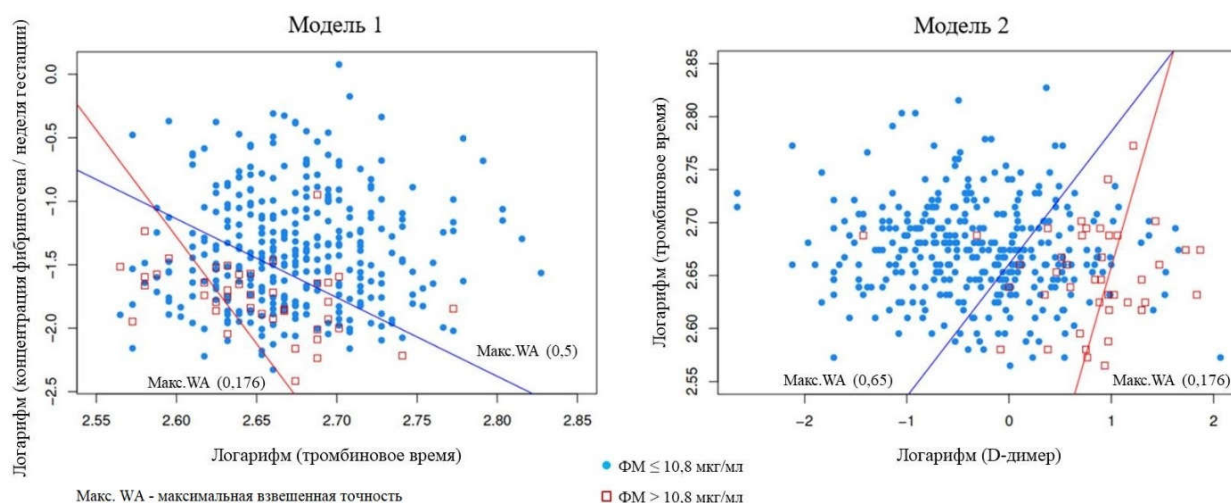


Рисунок 10. Визуализация применения линейных классификаторов, полученных на обучающей выборке (группа 5а), для разделения беременных в тестовой выборке (группа 5б).

Таблица 13.

Результаты валидации моделей 1 и 2 на тестовой выборке (группа 5б)

	Модель 1		Модель 2	
	0,176	0,5	0,176	0,65
Значение $w$	0,176	0,5	0,176	0,65
Значение $a$	-16,848	-6,202	0,334	0,125
Значение $b$	42,523	14,987	2,324	2,661
TPR	29,3%	85,4%	36,6%	95,1%
(95% ДИ)	(16,1–45,5%)	(70,8–94,4%)	(22,1–53,1%)	(83,5–99,4%)
TNR	90,1%	63,1%	96,8%	66,9%
(95% ДИ)	(86,5–93,1%)	(57,7–68,2%)	(94,4–98,4%)	(61,6–71,8%)

Примечание: TPR - true positive rate (истинно положительная пропорция, чувствительность); TNR - true negative rate (истинно отрицательная пропорция, специфичность)

Применение к тестовой выборке моделей с коэффициентами  $a$  и  $b$ , полученными при  $w = 0,176$ , позволило выделить: для модели 1 — 29,3% (95% ДИ 16,1–45,5%) всех случаев повышенной концентрации ФМ при попадании 9,9% (95% ДИ 6,9–13,5%) случаев нормальной концентрации ФМ в зону высокой вероятности повышенного ФМ, а для модели 2 — 36,6% (95% ДИ 22,1–53,1%) случаев повышенной концентрации ФМ при попадании лишь 3,2% (95% ДИ 1,6–5,6%) случаев нормальной концентрации ФМ в зону высокой вероятности повышенного ФМ.

Использование для анализа тестовой выборки моделей с коэффициентами  $a$  и  $b$ , полученными при  $w = 0,5$  (модель 1) и  $w = 0,65$  (модель 2), позволило

выделить: для модели 1 — 63,1% (95% ДИ 57,7–68,2%) всех случаев нормальной концентрации ФМ при попадании 14,6% (95% ДИ 5,6–29,2%) случаев повышенной концентрации ФМ в зону низкой вероятности повышенного ФМ, а для модели 2 — 66,9% (95% ДИ 61,6–71,8%) всех случаев нормальной концентрации ФМ при попадании лишь 4,9% (95% ДИ 0,6–16,5%) случаев повышенной концентрации ФМ в зону низкой вероятности повышенного ФМ.

По результатам валидации моделей 1 и 2 на независимой тестовой выборке (группа 5b) были отмечены:

1. Существенно увеличившаяся доля ложноположительных результатов с использованием модели 1 (с 1,9% до 9,9%)
2. Улучшенные характеристики модели 2 по сравнению с таковыми, полученными при leave-one-out кросс-валидации.

Более успешное прохождение моделью 2, по сравнению с моделью 1, процедуры валидации на независимой тестовой выборке стало причиной использования данной модели в составе алгоритма действий при клинических ситуациях, ассоциированных с возможным повышением уровня ФМ на фоне беременности (Рисунок 11).



Рисунок 11. Алгоритм использования модели 2 при обследовании беременных женщин с подозрением на наличие активации системы свертывания.

Использование алгоритма с введением результатов измерения ТВ и D-димера, полученных в тестовой выборке (группа 5b), характеризовалось чувствительностью 88,2% (95% ДИ 63,6–98,5%) и специфичностью 95,4% (95% ДИ 92,0–97,7%) с учетом невключения в расчет результатов, отнесенных алгоритмом к «зоне неопределенности» (33,0%, 95% ДИ 28,3–37,9%).

Одно из основных отличий метода символьной регрессии по сравнению с более распространенными методами регрессии заключается в отсутствии необходимости как самостоятельного проведения оператором электронно-вычислительной машины (ЭВМ) первичного анализа данных и определения основного вектора поиска, так и выбора регрессоров для построения модели. Метод символьной регрессии способен проводить анализ всех включенных в работу данных без непосредственного участия оператора ЭВМ, а также выстраивать общий вид модели для её дальнейшего уточнения [205, 240]. В то же время, наличие статистически значимых отличий результатов ТВ, концентраций фибриногена, D-димера и ФМ между обучающей (группа 5a) и тестовой (группа 5b) выборками при отсутствии ухудшения аналитических характеристик модели 2 в процессе валидации на независимой тестовой выборке характеризует корректность работы модели 2 у беременных, состояние системы гемостаза которых отличается от такового в обучающей выборке, и служит дополнительным подтверждением надежности процесса валидации.

В ходе разработки прогностической модели было обнаружено, что, среди результатов исследований ПВ, АЧТВ, концентрации фибриногена и ТВ, наибольшей предсказательной ценностью обладали результаты ТВ ( $p < 0,05$ ). Указанный факт в особенности интересен с учетом того, что, в настоящее время, ТВ не расценивается как значимый лабораторный параметр, измерение которого в дополнение к тестам ПВ, АЧТВ и концентрации фибриногена может предоставить дополнительную информацию о состоянии системы свертывания пациента. И напротив, включение в состав модели 2 дополнительных параметров в виде результатов измерения ПВ, АЧТВ и концентрации фибриногена не оказывало значимого вклада в улучшение её аналитических характеристик. При

этом следует отметить, что использованный метод символьной регрессии не подразумевает наличия линейных причинно-следственных связей между включенными в модель параметрами. В данной связи затруднительным представляется вопрос объяснения причин превосходства значений ТВ перед результатами других клоттинговых тестов при построении модели 2. При этом, в современной научной литературе описаны различные модификации методики тромбинового время, разработанные с целью повышения диагностической значимости данного теста. Например, Wada H. et al. была предпринята попытка модификации теста ТВ со внесением в реакционную смесь относительно низкой концентрации тромбина (0,01 МЕ/мл) с целью моделирования процессов, реализованных в тесте генерации тромбина и выявления пациентов с дефицитом компонентов свертывающей системы, а также с качественными или количественными нарушениями тромбоцитарного звена гемостаза [236].

Различия аналитических характеристик, полученные между моделями 1 и 2 при их валидации (LOOCV и валидация на тестовой выборке) объясняются характером изменения значений параметров, включенных в данные модели, на фоне беременности. Известно, что увеличение срока даже неосложненной беременности тесным образом ассоциировано с нарастанием уровней фибриногена и D-димера, таким образом, все три указанных показателя обладают единой направленностью изменений [219]. При этом, в научных публикациях отсутствуют данные о наличии достоверных связей уровней ФМ с концентрацией фибриногена и сроком гестации. Напротив, статистически значимая ассоциация умеренной силы была отмечена между концентрациями ФМ и D-димера [4, 5, 107, 126]. Таким образом, можно сделать заключение, что значения срока беременности и концентрации фибриногена могут выступать в роли входных данных для разработанных моделей предсказания повышения концентрации ФМ, однако их ценность в данном отношении уступает таковой, наблюдаемой для показателя концентрации D-димера, как одного из маркеров активации свертывания и образования фибрина [237].

Несмотря на существующее объективное мнение о низкой целесообразности измерения ТВ в рутинном порядке, тенденцию к исключению данного параметра из перечня скрининговых клоттинговых тестов, а также ограниченную диагностическую эффективность изолированного измерения концентрации D-димера на фоне гестации, использование данных параметров для разработки прогностических моделей и алгоритмов позволяет создать дополнительный источник информации об изменениях значений других лабораторных тестов и обуславливает необходимость рассмотрения вопроса о включении данных тестов в перечень назначений при наличии в распоряжении лаборатории соответствующей предиктивной модели.

В условиях ограниченной доступности измерения концентрации фибриномономера вне специализированных лабораторий и с учетом патофизиологической значимости данного биомаркера, применение модели 2 полезно для предоставления врачу-клиницисту информации о состоянии активации системы свертывания в настоящий момент времени и проявления обоснованной настороженности в отношении развития осложнений. При этом, облегчение использования разработанных модели и алгоритма за счет автоматизации расчета и выдачи результата обуславливают целесообразность их внедрения в работу лабораторных информационных систем.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования подтверждают и дополняют описанные в литературе данные об идущих процессах активации свертывания в крови беременных женщин с преэклампсией, предлежанием и аномальной инвазией плаценты, степень выраженности которых зависит от конкретной клинической ситуации.

