

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2015 • Том 9 • № 3



OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

ISSN 2313-7347

2015 Vol. 9 No 3

www.gyn.su

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.gyn.su>. Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95, эл. почта: info@info.gyn.su. Copyright © 2015. Издательство ИРБИС. Все права защищены.

ЦИРКУЛЯЦИЯ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ И НЕУДАЧИ ЭКО

Стулева Н.С.¹, Хизроева Д.Х.¹, Машкова Т.М.¹, Абрамян Г.Р.²

¹ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

² Ереванский Государственный Медицинский Университет имени Мхитара Гераци, Армения, Ереван

Резюме

Ранее неудачи экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) связывали только с качеством эмбриона или недоразвитием рецепторов эндометрия, но не с тромбофилией. Целью нашего исследования было показать, что циркуляцию антифосфолипидных антител (АФА) рассматривают как одну из возможных причин неудач ЭКО. Материалы и методы. При обследовании 217 женщин в программе ЭКО мы выявили повышенную частоту АФА. Результаты. Результаты показали, что пациентки с циркуляцией АФА демонстрируют достоверно большую частоту неудач ЭКО (42,1%) и худший репродуктивный исход по сравнению с женщинами без циркуляции АФА. Заключение. Мы сделали вывод, что одновременное наличие циркуляции нескольких АФА является противопоказанием к проведению вспомогательных репродуктивных технологий. Проведение ЭКО возможно лишь после нормализации уровня АФА.

Ключевые слова

Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), тромбофилия, антифосфолипидные антитела, неудачи имплантации, вспомогательные репродуктивные технологии.

Статья поступила: 10.08.2015 г.; в доработанном виде: 20.08.2015 г.; принята к печати: 17.09.2015 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии финансовой поддержки или конфликта интересов в отношении данной публикации.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования

Стулева Н.С., Хизроева Д.Х., Машкова Т.М., Абрамян Г.Р. Циркуляция антифосфолипидных антител и неудачи ЭКО. Акушерство, гинекология и репродукция. 2015; 3: 6-10.

CIRCULATION OF ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES AND IVF FAILURES

Stuleva N.S.¹, Khizroeva J. Kh.¹, Mashkova T.M.¹, Abramyan G.R.²

¹ First Moscow State Medical Sechenov University of the Ministry of Health Russian Federation

² Yerevan State Medical University after Mkhitar Heratsi, Yerevan, Armenia

Summary

The antiphospholipid antibodies (APA) exert multiple effects on the hemostasis system causing damage to all of its protective components including the endothelial barrier, natural anticoagulant function and endogenous fibrinolysis and activating the platelet of hemostasis, which is associated with numerous obstetrical complications and infertility. Objective. This study aimed at elucidating the effect of the presence of APA on the outcomes of assisted reproductive technology (ART). Materials and Methods. A total of 217 women diagnosed with infertility and planning to get pregnant using the

assisted reproductive technology (ART) have been examined. **Results.** The results of examination demonstrated a high prevalence of circulating APA in a group of women underwent IVF failure. **Conclusion.** The thrombophilia can be one of the reasons of failures of in-vitro fertilization.

Key words

Thrombophilia, IVF implantation failure, antiphospholipid antibodies, in-vitro fertilization, assisted reproductive technology, antiphospholipid syndrome.

Received: 10.08.2015; in the revised form: 20.08.2015; accepted: 17.09.2015.

Conflict of interests

The authors declared that they do not have anything to disclosure regarding funding or conflict of interests with respect to this manuscript.

All authors contributed equally to this article.

For citation

Stuleva N.S., Khizroeva J. Kh., Mashkova T.M., Abramyan G.R. Circulation of antiphospholipid antibodies and IVF failures. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya / Obstetrics, gynecology and reproduction*. 2015; 3: 6-10 (in Russian).

Corresponding author

Address: ul. Zemlyanoi Val, 62, str. 1, Moscow, Russia, 109004.
E-mail address: stulevans@mail.ru (Stuleva N.S.).

