

© Коллектив авторов, 2019

А.Д. ПЕШКОВА<sup>1</sup>, С.И. САФИУЛЛИНА<sup>2,3</sup>, Д.Г. АСАРОВА<sup>1</sup>,  
А.Ф. ХАФИЗОВА<sup>1</sup>, Ф.И. АТАУЛЛАХАНОВ<sup>4</sup>, Р.И. ЛИТВИНОВ<sup>1,5</sup>

## ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОСТАЗА ПО ДАННЫМ ТЕСТОВ ТРОМБОДИНАМИКИ И КОНТРАКЦИИ СГУСТКОВ КРОВИ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ В АНАМНЕЗЕ

<sup>1</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский  
(Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия

<sup>2</sup>ООО Медицинский центр «Айболит», Казань, Россия

<sup>3</sup>Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

<sup>4</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

<sup>5</sup>Департамент клеточной биологии медицинского факультета Университета Пенсильвании, Филадельфия, США

**Цель.** Выявить нарушения гемостаза у небеременных пациенток с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) в анамнезе.

**Материалы и методы.** С помощью тестов тромбодинамики и кинетики контракции сгустков крови обследовали 35 женщин с ПНБ в сравнении с 25 рожавшими женщинами без отягощенного акушерского анамнеза.

**Результаты.** У пациенток обнаружены гиперкоагуляция и существенное снижение способности сгустков крови к контракции. Наблюдались статистически значимые гиперкоагуляция и угнетение контракции сгустков у пациенток с 3 и более случаями выкидыша по сравнению с пациентками, которые потеряли 1 или 2 плода. Кроме того, обнаружено статистически значимое подавление контракции сгустков у потерявших плод на сроках более 10 недель по сравнению с более ранними сроками.

**Заключение.** Хроническая гиперкоагуляция и снижение контракции сгустков крови формируют преморбидный фон у женщин с ПНБ. Эти данные указывают на прогностическую ценность тромбодинамики и контракции сгустка крови при оценке риска потери плода.

**Ключевые слова:** контракция сгустка крови, привычное невынашивание беременности, свертывание крови.

**Вклад авторов.** Литвинов Р.И., Сафиуллина С.И., Атауллаханов Ф.И.: концепция и дизайн исследования; Пешкова А.Д., Асарова Д.Г., Хафизова А.Ф.: экспериментальная составляющая исследования; Пешкова А.Д., Сафиуллина С.И., Литвинов Р.И., Атауллаханов Ф.И.: анализ и систематизация полученных результатов; Пешкова А.Д., Сафиуллина С.И., Литвинов Р.И.: написание текста, редактирование.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке Программы Правительства Российской Федерации по повышению конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди мировых научно-образовательных центров и гранта Российского фонда фундаментальных исследований совместно с Республикой Татарстан № 18-415-160004.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность ООО «ГемаКор» (Москва) за предоставление регистратора тромбодинамики, использованного в данной работе.

Для цитирования: Пешкова А.Д., Сафиуллина С.И., Асарова Д.Г., Хафизова А.Ф., Атауллаханов Ф.И., Литвинов Р.И. Изменения гемостаза по данным тестов тромбодинамики и контракции сгустков крови у женщин с привычным невынашиванием беременности в анамнезе. Акушерство и гинекология. 2019; 12:111-9. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.12.111-119>

A.D. PESHKOVA<sup>1</sup>, S.I. SAFIULLINA<sup>2,3</sup>, D.G. ASAROVA<sup>1</sup>,  
A.F. KHAFIZOVA<sup>1</sup>, F.I. ATAULLAKHANOV<sup>4</sup>, R.I. LITVINOV<sup>1,5</sup>

## ASSESSMENT OF HEMOSTATIC FUNCTION IN WOMEN WITH A HISTORY OF RECURRENT PREGNANCY LOSS USING THROMBODYNAMICS AND BLOOD CLOT CONTRACTION TESTS

<sup>1</sup>Kazan Federal University, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan, Russia

<sup>2</sup>Aibolit Medical Center, Kazan, Russia

<sup>3</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russia

<sup>4</sup>Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow, Russia

<sup>5</sup>University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA, USA

**Aim.** To identify hemostatic abnormalities in non-pregnant patients with a history of recurrent pregnancy loss (RPL).

**Materials and methods.** *Thirty-five patients with RPL and 25 parous women without a complicated obstetric history underwent clinical evaluation including thrombodynamics test and the measurement of blood clot contraction kinetics.*

**Results.** *Patients with a history of RPL had a statistically significantly higher hypercoagulability and a significant decrease in the ability of the clot to contract. Patients with three or more pregnancy losses have a statistically significantly higher hypercoagulability and greater changes in clot contraction, compared with patients who lost one or two pregnancies. Besides, miscarriages after 10 weeks' gestation were associated with a greater decrease in clot contraction than early miscarriages.*

**Conclusion.** *Chronic hypercoagulable state and decreased blood clot contraction form a premorbid background in women with RPL. These findings suggest the possibility of using thrombodynamics and blood clot contraction as diagnostic tests to identify women at high risk of pregnancy loss.*

**Keywords:** *blood clot contraction, recurrent pregnancy loss, blood coagulation.*

**Authors' contributions.** Litvinov R.I., Safiullina S.I., Ataulakhov F.I.: concept and design of the study; Peshkova A.D., Asarova D.G., Khafizova A.F.: experimental part of the study; Peshkova A.D., Safiullina S.I., Litvinov R.I., Ataulakhov F.I.: analysis and systematization of the results; Peshkova A.D., Safiullina S.I., Litvinov R.I.: manuscript preparation and editing.

**Conflicts of interest.** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Funding.** This work was supported by the Program of the Government of the Russian Federation to improve the competitiveness of the Kazan (Volga Region) Federal University among world scientific and educational centers and a grant of the Russian Foundation for Basic Research in collaboration with the Republic of Tatarstan No. 18-415-160004.

**Acknowledgements.** The authors express their gratitude to GemaKor Ltd (Moscow) for providing the Thrombodynamics Recording device, which was used in this study.

*For citation: Peshkova A.D., Safiullina S.I., Asarova D.G., Khafizova A.F., Ataulakhov F.I., Litvinov R.I. Assessment of hemostatic function in women with a history of recurrent pregnancy loss using thrombodynamics and blood clot contraction tests. Akusherstvo i Ginekologiya/ Obstetrics and gynecology. 2019; 12: 111-9. (In Russian). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.12.111-119>*

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) является одной из важнейших медицинских и социальных проблем. Частота невынашивания в развитых странах составляет 10–25% от общего числа клинически диагностированных случаев беременности и увеличивается до 50% в возрасте от 40 лет и старше [1, 2]. В России частота самопроизвольного прерывания беременности составляет 15–23%, при этом около 80% репродуктивных потерь приходится на I триместр [3].