ФМ способен выявлять состояние активации системы свертывания у женщин, получающих лечение в программах ВРТ, а также у пациенток, беременность которых была осложнена развитием ПЭ, ПП и ВП по принципу «здесь и сейчас». Используемые в лабораторной практике скрининговые клоттинговые тесты, D-димер, а также специализированный метод оценки способности системы гемостаза к образованию тромбина служат своим целям, но не дают ответа на вопрос об активности процессов реализации имеющегося у пациентки гемостатического потенциала с повышением рисков тромботических и акушерских осложнений беременности.

Указанные преимущества ФМ как лабораторного маркера активации свертывания объясняются патофизиологией его образования на самом раннем этапе процесса формирования фибринового сгустка, а также высокой скоростью его элиминации из организма со снижением концентрации при отсутствии фактора, поддерживающего активацию свертывания.

Одним из основных ограничений широкого применения теста ФМ является ограниченный объем доказательной базы по использованию данного биомаркера в клинической практике. В данной связи необходимо проведение дополнительных крупных контролируемых исследований по изучению изменения концентрации ФМ при осложненной беременности. Высокой значимостью обладает вопрос подтверждения перспектив измерения ФМ в группе беременных женщин с ПЭ для определения возможностей улучшения клинических исходов при назначении антикоагулянтной профилактики препаратами НМГ, а также в группе беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты для прогнозирования объема

кровопотери и развития послеродового кровотечения даже на фоне нормальной концентрации фибриногена.

Использование полученных данных об изменениях концентрации ФМ и других лабораторных параметров гемостаза при реализации программ ВРТ, а также при развитии ПЭ, ПП и ВП в сочетании с предложенным алгоритмом предсказания повышения концентрации ФМ  $>10,8$  мкг/мл способно предоставить врачам акушерам-гинекологами и гематологам ранее ограниченно доступную информацию о наличии активации системы свертывания у пациентки, что позволит проявить обоснованную настороженность в отношении рисков развития тромботических и акушерских осложнений, а также принять решение о возможностях их своевременной профилактики.



## ВЫВОДЫ

1. Показано, что концентрация фибрин-мономера у пациенток в программах вспомогательных репродуктивных технологий на этапе после переноса эмбриона в полость матки значимо не отличается от концентрации фибрин-мономера при физиологической неосложненной беременности, что подтверждает отсутствие острых процессов активации свертывания крови и не позволяет рекомендовать рутинное назначение измерения концентрации фибрин-мономера в данной группе пациенток.

2. Доказано, что выраженность процессов активации свертывания крови при развитии преэклампсии, по совокупным данным измерения фибрин-мономера и D-димера, обладает высокой межиндивидуальной вариабельностью. Повышение концентрации фибрин-мономера на фоне преэклампсии может служить дополнительным критерием активации свертывания крови, оценки антенатального и постнатального риска венозных тромбозных осложнений, а также потенциальной пользы применения антитромботической профилактики низкомолекулярными гепаринами для улучшения клинических исходов в данной группе беременных.

3. Продемонстрировано, что концентрация фибрин-мономера у беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты значимо повышена. Уровень фибрин-мономера более 8,25 мкг/мл у беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты, измеренный на 36-37 неделе гестации, является прогностическим маркером риска развития послеродового кровотечения в объеме более 1000 мл.

4. Выявлено, что использование современных математических методов анализа результатов лабораторных исследований и машинного обучения позволяет разрабатывать прогностические модели изменения показателей специфических и ограниченно доступных лабораторных тестов с целью улучшения стратификации пациентов и выделения групп для проведения количественного измерения данных аналитов.

5. Доказано, что разработанный алгоритм прогнозирования повышения уровня фибрин-мономера у беременных женщин, основанный на определении тромбинового времени и D-димера, позволяет стратифицировать беременных на группы с высокой и низкой вероятностью повышения фибрин-мономера более 10,8 мкг/мл и дает возможность селективного количественного измерения данного анализа с целью оценки выраженности активации свертывания и, в совокупности с клиническими данными, своевременного назначения дополнительных исследований и профилактических мероприятий.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Проведенное исследование и его результаты позволяют сформулировать ряд практических рекомендаций врачам клинической лабораторной диагностики и врачам акушерам-гинекологам:

1. Измерение концентрации ФМ иммунотурбидиметрическим методом необходимо использовать у беременных с преэклампсией, предлежанием и аномальной инвазией плаценты в качестве дополнительного критерия для оперативного подтверждения/исключения наличия внутрисосудистой активации свертывания крови.
2. Беременным женщинам с предлежанием и аномальной инвазией плаценты, родоразрешение которых будет проводиться с использованием кесарева сечения в плановом порядке, рекомендовано измерение концентрации ФМ на гестационном сроке 36-37 недель. Выявление концентрации ФМ  $> 8,25$  мкг/мл в периферической крови позволяет идентифицировать беременных с повышенным риском послеродового кровотечения  $> 1000$  мл.
3. Для выделения групп беременных с высокой вероятностью формирования внутрисосудистой активации свертывания крови, прямое количественное измерение ФМ у которых будет обладать наибольшей клинической пользой, необходимо использовать алгоритм принятия решений на основании измерения D-димера и тромбинового времени. Использование алгоритма возможно существенно упростить при его интеграции в лабораторную информационную систему для автоматизированного расчета и выдачи результата.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшее изучение динамики и вектора изменений концентрации фибрин-мономера при различных осложнениях беременности является перспективным научным направлением. В данной связи также очевидна необходимость проведения клинической валидации представленных в настоящей работе результатов, полученных в группе беременных с преэклампсией, выполнение дополнительных инструментальных обследований с целью выявления эпизодов микротромбообразования, укрепление доказательной базы, а также разработка cut-off концентрации фибрин-мономера для диагностики факта клинически значимого тромбообразования с последующим обоснованием назначения антикоагулянтной профилактики препаратами низкомолекулярных гепаринов в указанной группе беременных.

Другим вектором дальнейшего научного поиска является клиническая валидация разработанного cut-off концентрации фибрин-мономера для прогнозирования развития послеродового кровотечения  $> 1000$  мл у беременных с предлежанием и аномальной инвазией плаценты в проспективном исследовании с большим объемом выборки.

Дополнительным инструментом для распространения практического использования разработанного алгоритма прогнозирования выявления повышенных результатов измерения фибрин-мономера на основании доступных результатов лабораторных тестов будет служить внедрение соответствующих моделей в лабораторные информационные системы различных типов.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- AUC – площадь под кривой
- C4BP – C4-связывающий протеин
- NETs – внеклеточные нейтрофильные ловушки
- NPV – отрицательная прогностическая значимость
- PAI – ингибитор активатора плазминогена
- PPV – положительная прогностическая значимость
- ROC-кривая - рабочая характеристика приёмника
- ROTEM – ротационная тромбоэластометрия
- TAFI – активируемый тромбином ингибитор фибринолиза
- TFPI – ингибитор пути тканевого фактора
- t-PA – тканевой активатор плазминогена
- u-PA – урокиназный активатор плазминогена
- vWF – фактор Виллебранда
- WA – взвешенная точность
- АФС – антифосфолипидный синдром
- АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время
- ВП – вращение плаценты, аномальная инвазия плаценты
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ВТЭО – венозные тромбоэмболические осложнения
- ДВС – диссеминированное внутрисосудистое свертывание
- КС – кесарево сечение
- МНО – международное нормализованное отношение
- НМГ – низкомолекулярные гепарины
- ПАП – плазмин-антиплазмин
- ПВ – протромбиновое время
- ПП – предлежание плаценты
- ПЭ – преэклампсия
- СГЯ – синдром гиперстимуляции яичников

ТАГ – тромбин-антитромбин

ТВ – тромбиновое время

ТГТ – тест генерации тромбина

ТФ – тканевой фактор

ФМ – фибрин-мономер

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барановская, Е.И. Этиология и диагностика placenta accreta / Е.И. Барановская // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2020. – Т.3, №20. – С. 24–28.
2. Боечко, Д.И. Состояние системы гемостаза в случаях родоразрешений у пациенток с истинным приращением плаценты / Д.И. Боечко, Л.В. Набиева, Н.А. Мешкова // Вестник совета молодых учёных и специалистов челябинской области. – 2019. – Т.25, №2. – С. 27–30.
3. Великонивцев, Ф.С. Терапия внеклеточными везикулами: возможности, механизмы и перспективы применения / Ф.С. Великонивцев, А.С. Головкин // Российский кардиологический журнал. – 2020. – Т.10, №20. – С. 4081.
4. Власов, В.С. Фибрин-мономер в практике лабораторной оценки гиперкоагуляционного состояния при беременности / В.С. Власов, А.О. Годзоева, О.А. Кудряшова [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – Т.1, – С. 37–44.
5. Воробьева, Н.А. Определение фибрин-мономера в профилактике и диагностике тромботических осложнений при беременности / Н.А. Воробьева, Ю.М. Звездина, В.С. Власов // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – Т.3, – С. 41–47.
6. Громова, О.А. Молекулярно-фармакологические механизмы стимуляции гиперкоагуляции препаратами пероральных и трансдермальных эстрогенов / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Н.К. Тетруашвили [и др.] // Гинекология. – 2014. – Т.16, №2. – С. 22–28.
7. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза: учебное пособие / В.В. Долгов, Т.В. Вавилова, П.В. Свирин. – Тверь: Триада, 2019. – 400 с.
8. Жаркин, Н.А. Кесарево сечение: медицинские, социальные и морально-этические проблемы / Н.А. Жаркин, Л.С. Логутова, Т.Г. Семихова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – Т.4, №19. – С. 5–10.
9. Иванец, Т.Ю. Референсные интервалы для гемостазиологических лабораторных тестов в динамике физиологической беременности / Т.Ю. Иванец, М.А. Виноградова, Н.В. Долгушина // Акушерство и гинекология. – 2016. – Т.9, №9. – С. 50–59.