Введение

Фундаментальные открытия в биологии и медицине, ознаменовавшие последние 15 лет (открытие в 1987 г. АФС), кардинально изменили взгляд на патогенез многих осложнений как в общеклинической медицине, так и в акушерстве. Разработаны новые возможности диагностики наиболее распространенных форм тромбофилии и тромбофилических полиморфизмов генов (B. Dahlbaeck, S.R. Poort, R. M. Bertina). Не менее важное достижение последних лет – внедрение молекулярной диагностики дефектных генов в клиническое акушерство, что позволило нам существенно расширить представление о факторах риска и причинах привычного невынашивания беременности. Исследователи проблемы генетической и приобретенной тромбофилии в разных странах мира с конца XX века независимо друг от друга пришли к заключению о доминирующей роли АФС, мутаций и полиморфизмов генов, предрасполагающих к тромбофилии, в генезе привычного невынашивания беременности, а также неудач ЭКО.

В настоящее время под антифосфолипидным синдромом (АФС) понимают симптомокомплекс, сочетающий определенные клинические признаки и лабораторные данные, – наличие антифосфолипидных антител (АФА) в сочетании с артериальными и венозными тромбозами, синдромом потери плода, иммунной тромбоцитопенией и/или неврологическими расстройствами [1,2].

АФА влияют на все звенья системы гемостаза, это явление получило название «тройной удар». Одновре-

менно подавляя фибринолиз за счет ингибирования TFPI – важнейшего ингибитора тканевого фактора, тканевого активатора плазминогена и функции плазмина, нарушая функцию всех естественных антикоагулянтов, включая систему протеина С, протеина S, антитромбин III, активируя коагуляцию и тромбоцитарное звено гемостаза, АФА являются мощным протромботическим стимулом.

Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) продолжают активно развиваться и становятся частью рутинного подхода к разрешению проблемы деторождения. Количество детей, рожденных благодаря этим технологиям в Европе, по данным на 2008 г., составило 4,2% [13]. Тем не менее, несмотря на первоначальные существенные положительные сдвиги в результатах и понимании процесса ВРТ, уровень живорождения благодаря данным технологиям на каком-то этапе своего развития остановился, и с недавних пор отсутствуют какие-либо свидетельства видимого прогресса. Частота наступления беременности среди женщин после криопереноса (ЭКО или ИКСИ) варьирует от 20 до 35%. Более того, известно, что беременности, включая одноплодные, наступившие вследствие ВРТ, имеют значительно больший риск неблагоприятных перинатальных исходов. Основными факторами, которые влияют на исход ЭКО и ИКСИ, являются возраст, количество полученных ооцитов, качество эмбрионов, количество подсаженных эмбрионов, успешная подсадка и качество рецепторного аппарата эндометрия. Поэтому в данное время

наибольший акцент сделан на экспериментальные методы, направленные на улучшение качества ооцитов и эмбрионов с подбором оптимального количества эмбрионов для подсадки, успешный перенос с адекватной имплантацией и благополучное завершение беременности с рождением живого доношенного плода [5]. Нарушение маточного кровообращения может снижать рецептивность эндометрия, приводя к неудачам имплантации эмбриона. Взаимосвязь тромбозофилии с неудачными перинатальными исходами, включая эмбриональные потери, позволяет предположить, что тромбозофилия может являться причиной бесплодия, а также повторных неудач имплантации, особенно после ЭКО [10,12].