Одним из патогенетических факторов ПНБ являются врожденные и приобретенные нарушения системы гемостаза. Физиологическая активация системы свертывания крови во время беременности начинается с самых ранних сроков, способствует внедрению бластоцисты и предотвращает перимплантационное кровоизлияние во время эндоваскулярного вторжения трофобласта [4]. С другой стороны, избыточное отложение фибрина в месте имплантации и микротромбоз спиральных артерий и артериол нарушают инвазию оплодотворенной яйцеклетки и могут привести как к прерыванию беременности, так и к первичной фетоплацентарной недостаточности с последующим развитием акушерских осложнений [5]. Врожденные тромбофилии, в том числе Лейденская мутация фактора V, мутация гена протромбина, дефицит протеина C, протеина S и антитромбина III, могут стать причиной ПНБ как на ранних, так и на поздних сроках беременности [6–8]. Таким образом, ПНБ может быть связано с приобретенными и наследственными нарушениями гемостаза, в основе которых лежит предрасположенность к внутрисосудистому фибринообразованию. Важно еще на этапе прегравидарной подготовки выявлять пациенток с предтромботическими состояниями, чтобы как можно

раньше начать профилактику невынашивания с помощью антикоагулянтов.

Несмотря на исключительную важность диагностики предтромботических состояний, традиционные клиничко-лабораторные методы изучения системы гемостаза не всегда позволяют адекватно оценить тромботический потенциал и, как правило, малочувствительны к внутрисосудистой активации системы гемостаза, в том числе при акушерской патологии [9]. В связи с этим представляет интерес новый интегральный метод оценки гемостаза – тест тромбодинамики, который чувствителен как к гипо-, так и к гиперкоагуляции и способен обнаружить ранние изменения в системе гемостаза, лежащие в основе предтромботических состояний [10, 11]. Принцип теста состоит в локальной активации свертывания плазмы крови искусственной поверхностью, покрытой тканевым фактором, имитирующим поврежденную стенку сосуда, и в последующем наблюдении за ростом фибринового сгустка.

Известно, что после свертывания крови *in vitro* наблюдается спонтанное сжатие сгустка крови. Этот процесс называется контракцией, или ретракцией, сгустка. Поскольку движущей силой контракции сгустка крови являются тромбоциты, этот процесс можно использовать как тест для характеристики их количества и функционального состояния. Кроме тромбоцитов, процесс контракции обусловлен патологическими изменениями клеточного и молекулярного состава крови [12], следовательно, изучение контракции может дать дополнительную информацию об интегральных изменениях гемокоагуляционного потенциала. Клинические исследования показали, что в крови больных с предтромботическими состояниями, такими как ишемический инсульт, венозный тромбоз, системная красная волчанка,

контракция сгустков существенно угнетена вследствие дисфункции тромбоцитов, обусловленной их хронической гиперактивацией и энергетическим истощением [13–16]. Есть основания считать, что сходные процессы могут развиваться в организме женщин с хронической гиперкоагуляцией, сопутствующей ПНБ, а изучение контракции сгустков крови даст дополнительную информацию о патогенезе ПНБ и может иметь клиническое значение.

В свете сказанного, целью настоящей работы было изучение состояния системы гемостаза у женщин с ПНБ в анамнезе с помощью двух новых лабораторных тестов – тромбодинамики и кинетики контракции сгустков крови. Наряду с изучением патогенетической роли нарушений гемостаза, целью работы была оценка диагностической и прогностической ценности тестов тромбодинамики и контракции сгустков крови у женщин с ПНБ в анамнезе в сопоставлении с другими клиническими и лабораторными показателями на этапе планирования беременности.

## Материалы и методы

Основную группу составили 35 женщин с повторной потерей беременности в анамнезе. Акушерский анамнез включал 2 или более выкидыша до 10 недель беременности, 1 выкидыш или более на 10–22 неделе беременности, 1 или более преждевременных родов на 22–34 неделе беременности. Клиническая характеристика пациенток представлена в таблице. Контрольную группу составили 25 рожавших женщин без отягощенного акушерского анамнеза и предшествующих осложнений беременности, не имеющие личной и семейной истории тромбозов. Пациентки с ПНБ в анамнезе и контрольная группа были сопоставимы по возрасту (средний возраст 32 (5) года и 30 (4) лет соответственно). Исследование проводили на этапе планирования беременности. Критериями исключения из данного исследования были: прием по

какой-либо причине антикоагулянтов, тромболитических или антитромбоцитарных препаратов в течение двух недель до момента обследования, а также доказанный антифосфолипидный синдром (АФС). Все женщины давали информированное согласие на обследование.

Кровь для исследований получали согласно требованиям Этического комитета Казанского (Приволжского) федерального университета (выписка из протокола № 3 от 23.03.17). Венозную кровь собирали в вакуумные пробирки с 3,8% цитратом натрия (9:1 об./об.) и анализировали в течение 4 ч после взятия. Один образец цельной крови использовали для анализа контракции сгустка. Второй образец цитратной крови центрифугировали при 2000 g в течение 10 минут при комнатной температуре и отбирали сверху примерно  $\frac{3}{4}$  бедной тромбоцитами плазмы для коагулограммы. Для проведения теста тромбодинамики использовали бестромбоцитную плазму, которую получали путем дополнительного центрифугирования бедной тромбоцитами плазмы в течение 5 минут при 10 000 g при комнатной температуре. Для анализа отбирали верхнюю часть (9/10 объема) свободной от тромбоцитов плазмы. Третья проба крови была стабилизирована ЭДТА (конечная концентрация 1,6 мг/мл) для гематологического анализа.

*Кинетика направленного формирования сгустка в плазме крови (тромбодинамика).* Метод тромбодинамики заключается в оптической регистрации роста фибринового сгустка в плазме крови после контакта со вставкой-активатором, на поверхности которой иммобилизован тканевой фактор, после чего активируется свертывание крови в примыкающем слое плазмы. Процесс формирования и распространения фибринового сгустка фиксируется видеокамерой в рассеянном свете с помощью «Регистратора тромбодинамики» фирмы «ГемаКор» (Москва).