10. Луговской, Е.В. Одновременное количественное определение растворимого фибрина и D-димера в плазме крови для оценки угрозы тромбообразования / Е.В. Луговской, И.Н. Колесникова, Т.Н. Платонова [и др.] // Клиническая Медицина. – 2013. №36. – С. 38–44.
11. Макацария, А.Д. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в акушерской практике / А.Д. Макацария, А.Л. Мищенко, В.О. Бицадзе. – Москва: Триада-Х, 2002. – 496 с.
12. Мирашвили, М.И. Ведение женщин с тромбофилией на этапе подготовки к экстракорпоральному оплодотворению / М.И. Мирашвили, М.С. Зайнулина, И.Ю. Коган [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т.5, №61. – С. 60–67.
13. Момот, А.П. Референтные значения показателей системы гемостаза при физиологически протекающей беременности и после родоразрешения / А.П. Момот, И.В. Молчанова, Т.А. Батрак [и др.] // Проблемы репродукции. – 2015. – Т.1, №21. – С. 89.
14. Момот, А.П. Роль фибринолитической активности крови в предупреждении тромбозов при физиологической беременности / А.П. Момот, И.Ю. Кудинова, В.А. Елыкомов [и др.] // Доктор.Ру. Гематология. – 2016. – Т.122, №5. – С. 21–28.
15. Петухова, Е.В. Растворимые комплексы фибрин-мономеров как маркёры ранней диагностики острого тромботического поражения / Е.В. Петухова, И.В. Шмакова, И.Е. Долгополова [и др.] // Альманах современной науки и образования. – 2014. – Т.7 (85), №7.
16. Савельева, Г.М. Акушерство : национальное руководство / Г.М. Савельева. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 1080 с.
17. Сагамонова, К.Ю. Регистр ВРТ РАРЧ 2020 – Текст: электронный / К.Ю. Сагамонова, В.С. Корсак, А.А. Смирнова [и др.] // Российская Ассоциация Репродукции Человека – URL: [https://www.rahr.ru/d\\_registr\\_otchet/RegistrVRT\\_2020.pdf](https://www.rahr.ru/d_registr_otchet/RegistrVRT_2020.pdf). (дата обращения: 12.11.2023).



18. Стрюк, Р.И. Диагностика и лечение сердечно-сосудистых заболеваний при беременности 2018. Национальные рекомендации / Р.И. Стрюк, Ю.А. Бунин, В.М. Гурьева [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2018. – Т.3, №155. – С. 91–134.
19. Филиппов, О.С. Материнская смертность в Российской Федерации в 2019 Г. / О.С. Филиппов, Е.В. Гусева // Проблемы Репродукции. – 2020. – Т.6–2, №26. – С. 8-26.
20. Ходжаева, З.С. Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. – Текст: электронный / З.С. Ходжаева, Р.Г. Шмаков, Г.М. Савельева [и др.] // Клинические Рекомендации – URL: [https://minzdrav.kbr.ru/upload/medialibrary/840/Preeklampsiya.-Eklampsiya-\\_2\\_.pdf](https://minzdrav.kbr.ru/upload/medialibrary/840/Preeklampsiya.-Eklampsiya-_2_.pdf). (дата обращения: 29.06.2022).
21. Шмаков, Р.Г. Клинические рекомендации «Послеродовое кровотечение» – Текст: электронный / Р.Г. Шмаков, А.В. Пырегов, Е.М. Шифман [и др.] // Клинические Рекомендации – URL: [https://www.dzhmao.ru/spez/klin\\_recom/akushGinekol/2022/KR\\_posler\\_krovotech.pdf](https://www.dzhmao.ru/spez/klin_recom/akushGinekol/2022/KR_posler_krovotech.pdf). (дата обращения: 11.10.2022).
22. Шмаков, Р.Г. Венозные осложнения во время беременности и послеродовом периоде. Акушерская тромбоэмболия – Текст: электронный / Р.Г. Шмаков, А.В. Пырегов, Т.В. Вавилова [и др.] // Клинические Рекомендации – URL: <https://zdrav.khv.gov.ru/sites/files/zdrav/docs/2016/05104b398aef51019755.pdf>. (дата обращения: 11.10.2022).
23. Agostinis, C. COVID-19, Pre-Eclampsia, and Complement System / C. Agostinis, A. Mangogna, A. Balduit [и др.] // *Frontiers in immunology*. – 2021. №12.
24. Ahmed, A. Evidence-Based Revised View of the Pathophysiology of Preeclampsia / A. Ahmed, H. Rezai, S. Broadway-Stringer // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2017. №956. – P. 355–374.

25. Aikens, R.C. A Machine Learning Approach to Predicting the Stability of Inpatient Lab Test Results. / R.C. Aikens, S. Balasubramanian, J.H. Chen // AMIA Joint Summits on Translational Science proceedings. – 2019. №2019. – P. 515–523.
26. Akagawa, M. Fibrin monomer complex on postoperative day 1 is correlated with the volume of deep vein thrombosis after knee surgery / M. Akagawa, H. Kijima, Y. Kimura [и др.] // Journal of Experimental Orthopaedics. – 2022. – Vol.1, №9.
27. Alphonsus, C.S. The endothelial glycocalyx: a review of the vascular barrier / C.S. Alphonsus, R.N. Rodseth // Anaesthesia. – 2014. – Vol.7, №69. – P. 777–784.
28. American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin No. 166: Thrombocytopenia in Pregnancy / American College of Obstetricians and Gynecologists. // Obstetrics and Gynecology. – 2016. – Vol.3, №128. – P. e43–e53.
29. American College of Obstetricians and Gynecologists [et al.] Obstetric Care Consensus No. 7: Placenta Accreta Spectrum / American College of Obstetricians and Gynecologists, Society for Maternal-Fetal Medicine // Obstetrics and Gynecology. – 2018. – Vol.6, №132. – P. E259–E275.
30. Ataulakhanov, F.I. Classic and Global Hemostasis Testing in Pregnancy and during Pregnancy Complications / F.I. Ataulakhanov, E.M. Koltsova, A.N. Balandina [et al.] // Seminars in thrombosis and hemostasis. – 2016. – Vol.7, №42. – P. 696–716.
31. Aune, B. Does ovarian stimulation for in-vitro fertilization induce a hypercoagulable state? / B. Aune, K.E. Høie, P. Oian [et al.] // Human Reproduction. – 1991. – Vol.7, №6. – P. 925–927.
32. Ayala-Ramirez, P. Increased tissue factor and thrombomodulin expression and histopathological changes in placentas of pregnancies with preeclampsia / P. Ayala-Ramirez, T. Buitrago, A. Poveda [et al.] // Journal of neonatal-perinatal medicine. – 2016. – Vol.1, №9. – P. 31–39.
33. Bagot, C.N. Normal pregnancy is associated with an increase in thrombin generation from the very early stages of the first trimester / C.N. Bagot, E. Leishman, C.C. Onyiaodike [et al.] // Thrombosis Research. – 2017. №157. – P. 49–54.

34. Balandina, A.N. An enhanced clot growth rate before in vitro fertilization decreases the probability of pregnancy / A.N. Balandina, E.M. Koltsova, T.A. Teterina [et al.] // PLOS ONE. – 2019. – Vol.5, №14. – P. e0216724.
35. Barakat, R. Extra-gonadal sites of estrogen biosynthesis and function / R. Barakat, O. Oakley, H. Kim [et al.] // BMB Reports. – 2016. – Vol.9, №49. – P. 488–496.
36. Bates, S. D-dimer assays in diagnosis and management of thrombotic and bleeding disorders / S. Bates // Seminars in Thrombosis and Hemostasis. – 2012. – Vol.7, №38. – P. 673–682.
37. Bates, S.M. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: Venous thromboembolism in the context of pregnancy / S.M. Bates, A. Rajasekhar, S. Middeldorp [et al.] // Blood Advances. – 2018. – Vol.22, №2. – P. 3317–3359.
38. Batista, T.R. Association between the use of female hormones and the thrombin generation: Cross-sectional analysis of the Longitudinal Study on Adult Health (ELSA-Brasil) / T.R. Batista, S.M. Barreto, A.P.F. Silva [et al.] // Research, Society and Development. – 2021. – Vol.9, №10. – P. e12910917888–e12910917888.
39. Beer, J.H. Coagulation markers predict survival in cancer patients / J.H. Beer, A. Haeberli, A. Vogt [et al.] // Thrombosis and Haemostasis. – 2002. – Vol.5, №88. – P. 745–749.
40. Beller, F.K. The coagulation and fibrinolytic enzyme system in pregnancy and in the puerperium / F.K. Beller, C. Ebert // European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology. – 1982. – Vol.3, №13. – P. 177–197.
41. Bellesini, M. D-dimer to rule out venous thromboembolism during pregnancy: A systematic review and meta-analysis / M. Bellesini, H. Robert-Ebadi, C. Combescure [et al.] // Journal of thrombosis and haemostasis : JTH. – 2021. – Vol.10, №19. – P. 2454–2467.
42. Betran, A.P. The Increasing Trend in Caesarean Section Rates: Global, Regional and National Estimates: 1990-2014 / A.P. Betran, J. Ye, A.B. Moller [et al.] // PLOS ONE. – 2016. – Vol.2, №11.

43. Betran, A.P. Trends and projections of caesarean section rates: global and regional estimates / A.P. Betran, J. Ye, A.B. Moller [et al.] // *BMJ Global Health*. – 2021. – Vol.6, №6. – P. e005671.
44. Biggerstaff, J.P. Fibrin monomer increases platelet adherence to tumor cells in a flowing system: A possible role in metastasis? / J.P. Biggerstaff, N.B. Seth, T. V. Meyer [et al.] // *Thrombosis Research*. – 1998. – Vol.6 SUPPL. 2, №92.
45. Biron, C. Hemostasis parameters during ovarian stimulation for in vitro fertilization: Results of a prospective study / C. Biron, F. Galtier-Dereure, H. Rabesandratana [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 1997. – Vol.1, №67. – P. 104–109.
46. Bombeli, T. Coagulation activation markers do not correlate with the clinical risk of thrombosis in pregnant women / T. Bombeli, P. Raddatz-Mueller, J. Fehr // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2001. – Vol.3, №184. – P. 382–389.
47. Bonk, R. Soluble fibrin monomer complex and cardiopulmonary bypass / R. Bonk, C. Trowbridge, A. Stammers [et al.] // *Journal of Extra-Corporeal Technology*. – 2009. – Vol.3, №41. – P. 157–160.
48. Bonyadi, M.R. Particle swarm optimization for single objective continuous space problems: A review / M.R. Bonyadi, Z. Michalewicz // *Evolutionary Computation*. – 2017. – Vol.1, №25. – P. 1–54.
49. Bousser, M.G. Cerebral venous thrombosis, pregnancy and oral contraceptives / M.G. Bousser, I. Crassard // *Thrombosis Research*. – 2012. – Vol.SUPPL.1, №130.
50. Bozkurt, M. Troponin I and D-Dimer levels in preeclampsia and eclampsia: prospective study / M. Bozkurt, A.E. Yumru, L.Ş. Şahin [et al.] // *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology* 2015, 42(1), 26-31. – 2015. – Vol.1, №42. – P. 26–31.
51. Bremme, K. Do lowered factor VII levels at extremely high endogenous oestradiol levels protect against thrombin formation? / K. Bremme, H. Wramsby, O. Andersson [et al.] // *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. – 1994. – Vol.2, №5. – P. 205–210.
52. Bremme, K.A. Haemostatic changes in pregnancy / K.A. Bremme // *Best Practice and Research: Clinical Haematology*. – 2003. – Vol.2, №16. – P. 153–168.

