

КАРДИОГЕНЕТИКА ТРОМБОФИЛИЯ

КАРДИОГЕНЕТИКА ТРОМБОФИЛИЯ

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ТРОМБОФИЛИИ, МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ «КАРДИОГЕНЕТИКА ТРОМБОФИЛИЯ»

№ ФСР 2010/08414 от 22 ноября 2016 г.



В России число регистрируемых венозных тромбозов составляет 145–200 случаев ежегодно (на 100 тыс. населения), при этом более 70% эпизодов таких тромбозов протекают субклинически, не настораживая ни больных, ни врачей, но представляют опасность развитием фатальной тромбоземболии. Артериальные же тромбозы (острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт) регистрируются уже в 775–850 случаях соответственно и имеют тенденцию к ежегодному росту на 9–12% [25].

В соответствии с современными представлениями о нарушениях системы гемостаза **тромбофилия** определяется как *патологическое состояние системы крови, вызванное комбинацией постоянных и/или временных факторов тромбогенного риска, реализованных развитием тромбоза (тромбозов), объективные сведения о котором (которых) могут быть получены в настоящий момент или по данным индивидуального анамнеза* [21, 22].

К **факторам тромбогенного риска** необходимо относить постоянные (генетически обусловленные) и временные (вторичные, действующие в определенный промежуток времени) отклонения и индивидуальные особенности человека, способные в различных сочетаниях привести к развитию тромботической готовности и в последующем — появлению тромбозов, тромбоземболий, ишемий и инфарктов органов (рис. 1). В настоящее время описано более 100 факторов тромбогенного риска, способных в своем сочетании привести к сосудистым катастрофам [22, 37].

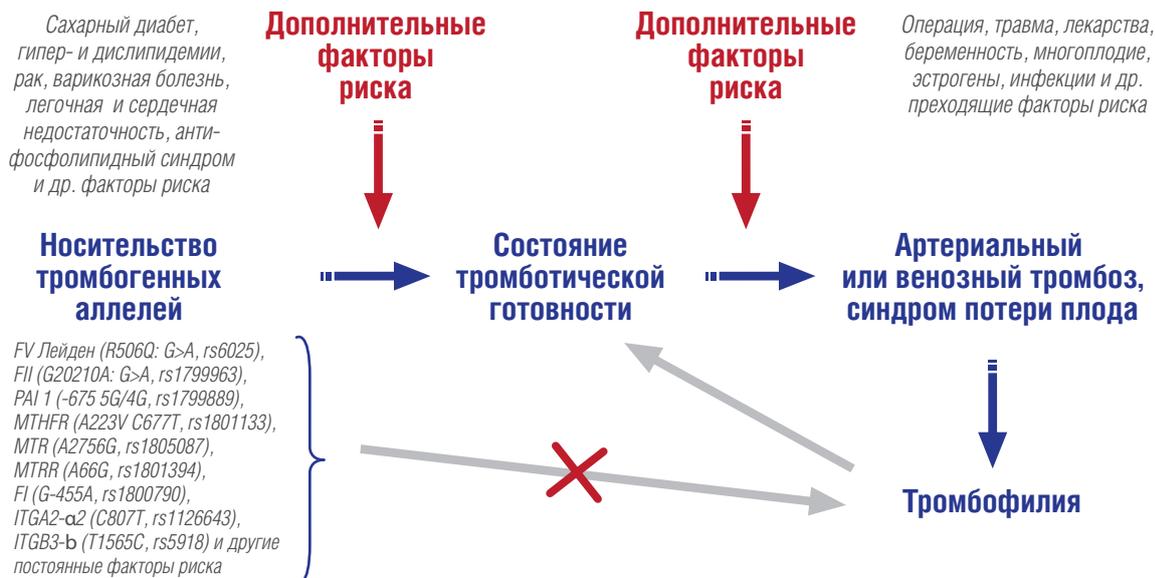


Рис. 1 Связь факторов тромбогенного риска, тромботической готовности и тромбофилии в генезе тромбозов и неудач беременности [22]

Согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений (ВТЭО) 2015 г. к факторам тромбогенного риска, не связанным с травмами и операциями, относятся:

- ❖ инсульт и/или паралич/парез нижних конечностей;
- ❖ выраженная сократительная дисфункция миокарда (особенно с хронической сердечной недостаточностью III–IV функциональных классов по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца — NYHA);
- ❖ тяжелые заболевания легких (особенно с выраженной дыхательной недостаточностью, искусственной вентиляцией легких);
- ❖ сепсис;
- ❖ острая инфекция (пневмония и др.);
- ❖ злокачественное новообразование (мозга, поджелудочной железы, толстой кишки, желудка, легких, предстательной железы, почек, яичника);
- ❖ гормонотерапия, химиотерапия, рентгенотерапия у онкологических пациентов;
- ❖ сдавление вен (опухолью, гематомой и пр.);
- ❖ возраст более 40 лет (с увеличением риск растет; обычные градации более 40, 60 и 75 лет);
- ❖ постельный режим (более трех суток), длительное положение сидя;
- ❖ применение эстроген-гестагенных препаратов (контрацепция или гормональная заместительная терапия);
- ❖ применение селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов;
- ❖ воспалительные заболевания толстого кишечника;
- ❖ нефротический синдром;
- ❖ миелопролиферативные заболевания;
- ❖ пароксизмальная ночная гемоглобинурия;
- ❖ ожирение;
- ❖ венозный тромбоз и/или легочная тромбоэмболия в анамнезе;
- ❖ варикозное расширение вен нижних конечностей;
- ❖ катетер в центральной вене;
- ❖ беременность и ближайший (до шести недель) послеродовой период.

Травмы и операции рассматриваются как самостоятельные факторы тромбогенного риска.

Существенный вклад в развитие ВТЭО вносят нарушения со стороны системы гемостаза, в том числе риск развития ВТЭО определен для следующих показателей (Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозных осложнений, 2015 г.; ГОСТ Р 56377–2015 «Клинические рекомендации (протоколы лечения). Профилактика тромбозных осложнений») (табл. 1):

Таблица 1. Риска развития ВТЭО при нарушениях факторов гемостаза [34]

Фактор системы гемостаза	OR* ВТЭО вне беременности, вне зависимости от пола	OR ВТЭ при беременности
Дефицит антитромбина	20	4,69
Дефицит протеина С	10	4,76
Дефицит протеина S	10	3,19
Лейденская мутация V фактора свертывания крови	5	для гомозигот — 34,4 для гетерозигот — 8,32
Мутация протромбина G20210A	2-3	для гомозигот — 26,36 для гетерозигот — 6,8

* Примечание:

Важной характеристикой вклада полиморфного аллеля в развитие мультифакторного заболевания является значение показателя «отношение шансов» (odds ratio, OR). Рассчитывается OR для групп «случай — контроль» как отношение частоты встречаемости полиморфного аллеля в группе пациентов к частоте встречаемости того же аллеля в здоровой контрольной группе.

При значении OR=1 риск развития заболевания равен популяционному; при OR>1 носительство исследуемого полиморфного аллеля увеличивает риск возникновения заболевания, OR<1 позволяет говорить о снижении риска заболевания (протективном эффекте полиморфизма) по сравнению с контрольной группой.

В общей популяции генетические формы тромбофилии (мутация FV Лейден, протромбина, дефицит протеинов С и S, антитромбина III) и антифосфолипидный синдром (АФС) (приобретенная тромбофилия) в среднем встречаются у 15–20% населения, а при венозных тромбозах, по данным литературы, частота тромбофилий достигает 50%.