Для исследования параметров тромбодинамики брали бестромбоцитную плазму, переносили в пробирку с реагентом I (ингибитор ферментов контак-

Таблица. Клиническая характеристика пациенток с ПНБ (n=35)

Характеристика	Доля пациентов n (%)
<b>Отягощенный акушерский анамнез</b>	
Ранние выкидыши (до 10 недель)	32 (91)
Поздние выкидыши (10–22 неделя)	11 (31)
Преждевременные роды (22–34 неделя)	13 (37)
<b>Наследственная тромбофилия</b>	
Дефицит антитромбина III	1 (3)
Дефицит протеина S <60%	8 (23)
Дефицит протеина C <70%	1 (3)
Мутация фактора II G20210A	2 (6)
<b>Приобретенные протромботические изменения</b>	
Гипергомоцистеинемия >12 мкмоль/л	6 (17)
Гиперфибриногенемия >4 г/л	1 (3)
Ингибитор активатора плазминогена >7 Ед/мл	3 (9)

ной фазы), затем в пробирку с реагентом II (ацетат кальция). Полученный образец перемещали в измерительную кювету (120 мкл), погружали в него вставку-активатор с тканевым фактором и запускали программу для регистрации образования фибрина. Кювета фиксировалась оптически каждые 6 с в течение 30 мин. Полученные снимки были автоматически обработаны программой, с помощью которой вычислялись следующие параметры: 1) лаг-тайм — время, необходимое для начала образования фибрина с момента контакта плазмы с активирующей поверхностью; 2) начальная скорость роста сгустка — средняя скорость роста сгустка, рассчитанная в интервале 2–6 мин после начала роста сгустка; 3) стационарная скорость роста сгустка — средняя скорость роста сгустка, рассчитанная в интервале 15–25 мин после начала роста сгустка; 4) размер фибринового сгустка через 30 мин после контакта плазмы со вставкой-активатором; 5) плотность сгустка — оптический показатель, равный интенсивности рассеяния света фибриновым сгустком, пропорционален плотности фибриновой сети.

Кинетика контракции сгустков крови. Кинетику и степень контракции сгустков крови регистрировали *in vitro* с помощью того же «Регистратора тромбодинамики». Метод основан на оптической регистрации уменьшающегося размера сгустка крови во времени. Для определения контракции сгустка крови кювету размером 12×7×1 мм ополаскивали 4% раствором Тритона X-100 в 0,15 М NaCl, чтобы предотвратить прилипание сгустка к внутренним стенкам кюветы. Затем к цитратной крови добавляли 2 мМ хлорида кальция и 1 ЕД/мл тромбина, чтобы запустить процесс свертывания крови и активировать тромбоциты. Затем в каждый из каналов прозрачной кюветы переносили по 80 мкл образца, а саму кювету помещали в термостатируемую камеру «Регистратора тромбодинамики» при 37° С. Изображения сгустков фоторегистрировались автоматически каждые 15 с в течение 20 минут и были проанализированы с помощью специальной компьютерной программы для получения следующих параметров кинетики контракции сгустка: 1) конечная степень контракции — величина, отражающая степень сжатия сгустка в процентах относительно его первоначального размера после 20 минут регистрации; 2) лаг-период — время, когда сгусток достигает 95% его первоначального размера; 3) средняя скорость контракции — сжатие сгустка в процентах на единицу времени; 4) площадь под кинетической кривой, отражающая механическую работу тромбоцитов по сжатию сгустка.

Лабораторные исследования гемостаза и клеточного состава крови. Состояние системы гемостаза оценивали с помощью автоматизированного коагулометра Sysmex CA-1500 (Sysmex, Канада). Определяли параметры коагулограммы: активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ), концентрацию фибриногена по Клауссу, активность антитромбина III (АТIII), уровень плазминогена, уровень протеинов С и S. Уровень D-димера измеряли на иммунохемилюминесцентном анализаторе Immulite 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., США). Содержание рас-

творимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) определяли в ортофенантролиновом тесте (реагенты фирмы «Технология-Стандарт», Россия).

Анализ клеток проводили в цельной крови, стабилизированной ЭДТА, с помощью гематологического анализатора (Siemens Inc., Япония). Определяли количество эритроцитов, средний объем эритроцитов, гематокрит, уровень гемоглобина, среднее содержание гемоглобина в эритроците, цветовой показатель, общее количество лейкоцитов, содержание моноцитов, нейтрофилов, лимфоцитов, эозинофилов, базофилов, тромбоцитов, средний объем тромбоцитов.

В соответствии с руководством по статистическому анализу и методам в публикуемой литературе [17] для статистического анализа использовали исходные данные без преобразований и выбросов. Целью анализа был поиск значимых отличий параметров, характеризующих гемостаз, между основной и контрольной группами, а также между клиническими подгруппами внутри основной группы. Для обоснованного выбора статистических методов исходные массивы данных проверялись на нормальность распределения по критериям Д'Агостино и Шапиро–Уилка. При условии нормального распределения различия между выборками оценивали с помощью непарного двустороннего метода Стьюдента. Описательную статистику нормально распределенных данных приводили как среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD) в формате M (SD).

Целью корреляционного анализа был поиск возможных функциональных взаимосвязей между различными клинико-лабораторными показателями, которые могли бы выявить изменения молекулярного и/или клеточного состава крови, обуславливающие отклонения изучаемых показателей гемостаза от нормы. С учетом симметричного распределения данных, корреляционный анализ проводили по методу Пирсона. Результаты представлены как  $r(a/b)$ , где  $r$  — коэффициент линейной корреляции Пирсона;  $a$  и  $b$  — соответственно нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала (ДИ) для коэффициента корреляции, рассчитанного с использованием онлайн-сервиса [18]. Уровень статистической значимости (уровень значимости  $p$ ) при всех типах анализа был равен 0,05. Для расчетов применяли статистический программный пакет GraphPad Prism 7.

## Результаты

По сравнению с контрольной группой, у пациенток основной группы, по данным тромбодинамики, выявлены статистически значимые различия, а именно: более высокие средние значения начальной и стационарной скорости роста сгустка, а также размера сгустка, хотя и в пределах референсных значений, что в совокупности свидетельствует об относительной гиперкоагуляции уже на этапе планирования беременности (рис. 1). Следует оговориться, что метод тромбодинамики является интегральным тестом, который позволяет получить информацию об общем свертывающем потенциале без расшифровки механизмов нарушений этого потенциала.