53. Brenner, B. Haemostatic changes in pregnancy / B. Brenner // *Thrombosis Research*. – 2004. – Vol.5-6 Spec. Iss., №114. – P. 409–414.
54. Brügger-Andersen, T. The effect of primary percutaneous coronary intervention as compared to tenecteplase on myeloperoxidase, pregnancy-associated plasma protein A, soluble fibrin and D-dimer in acute myocardial infarction / T. Brügger-Andersen, Ø. Hetland, V. Pönitz [et al.] // *Thrombosis Research*. – 2007. – Vol.4, №119. – P. 415–421.
55. Brummel-Ziedins, K.E. The effect of high circulating estradiol levels on thrombin generation during in vitro fertilization / K.E. Brummel-Ziedins, M. Gissel, C. Francis [et al.] // *Thrombosis research*. – 2009. – Vol.4, №124. – P. 505.
56. Bukhari, S. Venous thromboembolism during pregnancy and postpartum period / S. Bukhari, S. Fatima, A.F. Barakat [et al.] // *European journal of internal medicine*. – 2022. №97. – P. 8–17.
57. Butenas, S. Tissue factor activity in whole blood / S. Butenas, B.A. Bouchard, K.E. Brummel-Ziedins [et al.] // *Blood*. – 2005. – Vol.7, №105. – P. 2764–2770.
58. Butenas, S. Tissue factor in coagulation: Which? where? when? / S. Butenas, T. Orfeo, K.G. Mann // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2009. – Vol.12, №29. – P. 1989–1996.
59. Cali, G. Morbidly adherent placenta: Evaluation of ultrasound diagnostic criteria and differentiation of placenta accreta from percreta // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2013. Vol. 41. № 4. P. 406–412.
60. Castaman, G. Changes of von willebrand factor during pregnancy in women with and without von willebrand disease / G. Castaman // *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. – 2013. – Vol.1, №5. – P. 2013052.
61. Chan, W.S. The «ART» of thromboembolism: A review of assisted reproductive technology and thromboembolic complications / W.S. Chan, M.E. Dixon // *Thrombosis Research*. – 2008. – Vol.6, №121. – P. 713–726.
62. Charbit, B. The decrease of fibrinogen is an early predictor of the severity of postpartum hemorrhage / B. Charbit, L. Mandelbrot, E. Samain [et al.] // *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. – 2007. – Vol.2, №5. – P. 266–273.

63. Chen, J.Z.J. The effects of human chorionic gonadotrophin, progesterone and oestradiol on trophoblast function / J.Z.J. Chen, M.H. Wong, S.P. Brennecke [et al.] // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2011. – Vol.1–2, №342. – P. 73–80.
64. Chen, P. Evaluation of Global Hemostatic Assays in Response to Factor VIII Inhibitors / P. Chen, J. Jani, M.B. Streiff [et al.] // *Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2019. №25.
65. Chen, Y. Association of placenta-derived extracellular vesicles with pre-eclampsia and associated hypercoagulability: a clinical observational study / Y. Chen, P. Huang, C. Han [et al.] // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2021. – Vol.6, №128. – P. 1037–1046.
66. Cheung, K.L. Renal Physiology of Pregnancy / K.L. Cheung, R.A. Lafayette // *Advances in Chronic Kidney Disease*. – 2013. – Vol.3, №20. – P. 209–214.
67. Cines, D.B. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders / D.B. Cines, E.S. Pollak, C.A. Buck [et al.] // *Blood*. – 1998. – Vol.10, №91. – P. 3527–3561.
68. Clark, P. Activated protein C sensitivity, protein C, protein S and coagulation in normal pregnancy / P. Clark, J. Brennand, J.A. Conkie [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 1998. – Vol.6, №79. – P. 1166–1170.
69. Comp, P.C. Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy / P.C. Comp, G.R. Thurnau, J. Welsh [et al.] // *Blood*. – 1986. – Vol.4, №68. – P. 881–885.
70. Cortet, M. Association between fibrinogen level and severity of postpartum haemorrhage: Secondary analysis of a prospective trial / M. Cortet, C. Deneux-Tharoux, C. Dupont [et al.] // *British Journal of Anaesthesia*. – 2012. – Vol.6, №108. – P. 984–989.
71. Curvers, J. Effect of in vitro fertilization treatment and subsequent pregnancy on the protein C pathway / J. Curvers, A.W. Nap, M.C. Thomassen [et al.] // *British journal of haematology*. – 2001. – Vol.2, №115. – P. 400–407.

72. Dalaker, K. The coagulation factor VII in pregnancy / K. Dalaker, H. Prydz // *British Journal of Haematology*. – 1984. – Vol.2, №56. – P. 233–241.
73. Dang, X.T. Correlations between rotational thromboelastometry (ROTEM) and standard coagulation tests following viper snakebites / X.T. Dang, T.X. Nguyen, H.T.T. Nguyen [et al.] // *The Journal of international medical research*. – 2022. – Vol.1, №50.
74. Dargaud, Y. Endogenous thrombin potential, prothrombin fragment 1+2 and D-dimers during pregnancy / Y. Dargaud, S. Hierso, L. Rugeri [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2010. – Vol.2, №103. – P. 469–471.
75. Delvigne, A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS - Epidemiology of OHSS / A. Delvigne // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2009. – Vol.1, №19. – P. 8–13.
76. Delvinge, A. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): A review // *Human Reproduction Update*. – 2002. Vol. 8. № 6. P. 559–577.
77. Dempfle, C.E. Use of soluble fibrin antigen instead of D-dimer as fibrin-related marker may enhance the prognostic power of the ISTH overt DIC score / C.E. Dempfle, M. Wurst, M. Smolinski [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2004. – Vol.4, №91. – P. 812–818.
78. Depasse, F. Thrombin generation assays are versatile tools in blood coagulation analysis: A review of technical features, and applications from research to laboratory routine / F. Depasse, N.B. Binder, J. Mueller [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2021. – Vol.12, №19. – P. 2907–2917.
79. Dong, J.F. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions / J.F. Dong, J.L. Moake, L. Nolasco [et al.] // *Blood*. – 2002. – Vol.12, №100. – P. 4033–4039.
80. Dreden, P. Van Profile of Thrombin Generation Assay and Thromboelastometry in Women with Moderate and Severe Preeclampsia. the Roadmap-Preeclampsia Study / P. Van Dreden, E. Lefkou, A. Rousseau [et al.] // *Blood*. – 2020. – Vol.1, №136. – P. 37–38.

81. Duan, Z. Alterations of Several Serum Parameters Are Associated with Preeclampsia and May Be Potential Markers for the Assessment of PE Severity / Z. Duan, C. Li, W.T. Leung [et al.] // Disease markers. – 2020. №2020.
82. Dusse, L.M. Pre-eclampsia: Relationship between coagulation, fibrinolysis and inflammation / L.M. Dusse, D.R.A. Rios, M.B. Pinheiro [et al.] // Clinica Chimica Acta. – 2011. – Vol.1–2, №412. – P. 17–21.
83. Eichinger, S. Prospective evaluation of hemostatic system activation and thrombin potential in healthy pregnant women with and without factor V Leiden / S. Eichinger, A. Weltermann, K. Philipp [et al.] // Thrombosis and Haemostasis. – 1999. – Vol.4, №82. – P. 1232–1236.
84. Elazab Elged, A.A. Soluble fibrin monomer complex assay enhances early and accurate diagnosis of acute myocardial infarction / A.A. Elazab Elged, R.A. El-Gamal, S. Bastawy [et al.] // International Journal of Clinical and Experimental Pathology. – 2016. – Vol.5, №9. – P. 5801–5809.
85. Erez, O. High tissue factor activity and low tissue factor pathway inhibitor concentrations in patients with preterm labor / O. Erez, R. Romero, E. Vaisbuch [et al.] // Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. – 2010. – Vol.1, №23. – P. 23–33.
86. Erez, O. The pattern and magnitude of «in vivo thrombin generation» differ in women with preeclampsia and in those with SGA fetuses without preeclampsia / O. Erez, R. Romero, E. Vaisbuch [et al.] // The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. – 2018. – Vol.13, №31. – P. 1671–1680.
87. Esnault, P. Ability of Fibrin Monomers to Predict Progressive Hemorrhagic Injury in Patients with Severe Traumatic Brain Injury / P. Esnault, Q. Mathais, E. D'Aranda [et al.] // Neurocritical Care. – 2020. – Vol.1, №33. – P. 182–195.
88. Ezaki, M. Plasma Soluble Fibrin Is Useful for the Diagnosis of Thrombotic Diseases / M. Ezaki, H. Wada, Y. Ichikawa [et al.] // Journal of clinical medicine. – 2023. – Vol.7, №12.
89. Farquhar, C. Management of ovarian stimulation for IVF: narrative review of evidence provided for World Health Organization guidance / C. Farquhar, J.