При ряде тромбофилических состояний риск венозной тромбоэмболии (ВТЭ) повышается более чем в 100 раз, особенно при наличии гомозиготных, мультигенных форм тромбофилии или комбинированных форм (генетические тромбофилии + антифосфолипидный синдром (АФС)) [22, 57, 62].

Патогенетическими механизмами развития тромбозов при АФС являются: взаимодействие с фосфолипидами эндотелиальных клеток и тромбоцитов, нарушение секреции простаглицина, нарушение контактной активации фибринолиза, ингибция тканевого активатора плазминогена (t-PA), тромбомодулина / протеина С / протеина S, индукция резистентности к активированному протеину С (от англ. *Activated Protein C* — APC). Важно отметить, что наибольший риск тромбозов ассоциирован с положительной пробой на волчаночный антикоагулянт (в 10 раз больший риск для артериальных тромбозов и в 4–16 раз — для ВТЭ) [31].

Тромбогенные риски при беременности

Распространенность ВТЭ у беременных составляет 0,8–2,0 на 1000 беременностей и является причиной 1,1 смертей на 100 000 беременностей. Примерно 80% эмболических событий при беременности являются венозными [34, 42, 52, 63].

Важнейшим фактором риска для женщин ВТЭ при беременности является наличие тромбоэмболии в анамнезе, в период, предшествующий беременности. Второй наиболее распространенный фактор риска — наследственная тромбофилия [33, 43, 44, 52, 55] (рис. 2).

Венозные тромбозы магистральных вен приводят к тромбированию сосудов плаценты, ухудшают маточно-плацентарное кровообращение и внутриутробное состояние плода, что создает реальную угрозу жизни и здоровью матери и плода и предопределяет рост материнской и перинатальной смертности [1].



Рис. 2. Тромбофилии в структуре причин репродуктивных потерь [16]

Отдельной проблемой являются тромбозы редких локализаций, которые в 50% случаев возникают спонтанно у пациентов с тромбофилическими состояниями, в остальных случаях, помимо наследственной тромбофилии, в возникновении тромбоза играют роль приобретенные факторы, в первую очередь: беременность, как состояние в норме характеризующееся гиперкоагуляцией [2, 18].

Тромбозы редких локализаций во время беременности отмечаются в 75% случаев тромботических осложнений: тромбоз печеночных вен (синдром Бадда-Киари), селезеночных, мезентериальных, яичниковых вен, вен сетчатки, головного мозга, воротной вены, подмышечной и подключичной вен. Тромбозы редких локализаций развиваются у 25% пациентов с дефицитом антитромбина III. При наличии наследственных тромбофилий риск тромбоза мезентериальных вен повышается в 100 раз, при этом в 10% случаев он ассоциирован с дефицитом антитромбина III, при дефиците протеина С — в 6%, а при дефиците протеина S — в 4% случаев. При наличии мутации FV Лейден риск тромбоза сетчатки повышается в шесть раз, а при наличии мутации протромбина G20210A — в восемь раз [1, 18].

Кроме того, выявлено, что частота мутации Лейден у больных тяжелой преэклампсией значительно выше (до 30% в зависимости от популяции), чем у женщин с физиологической беременностью [4, 5].

Отдельного внимания заслуживает вклад генетически обусловленных нарушений плазменного звена гемостаза в развитие патологий беременности. Установлено, что частота образования ретрохориальных/ретроамниотических гематом в 3–4 раза выше у носительниц гетерозиготного варианта гена PAI-1 (4G/5G) и в 5–7 раз выше при гомозиготном генотипе (4G/4G) по сравнению с беременными женщинами с генотипом 5G/5G, что свидетельствует о дозозависимом эффекте аллели. Кроме того, у беременных с генотипом 4G/4G отмечается тенденция к более раннему появлению артериального давления и к его более высоким показателям, особенно в родах [4, 12, 13].

Тромбогенные риски при гормональной терапии

Актуальным направлением оценки генетически обусловленных рисков развития тромбофилии является назначение гормональной контрацепции и заместительной гормональной терапии (ЗГТ), которые сами по себе незначительно повышают риск тромбозов, но при носительстве определенного генотипа опасность резко возрастает. Согласно Национальным медицинским критериям приемлемости методов контрацепции 2012 г. и пятой редакции «Медицинские критерии приемлемости для использования методов контрацепции» 2015 г. (Medical eligibility criteria for contraceptive use — 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2015), разработанных ВОЗ для предотвращения тромбозов и тромбоэмболических осложнений при приеме оральных контрацептивов, рекомендовано выявление тромбогенных мутаций (F2 — протромбиновая мутация и F5 — фактор Лейдена).

В соответствии с Критериями, при наличии тромбогенной мутации Лейдена назначение препаратов, содержащих эстроген, противопоказано (четвертая категория критериев приемлемости). При назначении контрацепции, основанной на прогестинах или внутриматочных средствах (медьсодержащих либо гормоносодержащих) женщины с тромбогенными мутациями (F2 и F5) попадают во вторую категорию критериев приемлемости (прием препарата под наблюдением врача).

Критичным фактором для реализации тромбогенных рисков, ассоциированных с генетически обусловленными нарушениями в системе гемостаза, являются программы ЭКО, поскольку включают применение массивных доз гормональных препаратов, в том числе аналогов гонадолиберина и гонадотропинов, что сопряжено с выработкой эндогенных яичниковых гормонов и может оказывать негативное влияние на параметры системы гемостаза. Нарушение баланса свертывающей, противосвертывающей и фибринолитической систем может быть этиопатогенетическим фактором нарушения процессов имплантации плодного яйца в эндометрий, следствием которого становится неблагоприятный результат программы ЭКО [19, 20, 21].

ВНИМАНИЕ! В соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозмболических осложнений, 2015 г., тромбофилии, сопряженные с наиболее высоким риском рецидива ВТЭО (антифосфолипидный синдром, дефицит антикоагулянтных протеинов С или S, мутации фактора V Лейдена или протромбина G20210A) могут влиять на длительность лечения антикоагулянтами после впервые возникшего неспровоцированного эпизода тромбоза глубоких вен (ТГВ) / тромбозмболии легочной артерии (ТЭЛА).

Стандартная рекомендация (без указанных выше факторов риска со стороны системы гемостаза): длительность использования антикоагулянтов — не менее трех месяцев; при выявленных факторах тромбофилии — продление на неопределенно долгий срок при припроксимальном ТГВ и/или ТЭЛА, низком риске кровотечения и возможности поддерживать стабильный уровень антикоагуляции.

Продленное использование низкомолекулярных гепаринов (подкожное введение лечебной дозы в первый месяц с возможностью последующего снижения до 75% от лечебной) рекомендуется предпочесть у беременных, а также у больных со злокачественными новообразованиями (по крайней мере, в ближайшие 3–6 месяцев после развития тромбоза).

Для уменьшения риска рецидива ВТЭО показано длительное использование антикоагулянтов. Подходы к их применению для лечения и длительной вторичной профилактики (продленного лечения) ТГВ и ТЭЛА одинаковы.

В настоящее время оптимальным следует признается подход, согласно которому профилактику ВТЭО проводят абсолютно всем пациентам. Характер профилактических мер определяется степенью риска.

Одним из наиболее удобных инструментов определения риска ВТЭО служит шкала Caprini (табл. 2).