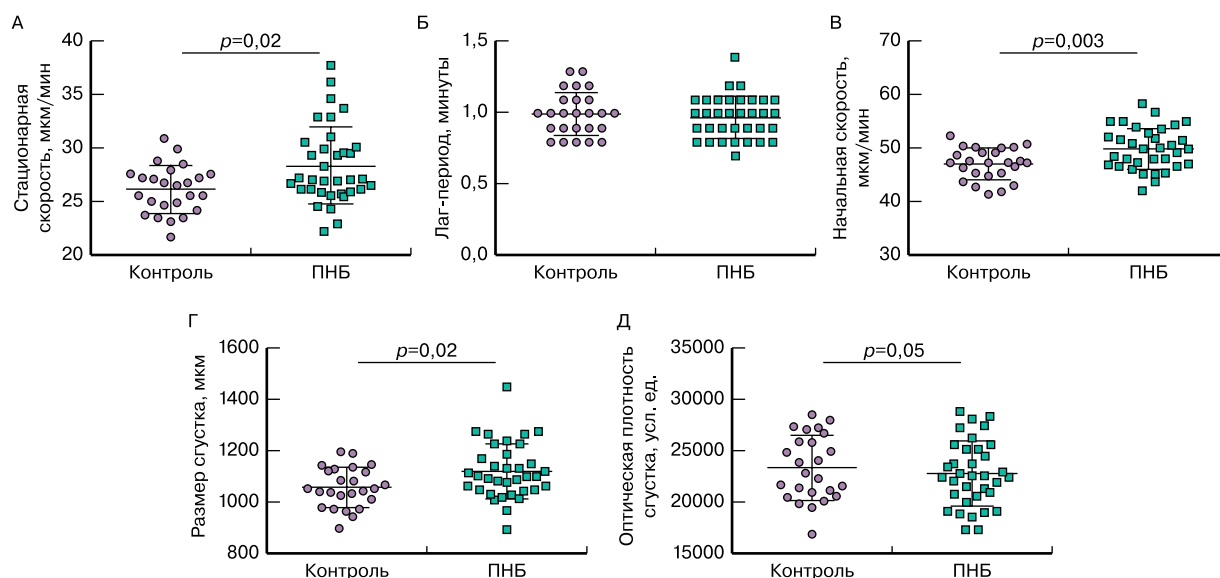
При сравнении сокращения сгустка крови обнаружено статистически значимое снижение параметров сокращения у пациенток основной группы по сравнению с контрольной (рис. 2). Об этом свидетельствует торможение всех стадий процесса сокращения: снижение средней степени и скорости сокращения, площади под кинетической кривой, а также удлинение лаг-периода. Чтобы выявить возможные механизмы снижения сокращения сгустка крови у женщин с ПНБ, параметры сокращения были сопоставлены с результатами тромбодинамики и других лабораторных исследований.

Корреляционный анализ параметров тромбодинамики и рутинных лабораторных тестов в обеих исследуемых группах обнаружил следующие статистически значимые ассоциации. Выявлена положительная корреляция плотности сгустка с уровнем фибриногена [ $r=0,72$  (0,61/0,84);  $p=0,001$ ], с уровнями D-димера [ $r=0,32$  (0,07/0,53);  $p=0,04$ ], плазминогена [ $r=0,56$  (0,36/0,71);  $p<0,001$ ] и отрицательная корреляция с тромбиновым временем [ $r=-0,39$  (-0,59/-0,15);  $p=0,01$ ]. Начальная скорость роста сгустка отрицательно коррелировала с АЧТВ [ $r=-0,38$  (-0,58/-0,14);  $p=0,01$ ], уровнем протеина С [ $r=-0,28$  (-0,5/-0,03);  $p=0,02$ ], протромбиновым временем [ $r=-0,33$  (-0,54/-0,08);  $p=0,01$ ] и уровнем гематокрита [ $r=-0,50$  (-0,67/-0,28);  $p=0,01$ ]. Стационарная скорость роста сгустка отрицательно коррелировала с АЧТВ [ $r=-0,32$  (-0,53/-0,07);  $p=0,02$ ], уровнем протеина С [ $r=-0,35$  (-0,55/-0,11);  $p=0,01$ ] и уровнем гематокрита [ $r=-0,44$  (-0,62/-0,21);  $p=0,01$ ]. Размер сгустка находился в обратной связи с уровнем протеина С [ $r=-0,30$  (-0,51/-0,05);  $p=0,05$ ], АЧТВ [ $r=-0,36$  (-0,56/-0,12);  $p=0,02$ ], протромбиновым временем [ $r=-0,32$  (-0,53/-0,07);  $p=0,02$ ] и гематокритом [ $r=-0,40$  (-0,59/-0,16);  $p=0,04$ ]. Лаг-период отрицательно коррелировал с протромбиновым индексом [ $r=-0,27$  (-0,49/-0,02);  $p=0,05$ ] и гематокритом [ $r=-0,44$

(-0,62/-0,21);  $p=0,01$ ]. Эти результаты подтверждают валидность теста тромбодинамики как интегрального метода изучения состояния гемостаза, который чувствителен к гиперкоагулемическим состояниям, в том числе у пациенток с ПНБ.

Корреляционный анализ показателей сокращения кровяного сгустка и гемокоагуляции выявил статистически значимую положительную корреляцию АЧТВ со степенью [ $r=0,26$  (0,01/0,48);  $p=0,02$ ] и средней скоростью [ $r=0,26$  (-0,01/0,48);  $p=0,02$ ] сокращения, а также положительную корреляцию между уровнем ингибитора активатора плазминогена со степенью [ $r=0,43$  (0,2/0,62);  $p=0,05$ ] и скоростью [ $r=0,43$  (0,2/0,62);  $p=0,05$ ] сокращения. При сопоставлении показателей сокращения сгустков крови и гематологических показателей обнаружена ожидаемая прямая корреляция между уровнем тромбоцитов со степенью [ $r=0,31$  (0,04/0,54);  $p=0,03$ ] и скоростью [ $r=0,31$  (0,05/0,52);  $p=0,02$ ] сокращения, а также с площадью под кинетической кривой [ $r=0,30$  (0,05/0,51);  $p=0,04$ ]. Кроме того, была выявлена положительная корреляция между средней концентрацией гемоглобина со степенью [ $r=0,36$  (0,12/0,56);  $p<0,001$ ] и скоростью [ $r=0,35$  (0,11/0,55);  $p<0,001$ ] сокращения, а также площадью под кинетической кривой сокращения [ $r=0,38$  (0,14/0,58);  $p<0,001$ ]. Лаг-период отрицательно коррелировал с индексом распределения тромбоцитов [ $r=-0,43$  (-0,62/-0,2);  $p<0,001$ ], средним объемом эритроцитов [ $r=-0,35$  (-0,55/-0,11);  $p=0,01$ ], средним содержанием гемоглобина [ $r=-0,43$  (-0,62/-0,2);  $p=0,01$ ] и положительно коррелировал с индексом распределения эритроцитов [ $r=0,39$  (0,15/0,59);  $p<0,001$ ]. Эти результаты указывают на информативность теста кинетики сокращения сгустков крови как показателя системы гемостаза, значение которого выходит за рамки показателя функционального состояния тромбоцитов.