С целью максимально увеличить количество хороших эмбрионов для переноса и криоконсервации, женщины в процессе протокола ЭКО или ИКСИ подвергаются воздействию высоких доз экзогенных гонадотропинов, агонистов или антагонистов гонадотропин-рилизинг-гормона, что вызывает выброс сверхфизиологических уровней эстрадиола, ассоциированный с прокоагулянтными изменениями в системе гемостаза и сопровождается повышенным тромботическим риском. Изменения в процессах коагуляции и фибринолиза, наблюдаемые во время стимуляции овуляции, подобны тем, которые наблюдаются во время беременности с характерным резким повышением уровня эстрадиола. В течение двух недель его концентрация повышается более чем в 100 раз. Уровень эстрадиола коррелирует с уровнем фибриногена, Д-димера и активированного протеина С (АФС-резистентность). Стимуляция овуляции сопровождается повышением некоторых циркулирующих коагуляционных факторов: фактора V, фибриногена, фактора фон Виллебранда, маркеров тромбозофилии, фрагментов протромбина 1+2 и Д-димера, повреждением функции эндогенных антикоагулянтов; снижением уровней естественных антикоагулянтов – антитромбина III и протеина S. У женщин с избыточной ответной реакцией на экзогенно вводимые гонадотропины может развиваться синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ), который ассоциируется с более глубокими изменениями в системе гемостаза и выраженной гемоконцентрацией. В условиях стимуляции овуляции на уровни коагуляционных факторов влияют не столько уровни сывороточных концентраций эстрадиола (которые иногда в 10 раз выше, чем в регулярном физиологическом менструальном цикле), сколько биохимические изменения, развивающиеся после индукции овуляции хорионическим гонадотропином человека (ХГЧ). У женщин с гиперстимуляцией яичников и наступлением беременности гиперкоагуляция наблюдается еще в течение трех недель после начала СГЯ, а уровень протеина S остается низким.

Четкая взаимосвязь между высоким уровнем Д-димера и неудачами ЭКО, несмотря на хороший яичниковый резерв (традиционно прогностически благоприятный фактор), позволяет предположить,

что гемостазиологические механизмы играют важную роль в процессах имплантации.

По данным литературы, важным фактором, влияющим на результаты ЭКО, является АФС, диагностированный у каждой третьей пациентки с ЭКО (экстракорпоральное оплодотворение), закончившийся прерыванием беременности. АФА задерживают дифференцировку цитотрофобласта в синцитиотрофобласт и их присутствие в сыворотке крови женщины связано с неблагоприятным исходом беременности [6]. Молекулы фосфолипидов выполняют адгезивную функцию при формировании синцитиотрофобласта. Иммуногенное состояние возникает при экспозиции поверхностных фосфолипидов (особенно фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина в форме гексагональной фазы II. Антитела к этим фосфолипидам вмешиваются в процесс образования синцитиотрофобласта из цитотрофобласта, что и ведет к задержке синцитиолиза цитотрофобласта. АФА повышают экспрессию ингибитора активатора плазминогена 1(PAI-1) и тканевого фактора (TF), что усиливает протромботические механизмы и снижает активность фибринолиза, и также ведет к дефектам имплантации и снижению глубины децидуальной инвазии трофобласта [8]. При АФА имеет место циркуляция в крови антител иммуноглобулинов класса M,G,A к фосфолипидным детерминантам клеточных мембран. Эти антитела самостоятельно или при образовании комплексов с другими белками плазмы (так называемыми кофакторами - b2-гликопротеин 1 (b2-GPI1), аннексин V, протромбин и другие) способны повреждать мембраны эндотелия, нарушая баланс в звене естественных антикоагулянтов и ингибиторов свертывания, провоцировать тромботическую ситуацию.

Целью исследования стало изучение взаимосвязи циркуляции АФА и неудач ЭКО.

Материалы и методы

Мы обследовали 217 женщин, находившихся в программе ЭКО. Из них – 137 женщин с неудачами ЭКО (одна и более неудачных попыток ЭКО, число попыток составило от 1 до 9) (I группа) и 80 женщин с наступившей после ЭКО беременностью (II группа). Контрольную группу составили 60 здоровых беременных женщин. Все пациентки были обследованы на наличие различных АФА – антител к кардиолипину, b2-гликопротеину I, аннексину V, протромбину.

Клиническое обследование включало в себя данные анамнеза, лабораторных и инструментальных исследований. Возраст пациенток колебался от 23 до 46 лет.

Пациенткам обеих групп было проведено детальное обследование системы гемостаза, включая определение приобретенных и генетических форм тромбозофилии.