Таблица 2. Шкала балльной оценки клинических характеристик (по Caprini)

1 балл	2 балла	3 балла	5 баллов
41–60 лет Малая операция ИМТ >25 кг/м ² Отек нижних конечностей Варикозное расширение вен Беременность или послеродовой период Невынашивание беременности в анамнезе Прием эстрогенов/гестагенов Сепсис (<1 мес.) Тяжелое заболевание легких, в том числе пневмония (<1 мес.) Нарушение функции дыхания Острый инфаркт миокарда Застойная сердечная недостаточность (<1 мес.) Анамнез воспалительного заболевания кишечника Терапевтический пациент на постельном режиме	61–74 года Артроскопическая операция Большая открытая операция (>5 мин.) Лапароскопическая операция (>45 мин.) Онкология Постельный режим (>3 сут.) Гипсовая повязка Катетер в центральной вене	>74 лет Анамнез ВТЭО Семейный анамнез ВТЭО Лейденская мутация Мутация в гене протромбина Волчаночный антикоагулянт Антитела к кардиолипину Повышение уровня гомоцистеина в плазме Гепарининдуцированная тромбоцитопения Другие тромбофилии	Инсульт (<1 мес. назад) Замена крупного сустава Перелом бедра, костей таза, голени Травма спинного мозга (<1 мес. назад)

На сегодняшний день четко определены факторы риска ВТЭО, в том числе генетически обусловленные, во время беременности, родов и послеродового периода, которые позволили сформировать алгоритмы лечения и профилактики ВТЭО (Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений, 2015 г.).

Тромбогенные риски при онкологических заболеваниях

Принципиальной является проблема ВТЭО, в первую очередь ТГВ и ТЭЛА, при онкологических заболеваниях, поскольку данные осложнения ухудшают исходы противоопухолевого лечения и занимают одно из лидирующих мест среди причин смерти больных злокачественными новообразованиями. Так, на аутопсии признаки тромбоэмболических осложнений обнаруживаются у 50% онкологических пациентов; тромбоэмболия легочной артерии являлась причиной смерти у 15% больных и у 43% больных — фоном для других смертельных осложнений. Однолетняя выживаемость онкологических больных в случае развития ВТЭ составляет 12% по сравнению с 36% при отсутствии тромбоэмболических осложнений [17, 27, 32, 36, 64].

Выделяют три категории факторов риска развития тромбофилии у больных злокачественными новообразованиями [17]:

- ❖ специфические опухоль-зависимые;
- ❖ общепатологические;
- ❖ терапия-зависимые.

Основными причинами внутрисосудистого тромбообразования, как было показано еще Р. Вирховым, являются: повреждение сосудистой стенки, повышенная склонность крови к свертыванию и замедление скорости кровотока. У больных злокачественными новообразованиями именно гиперкоагуляция, индуцированная опухолевыми клетками, является особенно значимым фактором. Гиперкоагуляция обусловлена каскадом процессов, индуцированных самими опухолевыми клетками, в том числе: продукция ракового прокоагулянта (цистеиновая транспептидаза); активация моноцитов, нейтрофилов, тканевых макрофагов, миофибробластов; усиление адгезии и агрегации тромбоцитов с образованием опухолево-тромбоцитарных микротромбов и микроэмболов. Локальное отложение фибрина вокруг опухолевых клеток формирует матрицу для опухолевого роста и ангиогенеза, а также способствует развитию венозного тромбоза и синдрома диссеминированного свертывания крови (ДВС) [6, 17, 27, 28, 32, 39, 54].

На фоне имеющейся гиперкоагуляции дополнительные клинические факторы риска, такие как длительная иммобилизация, частые венопункции, продолжительное стояние катетера в подключичной вене, инфекции, сопутствующая патология, опухолевая компрессия венозного кровотока предрасполагают к развитию тромбоэмблических осложнений у онкологических больных [17, 54].

Ежегодное число случаев возникновения ВТЭ у онкологических пациентов, получающих химиотерапию, оценивается в пределах 10%. Риск развития ВТЭ может увеличиваться до 15–20% в зависимости от класса и комбинации назначаемых химиотерапевтических препаратов. Например, включение в химиотерапевтический режим платины увеличивает риск ВТЭ до 18%, L-аспарагиназы у взрослых — риск ВТЭ 4–14%, 5-фторурацила — 15–17%. Неблагоприятными с точки зрения возможного развития тромбозов представляются сочетания цитостатических агентов с гормональными средствами или иммуномодуляторами, а также комбинация противоопухолевой химиотерапии и лучевого лечения [29, 32, 35, 48, 50, 58].

В совокупности наличие онкологического заболевания и его терапия рассматриваются как самостоятельные факторы тромбогенного риска и оказывают существенное влияние на функционирование системы гемостаза. Наличие у пациента факторов наследственной тромбофилии усугубляет ситуацию и существенно ухудшает прогноз. Большое значение имеет сочетание генетических форм тромбофилии и с циркуляцией антифосфолипидных антител, чаще всего в этом сочетании выявляются: мутация FV Лейден, полиморфный вариант гена PAI-1 G4/G5, полиморфизм тромбоцитарных рецепторов ITGA2 и ITGB3, дефицит AT III [6, 17, 47].

Генетическое тестирование, направленное на выявление генетически обусловленных факторов тромбогенного риска, позволяет индивидуально подобрать наиболее эффективный комплекс профилактических мероприятий, направленных на снижение тромбоэмблических осложнений у пациентов с онкологическими заболеваниями.

Тромбогенные риски и болезни системы кровообращения

Не менее актуальной проблемой является оценка вклада полиморфизмов генов факторов системы гемостаза в развитие инсульта. Ишемический инсульт (ИИ) занимает второе место по частоте смертельных случаев от болезней системы кровообращения в Российской Федерации и порядка 85% от общего числа инсультов. Ежегодная смертность от ИИ в России — одна из наиболее высоких в мире (175 случаев на 100 тыс. населения в год). При этом отмечается неуклонный рост случаев заболевания в молодом возрасте (<50 лет). К основным немодифицируемым факторам риска ИИ относят (Клинические рекомендации (протокол) по оказанию скорой медицинской помощи при острых нарушениях мозгового кровообращения, 2014 г.; Неврология. Национальное руководство, 2015 г):

- ❖ пол;
- ❖ возраст;
- ❖ этническая принадлежность;
- ❖ наследственность.

С точки зрения вклада генетически обусловленных факторов риска развития инсультов особое внимание направлено на *тромбоцитарное звено* гемостаза (в ракурсе патологических изменений адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов) и *фибринолитическое звено* (снижение фибринолитической активности). В развитии ишемического инсульта доказана роль полиморфизмов генов тромбоцитарных рецепторов: ITGA2 и ITGB3; полиморфизмы гена фибриногена (FGB) и ингибитора активатора плазминогена 1 типа PAI1 [7, 10, 11, 23, 24, 45].

Наличие полиморфных вариантов генов свертывающей системы крови определяет клинические особенности течения острого периода ишемического инсульта (патогенетический подтип инсульта, количество очагов ишемии, тяжесть неврологического дефицита), что свидетельствует об аддитивном эффекте указанных выше полиморфизмов генов.