Рис. 1. Параметры тромбодинамики у женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) ( $n=35$ ) по сравнению с контрольной группой ( $n=25$ ). А – стационарная скорость роста сгустка; Б – лаг-период; В – начальная скорость роста сгустка; Г – размер сгустка; Д – оптическая плотность сгустка



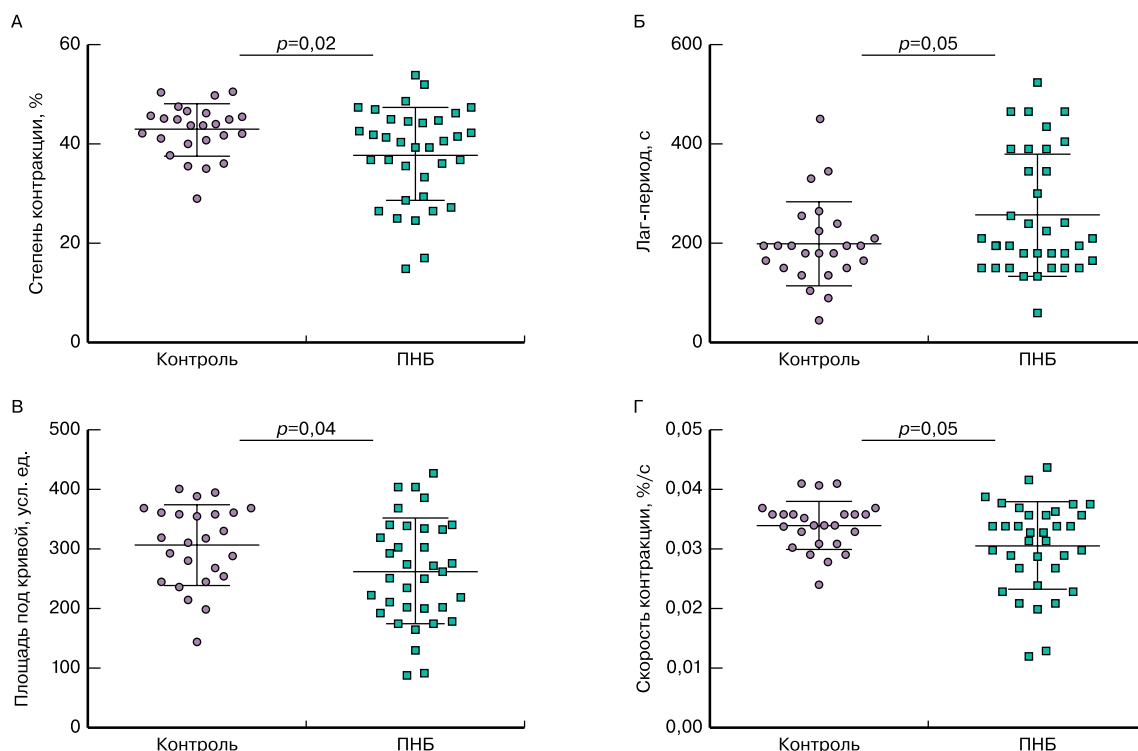
Установлено, что у женщин с тремя и более потерями беременности наблюдается более выраженная гиперкоагуляция по сравнению с пациентками, которые потеряли одну или две беременности (средняя стационарная скорость роста сгустка 30,3 (3,6) и 27,6 (3,4) мкм/мин,  $p=0,05$ ; размеры сгустка 1174 (99) и 1100 (107) мкм,  $p=0,05$  соответственно). При этом у пациенток первой подгруппы скорость роста сгустка выходит за пределы референсных значений и смещается в зону патологической гиперкоагуляции. Показатели контракции сгустков также претерпели статистически значимые изменения в подгруппе пациенток с 3 и более потерями беременности. Так, средние значения степени контракции – 32 (9)% против 39 (11)%;  $p=0,05$ , скорости контракции – 0,026 (0,007)%/с против 0,032 (0,008)%/с;  $p=0,04$ , площади под кинетической кривой – 215 (65) усл. ед. против 273 (92) усл. ед.;  $p=0,04$  – были статистически значимо снижены по сравнению с пациентками, которые потеряли одну или две беременности. Напротив, средний лаг-период контракции был статистически значимо удлинен у женщин с тремя и более выкидышами в анамнезе – 283 (110) с против 252 (120) с;  $p=0,05$ . Таким образом, увеличение числа выкидышей прямо связано с выраженностью фоновой гиперкоагуляции по показателям тромбодинамики, а также с нарушениями контракции сгустка крови. Эти результаты подтверждают важную патогенетическую роль нарушений в плазменном и тромбоцитарном звеньях гемостаза в генезе репродуктивных нарушений у женщин с многократными потерями беременности.

При анализе показателей тромбодинамики и контракции сгустка у пациенток основной группы в зависимости от срока потери беременности выявлено статистически значимое снижение средней степени контракции сгустка – 34 (9)% против 40 (10)%;  $p=0,05$  и удлинение лаг-периода контракции – 305 (131) с против 213 (98) с;  $p=0,03$  у пациенток, потерявших беременность на сроках после 10 недель, по сравнению с пациентками, которые имели выкидыши на более ранних сроках. По показателям тромбодинамики, статистически значимых различий в зависимости от срока потери беременности не выявлено.

## Обсуждение

В основе ПНБ могут лежать самые разные этиологические и патогенетические факторы и механизмы, такие как хромосомные аномалии, анатомические, эндокринные и иммунные дефекты или инфекции, хотя во многих конкретных случаях причины ПНБ остаются неясными [19–22]. Нормальная беременность характеризуется гемостатическим балансом, который предупреждает образование фибрина в сосудах плаценты и в межворсинчатом пространстве [23]. Однако при нарушении гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции и тромбофилии возникает высокий риск невынашивания беременности [24]. Среди причин протромботических состояний при беременности – повышение активности фактора VIII, снижение уровня PAI-1, генетические полиморфизмы, антифосфолипидный синдром, снижение уровня физиологических анти-

Рис. 2. Параметры контракции сгустков крови у женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) ( $n=35$ ) по сравнению с контролем ( $n=25$ ). А – степень контракции; Б – лаг-период; В – площадь под кривой; Г – средняя скорость



коагулянтов, изменение фибринолитической активности и другие [7, 8, 20, 25, 26].