Критериями тромбозофилии были:

- наличие циркуляции антифосфолипидных антител (АФА), мутации в гене фактора V Лейдена,

- мутации в гене протромбина G20210A, фибриногена, гипергомоцистеинемия;
- их комбинация или дополнительно полиморфизмы генов системы гемостаза;
- три и более гомозиготных полиморфизма тромбофилических генов;
- пять и более гетерозиготных вариантов полиморфизмов генов системы гемостаза.

Также определялся титр антифосфолипидных антител и их кофакторов (антитела к $\beta 2$ -гликопротеину I ($\beta 2$ -GPI) IgG/IgM, антитела к аннексину V IgG/IgM и антитела к протромбину IgG/IgM).

Результаты

Спектр антифосфолипидных антител разнообразен, и в общей сложности доля АФА среди всех 217 женщин, планировавших наступление беременности с помощью ВРТ, составила 32,6%. Повышенный уровень АФА в группе женщин с неудачами ЭКО в анамнезе был диагностирован у 42,1% пациенток. Из них в структуре причин неудач ЭКО (I группа) повышенный уровень АФА наблюдался у 42,1% пациентов. Среди женщин, беременность у которых наступила с помощью ВРТ (II группа), доля АФА была 19% (см. рис. 1). При этом циркуляция антител к кардиолипину была выявлена лишь у 8,9% женщин с неудачами ЭКО и у одной женщины в группе с наступившей после ЭКО беременностью. То есть из 75 женщин с АФА и неудачами ЭКО у 59 антитела к кардиолипину отсутствовали, но при этом у этих женщин были выявлены антитела к другим фосфолипидам и их кофакторам. То есть определение антител к кардиолипину не всегда можно считать информативным. Если проводить определение только антикардиолипиновых антител, то можно пропустить почти 90% АФА-позитивных женщин с неудачами ЭКО. Обращает на себя внимание высокий процент антител к $\beta 2$ -GPI – 31,4% (46/137 женщин)

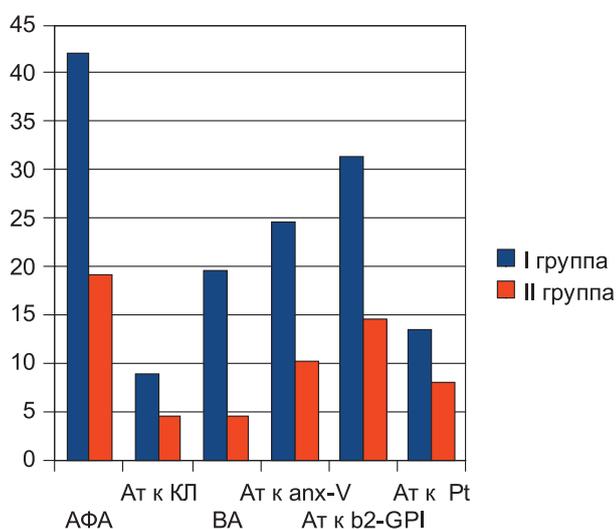


Рисунок 1. Сравнительная характеристика уровней антифосфолипидных антител (АФА) в I и II группах в процентном соотношении (%).

и к аннексину V – 24,7% (34/137). В группе сравнения циркуляция АФА наблюдалась в 6,3% случаев. В контрольной группе этот уровень составил 3,4%. Мультигенная тромбофилия была обнаружена у 58,5%, комбинация генетической тромбофилии и циркуляция АФА – в 34,2% случаев. Несмотря на наступившую в результате ВРТ беременность, в 12,4% случаев (у 11 женщин) мы наблюдали ее прерывание. В основном, прерывание происходило по типу неразвивающейся беременности на ранних сроках.

Успешное наступление беременности во II группе, несмотря на наличие антифосфолипидных антител, мы объясняем вовремя начатой терапией. К сожалению, исходы беременности у женщин с циркуляцией антифосфолипидных антител были хуже, чем без циркуляции АФА или при их низком титре, что указывает на необходимость обследования женщин, планирующих беременность с помощью ВРТ, на наличие антител к фосфолипидам и кофакторам АФА, а также необходимость начала терапии на этапе подготовки к ЭКО.