Исследования последних свидетельствуют о том, что сочетание полиморфных вариантов генов FGB, PAI-1 и ITGA2 — ассоциировано с нарастанием неврологического дефицита, а также с утяжелением общего состояния пациентов к концу острого периода заболевания. Полиморфизм гена FGB чаще ассоциирован с развитием атеротромботического инсульта; полиморфизм гена PAI-1 — атеротромботического и лакунарного инсультов; полиморфизм гена ITGA2 — лакунарного инсульта. Сочетание полиморфных вариантов этих трех генов выявляется у пациентов с кардиоэмболическим инсультом. Наличие мутации Лейден и мутации гена протромбина в сочетании нарушениями тромбоцитарного и фибринолитического звеньев системы гемостаза обуславливают максимально неблагоприятный прогноз к концу острого периода [14, 15, 24].

Еще одной важной особенностью, связанной с генетически обусловленными нарушениями в функционировании тромбоцитарного звена гемостаза, является снижение чувствительности к стандартным антиагрегантным препаратам. В частности, полиморфные варианты гена ITGB3 снижают эффективность аспирина и клопидогрела, что определяет необходимость индивидуальной тактики ведения пациента и подбора наиболее эффективной схемы антиагрегантной терапии с учетом генетических особенностей [8].

Кроме того, отмечено нарастание частоты полиморфных вариантов генов тромбоцитарного и фибринолитического звеньев гемостаза при сочетании ишемической болезни сердца (ИБС) с артериальной гипертензией: носители имеют достоверно более высокие показатели как систолического, так и диастолического артериального давления, что требует многокомпонентной терапии и больших доз препаратов, относящихся к различным группам антигипертензивных средств, а также большей продолжительности лечения для стабилизации артериального давления [8, 10, 11, 23].

Важной медико-социальной проблемой являются острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) у детей. Так, среди новорожденных ОНМК развивается у 1 из 4000 живых доношенных. Отмечена зависимость частоты регистрации инсульта от гестационного возраста — 28,6 случая на 100 тыс. родившихся до 31-й недели гестационного возраста и 24,7 случая — после 31-й недели [14, 30, 46, 56].

Тромбофилия верифицирована как ведущая причина ИИ у детей. Наиболее часто выявляемыми генетическими протромботическими состояниями включают белок С, белок S, дефицит плазминогена и антитромби-

на III, антифосфолипидные антитела, гомоцистинурию, MTHFR C677T фактор V Лейдена и протромбиновые G20210A [14, 41, 49, 53].

Гетерозиготное носительство Лейденской мутации, встречающееся у 2–15% в педиатрической популяции, увеличивает риск развития инсульта в 3–7 раз, а достаточно редкое гомозиготное в 80 (!) раз [9, 26].

Неонатальный инсульт может быть следствием тромботических и тромбоэмболических осложнений беременности, в том числе генетически обусловленных, и собственно анамнеза матери: постнатально диагностированная инфекция (OR 25); мигрень (OR 16,9); тромбофилия, включая историю тромбоза и антифосфолипидного синдром (OR 16.0); системная волчанка (OR 15.2); болезни сердца (OR 13.2); преэклампсия (OR 4.4); диабет (OR 2,5); курение (OR 1.9) [38, 40, 56, 59, 61, 65, 66].

Вероятность повторного инсульта в популяции больных составляет около 20%, при этом у детей с одним фактором риска она находится в пределах 8%, при сочетании ≥ 2 факторов неуклонно нарастает и достигает до 42%. Например, при сочетании низкой массы тела при рождении с генетически детерминированной тромбофилией вероятность повторного ОНМК увеличивается в 3,26 раза [51, 60].

Таким образом, генетические факторы риска тромбофилии вносят существенный вклад в развитие ишемического инсульта, как у взрослых пациентов, так и у детей, особенно в неонатальный период. Генетическое тестирование матери, в случае выявления тромбогенных факторов риска, позволяет реализовать индивидуальный подход к ведению беременности, снизить риск развития тромбоэмболических осложнений и, как возможное следствие, — сосудистых заболеваний у потомства.

В целом, генетическое тестирование для оценки тромбогенных рисков рекомендовано следующими нормативно-методическими документами:

- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 февраля 2000 г. № 64 «Об утверждении номенклатуры клинических лабораторных исследований»;
- ГОСТ Р 56377-2015 «Клинические рекомендации (протоколы лечения). Профилактика тромбоэмболических синдромов»;
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 ноября 2012 г. № 572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю „акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)”»;
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 20 декабря 2012 г. № 1273н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при привычном невынашивании беременности»;
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 7 ноября 2012 г. № 588н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при гипоксии плода, недостаточном росте плода, других плацентарных нарушениях»;
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 20.12.2012 № 1237н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи детям при гемофилии А, гемофилии В, болезни Виллебранда, редких геморрагических коагулопатиях и тромбоцитопатиях, протромботических состояниях, плановая первичная диагностика»;
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 9 ноября 2012 г. № 833н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре (обострение, рецидив)»;
- Письмо Министерства здравоохранения РФ 27 ноября 2002 г. № 2510/11891-02-32 «Профилактика тромбоэмболии легочной артерии в акушерской практике»;
- «Медицинские критерии приемлемости использования методов контрацепции ВОЗ, 5-е изд.», 2012 г.;
- Клинические рекомендации (Протокол) Профилактика венозных тромбоэмболических осложнений в акушерстве и гинекологии, 2014 г.;
- Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО), 2015 г.;
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 13 октября 2017 г. № 804н «Об утверждении номенклатуры медицинских услуг» (Списком А раздел 27 — генетические исследования).

Показания к генетическому анализу:

- ❖ **Случаи наследственной тромбозмболии в семье.**
- ❖ **Случаи тромбоза в анамнезе:**
 - единичный тромбоз до 50 лет;
 - повторные тромбозы;
 - случай тромбоза в любом возрасте при наличии семейного анамнеза;
 - тромбозы необычной локализации (портальные, брыжеечные, мозговые вены);
 - тромбоз непонятной этиологии после 50 лет.
- ❖ **Ситуации высокого риска:**
 - массивные хирургические вмешательства;
 - длительная иммобилизация;
 - онкологические заболевания;
 - химиотерапия.
- ❖ **Ишемический инсульт.**
- ❖ **Сердечно-сосудистые заболевания.**
- ❖ **Назначение стандартной антиагрегантной терапии.**
- ❖ **Применение гормональной контрацепции или гормональной заместительной терапии у женщин**, имеющих тромбозы в анамнезе, имеющих родственников 1 степени родства с диагностированной наследственной тромбофилией или семейный анамнез тромбозмболических осложнений.
- ❖ **Осложненный акушерский анамнез.**
- ❖ **Женщины, планирующие беременность**, имеющие тромбозы в анамнезе, имеющие родственников первой степени родства с диагностированной наследственной тромбофилией или семейный анамнез тромбозмболических осложнений.

Технология анализа генетических полиморфизмов (*single nucleotide polymorphisms* – SNPs)

В случае возникновения замены в нуклеотидной последовательности ДНК возможно обнаружение трех вариантов генотипа: гомозиготы с исходной последовательностью нуклеотидов, гетерозиготы и гомозиготы с заменой в последовательности нуклеотидов.

Технология ПЦР с анализом кривых плавления дает возможность идентифицировать фрагменты ДНК-путем детекции изменений в уровне флуоресценции комплекса фрагмент–проба (меченный флуорофором олигонуклеотидный зонд) на этапе его денатурации и последующего построения графика кривой плавления.