Данное исследование посвящено изучению протромботического потенциала у женщин с ПНБ с использованием методов определения тромбодинамики и контракции сгустка крови. Есть основания считать, что, наряду с другими причинами, повторный выкидыш является следствием патологической гиперкоагуляции во время беременности, которая приводит к микротромбозу сосудов хориона или плаценты и, в конечном итоге, к выкидышу или преждевременным родам [27], причем преобладают ранние выкидыши [22]. Это может быть обусловлено меньшим количеством плацентарных и маточных сосудов, которые частично или полностью окклюзируются в результате микротромбоза без компенсации кровотока за счет коллатерального кровообращения [28, 29].

Клинические исследования тромбодинамики и контракции сгустков крови при ПНБ ранее не проводились. Основные результаты данного исследования состоят в том, что в крови пациентов с ПНБ в анамнезе наблюдаются склонность к длительной, персистирующей гиперкоагуляции по данным тромбодинамики, а также существенное снижение способности сгустка к контракции по сравнению с показателями здоровых женщин. Гиперкоагуляция и снижение контракции при ПНБ согласуются с повышением уровня фибриногена и D-димера, а также с повышенным образованием в крови РФМК [30, 31]. Помимо этого, по литературным данным, у пациентов с ПНБ наблюдаются повреждение сосудистого эндотелия и повышенная экспрессия тканевого фактора, что может усугубить патологическую гиперкоагуляцию [32].

Снижение контракции сгустков крови свидетельствует о дисфункции тромбоцитов у пациенток с ПНБ вследствие длительной гиперактивации клеток на фоне гиперкоагуляции и тромбинемии [13, 33]. Это предположение согласуется с данными литературы о высоком уровне фоновой, или «спонтанной», активации тромбоцитов у пациенток с двумя и более выкидышами в анамнезе [34]. Важно подчеркнуть, что снижение суммарной сократительной функции тромбоцитов у пациентов с ПНБ происходит, несмотря на статистически значимое повышение числа тромбоцитов в крови, по сравнению с контрольной группой —  $264 (81) \times 10^9/\text{л}$  против  $225 (32) \times 10^9/\text{л}$ ;  $p=0,02$ .

У пациенток с ПНБ, которые имели в анамнезе более двух выкидышей, нарушения контракции и тромбодинамики более выражены, чем у пациенток с одним—двумя выкидышами в анамнезе. Это согласуется с данными литературы [28, 29]. Наряду с числом выкидышей имеют значение сроки потери беременности. По нашим данным, при наличии поздних выкидышей степень контракции снижается больше, чем при наличии только ранних выкидышей. Возможно, что потеря беременности на поздних сроках (после 10 недель) в значительной степени обусловлена нарушениями в системе гемостаза, в то время как ранние потери плода (до 10 недель), как правило, сопряжены с другими патогенетическими факторами (генетическими, эндокринными и гинекологическими), не связанными с протромботическим статусом [35, 36].

Полученные результаты в сочетании с данными литературы указывают на то, что в патогенезе ПНБ важная роль принадлежит врожденным и приобретенным нарушениям гемостаза, которые выявляются тестами тромбодинамики и кинетики контракции сгустков крови. Указанные сдвиги являются следствием изменений состава крови, обуславливающих длительную гиперкоагуляцию, а также дисфункцией тромбоцитов, включая сократительную функцию, что ведет к нарушению контракции, т.е. механического ремоделирования сгустков крови и микротромбов. Совокупность указанных нарушений может приводить к микроциркуляторным нарушениям плацентарного кровообращения и, как следствие, к прерыванию беременности. Полученные результаты указывают на то, что исследования тромбодинамики и контракции сгустков крови могут служить лабораторным критерием состояния системы гемостаза до и во время беременности для оценки степени риска и ранней диагностики акушерских осложнений.

## Заключение

Обнаружено статистически значимое увеличение скорости роста и размера сгустка по данным тромбодинамики, а также статистически значимое снижение параметров контракции сгустка крови у пациентов с ПНБ в анамнезе, по сравнению со здоровыми донорами, что в совокупности указывает на гиперкоагуляцию и предрасположенность к тромбозам. У пациенток с тремя и более потерями беременности наблюдается статистически значимая более выраженная гиперкоагуляция и более отчетливые изменения контракции, по сравнению с пациентками, которые потеряли одну или две беременности. Полученные данные указывают на возможность использования тромбодинамики и контракции сгустков крови у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе в качестве диагностических и прогностических тестов с целью определения риска потери беременности.

## Литература/References

1. Brezina P.R., Kutteh W.H. Classic and cutting-edge strategies for the management of early pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2014; 41(1): 1–18. doi: 10.1016/j.ogc.2013.10.011
2. Larsen E.C., Christiansen O.B., Kolte A.M., Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med.* 2013; 11: 154. doi: 10.1186/1741-7015-11-154.
3. Ведищев С.И., Прокопов А.Ю., Жабина У.В., Османов Э.М. Современные представления о причинах невынашивания беременности. *Вестник ТГУ.* 2013; 18(4): 1309–12. [Vedischev S.I., Prokopov A.Yu., Zhabina V.V., Osmanov E.M. Modern ideas about the causes of miscarriage. *Bulletin of TSU.* 2013; 18 (4): 1309–12. (In Russian)]
4. Cui C., Yang S., Zhang J., Wang G., Huang S., Zhang Y., Qiao R. Trimester-specific coagulation and anticoagulation reference intervals for healthy pregnancy. *Thromb Res.* 2017; 156: 82–6. doi: 10.1016/j.thromres.2017.05.021.
5. De Jong P.G., Goddijn M., Middeldorp S. Testing for inherited thrombophilia in recurrent miscarriage. *Semin Reprod Med.* 2011; 29(6): 540–7. doi: 10.1055/s-0031-1293207.