Обсуждение

При ведении пациенток с циркуляцией АФА и неудачами ЭКО для оптимизации процедуры нами разработана патогенетическая обоснованная тактика ведения данных пациенток. Подготовка к беременности начинается в фертильном цикле с учетом выявленных дефектов в системе гемостаза. До наступления беременности мы применяли гирудотерапию (до 12 сеансов). Состав секрета медицинской пиявки уникален: на сегодня известно более 60 его компонентов, главным из которых считается гирудин. Пиявки обладают рядом преимуществ перед лекарственными препаратами: считаются натуральным средством; обладают сбалансированным антиагрегантным, тромболитическим, антикоагулянтным эффектом; улучшают микроциркуляции и лимфоотток, обладают рефлекторным воздействием, а в отличие от антикоагулянтных препаратов не вызывают кровотечений.

Одновременно под контролем маркеров тромбофилии (D-димер, ТАТ) назначался низкомолекулярный гепарин с первых дней гормонального протокола, фолиевая кислота до 5 мг/сут. и витамины группы В при гипергомоцистеинемии и мутации MHER C6771; антиоксиданты (омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты), низкие дозы ацетилсалициловой кислоты [7,11].

Задача патогенетически обоснованной комплексной терапии на этапах подготовки к беременности – синхронизация процессов фибринообразования и фибринолиза, играющих огромное значение в период имплантации эмбриона и инвазии трофобласта, и борьба с целым рядом неблагоприятных эффектов АФА на процессы имплантации.

Учитывая высокий процент циркуляции АФА при неудачах ЭКО, мы считаем, что высокие титры АФА являются временным противопоказанием к проведе-

нию ЭКО. Крайне важно индивидуально оценить ситуацию. Не следует начинать гормональный протокол при заведомо известном высоком титре антифосфолипидных антител или, особенно, сочетании циркуляции ВА, антител к b2-GPI, аннексину V, протромбину (при двух и более сочетаниях). Пациенты с циркуляцией АФА в анамнезе обязаны получать антикоагулянтную терапию с первых дней гормонального протокола. Препаратом первого выбора является низкомолекулярный гепарин (НМГ). Перед проведением ЭКО мы рекомендуем провести обследование системы гемостаза. Обследование на наличие АФА и генетической тромбофилии должно быть показано всем пациентам с акушерскими осложнениями (неудачи ЭКО, синдром потери плода, ПОНРП, тяжелая преэклампсия и др.), отягощенным личным и семейным тромбо-

тическим анамнезом, бесплодием. У пациентов с высоким риском тромбозов антикоагулянтная терапия должна проводиться до начала гормональной стимуляции под строгим контролем маркеров системы гемостаза и коррекцией дозы, в зависимости от анти-Ха активности, Д-димера, уровня АТ III, фибриногена и др. тромбофилических параметров. У женщин с СГЯ в анамнезе целесообразно проводить скрининг на наличие генетических форм тромбофилии и АФС, а также профилактическое применение НМГ.

Только индивидуальный подход с возможной идентификацией причин неудач ЭКО и избирательной терапией может приводить к значительному улучшению исходов программы ЭКО и давать пациентам надежду на благополучное наступление и завершение беременности.

Литература / References:

1. APASS Investigators. Antiphospholipid antibodies and subsequent thrombo-occlusive events in patients with Ischemic Stroke. *JAMA*. 2004; 291: 576-584.
2. Asherson R.A., Cervera R., Piette J.C., Shoenfeld Y. The Antiphospholipid syndrome II. Autoimmune thrombosis. *Netherlands*. 2002; 457 p.
3. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb. Res.* 2004; 114 (5-6): 409-414.
4. Bitsadze V.O., Makatsariya A.D., Hizroyeva D. H. et al. Thrombophilia as a most important link in the pathogenesis of pregnancy complications. *Practical medicine*. 2012; 5: 22-29.
5. Chan W.S., Dixon M.N. The "ART" of thromboembolism: a review of assisted reproductive technology and thromboembolic complications. *Thromb. Res.* 2008; 121 (6): 713-726.
6. Di Simone N., Meroni P.L., del Papa N., Raschi E., Caliandro D., De Carolis C.S., Kamashta M.A., Atsumi T., Hughes G.R., Balestrieri G. et al. Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta2-glycoprotein 1. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 140-150.
7. Di Simone N., Ferrazzani S., Castellani R., De Carolis C.S., Mancuso S. and Caruso A. Heparin and low dose aspirin restore placental human chorionic gonadotropin secretion abolished by antiphospholipid antibody containing sera. *Hum. Reprod.* 1997; 12: 2061-2065.
8. Frankline R.D., Kutteh W.H. Antiphospholipid antibodies (APA) and recurrent pregnancy loss: treating a unique APA positive population. *Hum. Reprod.* 2002; 17: 2981-2985.
9. Kovac M., Mitic G. et al. Thrombophilia in women with pregnancy-associated complications: fetal loss and pregnancy-related venous thromboembolism. *Gynecol. Obstet. Invest.* 2010; 69 (4): 233-8.
10. Marcello de Nisio, Anne WS Rutjies, Noemi Ferrante, Gian Mario Tibony, Franco Cuccurullo, Ettore Porreca. Thrombophilia and outcomes of assisted reproduction technologies: a systematic review and meta-analysis. *Blood*. June 2011; 2670-78.
11. Nelson S.M., Greer I.A. The potential role of heparin in assisted conception. *Hum. Reprod. Update*. 2008 Nov-Dec; 14 (6): 623-645.
12. Qublan H.S., Eid S.S., Ababneh H.A., Amarin Z.O., Smadi A.Z., Al-Khafaji F.F., Khader Y.S. Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure. *Hum Reprod.* 2006 Oct; 21 (10): 2694-8.
13. Rudakova E.B., Besman I.V. Auxiliary reproductive technologies. Problems of losses of pregnancy. *Attending Physician*. 2010; 3: 46-48.

Сведения об авторах:

Стулева Надежда Сергеевна – к.м.н., зав. НИО «Клиническая гемостазиология» Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Адрес: Россия, 109004, Москва, ул. Земляной Вал, 62, стр. 1. Тел.: +7(495)6091400. E-mail: gemostasis@mail.ru.

Хизроева Джамия Хизриевна – к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Адрес: Россия, 109004, Москва, ул. Земляной Вал, 62, стр. 1. Тел.: +7(499)2072763. E-mail: gemostasis@mail.ru.

Машкова Тамара Якововна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Адрес: ул. Земляной Вал, 62, стр. 1, Москва, Россия, 109004. Тел.: +7(495)7862313. E-mail: gemostasis@mail.ru.

Абрамян Гуар Размиковна – научный сотрудник, Ереванский Государственный Медицинский Университет имени Мхитара Гераци. Адрес: ул. Корюн, 2, Ереван, Армения. E-mail: abrahamyan.gohar@mail.ru.

About the authors:

Stuleva Nadezhda Sergeevna – PhD, Head of the Department "Clinical hemostasis" of First Moscow State Medical Sechenov University. Address: ul. Zemlyanoi Val, 62-1, 109004, Moscow, Russia. Tel.: +7(495)6091400. E-mail: gemostasis@mail.ru.

Khizroeva Dzhamiya Khizrievna – PhD, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical and Preventive, First Moscow State Medical Sechenov University. Address: ul. Zemlyanoi Val, 62-1, 109004, Moscow, Russia. Tel.: +7(499)2072763. E-mail: gemostasis@mail.ru.

Mashkova Tamara Yakobovna – graduate student of the department of obstetrics and gynecology medical-prophylactic faculty of the First MGMU them IM Setchenov. Address: ul. Zemlyanoi Val, 62, str. 1, Moscow, Russia, 109004. Tel.: +7(495)7862313. E-mail: gemostasis@mail.ru.

Abramyan Guar Razmikovna – research scientist, Yerevan State Medical University after Mkhitar Heratsi. Address: 2 Koryun St, Yerevan 0025, Armenia. E-mail: abrahamyan.gohar@mail.ru.