Технология включает следующие этапы:

- ❖ амплификация искомой последовательности ДНК;
- ❖ гибридизация ампликонов с олигонуклеотидами (пробами), мечеными флуорофорами;
- ❖ образование комплементарных и частично комплементарных дуплексов;
- ❖ плавление (денатурация) дуплексов;
- ❖ детекция флуоресценции с последующим построением и анализом кривых плавления.

Для определения нуклеотидной последовательности, образовавшейся в процессе амплификации, используют метод примыкающих проб (*kissing probes* или резонансный перенос энергии). В его основе лежит использование двух типов олигонуклеотидов (проб), гибридизующихся на матрицу при низкой температуре в непосредственной близости друг от друга. Один из олигонуклеотидов метят флуоресцентным донором, другой — акцептором (гасителем). Идентификация нуклеотидной последовательности образца осуществляется в процессе плавления дуплексов (результат гибридизации фрагментов ДНК и олигонуклеотидных зондов), которое происходит при последовательном увеличении температуры реакционной смеси.

Преимуществом данного подхода является использование специфических флуорофоров, снижающих риск детектирования неспецифических продуктов амплификации, как при использовании интеркалирующих красителей.

Компания «ДНК-Технология» предлагает уникальную технологию выявления и идентификации SNP методом ПЦР с анализом кривых плавления.

Преимуществами данной технологии являются:

- ❖ Использование Taq-полимеразы, блокированной специфическими антителами, на этапе амплификации искомого участка ДНК с праймерами, общими для обоих вариантов последовательности:
 - реализация «горячего старта» без применения парафина;
 - предотвращение неспецифического отжига праймеров;
 - повышение чувствительности комплектов реагентов.
- ❖ Для повышения надежности типирования компания «ДНК-Технология» использует модификацию метода примающих проб:
 - сиквенс-специфичные типизирующие олигонуклеотиды;
 - одновременная гибридизация с двумя альтернативными типизирующими зондами, меченными различными флуорофорами, что позволяет определять оба варианта искомой последовательности в одной пробирке, в отличие от систем с интеркалирующими красителями, где для определения одного SNP необходимо использовать две пробирки для разделения аллельных вариантов.
- ❖ Автоматическое генотипирование и интерпретация результатов в режиме «реального времени» с использованием специализированного программного обеспечения.
- ❖ Возможность визуальной интерпретации результатов за счет определения разницы температур плавления не менее 4–5 °С для аллельных вариантов одного гена.

Компания «ДНК-Технология» разработала набор реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, методом ПЦР в режиме реального времени — «КардиоГенетика Тромбофилия».

Технические характеристики и состав набора реагентов

Количество тестов в наборе	48 тестов
Формат реагентов	Нераскапанный
Taq-АТ-полимераза	1 пробирка (192 мкл)
Масло минеральное	1 флакон (7,68 мл)
ПЦР-буфер	1 флакон (3,84 мл)
Исследуемые полиморфизмы	F2: 20210 G>A — 1 пробирка (960 мкл) F5: 1691 G>A (Arg506Gln) — 1 пробирка (960 мкл) F7: 10976 G>A (Arg353Gln) — 1 пробирка (960 мкл) F13: G>T (Val34Leu) — 1 пробирка (960 мкл) FGB: -455 G>A — 1 пробирка (960 мкл) ITGA2: 807 C>T (Phe224Phe) — 1 пробирка (960 мкл) ITGB3: 1565 T>C (Leu33Pro) — 1 пробирка (960 мкл) SERPINE1 (PAI-1): -675 5G>4G — 1 пробирка (960 мкл)
Материал для анализа	Цельная кровь
Срок годности	6 месяцев
Температура хранения	+2 ... +8 °С -20 °С (для Taq-АТ-полимеразы)

Технология:

- ПЦР-плавление;
- использование других технологических платформ не допускается.

Реагенты для выделения ДНК:

- «ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА»;
- «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА».

Минимальное количество ДНК для анализа:

1,0 нг на амплификационную пробирку, что соответствует $C_p \leq 32,0$ на канале детекции ВК (Сy5).

Для проведения анализа необходимы следующие расходные материалы и оборудование:

- микропробирки (или микропробирки в стрипах) объемом 0,2 мл для ПЦР-анализа, адаптированные для работы с термоциклером в режиме реального времени;
- штатив и насадка на микроцентрифугу (вортекс) для стрипованного пластика.

Преимущества использования набора реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития артериальной гипертензии, методом ПЦР в режиме реального времени:

- технологичность (стандартные методики ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени);
- высокая скорость (для определения генотипа пациента требуется не более суток);
- автоматическая выдача результатов (для приборов серии «ДТ»);
- низкая стоимость анализа;
- высокая чувствительность (технология позволяет достоверно отличать аллельные варианты гена);
- одновременная детекция — в одной пробирке определяются два аллельных варианта гена;
- внутренний контроль (ВК) — позволяет оценить количество ДНК в амплификационной пробирке и исключить ошибки генотипирования.

Оборудование, необходимое для проведения анализа:

Набор реагентов предназначен для использования в лабораториях, оснащенных детектирующими амплификаторами для ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (приборы серии «ДТ» производства ООО «НПО ДНК-Технология»): «ДТлайт», «ДТпрайм» и «ДТ-96» (рис. 3).

Приборы серии «ДТ» оснащены специально разработанным русскоязычным программным обеспечением, поддерживающим автоматическую обработку данных и выдачу результатов исследования в удобной для интерпретации форме. Уникальные технические характеристики приборов позволяют сократить время амплификации до 1 часа 20 минут, а общее время проведения анализа — до 2 часов 30 минут. Это значительно экономит время исследования и обеспечивает высокую пропускную способность лаборатории.



«ДТпрайм»