- Marjoribanks, J. Brown [et al.] // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2017. – Vol.1, №35. – P. 3–16.
90. Fassbender, K. Changes in coagulation and fibrinolysis markers in acute ischemic stroke treated with recombinant tissue plasminogen activator / K. Fassbender, C.E. Dempfle, O. Mielke [et al.] // *Stroke*. – 1999. – Vol.10, №30. – P. 2101–2104.
91. Faught, W. Changes in protein C and protein S levels in normal pregnancy / W. Faught, P. Garner, G. Jones [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1995. – Vol.1, №172. – P. 147–150.
92. Fauser, B.C. Towards the global coverage of a unified registry of IVF outcomes / B.C. Fauser // *Reproductive BioMedicine Online*. – 2019. – Vol.2, №38. – P. 133–137.
93. Fender, A.C. Soluble fibrin monomer complex as a candidate sentinel for adverse events in patients with heart failure / A.C. Fender, D. Dobrev // *IJC Heart and Vasculature*. – 2021. №32.
94. Filipovic-Pierucci, A. Arterial and venous complications after fertility treatment: A French nationwide cohort study / A. Filipovic-Pierucci, A. Gabet, C. Deneux-Tharaux [et al.] // *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. – 2019. №237. – P. 57–63.
95. Fleck, R.A. Localization of human tissue factor antigen by immunostaining with monospecific, polyclonal anti-human tissue factor antibody / R.A. Fleck, L.V.M. Rao, S.I. Rapaport [et al.] // *Thrombosis Research*. – 1990. – Vol.2, №59. – P. 421–437.
96. Fu, M. Reference intervals for coagulation parameters in non-pregnant and pregnant women / M. Fu, J. Liu, J. Xing [et al.] // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol.1, №12. – P. 1–10.
97. Gando, S. Disseminated intravascular coagulation / S. Gando, M. Levi, C.H. Toh // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2016. №2.
98. Gayat, E. Predictive factors of advanced interventional procedures in a multicentre severe postpartum haemorrhage study / E. Gayat, M. Resche-Rigon, O. Morel [et al.] // *Intensive care medicine*. – 2011. – Vol.11, №37. – P. 1816–1825.
99. Gerotziafas, G.T. Impact of blood hypercoagulability on in vitro fertilization outcomes: A prospective longitudinal observational study / G.T. Gerotziafas, P. Van

- Dreden, E. Mathieu d'Argent [et al.] // *Thrombosis Journal*. – 2017. – Vol.1, №15. – P. 1–11.
100. Gialeraki, A. Oral Contraceptives and HRT Risk of Thrombosis / A. Gialeraki, S. Valsami, T. Pittaras [et al.] // *Clinical and applied thrombosis/hemostasis: official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2018. – Vol.2, №24. – P. 217–225.
101. Giesen, P.L.A. Blood-borne tissue factor: Another view of thrombosis / P.L.A. Giesen, U. Rauch, B. Bohrmann [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1999. – Vol.5, №96. – P. 2311–2315.
102. Statistics-for-medicine – Text: electronic // GitHub – URL: <https://github.com/nicknick85/statistics-for-medicine/blob/main/DirectBinClass.r>. (date of access: 11.09.2022).
103. Gliozheni, O. ART in Europe, 2018: results generated from European registries by ESHRE / O. Gliozheni, E. Hambartsoumian, H. Strohmer [et al.] // *Human Reproduction Open*. – 2022. – Vol.3, №2022.
104. Gomes, M.P.V. Risk of venous thromboembolic disease associated with hormonal contraceptives and hormone replacement therapy: A clinical review / M.P.V. Gomes, S.R. Deitcher // *Archives of Internal Medicine*. – 2004. – Vol.18, №164. – P. 1965–1976.
105. Gouloupoulou, S. Pregnancy reduces RhoA/Rho kinase and protein kinase C signaling pathways downstream of thromboxane receptor activation in the rat uterine artery / S. Gouloupoulou, J.L. Hannan, T. Matsumoto [et al.] // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. – 2012. – Vol.12, №302. – P. 2477–2488.
106. Gronowski, A.M. *Handbook of Clinical Laboratory Testing During Pregnancy* / A.M. Gronowski. – NJ: Humana Press, 2004. – 454 P.
107. Grossman, K.B. Maternal and pregnancy characteristics affect plasma fibrin monomer complexes and D-dimer reference ranges for venous thromboembolism in pregnancy / K.B. Grossman, R. Arya, A.B. Peixoto [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2016. – Vol.4, №215. – P. 466.e1-466.e8.

108. Guimicheva, B. The prevention of pregnancy-related venous thromboembolism / B. Guimicheva, J. Czuprynska, R. Arya // *British Journal of Haematology*. – 2015. – Vol.2, №168. – P. 163–174.
109. Guo, Z. Association Between Pre-delivery Coagulation Indicators and Invasive Placenta Accreta Spectrum / Z. Guo, X. Han, H. Zhang [et al.] // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2022. №28.
110. Gurol-Urganci, I. Risk of placenta previa in second birth after first birth cesarean section: a population-based study and meta-analysis / I. Gurol-Urganci, D.A. Cromwell, L.C. Edozien [et al.] // *BMC Pregnancy and Childbirth*. – 2011. №11. – P. 95.
111. Haire, G. Alterations in fibrin formation and fibrinolysis in early onset-preeclampsia: Association with disease severity / G. Haire, K. Egan, K. Parmar [et al.] // *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. – 2019. №241. – P. 19–23.
112. Han, C. Placenta-derived extracellular vesicles induce preeclampsia in mouse models / C. Han, C. Wang, Y. Chen [et al.] // *Haematologica*. – 2020. – Vol.6, №105. – P. 1686–1694.
113. Han, C. Oxidative stress and preeclampsia-associated prothrombotic state / C. Han, P. Huang, M. Lyu [et al.] // *Antioxidants*. – 2020. – Vol.11, №9. – P. 1–19.
114. Han, C. Prothrombotic state associated with preeclampsia / C. Han, Y.Y. Chen, J.F. Dong // *Current opinion in hematology*. – 2021. – Vol.5, №28. – P. 323–330.
115. Han, L. Blood coagulation parameters and platelet indices: changes in normal and preeclamptic pregnancies and predictive values for preeclampsia / L. Han, X. Liu, H. Li [et al.] // *PloS one*. – 2014. – Vol.12, №9.
116. Hansen, A.T. Changes in fibrin D-dimer, fibrinogen, and protein S during pregnancy / A.T. Hansen, B.H. Andreasen, J.D. Salvig [et al.] // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. – 2011. – Vol.2, №71. – P. 173–176.
117. Hardy, M. Don't let D-dimer fool you: Elevated D-dimer plasma levels should not imply 'hyperfibrinolysis' / M. Hardy, M. Bareille, T. Lecompte [et al.] // *Thrombosis Research*. – 2022. №214. – P. 63.

118. Hasegawa, M. The evaluation of fibrin-related markers for diagnosing or predicting acute or subclinical venous thromboembolism in patients undergoing major Orthopedic Surgery / M. Hasegawa, H. Wada, S. Miyazaki [et al.] // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2018. – Vol.1, №24. – P. 107–114.
119. Heemskerk, J.W.M. Platelet activation and blood coagulation / J.W.M. Heemskerk, E.M. Bevers, T. Lindhout // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2002. – Vol.2, №88. – P. 186–193.
120. Hellgren, M. Studies on blood coagulation and fibrinolysis in pregnancy, during delivery and in the puerperium: I. normal condition / M. Hellgren, M. Blombäck // *Gynecologic and Obstetric Investigation*. – 1981. – Vol.3, №12. – P. 141–154.
121. Hemker, H.C. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma / H.C. Hemker, P. Giesen, R. Al Dieri [et al.] // *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*. – 2003. – Vol.1, №33. – P. 4–15.
122. Henriksson, P. Incidence of pulmonary and venous thromboembolism in pregnancies after in vitro fertilisation: Cross sectional study / P. Henriksson, E. Westerlund, H. Wallén [et al.] // *BMJ*. – 2013. – Vol.7892, №346.
123. Higgins, J.R. Hemostasis in the uteroplacental and peripheral circulations in normotensive and pre-eclamptic pregnancies / J.R. Higgins, J.J. Walshe, M.R.N. Darling [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1998. – T.2, №179. – P. 520–526.
124. Hirano, K. Study of hemostatic biomarkers in acute ischemic stroke by clinical subtype / K. Hirano, S. Takashima, N. Dougu [et al.] // *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. – 2012. – Vol.5, №21. – P. 404–410.
125. Holmes, V.A. Haemostasis in normal pregnancy: A balancing act? / V.A. Holmes, J.M.W. Wallace // *Biochemical Society Transactions*. – 2005. – Vol.2, №33. – P. 428–432.
126. Hosaka, A. Clinical implication of plasma level of soluble fibrin monomer-fibrinogen complex in patients with abdominal aortic aneurysm / A. Hosaka, T. Miyata, H. Aramoto [et al.] // *Journal of Vascular Surgery*. – 2005. – Vol.2, №42. – P. 200–205.

127. Hoshino, K. Soluble fibrin is a useful marker for predicting extracorporeal membrane oxygenation circuit exchange because of circuit clots / K. Hoshino, K. Muranishi, Y. Kawano [et al.] // *Journal of Artificial Organs*. – 2018. – Vol.2, №21. – P. 196–200.
128. Hovine, A. Serum D-dimer is not predictive of placenta-mediated complications in pregnancy at high risk: The multicentric prospective cohort AngioPred study / A. Hovine, C. Chauleur, C. Gault [et al.] // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. – 2023. №11.
129. Hulley, S. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II) / S. Hulley, C. Furberg, E. Barrett-Connor [et al.] // *JAMA*. – 2002. – Vol.1, №288. – P. 58–66.
130. Ieko, M. Plasma soluble fibrin monomer complex as a marker of coronary thrombotic events in patients with acute myocardial infarction / M. Ieko, S. Naito, M. Yoshida [et al.] // *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. – 2009. – Vol.1, №219. – P. 25–31.
131. Jackson, R.A. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: A meta-analysis / R.A. Jackson, K.A. Gibson, Y.W. Wu [et al.] // *Obstetrics and Gynecology*. – 2004. – Vol.3, №103. – P. 551–563.
132. Jacobsen, A.F. Prior Thromboembolic Disease and Assisted Reproductive Therapy / A.F. Jacobsen, P.M. Sandset // *Seminars in reproductive medicine*. – 2021. – Vol.5–06, №39. – P. 180–185.
133. Jacobsen, A.F. Ante- and postnatal risk factors of venous thrombosis: A hospital-based case-control study / A.F. Jacobsen, F.E. Skjeldestad, P.M. Sandset // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2008. – Vol.6, №6. – P. 905–912.
134. Jauniaux, E. FIGO classification for the clinical diagnosis of placenta accreta spectrum disorders / E. Jauniaux, D. Ayres-de-Campos, J. Langhoff-Roos [et al.] // *International journal of gynaecology and obstetrics*. – 2019. – Vol.1, №146. – P. 20–24.