6. *Shahina L., Lathi R.* Recurrent pregnancy loss: evaluation and treatment. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2015; 42(1): 117–34. doi: 10.1016/j.ogc.2014.10.002.
7. *Dossenbach-Glaninger A., van Trotsenburg M., Dossenbach M., Oberkanins C., Moritz A., Krugluger W., Huber J., Hopmeier P.* Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G polymorphism and coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism: impaired fibrinolysis and early pregnancy loss. *Clin Chem.* 2003; 49(7): 1081–6.
8. *Kim J.J., Choi Y.M., Lee S.K., Yang K.M., Paik E.C., Jeong H.J., Jun J.K., Han A.R., Hong M.A.* The PAI-1 4G/5G and ACE I/D polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a case-control study. *Am J Reprod Immunol.* 2014; 72(6): 571–6. doi: 10.1111/aji.12302
9. *Bennett S.A., Bagot C.N., Appiah A., Johns J., Ross J., Roberts L.N., Patel R.K., Arya R.* Women with unexplained recurrent pregnancy loss do not have evidence of an underlying prothrombotic state: Experience with calibrated automated thrombography and rotational thromboelastometry. *Thromb Res.* 2014; 133: 892–9. doi: 10.1016/j.thromres.2014.02.002
10. *Soshitova N.P., Karamzin S.S., Balandina A.N., Fadeeva O.A., Kretchetova A.V., Galstian G.M., et al.* Predicting prothrombotic tendencies in sepsis using spatial clot growth dynamics. *Blood Coagul Fibrinol.* 2012; 23 (6): 498–507. doi: 10.1097/mbc.0b013e328352e90e.
11. *Sinauridze E.I., Gorbatenko A.S., Seregina E.A., Lipets E.N., Ataullakhanov F.I.* Moderate plasma dilution using artificial plasma expanders shifts the haemostatic balance to hypercoagulation. *Sci Rep.* 2017; 7: 843. doi:10.1038/s41598-017-00927-w.
12. *Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P., Peshkova A.D., Lebedeva T., Ataullakhanov F.I., et al.* Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by molecular and cellular blood composition. *Blood.* 2016; 127(1): 149–59. doi: 10.1182/blood-2015-05-647560.
13. *Tutwiler V., Peshkova A.D., Andrianova I.A., Khasanova D.R., Weisel J.W., Litvinov R.I.* Blood clot contraction is impaired in acute ischemic stroke. *Arter Thromb Vasc Biol.* 2017; 37(2): 271–9. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308622
14. *Peshkova A.D., Malyasov D.V., Bredikhin R.A., Le Minh G., Andrianova I.A., Tutwiler V., et al.* Reduced contraction of blood clots in patients with venous thromboembolism is a possible thrombogenic and embologenic mechanism. *TH Open.* 2018; 2(1): e104-e115. doi: 10.1055/s-0038-1635572.
15. *Le Minh G., Peshkova A.D., Andrianova I.A., Sibgatullin T.B., Maksudova A.N., Weisel J.W., Litvinov R.I.* Impaired contraction of blood clots is a novel prothrombotic mechanism in systemic lupus erythematosus. *Clini Sci.* 2018; 232(2): 243–54. doi: 10.1042/CS20171510.
16. *Peshkova A.D., Malyasev D.V., Bredikhin R.A., Le Minh G., Litvinov R.I.* Contraction of blood clots is impaired in deep vein thrombosis. *BioNanoScience.* 2016; 6(4): 457–9. doi:10.1007/s12668-016-0251-8
17. *Ланг Т., Альтман Д.* Основы описания статистического анализа в статьях, публикуемых в биомедицинских журналах. Руководство «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе (САМПЛ)». Медицинские технологии. Оценка и выбор. 2014; 1(15): 11–16. [Lang T., Altman D. Basic statistical reporting for articles published in clinical medical journals: the SAMPL Guidelines. In: Smart P., Maisonneuve H., Polderman A. (eds). Science Editors' Handbook, European Association of Science Editors, 2013 (In Russ.)].
18. Confidence intervals for a sample (Pearson) coefficient value. [https://www.psych.org/stats/R/CI\\_correln1.html](https://www.psych.org/stats/R/CI_correln1.html)
19. *Соснова Е.А., Белевич С.Б., Покаленева М.Ш.* Патофизиологическая роль свободнорадикальных процессов при невынашивании беременности. Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. 2016; 3(3): 136–40. [Sosnova E.A., Bolevich S.B., Pokaleneva M.Sh. Pathophysiological role of free radical processes in pregnancies end in miscarriage. V.F. Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology, Russian journal. 2016; 3(3): 136–140. (In Russ.)]. doi:10.18821/2313-8726-2016-3-3-136-140
20. *Bigdeli R., Younesi M.R., Panahnejad E., Asgary V., Heidarzadeh S., Mazaheri H., Aligoudarzi S.L.* Association between thrombophilia gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss risk in the Iranian population. *Syst. Biol Reprod Med.* 2018; 64(4): 274–82. doi: 10.1080/19396368.2018.1456576.
21. *Никитина Т.В., Жегалина Д.И., Саженова Е.А., Толмачева Е.Н., Скрабин Н.А., Лебедев И.Н.* Неслучайное распределение карiotипов эмбрионов у женщин с привычным невынашиванием беременности. Медицинская генетика. 2018; 17(1): 50–56. [Nikitina T.V., Zhigalina D.I., Sazhenova E.A., Tolmacheva E.N., Skryabin N.A., Lebedev I.N. Non-random distribution of embryonic karyotypes in women with recurrent pregnancy losses. Medicinskaja genetika. 2018; 17(1): 50–56. (in Russian)]. doi: 10.25557/2073-7998.2018.01.50-56.
22. *Карп Говард Дж.А., ред.* Привычное невынашивание беременности. Причины, версии и контраверсии. Лечение. Пер. с англ. под ред. В.Е. Радзинского. М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2017. 589 с. [Karp Howard, J.A., ed. Habitual miscarriage. Reasons, versions and contraversions. Treatment. Per. from English under the editorship of V.E. Radzinsky. M.: GEOTAR-MEDIA, 2017. 589 s. (in Russian)]. ISBN 978-5-9704-4170-1
23. *Holmes V.A., Wallace J.M.* Haemostasis in normal pregnancy: a balancing act? *Biochem Soc Trans.* 2005; 33(2): 428–32. doi: 10.1042/BST0330428
24. *Romagnuolo I., Attanasio M., Cozzolino M., Paladino E., Castaman G., Coccia M.E., Fatini C.* Thrombin potential and traditional coagulation assay: are they useful in exploring recurrent pregnancy loss risk? *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2018; 29(2): 160–6. doi: 10.1097/MBC.0000000000000675.
25. *Kovac M.K., Lalic-Cosic S.Z., Dmitrovic J.M., Djordjevic V.J., Radjokovic D.P.* Thrombin generation, D-dimer and protein S in uncomplicated pregnancy. *Clin Chem Lab.* 2015; 53(12): 1975–9. doi: 10.1515/cclm-2014-1030.
26. *Liu L., Sun D.* Pregnancy outcomes in patients with primary antiphospholipid syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019; 98(20): e15733. doi: 10.1097/MD.00000000000015733.
27. *Kutteh W.H.* Inherited and Acquired Thrombophilias and Adverse Pregnancy Outcomes. In: Bashiri A., Harlev A., Agarwal A. (eds) Recurrent Pregnancy Loss. Springer, Cham; 2016: 67–73. doi:10.1007/978-3-319-27452-2\_5.
28. *Chang J.C.* Thrombocytopenia in critically ill patients due to vascular microthrombotic disease: Pathogenesis based on «two activation theory of the endothelium». *Vasc Dis Ther.* 2017; 2(5): 1–7. doi: 10.15761/VDT.1000132
29. *Khizroeva J., Bitsadze V., Makatsariya A.* Catastrophic antiphospholipid syndrome and pregnancy. Clinical report. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019; 32(12): 2091–4. doi: 10.1080/14767058.2017.1422715.
30. *Reger B., Peterfalvi A., Litter I., Poto L., Mozes R., Toth O. et al.* Challenges in the evaluation of D-dimer and fibrinogen levels in pregnant women. *Thromb Res.* 2013; 131(4): e183-e187. doi: 10.1016/j.thromres.2013.02.005
31. *Szecs P.B., Jorgensen M., Klajnbard A., Andersen M.R., Colov N.P., Stender S.* Haemostatic reference intervals in pregnancy. *Thromb Haemost.* 2010; 103(4): 718–27. doi: 10.1160/TH09-10-0704
32. *Pasquier E., De Saint Martin L., Bohe C.* Unexplained pregnancy loss: a marker of basal endothelial dysfunction? *Fertil Steril.* 2013; 100(4): 1013–7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.06.008
33. *Boilard E., Blanco P., Nigrovic P.A.* Platelets: active players in the pathogenesis of arthritis and SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2012; 8: 534–42. doi:10.1038/nrrheum.2012.118.
34. *Lukanov T.H., Veleva G.L., Konova E.I., Ivanov P.D., Kovacheva K.S., Stoykov D.J.* Levels of platelet-Leukocyte aggregates in women with both thrombophilia and recurrent pregnancy loss. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2011; 17(2): 181–7. doi: 10.1177/1076029609350891.
35. *Gerhardt A., Scharf R.E., Greer I.A., Zotz R.B.* Hereditary risk factors for thrombophilia and probability venous thromboembolism during pregnancy and the puerperium. *Blood.* 2016; 128(19): 2343–9. doi: 10.1182/blood-2016-03-703728
36. *Ke R.W.* Endocrine basis for recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2014; 41(1): 103–12. doi: 10.1016/j.ogc.2013.10.003.