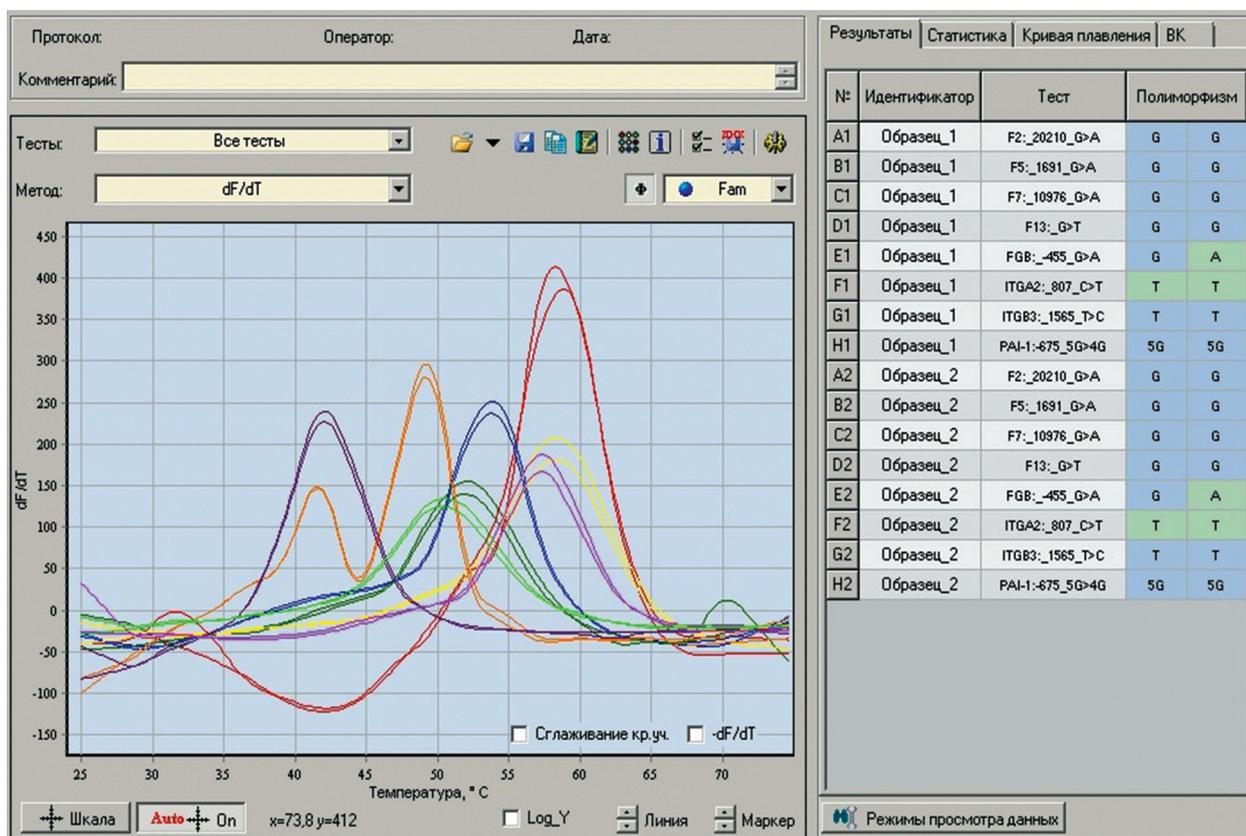


«ДТлайт»

Рис. 3. Приборы производства компании «ДНК-Технология»

Программное обеспечение: учет и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически для приборов серии «ДТ» производства ООО «НПО „ДНК-Технология“» (рис. 4).

А.



Б.**Определение генетического полиморфизма**

Дата
 Номер пробирки
 Ф.И.О. пациента
 Пол
 Возраст
 Организация
 Врач
 Примечание



Информация о лаборатории

Идентификатор образца: Образец_1

№	Наименование исследования	Результаты	
		Генотип	
1	F2:_20210_G>A	G	G
2	F5:_1691_G>A	G	G
3	F7:_10976_G>A	G	G
4	F13:_G>T	G	G
5	FGB:_-455_G>A	G	A
6	ITGA2:_807_C>T	T	T
7	ITGB3:_1565_T>C	T	T
8	PAI-1:_-675_5G>4G	5G	5G

Исследование выполнил

Дата:

Подпись:

Рис. 4. Результаты анализа в формате Rt (приборы серии «ДТ») с использованием набора реагентов для определения генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, методом ПЦР в режиме реального времени — «КардиоГенетика Тромбофилия»:

А — анализ оптических измерений (канал Fam)

Б — бланк выдачи результатов

Лабораторный контроль

Ген	SNP	Дополнительные исследования
F2 — протромбин	20210 G>A	ПТИ МНО Тромбиновое время Тромбоэластограмма
F5 — проакцелерин	1691 G>A	Определение уровня протеина С Определение уровня протеина протеина S Определение уровня антитромбина III Тромбоэластограмма АПТВ
F7 — проконвертин	10976 G>A	Тромбоэластограмма Определение уровня фактора VII свертывания крови Активность фактора VII (при лечении антикоагулянтами непрямого действия) АПТВ
F13A1 — фибриназа	103 G>T	Тромбоэластограмма Определение уровня фактора XIII свертывания крови Активность фактора XIII АПТВ
FGB — фибриноген	-455 G>A	Определение уровня фибриногена Тромбиновое время (укороченное) Интегральная оценка гемостаза — тромбоэластограмма (гиперкоагуляционные изменения в формировании фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка)
ITGA2-α2 — интегрин	807 C>T	Определение количества тромбоцитов Тесты на агрегацию тромбоцитов
ITGB3-β3 — интегрин	1565 T>C	Определение количества тромбоцитов Тесты на агрегацию тромбоцитов
PAI-1 — серпин	-675 5G>4G	Определение концентрации ингибитора активатора плазминогена Активность плазминогена Определение уровня протеина S Тромбоэластограмма с пробирочной активацией фибринолиза

Полиморфизмы генов, ассоциированных с риском развития тромбофилических состояний, их возможные клинические проявления

Ген	SNP	Генотипы	Биологические проявления	Возможные клинические риски
Плазменное звено гемостаза				
F2 — протромбин (фактор II свертывания крови)	20210 G>A	G/G	Без особенностей	
		G/A	Повышенная экспрессия гена. Уровень протромбина в плазме увеличен на 30%.	<ul style="list-style-type: none"> потеря плода в I триместре; гипотрофия плода; патологии беременности (фетоплацентарная недостаточность, ВЗРП, ПОНРП); венозные тромбозы, послеоперационные тромбозы; ишемический инсульт и инфаркт миокарда; пролапс тазовых органов.
		A/A	Повышенная экспрессия гена. Уровень протромбина в плазме увеличен на 70%.	
F5 — проакцелерин (фактор V свертывания крови) Формирует протромбиназный комплекс, который превращает протромбин в тромбин	1691 G>A	G/G	Без особенностей	
		G/A	Резистентность к активированному протеину С.	<ul style="list-style-type: none"> снижение риска потери плода на протяжении I триместра; успех подсадки эмбрионов при ЭКО; потеря плода во II и III триместрах, ВЗРП, эклампсия, фетоплацентарная недостаточность; тромбоз вен нижних конечностей и церебральных сосудов, ТЭЛА.
		A/A		Для гомозигот риск венозных тромбозов > в 50–100 раз; ишемический инсульт и инфаркт миокарда без выраженного коронарного стеноза.
F7 — проконвертин (фактор VII свертывания крови) Взаимодействует с фактором III, активизирует факторы IX и X—образование кровяного сгустка	10976 G>A	G/G	Без особенностей	
		G/A	Снижение экспрессии гена. Снижение концентрации F7 в крови на 30%.	<ul style="list-style-type: none"> высокий риск кровотечений на фоне антикоагулянтной терапии; снижение риска инфаркт миокарда даже при наличии заметного коронарного атеросклероза; тяжелое течение гемофилии; снижение риска венозного тромбоза.
		A/A	Снижение экспрессии гена. Снижение концентрации F7 в крови на 50%.	
F13A1 — фибриназа (фактор XIII свертывания крови) Участствует в образовании нерастворимого фибрина. Стабилизирует фибриновый сгусток	103 G>T	G/G	Без особенностей	
		G/T	Снижение уровня F13 в плазме, нарушение структуры и свойств фибринового сгустка.	<ul style="list-style-type: none"> высокий риск кровотечений на фоне антикоагулянтной терапии; геморрагический синдром, гемартрозы; олигоспермия у мужчин с генотипом TT; уменьшение риска венозного тромбоза; уменьшение риска ИМ и ИИ в случае высокого уровня фибриногена; повышенный риск отсроченных кровотечений; субарахноидальные кровотечения.
		T/T		