135. Jauniaux, E. Ultrasound-histopathologic features of the utero-placental interface in placenta accreta spectrum / E. Jauniaux, N. Zosmer, D. Subramanian [et al.] // *Placenta*. – 2020. №97. – P. 58–64.
136. Jeyabalan, A. Epidemiology of preeclampsia: Impact of obesity / A. Jeyabalan // *Nutrition Reviews*. – 2013. – Vol. Suppl 1, №71. – P. 1–14.
137. Kane, E. V. A population-based study of venous thrombosis in pregnancy in Scotland 1980–2005 / E. V. Kane, C. Calderwood, R. Dobbie [et al.] // *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. – 2013. – Vol.2, №169. – P. 223–229.
138. Karlsson, O. Fibrinogen plasma concentration before delivery is not associated with postpartum haemorrhage: a prospective observational study / O. Karlsson, A. Jeppsson, M. Thornemo [et al.] // *British journal of anaesthesia*. – 2015. – Vol.1, №115. – P. 99–104.
139. Kaser, D.J. Assisted Reproduction / D.J. Kaser, E.S. Ginsburg, D.T. Carrell [et al.] // *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management: Eighth Edition: [book]* / J.F. Strauss, R.L. Barbieri – Elsevier, 2019. – P. 779-822.
140. Kawakami, T. The role of soluble fibrin during anticoagulant therapy: A case report / T. Kawakami, N. Tanaka, H. Ishihara [et al.] // *Thrombosis Journal*. – 2015. – Vol.1, №13.
141. Kawamura, M. Use of fibrin monomer complex for screening for venous thromboembolism in the late pregnancy and post-partum period / M. Kawamura, N. Fukuda, A. Suzuki [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. – 2014. – Vol.3, №40. – P. 700–704.
142. Kim, H.C. Response of blood coagulation parameters to elevated endogenous  $17\beta$ -estradiol levels induced by human menopausal gonadotropins / H.C. Kim, E. Kemmann, R.M. Shelden [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1981. – Vol.7, №140. – P. 807–810.
143. Kobayashi, T. Predictive values of coagulation/fibrinolysis parameters for the termination of pregnancy complicated by severe preeclampsia / T. Kobayashi, N.

- Tokunaga, M. Sugimura [et al.] // *Seminars in thrombosis and hemostasis*. – 2001. – Vol.2, №27. – P. 137–142.
144. Kontny, F. Fibrin monomer antigen. A novel marker of mortality in acute myocardial infarction / F. Kontny, C.E. Dempfle, U. Abildgaard // *European Heart Journal*. – 1999. – Vol.11, №20. – P. 808–812.
145. Kovac, M. The use of D-dimer with new cutoff can be useful in diagnosis of venous thromboembolism in pregnancy / M. Kovac, Z. Mikovic, L. Rakicevic [et al.] // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. – 2010. – Vol.1, №148. – P. 27–30.
146. Kristoffersen, A.H. Concentration of fibrin monomer in pregnancy and during the postpartum period / A.H. Kristoffersen, P.H. Petersen, L. Bjørge [et al.] // *Annals of Clinical Biochemistry*. – 2019. – Vol.6, №56. – P. 692–700.
147. Kucukgoz Gulec, U. An analysis of C-reactive protein, procalcitonin, and D-dimer in pre-eclamptic patients / U. Kucukgoz Gulec, F. Tuncay Ozgunen, A. Baris Guzel [et al.] // *American journal of reproductive immunology*. – 2012. – Vol.4, №68. – P. 331–337.
148. Laliberté, F. Does the route of administration for estrogen hormone therapy impact the risk of venous thromboembolism? Estradiol transdermal system versus oral estrogen-only hormone therapy / F. Laliberté, K. Dea, M.S. Duh [et al.] // *Menopause*. – 2011. – Vol.10, №18. – P. 1052–1059.
149. Lecut, C. Is there a place for thrombin generation assay in routine clinical laboratory? / C. Lecut, P. Peters, P.B. Massion [et al.] // *Annales de Biologie Clinique*. – 2015. – Vol.2, №73. – P. 137–149.
150. Leduc, L. Coagulation profile in severe preeclampsia // *Obstetrics and Gynecology*. – 1992. Vol. 79. № 1. – P. 14–18.
151. Lefkou, E. Differences in the Coagulation Profile in Women with Mild and Severe Preeclampsia / E. Lefkou, P. Van Dreden, A. Rousseau [et al.] // *Blood*. – 2020. – Vol.Supplement 1, №136. – P. 15–16.

152. Lindqvist, P. Thrombotic risk during pregnancy: A population study / P. Lindqvist, B. Dahlbäck, K. Maršál // *Obstetrics and Gynecology*. – 1999. – Vol.4, №94. – P. 595–599.
153. Lox, C. The influence of hyperestrogenism during in vitro fertilization on the fibrinolytic mechanism / C. Lox, M. Cañez, S. Prien // *International Journal of Fertility and Women's Medicine*. – 1998. – Vol.1, №43. – P. 34–39.
154. Loyer, X. Microvesicles as cell-cell messengers in cardiovascular diseases / X. Loyer, A.C. Vion, A. Tedgui [et al.] // *Circulation research*. – 2014. – Vol.2, №114. – P. 345–353.
155. Luo, Y. Using machine learning to predict laboratory test results / Y. Luo, P. Szolovits, A.S. Dighe [et al.] // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2016. – Vol.6, №145. – P. 778–788.
156. Macey, M.G. Platelet activation and endogenous thrombin potential in pre-eclampsia / M.G. Macey, S. Bevan, S. Alam [et al.] // *Thrombosis Research*. – 2010. – Vol.3, №125.
157. Magnani, B. In vitro fertilization: Do short-term changes in estrogen levels produce increased fibrinolysis? / B. Magnani, L. Tsen, S. Datta [et al.] // *American Journal of Clinical Pathology*. – 1999. – Vol.4, №112. – P. 485–491.
158. Mahieu, B. Haemostatic changes and acquired activated protein C resistance in normal pregnancy / B. Mahieu, N. Jacobs, S. Mahieu [et al.] // *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. – 2007. – Vol.7, №18. – P. 685–688.
159. Malm, J. Changes in the plasma levels of vitamin K-dependent proteins C and S and of C4b-binding protein during pregnancy and oral contraception / J. Malm, M. Laurell, B. Dahlback // *British Journal of Haematology*. – 1988. – Vol.4, №68. – P. 437–443.
160. Mancuso, A. Upper body venous thrombosis associated with ovarian stimulation: Case report and review of the literature / A. Mancuso, A. De Vivo, G. Fanara [et al.] // *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology*. – 2005. – Vol.3, №32. – P. 149–154.



161. Mann, K.G. The dynamics of thrombin formation / K.G. Mann, S. Butenas, K. Brummel // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2003. – Vol.1, №23. – P. 17–25.
162. Marlar, R.A. Recommendations for clinical laboratory testing for protein S deficiency: Communication from the SSC committee plasma coagulation inhibitors of the ISTH / R.A. Marlar, J.N. Gausman, H. Tsuda [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2021. – Vol.1, №19. – P. 68–74.
163. Masry, S. El Reduced Protein C Global Assay Levels in Infertile Women with in vitro Fertilization Failure: A Pilot Study / S. El Masry, H. Azzam, H. Youssef [et al.] // *Acta Haematologica*. – 2018. – Vol.1, №139. – P. 1–6.
164. McLean, K.C. Tissue factor-dependent thrombin generation across pregnancy / K.C. McLean, I.M. Bernstein, K.E. Brummel-Ziedins // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2012. – Vol.2, №207. – P. 135.e1-135.e6.
165. Middeldorp, S. Effects on coagulation of levonorgestrel- and desogestrel-containing low dose oral contraceptives: A cross-over study / S. Middeldorp, J.C.M. Meijers, A.E. Van Den Ende [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2000. – Vol.1, №84. – P. 4–8.
166. Milovanov, A.P. Role of Immune Distribution of Tissue Factor in the Development of Hemostasis during the First Trimester of Normal Pregnancy / A.P. Milovanov, N.B. Kuznetsova, T. V. Fokina // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2019. – Vol.4, №166. – P. 503–506.
167. Mirshahi, S. New combinational assay using soluble fibrin and D-dimer determinations: A promising strategy for identifying patients with suspected venous thromboembolism / S. Mirshahi, C. Soria, B. Kouchakji [et al.] // *PLOS ONE*. – 2014. – Vol.3, №9. – P. 92379.
168. Miseljcic, N. Causes of an Increased Rate of Caesarean Section / N. Miseljcic, E. Basic, S. Miseljcic // *Materia Socio Medica*. – 2018. – Vol.4, №30. – P. 287.
169. Monteiro, L.J. Increased Circulating Levels of Tissue-Type Plasminogen Activator Are Associated with the Risk of Spontaneous Abortion During the First Trimester of

Pregnancy / L.J. Monteiro, M. Varas-Godoy, S. Acuña-Gallardo [et al.] // *Diagnostics* (Basel). – 2020. – Vol.4, №10.

170. Mucio, B. A systematic review and meta-analysis of cesarean delivery and other uterine surgery as risk factors for placenta accreta / B. Mucio, S. Serruya, A. Alemán [et al.] // *International journal of gynaecology and obstetrics*. – 2019. – Vol.3, №147. – P. 281–291.

171. Müller, I. Intravascular tissue factor initiates coagulation via circulating microvesicles and platelets. / I. Müller, A. Klocke, M. Alex [et al.] // *The FASEB Journal*. – 2003. – Vol.3, №17. – P. 476–478.

172. Nakashima, A. Serum fibrinogen levels could be an index of successful use of balloon tamponade in postpartum hemorrhage / A. Nakashima, K. Ogita, M. Chita [et al.] // *Journal of Perinatal Medicine*. – 2018. – Vol.1, №46. – P. 53–57.

173. Nelson-Piercy, C. Reducing the Risk of Venous Thromboembolism during Pregnancy and the Puerperium. – Text: electronic / C. Nelson-Piercy, P. MacCallum, L. Mackillop // Green-top Guideline No. 37a – URL: <https://www.rcog.org.uk/guidance/browse-all-guidance/green-top-guidelines/reducing-the-risk-of-thrombosis-and-embolism-during-pregnancy-and-the-puerperium-green-top-guideline-no-37a/>. (date of access: 11.09.2022).

174. Nelson, S.M. Prophylaxis of VTE in women - during assisted reproductive techniques / S.M. Nelson // *Thrombosis Research*. – 2009. – Vol.Suppl. 3, №123. – P. 8.

175. Nichols, K.M. Venous Thromboembolism Associated With Pregnancy: JACC Focus Seminar / K.M. Nichols, S. Henkin, M.A. Creager // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2020. – Vol.18, №76. – P. 2128–2141.

176. Okuyama, H. Higher levels of serum fibrin-monomer reflect hypercoagulable state and thrombus formation in the left atrial appendage in patients with acute ischemic stroke / H. Okuyama, O. Hirono, L. Liu [et al.] // *Circulation Journal*. – 2006. – Vol.8, №70. – P. 971–976.