Поступила 30.05.2019

Принята в печать 21.06.2019

Received 30.05.2019

Accepted 21.06.2019



#### Сведения об авторах:

*Пешкова Алина Дмитриевна*, аспирант кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии; младший научный сотрудник НИЛ «Белково-клеточные взаимодействия» Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». E-mail: alinapeshkova26@gmail.com.

Адрес: 420012, Россия, Казань, ул. Карла Маркса, д. 76, к. 1.

*Сафиуллина Светлана Ильдаровна*, к.м.н., ассистент кафедры общей врачебной практики ОВП ГБОУ ВПО «Казанского государственного медицинского университета» Минздрава России, врач-гематолог ООО «Медицинский центр «Айболит». E-mail: Svetlana.ild.safiullina@gmail.com.

Адрес: 420012, Россия, Казань, ул. Бутлерова, д. 49; 420102, Россия, Казань, ул. Курская, д. 8а.

*Асарова Динара Гаязовна*, магистр кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». E-mail: didi-lady@yandex.ru.

Адрес: 420012, Россия, Казань, ул. Карла Маркса, д. 76, к.1.

*Хафизова Айгуль Фаязовна*, врач акушер-гинеколог женской консультации Университетской клиники ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». E-mail: ai12022102@gmail.com.

Адрес: 420043, Россия, Казань, ул. Достоевского, д. 44, к. 6.

*Атауллаханов Фази́л Инно́вич*, д.б.н., профессор, чл.-корр. РАН, научный руководитель Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН. E-mail: ataullakhanov.fazly@gmail.com.

Адрес: 119991, Россия, Москва, ул. Косыгина, д. 4а.

*Литвинов Рустем Игоревич*, д.м.н., профессор, старший исследователь отдела клеточной биологии и биологии развития Медицинского факультета Пенсильванского университета, Филадельфия, США; профессор кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии; главный научный сотрудник, руководитель НИЛ «Белково-клеточные взаимодействия» Института фундаментальной медицины и биологии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

E-mail: litvinov@pennmedicine.upenn.edu.

Адрес: 420012, Россия, Казань, ул. Карла Маркса, д. 76, к. 1.

#### About the authors:

*Alina D. Peshkova*, PhD student, Department of Biochemistry and Biotechnology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University; Junior Researcher, Laboratory «Protein-Cell Interaction», Kazan Federal University. E-mail: alinapeshkova26@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-8790-1818>  
420012, 76 Karl Marx St., Kazan, Russian Federation,

*Svetlana I. Safiullina*, MD, PhD, Assistant Professor, Department of General Medical Practice, Kazan State Medical University.

E-mail: Svetlana.ild.safiullina@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0003-4657-0140>

420073, 8a Kyrskaya St., Kazan, Russian Federation; 420012, 49 Butlerov St., Kazan, Russian Federation.

*Dinare G. Asarova*, MS, Department of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University.

E-mail: didi-lady@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8969-7873>

420012, 76 Karl Marx St., Kazan, Russian Federation.

*Aigul F. Hafizova*, MD, obstetrician and gynecologist at the University Hospital, Kazan Federal University.

E-mail: ai12022102@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-2033-7693>

420043, 44 Dostoevsky St., Kazan, Russian Federation.

*Fazoil I. Ataullakhanov*, PhD., Dr. Sci., Scientific Director of the Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences.

E-mail: ataullakhanov.fazly@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-3403-181X>

119991, 4 Kosygina St., Moscow, Russian Federation.

*Rustem I. Litvinov*, MD, PhD, Dr. Sci., Senior Research Investigator, Department of Cell and Developmental Biology, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, USA; Adjunct Professor, Department of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University; Chief Researcher, Head of the Laboratory «Protein-Cell Interactions», Kazan Federal University.

E-mail: litvinov@pennmedicine.upenn.edu; <http://orcid.org/0000-0003-0643-1496>

421 Curie Blvd., BRB II/III, Room 1116, Philadelphia, PA 19104-6058, USA; 420012, 76 Karl Marx St., Kazan, Russian Federation