Ген	SNP	Генотипы	Биологические проявления	Возможные клинические риски
FGB — фибриноген (фактор I свертывания крови) Образует нерастворимый белок фибрин на заключительном этапе свертывания крови	-455 G>A	G/G	Без особенностей Постоянно увеличенная экспрессия гена. Повышение уровня фибриногена в крови на 10–30%.	<ul style="list-style-type: none"> • привычное невынашивание беременности, фетоплацентарная недостаточность, гипоксия плода; • риск инсульта (ишемического и геморрагического) с многоочаговостью поражений; • лакунарные инфаркты церебральных сосудов.
		G/A		
		A/A		
Тромбоцитарное звено гемостаза				
ITGA2-α2 — интегрин (рецептор тромбоцитов к коллагену) Обеспечивает взаимодействие тромбоцитов с поврежденной стенкой сосудов	807 C>T	C/C	Изменение первичной структуры субъединицы вызывает изменение свойств рецепторов и отмечается увеличение адгезии тромбоцитов	<ul style="list-style-type: none"> • высокий риск ИМ и ИИ; • артериальные тромбозы, постангиопластические тромбозы, послеоперационные тромбозы; • резистентность к аспирину; • риск потери плода на ранних сроках, особенно с FGB и ITGB3.
		C/T		
		T/T		
ITGB3-β3 — интегрин (рецептор тромбоцитов к фибриногену) Участствует в агрегации и адгезии тромбоцитов к субэндотелиальным структурам	1565 T>C	T/T	Без особенностей Повышение сродства к фибриногену, повышенная адгезия клеток, более интенсивная ретракция фибринового сгустка	<ul style="list-style-type: none"> • повышенный риск развития раннего ИМ и ИИ; • посттрансфузионная тромбоцитопения; • неонатальная тромбоцитопения; • риск потери плода на ранних сроках, особенно с FGB и ITGA2.
		C/T		
		C/C		
Фибринолитическое звено гемостаза				
PAI-1 — серпин (антагонист тканевого активатора плазминогена) Ограничивает фибринолитическую активность в месте расположения гемостатической пробки	-675 5G>4G	5G/5G	Повышение уровня PAI-1 в крови, снижение фибринолитической активности	<ul style="list-style-type: none"> • увеличение риска инфаркта миокарда; • венозные тромбозы при дефиците протеина S; • привычное невынашивание беременности, гипоксия, ВЗРП; • увеличение тромбогенности сосудистой стенки при гормональной терапии для ЭКО; • повышение риска коронарных нарушений, ИМ и ИИ; • увеличение летальности в результате септических инфекций.
		5G/4G		
		4G/4G		

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Акиншина С. В. Клиническое значение выявления генетической и приобретенной тромбофилии при ведении беременности, родов и послеродового периода у пациенток с тромботическими осложнениями в анамнезе: автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2011.
2. Акушерство. Национальное руководство // Под ред. Савельева Г. М., Сухих Г. Т., Серова В. Н. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015.
3. Баранов Д. А. и др. Молекулярно-генетические предикторы протромботического статуса у детей // Уральский медицинский журнал. — 2013. — № 6. — С. 90–95.
4. Блинецкая С. Л. Основные наследственные тромбофилии и их роль при привычном невынашивании беременности: автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2009.
5. Буштырева И. О. и др. Распространенность тромбофилических полиморфизмов у женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2015. — Т. 9. — № 2. — С. 13–18.
6. Воробьев А. В., Макацария А. Д. Тромбофилия, тромбозы и анти тромботическая терапия у онкологических больных // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2014. — № 2. — С. 139–148.
7. Голдобин В. В. Атеротромботический инсульт: клинические показатели и параметры тромботического гемостаза у пациентов в остром периоде // Саратовский научно-медицинский журнал. — 2012. — Т. 8. — № 4. — С. 954–957.
8. Гончарова И. А. и др. Распространенность аллелей полиморфных вариантов Leu33Pro и Leu66Arg гена ITGB3 у жителей Сибирского региона // Генетика. — 2013. — Т. 49. — № 8. — С. 1008–1012.
9. Евтушенко С. К. Инсульты у детей как актуальная проблема в современной педиатрической ангионеврологии // Вестник АГИУВ. — 2010. — №1. — С. 66–72.
10. Зотова И. В. и др. Оценка риска тромбозов при мерцательной аритмии: современное состояние проблемы // Атеротромбоз. — 2013. — № 1. — С. 21–32.
11. Зотова Т. Ю. и др. Влияние полиморфизма гена ITGB3 на частоту развития артериальной гипертензии у больных с острым коронарным синдромом // Клиническая медицина. — 2013. — № 8. — С. 22–25.
12. Кирыженков П. А. и др. Значение полиморфизма гена ингибитора активатора плазминогена I типа (SERPINE1: 5G>4G) при отслойках хориона и плаценты на ранних сроках беременности // Акушерство и гинекология. — 2012. — № 5. — С. 34–37.
13. Кирыженков П. А., и др. Алгоритм клинико-гемостазиологического обследования в акушерско-гинекологической практике // Акушерство и гинекология. — 2013. — № 1. — С. 101–106.
14. Львова О. А. и др. Эпидемиология и этиология инсультов у детей грудного возраста // Неврология. Нейропсихиатрия. Психосоматика. — 2013. — № 25. — С. 50–55.
15. Львова О. А. и др. Транзиторные ишемические атаки, дебютирующие в детском и молодом возрасте: факторы риска и подходы к терапии // Уральский медицинский журнал. — 2016. — № 4. — С. 35–40.
16. Макацария А. Д., Бицадзе В. О., Акиншина С. В. Профилактика и лечение тромботических осложнений в акушерстве // Тромбозы и тромбозии в акушерско-гинекологической клинике. — М.: Медицинское информационное агентство, 2007.
17. Макацария А. Д. Тромбофилия и проблемы профилактики тромбозов у онкологических больных // Журнал акушерства и женских болезней — 2012. — Т. LXI. — № 6. — С. 4–17.
18. Макацария А. Д., Акиншина С. В. Тромбозы редкой локализации и тромбофилия // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2014. — № 2. — С. 97–111.
19. Машкова Т. Я. Тромбофилия и неудачи ЭКО // Акушерство и гинекология. — 2015. — Т. 9. — № 3. — С. 17–21.
20. Момот А. П. Факторы риска неудач экстракорпорального оплодотворения при нарушениях гемостаза и их коррекция // Гематология и трансфузиология — 2013. — Т. 58. — № 2. — С. 18–22.
21. Момот А. П. Состояние тромботической готовности — возможности современной диагностики и перспективы // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. — 2013. — № 1. — С. 20–23.
22. Момот А. П. Геморрагические диатезы, тромбозы, тромбофилии // Сборник научных трудов научно-практической конференции с международным участием «Геморрагические диатезы, тромбозы, тромбофилии». — 2014.
23. Мяндина Г. И. Полиморфизмы генов ITGB3 и протромбина среди пациентов с дислипидемиями, страдающих гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца // Здоровье и образование в XXI веке. — 2014. — Т. 16. — № 4. — С. 56–59.
24. Овсянникова А. Н. и др. Клинико-генетическая характеристика больных ишемическим инсультом молодого и среднего возраста // Ульяновский медико-биологический журнал. — 2016. — № 3. — С. 48–58.
25. Радзинский В. Е. Акушерская агрессия. — М.: Медиабюро «Статус презенс», 2011. — 688 с.
26. Скоромец А. А. Генетические признаки тромбофилии у детей и подростков при инсульте // Вестник Санкт-Петербургского университета. — 2011. — Сер. 11. — Вып. 4. — С. 62–68.
27. Соимова О. В. и др. Тромбозы и тромбозии в онкологии. Современный взгляд на проблему // Злокачественные опухоли. — 2014. — № 3 — С. 172–176.
28. Федоткина Ю. А., Панченко Е. П. Тромбозы в онкологии. Часть 1 // Атеротромбоз. — 2017. — № 1. — Р. 11–15.
29. Цыб А. Ф. и др. Принципы профилактики тромботических осложнений у онкологических больных (солидные образования): Пособие для врачей. — Обнинск, 2008.
30. Шнайдер Н. А., Никулина С. Ю. Церебральные осложнения артериальной гипертензии. — Ростов-на-Дону: Феникс, 2007.
31. Abrahams V. M. Mechanisms of antiphospholipid antibody-associated pregnancy complications // Thromb res. — 2009. — Vol. 124. — Issue 5. — P. 521–525.
32. Agnelli G., Verso M. Management of venous thromboembolism in patients with cancer // J Thromb Haemost. — 2011. — Suppl 1. — P. 316–324.
33. Bates S. M., et al. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. // Chest. — 2012. — Vol. 141 (2 Suppl). — P. 691–736.
34. Battinelli E. M., Marshall A., Connors J. M. The role of thrombophilia in pregnancy // Thrombosis. — 2013. — Vol. 2013. — e 516420.
35. Choueiri T. K. Risk of Arterial Thromboembolic Events With Sunitinib and Sorafenib: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials // Journal of Clinical Oncology — 2010. — № 13. — P. 2280–2285.