177. Olausson, N. Incidence of pulmonary and venous thromboembolism in pregnancies after in vitro fertilization with fresh respectively frozen-thawed embryo transfer:

- Nationwide cohort study / N. Olausson, A. Discacciati, A.I. Nyman [et al.] // *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* – 2020. – Vol.8, №18. – P. 1965–1973.
178. Onishi, H. Fibrin monomer complex in normal pregnant women: A potential thrombotic marker in pregnancy / H. Onishi, K. Kaniyu, M. Iwashita [et al.] // *Annals of Clinical Biochemistry.* – 2007. – Vol.5, №44. – P. 449–454.
179. Opichka, M.A. Vascular Dysfunction in Preeclampsia / M.A. Opichka, M.W. Rappelt, D.D. Gutterman [et al.] // *Cells.* – 2021. – Vol.11, №10.
180. Ortigosa, S. Feto-placental morphological effects of prenatal exposure to drugs of abuse / S. Ortigosa, B. Friguls, X. Joya [et al.] // *Reproductive Toxicology.* – 2012. – Vol.1, №34. – P. 73–79.
181. Ou, Y.C. Thromboembolism after ovarian stimulation: Successful management of a woman with superior sagittal sinus thrombosis after IVF and embryo transfer: Case report / Y.C. Ou, Y.L. Kao, S.L. Lai [et al.] // *Human Reproduction.* – 2003. – Vol.11, №18. – P. 2375–2381.
182. Owens, A.P. Microparticles in hemostasis and thrombosis / A.P. Owens, N. MacKman // *Circulation research.* – 2011. – Vol.10, №108. – P. 1284–1297.
183. Oyelese, Y. Placenta previa, placenta accreta, and vasa previa / Y. Oyelese, J.C. Smulian // *Obstetrics and gynecology.* – 2006. – Vol.4, №107. – P. 927–941.
184. Park, K.J. Evaluation of the diagnostic performance of fibrin monomer in disseminated intravascular coagulation / K.J. Park, E.H. Kwon, H.J. Kim [et al.] // *Korean Journal of Laboratory Medicine.* – 2011. – Vol.3, №31. – P. 143–147.
185. Parkin, L. Risk of venous thromboembolism in users of oral contraceptives containing drospirenone or levonorgestrel: Nested case-control study based on UK General Practice Research Database / L. Parkin, K. Sharples, R.K. Hernandez [et al.] // *BMJ.* – 2011. – Vol.7804, №342. – P. 1–7.
186. Pinheiro, M.B. Fibrinolytic system in preeclampsia / M.B. Pinheiro, K.B. Gomes, L.M.S. Dusse // *Clinica Chimica Acta.* – 2013. №416. – P. 67–71.
187. Prisco, D. Hemostatic changes in normal pregnancy / D. Prisco, G. Ciuti, M. Falciani // *Hematology Meeting Reports.* – 2005. – Vol.10, №1.

188. Raia-Barjat, T. Preeclampsia and Venous Thromboembolism: Pathophysiology and Potential Therapy / T. Raia-Barjat, O. Edebiri, F. Ni Ainle // *Frontiers in cardiovascular medicine*. – 2022. №9.
189. Ramma, W. Therapeutic potential of statins and the induction of heme oxygenase-1 in preeclampsia / W. Ramma, A. Ahmed // *Journal of Reproductive Immunology*. – 2014. – Vol.100, №101–102. – P. 153.
190. Ramsay, M. Normal hematological changes during pregnancy and the puerperium / M. Ramsay // *The Obstetric Hematology Manual*. – 2011. – P. 3–12.
191. Rauch, U. Transfer of tissue factor from leukocytes to platelets is mediated by CD15 and tissue factor / U. Rauch, D. Bonderman, B. Bohrmann [et al.] // *Blood*. – 2000. – Vol.1, №96. – P. 170–175.
192. Rauch, U. Circulating tissue factor and thrombosis / U. Rauch, Y. Nemerson // *Current Opinion in Hematology*. – 2000. – Vol.5, №7. – P. 273–277.
193. Reverdiau, P. Tissue factor activity of syncytiotrophoblast plasma membranes and tumoral trophoblast cells in culture / P. Reverdiau, A.C. Jarousseau, G. Thibault [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 1995. – Vol.1, №73. – P. 49–54.
194. Rice, V.C.M. Fibrinolytic parameters in women undergoing ovulation induction / V.C.M. Rice, G. Richard-Davis, A.W.A. Saleh [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1993. – Vol.6, №169. – P. 1549–1553.
195. Rivera-Caravaca, J.M. Soluble Fibrin Monomer Complex and Prediction of Cardiovascular Events in Atrial Fibrillation: The Observational Murcia Atrial Fibrillation Project / J.M. Rivera-Caravaca, V. Roldán, M. Romera [et al.] // *Journal of General Internal Medicine*. – 2018. – Vol.6, №33. – P. 847–854.
196. Rodríguez-Peña, Y. Elevated levels of D-dimer tested by immunoturbidimetry are associated with the extent of severity of pre-eclampsia / Y. Rodríguez-Peña, M. Ibáñez-Pinilla // *International journal of gynaecology and obstetrics*. – 2020. – Vol.2, №150. – P. 241–247.
197. Röhl, H. Label-free kinetic studies of hemostasis-related biomarkers including d-dimer using autologous serum transfusion / H. Röhl, C. Berens, A. Winterhagen [et al.] // *PLOS ONE*. – 2015. – Vol.12, №10.

198. Rosen, T. Plasma levels of thrombin-antithrombin complexes predict preterm premature rupture of the fetal membranes / T. Rosen, E. Kuczynski, L.M. O'Neill [et al.] // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. – 2001. – Vol.5, №10. – P. 297–300.
199. Rosenkranz, A. Calibrated automated thrombin generation in normal uncomplicated pregnancy / A. Rosenkranz, M. Hiden, B. Leschnik [et al.] // *Thrombosis and haemostasis*. – 2008. – Vol.2, №99. – P. 331–337.
200. Rova, K. Venous thromboembolism in relation to in vitro fertilization: An approach to determining the incidence and increase in risk in successful cycles / K. Rova, H. Passmark, P.G. Lindqvist // *Fertility and Sterility*. – 2012. – Vol.1, №97. – P. 95–100.
201. Salomon, C. Placental Exosomes as Early Biomarker of Preeclampsia: Potential Role of Exosomal MicroRNAs Across Gestation / C. Salomon, D. Guanzon, K. Scholz-Romero [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2017. – Vol.9, №102. – P. 3182–3194.
202. Sammaritano, L.R. Which Hormones and Contraception for Women with APS? Exogenous Hormone Use in Women with APS / L.R. Sammaritano // *Current rheumatology reports*. – 2021. – Vol.6, №23.
203. Sánchez-Luceros, A. Factor VIII and von Willebrand factor changes during normal pregnancy and puerperium / A. Sánchez-Luceros, S.S. Meschengieser, C. Marchese [et al.] // *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. – 2003. – Vol.7, №14. – P. 647–651.
204. Sattar, N. A longitudinal study of the relationships between haemostatic, lipid, and oestradiol changes during normal human pregnancy / N. Sattar, I.A. Greer, A. Rumley [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 1999. – Vol.1, №81. – P. 71–75.
205. Schmidt, M. Distilling free-form natural laws from experimental data / M. Schmidt, H. Lipson // *Science*. – 2009. – Vol.5923, №324. – P. 81–85.
206. Schramm, A.M. Aspirin for Prevention of Preeclampsia in Lupus Pregnancy / A.M. Schramm, M.E.B. Clowse // *Autoimmune Diseases*. – 2014. №2014.

207. Schutte, M.H. The effect of transdermal gender-affirming hormone therapy on markers of inflammation and hemostasis / M.H. Schutte, R. Kleemann, N.M. Nota [et al.] // PLOS ONE. – 2022. – Vol.3, №17.
208. Seeholzer, N. Combining chemotherapy and low-molecular-weight heparin for the treatment of advanced breast cancer: Results on clinical response, transforming growth factor-beta 1 and fibrin monomer in a phase II study / N. Seeholzer, B. Thürlimann, D. Köberle [et al.] // Blood Coagulation and Fibrinolysis. – 2007. – Vol.5, №18. – P. 415–423.
209. Sennström, M. Thromboembolism and in vitro fertilization - a systematic review / M. Sennström, K. Rova, M. Hellgren [et al.] // Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica. – 2017. – Vol.9, №96. – P. 1045–1052.
210. Shamshirsaz, A.A. Coagulopathy in surgical management of placenta accreta spectrum / A.A. Shamshirsaz, K.A. Fox, H. Erfani [et al.] // European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology. – 2019. №237. – P. 126–130.
211. Shao, H. The association of antenatal D-dimer and fibrinogen with postpartum hemorrhage and intrauterine growth restriction in preeclampsia / H. Shao, S. Gao, D. Dai [et al.] // BMC Pregnancy and Childbirth. – 2021. – Vol.1, №21. – P. 1–7.
212. Sharma, S.K. Assessment of changes in coagulation in parturients with preeclampsia using thromboelastography / S.K. Sharma, J. Philip, C.W. Whitten [et al.] // Anesthesiology. – 1999. – Vol.2, №90. – P. 385–390.
213. Silver, R.M. Placenta accreta spectrum: accreta, increta, and percreta / R.M. Silver, K.D. Barbour // Obstetrics and gynecology clinics of North America. – 2015. – Vol.2, №42. – P. 381–402.
214. Singh, N. Evaluation of the Diagnostic Performance of Fibrin Monomer in Comparison to D-Dimer in Patients with Overt and Nonovert Disseminated Intravascular Coagulation / N. Singh, H.P. Pati, S. Tyagi [et al.] // Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. – 2017. – Vol.5, №23. – P. 460–465.
215. Stachenfeld, N.S. Progesterone increases plasma volume independent of estradiol / N.S. Stachenfeld, H.S. Taylor // Journal of Applied Physiology. – 2005. – Vol.6, №98. – P. 1991–1997.

216. Stewart, J.A. Thromboembolic disease associated with ovarian stimulation and assisted conception techniques / J.A. Stewart, P.J. Hamilton, A.P. Murdoch // *Human Reproduction*. – 1997. – Vol.10, №12. – P. 2167–2173.
217. Stirling, Y. Haemostasis in normal pregnancy / Y. Stirling, L. Woolf, W.R.S. North // *Thrombosis and Haemostasis*. – 1984. – Vol.2, №52. – P. 176–182.
218. Sun, L. Impact of Intraoperative Salvaged Blood Autotransfusion During Obstetric Hemorrhage on the Coagulation Function: A Retrospective Cohort Analysis / L. Sun, Y. Xu, L. Huang // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2021. №27.
219. Szecsi, P.B. Haemostatic reference intervals in pregnancy / P.B. Szecsi, M. Jørgensen, A. Klajnbard [et al.] // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2010. – Vol.4, №103. – P. 718–727.
220. Tafeit, E. Artificial neural networks in laboratory medicine and medical outcome prediction / E. Tafeit, G. Reibnegger // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. – 1999. – Vol.9, №37. – P. 845–853.
221. Takahashi, D. Evaluation of hypercoagulability using soluble fibrin monomer complex in sick newborns / D. Takahashi, Y. Takahashi, M. Matsui [et al.] // *Pediatrics International*. – 2013. – Vol.2, №55. – P. 151–156.
222. Tamura, H. Elevated serum fibrin-monomer levels are associated with high long-term cerebrovascular event rates in acute ischemic stroke patients / H. Tamura, O. Hirono, H. Okuyama [et al.] // *Circulation Journal*. – 2007. – Vol.10, №71. – P. 1573–1579.
223. Tantbirojn, P. Pathophysiology of placenta creta: the role of decidua and extravillous trophoblast / P. Tantbirojn, C.P. Crum, M.M. Parast // *Placenta*. – 2008. – Vol.7, №29. – P. 639–645.
224. Thornton, P. Coagulation in pregnancy / P. Thornton, J. Douglas // *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. – 2010. – Vol.3, №24. – P. 339–352.
225. Trigg, D.E. Hormonal influences on hemostasis in women / D.E. Trigg, M.G. Wood, P.A. Kouides [et al.] // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 2011. – Vol.1, №37. – P. 77–86.

226. Trimaille, A. D-Dimers Level as a Possible Marker of Extravascular Fibrinolysis in COVID-19 Patients / A. Trimaille, J. Thachil, B. Marchandot [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2021. – Vol.1, №10. – P. 1–13.
227. Tripodi, A. Acquired coagulation disorders: revisited using global coagulation/anticoagulation testing / A. Tripodi, V. Chantarangkul, P.M. Mannucci // *British journal of haematology*. – 2009. – Vol.1, №147. – P. 77–82.
228. Tsimafeyeu, I. V. Hypercoagulability as a prognostic factor for survival in patients with metastatic renal cell carcinoma / I. V. Tsimafeyeu, L. V. Demidov, A. V. Madzhuga [et al.] // *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. – 2009. – Vol.1, №28.
229. Uchikova, E.H. Changes in haemostasis during normal pregnancy / E.H. Uchikova, I.I. Ledjev // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. – 2005. – Vol.2, №119. – P. 185–188.
230. Uszyński, M. Tissue factor (TF) and tissue factor pathway inhibitor (TFPI) in amniotic fluid and blood plasma: implications for the mechanism of amniotic fluid embolism / M. Uszyński, E. Ekanowska, W. Uszyński [et al.] // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. – 2001. – Vol.2, №95. – P. 163–166.
231. Valderrama, C.E. Predicting Abnormal Laboratory Blood Test Results in the Intensive Care Unit Using Novel Features Based on Information Theory and Historical Conditional Probability: Observational Study / C.E. Valderrama, D.J. Niven, H.T. Stelfox [et al.] // *JMIR medical informatics*. – 2022. – Vol.6, №10.
232. Villani, M. Pregnancy-related venous thrombosis: comparison between spontaneous and ART conception in an Italian cohort / M. Villani, F. Dentali, D. Colaizzo [et al.] // *BMJ Open*. – 2015. – Vol.10, №5.
233. Wada, H. Increased plasma-soluble fibrin monomer levels in patients with disseminated intravascular coagulation / H. Wada, Y. Wakita, T. Nakase [et al.] // *American Journal of Hematology*. – 1996. – Vol.4, №51. – P. 255–260.



234. Wada, H. Increased soluble fibrin in plasma of patients with disseminated intravascular coagulation / H. Wada, T. Sase, T. Matsumoto [et al.] // *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. – 2003. – Vol.3, №9. – P. 233–240.
235. Wada, H. Elevated levels of soluble fibrin or D-dimer indicate high risk of thrombosis / H. Wada, T. Kobayashi, Y. Abe [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2006. – Vol.6, №4. – P. 1253–1258.
236. Wada, H. The reevaluation of thrombin time using a clot waveform analysis / H. Wada, Y. Ichikawa, M. Ezaki [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2021. – Vol.21, №10.
237. Wada, H. Are fibrin-related markers useful for the diagnosis of thrombosis? / H. Wada, N. Sakuragawa // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. – 2008. – Vol.1, №34. – P. 33–38.
238. Westerlund, E. Detection of a procoagulable state during controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization with global assays of haemostasis / E. Westerlund, P. Henriksson, H. Wallén [et al.] // *Thrombosis Research*. – 2012. – Vol.4, №130. – P. 649–653.
239. Westerlund, E. The evaluation of two automated soluble fibrin assays for use in the routine hospital laboratory / E. Westerlund, B.J. Woodhams, J. Eintrei [et al.] // *International Journal of Laboratory Hematology*. – 2013. – Vol.6, №35. – P. 666–671.
240. Wilstrup, C. Combining symbolic regression with the Cox proportional hazards model improves prediction of heart failure deaths / C. Wilstrup, C. Cave // *BMC Medical Informatics and Decision Making*. – 2022. – Vol.1, №22.
241. Witkowski, M. Tissue factor as a link between inflammation and coagulation / M. Witkowski, U. Landmesser, U. Rauch // *Trends in Cardiovascular Medicine*. – 2016. – Vol.4, №26. – P. 297–303.
242. Wolberg, A.S. Thrombin generation and fibrin clot structure / A.S. Wolberg // *Blood Reviews*. – 2007. – Vol.3, №21. – P. 131–142.
243. Xu, Q. Specific changes and clinical significance of plasma D-dimer during pregnancy and puerperium: a prospective study / Q. Xu, L. Dai, H.Q. Chen [et al.] // *BMC pregnancy and childbirth*. – 2023. – Vol.1, №23.

244. Xu, S. Prevalence and Predictability of Low-Yield Inpatient Laboratory Diagnostic Tests / S. Xu, J. Hom, S. Balasubramanian [et al.] // *JAMA Network Open*. – 2019. – Vol.9, №2.
245. Yamashita, Y. Elevated fibrin-related markers in patients with malignant diseases frequently associated with disseminated intravascular coagulation and venous thromboembolism / Y. Yamashita, H. Wada, H. Nomura [et al.] // *Internal Medicine*. – 2014. – Vol.5, №53. – P. 413–419.
246. Yoshihisa, A. Soluble fibrin monomer complex is associated with cardio- and cerebrovascular events in patients with heart failure / A. Yoshihisa, Y. Sato, Y. Kimishima [et al.] // *IJC Heart and Vasculature*. – 2021. №32.
247. Youssef, L. Complement and coagulation cascades activation is the main pathophysiological pathway in early-onset severe preeclampsia revealed by maternal proteomics / L. Youssef, J. Miranda, M. Blasco [et al.] // *Scientific Reports* 2021. – 2021. – Vol.1, №11. – P. 1–13.
248. Yu, L. Predict or draw blood: An integrated method to reduce lab tests / L. Yu, Q. Zhang, E. V. Bernstam [et al.] // *Journal of biomedical informatics*. – 2020. №104.
249. Yu, L. A deep learning solution to recommend laboratory reduction strategies in ICU / L. Yu, L. Li, E. Bernstam [et al.] // *International journal of medical informatics*. – 2020. №144.
250. Zangari, M. Prothrombin activation fragment (F1.2) is increased in pregnant patients with antiphospholipid antibodies / M. Zangari, C.J. Lockwood, J. Scher [et al.] // *Thrombosis Research*. – 1997. – Vol.3, №85. – P. 177–183.
251. Zegers-Hochschild, F. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017 / F. Zegers-Hochschild, G.D. Adamson, S. Dyer [et al.] // *Fertility and sterility*. – 2017. – Vol.3, №108. – P. 393–406.
252. Zheng, X. Use of fibrin monomer and D-Dimer in assessing overt and nonovert disseminated intravascular coagulation / X. Zheng, S. Chen, F. Zhang [et al.] // *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. – 2021. – Vol.4, №32. – P. 248–252.

253. Zotz, R.B. Elevated Prothrombin Fragment F1+2 Levels during Pregnancy in Women with Previous Venous Thromboembolism. / R.B. Zotz, A. Gerhardt, S. Marzotko [et al.] // Blood. – 2004. – Vol.11, №104. – P. 1055–1055.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1 – референтные интервалы АЧТВ, концентраций фибриногена и D-димера для разных сроков нормальной беременности и послеродового периода по Szecsi P.B. et al. 2010 [219].

Срок гестации/параметр	АЧТВ (сек)	Концентрация фибриногена (г/л)	Концентрация D-димера (мкг/мл)
13-20 недель	28 – 40	2,9 – 5,3	0,2 – 1,4
21-28 недель	28 – 39	3,0 – 5,7	0,3 – 1,7
29-34 недели	27 – 38	3,2 – 5,7	0,3 – 3,0
35-42 недели	27 – 37	3,5 – 6,5	0,4 – 3,1
День родов	26 – 38	3,5 – 6,5	0,7 – 7,6
День родов + 1 день	28 – 38	3,4 – 6,6	0,8 – 12,8
День родов + 2 дня	28 – 39	3,9 – 6,7	0,5 – 10,9

Приложение 2 – референтные интервалы показателей теста генерации тромбина для разных сроков нормальной беременности и послеродового периода по Момот А.П. и др. 2015 [13].

Срок гестации/параметр	LT (мин)	ETP (нмоль/л×мин)	Peak (нмоль/л)	ttPeak (мин)
6-8 недель	1,83 – 3,00	895 – 2165	147 – 368	4,06 – 7,79
12-13 недель	1,81 – 3,00	1015 – 2444	227 – 445	4,17 – 7,34
22-24 недели	1,82 – 2,93	1158 – 3072	224 – 480	4,00 – 6,33
34-36 недели	1,67 – 3,02	993 – 2850	204 – 488	3,67 – 7,51
На 2-3 сутки после родов	1,67 – 2,98	1165 – 2245	271 – 485	3,65 – 6,00