36. Cohen A. T., et al. Epidemiology of first and recurrent venous thromboembolism in patients with active cancer // *Thrombosis and Haemostasis* — 2017. — Issue 1. — P. 57–65.
37. Douketis J. D., et al. Perioperative Management of Antithrombotic Therap. Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines // *Chest*. — 2012. — Vol. 141 (2 Suppl). — P. 326–350.
38. Gacio S., Giacomelli M. F., Klein F. Presumed perinatal ischemic stroke: A review // *Arch Argent Pediatr*. — 2015. — Vol. 113. — № 5. — P. 449–455.
39. Geerts W. Prevention of venous thromboembolism: a key patient safety priority // *J Thromb Haemost* — 2009. — Vol. 7 (Suppl. 1). — P. 1–8.
40. Hagberg H. Perinatal brain damage: The term infant // *Neurobiol Dis*. — 2016. — Vol. 92 (Pt A). — P. 102–112.
41. Harteman J. C. Role of thrombophilic factors in full-term infants with neonatal encephalopathy // *Pediatr. Res*. — 2013. — № 73. — P. 80–86.
42. Heit J. A. Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: a 30-year population-based study. // *Ann Intern Med*. — 2005. — Vol. 143. — № 10. — P. 697–706.
43. Jacobsen A. F., Skjeldestad F. E., Sandset P. M.. Ante- and postnatal risk factors of venous thrombosis: a hospital-based case-control study // *J Thromb Haemost*. — 2008. — Vol. 6. — № 6. — P. 905–912.
44. James A. H. Pregnancy-associated thrombosis // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2009. — № 1. — P. 277–285.
45. Järemo P., Eriksson-Franzen M., Milovanovic M. Platelets, gender and acute cerebral infarction. // *J Transl Med*. — 2015. — № 13. — P. 267.
46. Jordan L., et al. Ischemic stroke in children with critical illness: a poor prognostic sign // *Pediatr Neurol*. — 2007. — Vol. 36. — № 4. — P. 244–246.
47. Khalil J., et al. Venous thromboembolism in cancer patients: an underestimated major health problem // *World J Surg Oncol*. — 2015. — № 13. — P. 204–221.
48. Khorana A. A., McCrae K. R. Risk stratification strategies for cancer-associated thrombosis: an update // *Thromb Res*. — 2014. — Vol. 133. — Suppl 2. — P. 35–38.
49. Kopyta I., et al Neonatal arterial ischemic stroke and limb ischemia — clinical course and risk factors analysis // *Ginekol Pol*. — 2016. — Vol. 87. — № 6. — P. 473–475.
50. Kröger K. et al. Risk factors for venous thromboembolic events in cancer patients // *Annals of Oncology*. — 2006. — Vol. 17. — Issue 2. — P. 297–303.
51. Lanthier S., et al. Stroke in children: the coexistence of multiple risk factors predicts poor outcome // *Neurology*. — 2000. — Vol. 54. — № 2. — P. 371–378.
52. Liu F. Y., et al. Interventional treatment for symptomatic acute-subacute portal and superior mesenteric vein thrombosis // *World J Gastroenterol*. — 2009. — Vol. 15. — № 40. — P. 5028–5034.
53. Mallick A. A. Childhood arterial ischemic stroke incidence, presenting features, and risk factors: a prospective population-based study // *Lancet Neurol*. — 2014. — Vol. 13. — № 1. — P. 35–43.
54. Mandalà M., et al. Acquired and inherited risk factors for developing venous thromboembolism in cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a prospective trial // *Ann Oncol*. — 2010. — Vol. 21. — № 4. — P. 871–876.
55. McLean K., Cushman M. Venous thromboembolism and stroke in pregnancy. // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. — 2016. — № 1. — P. 243–250.
56. Nelson K. B. Perinatal ischemic stroke // *Stroke*. — 2007. — Vol. 38 (2 Suppl). — P. 742–745.
57. Nicolaidis A. N. Management of chronic venous disorders of the lower limbs: guidelines according to scientific evidence. // *Int Angiol*. — 2008. — Vol. 27. — № 1. — P. 1–59.
58. Otten H. M., et al. Symptomatic venous thromboembolism in cancer patients treated with chemotherapy: an underestimated phenomenon // *Arch Intern Med*. — 2004. — Vol. 164. — № 2. — P. 190–194.
59. Pappachan J., Kirkham F. J. Cerebrovascular disease and stroke // *Arch Dis Child*. — 2008. — № 93. — P. 890–898.
60. Pavlakis S. G., Levinson K. Arterial ischemic stroke: common risk factors in newborns and children // *Stroke*. — 2009. — Vol. 40 (3 Suppl). — P. 79–81.
61. Shaheen K., et al. Factor V Leiden: How great is the risk of venous thromboembolism? // *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. — 2012. — Vol. 79. — № 4. — P. 265–272.
62. Semplicini A., et al. G-Protein $\beta 3$ -Subunit Gene C825T Polymorphism and Cardiovascular Risk: An Updated Review // *High Blood Press Cardiovasc Prev*. — 2015. — Vol. 22. — № 3. — P. 225–232.
63. Simcox L. E. Pulmonary thrombo-embolism in pregnancy: diagnosis and management // *Breathe (Sheff)*. — 2015. — Vol. 11. — № 4. — P. 282–289.
64. Sousou T. and Khorana A. New Insights Into Cancer-Associated Thrombosis // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. — 2009 — Vol. 29. — № 3. — P. 316–320.
65. Torres V. M., Saddi V. A. Systematic review: hereditary thrombophilia associated to pediatric strokes and cerebral palsy // *J Pediatr (Rio J)*. — 2015. — Vol. 91, № 1. — P. 22–29.
66. Tsze D. S. and Valente J. H. Pediatric Stroke: A Review // *Emerg Med Int*, 2011.



Контакты офиса:

ООО «ДНК-Технология». Адрес: Москва, Варшавское шоссе, д. 125Ж, корп. 6.
Тел./факс: +7 (495) 640-17-71. www.dna-technology.ru, mail@dna-technology.ru.

Служба клиентской поддержки:

8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный), hotline@dna-technology.ru.