

ISSN 2313-7347 (print)

ISSN 2500-3194 (online)

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2019 • Том 13 • № 3



OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

2019 Vol. 13 No 3

www.gynecology.su

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.gynecology.su>. Не предназначена для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru.



Целесообразность выявления антифосфолипидных антител и генетических мутаций системы гемостаза при неудачах экстракорпорального оплодотворения

В.И. Линников

Немецкий лечебно-диагностический центр Святого Павла;
Украина, 65023 Одесса, ул. Новосельского, д. 68/2

Для контактов: Валерий Иванович Линников, e-mail: linnikovsyava@gmail.com

Резюме

Описана прегравидарная подготовка пациентки перед повторной попыткой экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) после четырех неудачных. Учитывая отягощенный персональный и семейный анамнез, у пациентки было проведено изучение системы гемостаза, включая исследование на генетические мутации. Выявлены высокий титр антифосфолипидных антител различного спектра и мультигенные мутации тромбофилической направленности. Для коррекции приобретенной и мультигенной тромбофилии была проведена витаминно-антиоксидантная и иммунная терапия внутривенными иммуноглобулинами, а также гирудотерапия. После наступления беременности на протяжении всей гестации проводилась антикоагулянтная терапия низкомолекулярными гепаринами, антиагрегантная, антиоксидантная терапия под динамичным контролем маркеров тромбофилии – уровней Д-димера, комплекса тромбин-антитромбин и агрегационной функции тромбоцитов. Беременность успешно завершилась родами в 39 недель.

Ключевые слова: антифосфолипидные антитела, приобретенная и генетическая тромбофилия, неудачи экстракорпорального оплодотворения, иммунная терапия, гирудотерапия

Статья поступила: 20.05.2019; **в доработанном виде:** 05.06.2019; **принята к печати:** 05.08.2019.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии необходимости раскрытия финансовой поддержки или конфликта интересов в отношении данной публикации.

Для цитирования: Линников В.И. Целесообразность выявления антифосфолипидных антител и генетических мутаций системы гемостаза при неудачах экстракорпорального оплодотворения. *Акушерство, Гинекология и Репродукция*. 2019;13(3):240–244. DOI: 10.17749/2313-7347.2019.13.3.240-244.

Significance of detecting antiphospholipid antibodies and genetic mutations of hemostasis for in vitro fertilization

Valery I. Linnikov

Saint Paul German Medical and Diagnostic Center; 68/2 Novoselskogo St., Odessa 65023, Ukraine

Corresponding author: Valery I. Linnikov, e-mail: linnikovsyava@gmail.com

Abstract

A case of pregravid preparation is described for an in vitro fertilization (IVF) attempt in a woman after four previous IVF failures. Considering her personal and family aggravated medical history, including the family anamnesis, the patient underwent a hemostasis examination including a test for genetic mutations. A high titer of antiphospholipid antibodies of various types and multigene mutations associated with thrombophilia were found. For the treatment of acquired and inherited thrombophilia, vitamin-antioxidant and intravenous immunoglobulin therapy was initiated as well as a course of hirudotherapy. After starting of pregnancy throughout the gestation period, anticoagulant therapy by low molecular weight heparins, antiplatelet, and antioxidant therapy was carried out; in parallel, D-dimer, thrombin-antithrombin and platelet aggregation markers of thrombophilia were monitored. Pregnancy successfully ended by childbirth at 39 weeks.

Key words: antiphospholipid antibodies, acquired and genetic thrombophilia, in vitro fertilization failure, immune therapy, hirudotherapy

Received: 20.05.2019; **in the revised form:** 05.06.2019; **accepted:** 05.08.2019.

Conflict of interests

The author declares he has nothing to disclose regarding the funding or conflict of interests with respect to this manuscript.

For citation: Linnikov V.I. Significance of detecting antiphospholipid antibodies and genetic mutations of hemostasis for in vitro fertilization. *Akusherstvo, Ginekologia i Reprodukcija = Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2019;13(3):240–244. (In Russ.). DOI: 10.17749/2313-7347.2019.13.3.240-244.

Введение / Introduction

При зачатии и беременности на процесс имплантации, инвазии трофобласта и плацентации неблагоприятное влияние оказывают антифосфолипидные антитела (АФА). Важнейшей причиной неудач экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) является антифосфолипидный синдром (АФС) и, как следствие, приобретенная тромбофилия. По данным А.Д. Макария и соавт., АФА выявляются у 35 % пациенток с бесплодием и неудачными ЭКО в анамнезе, а тромбофилии (приобретенные + генетические) у таких пациентов достигают 80 % и выше [1, 2].

АФА практически влияют на каждый этап развития плода, особенно на инвазию и имплантацию бластоцисты, так как замедляют дифференцировку цитотрофобласта в синцитиотрофобласт, и их наличие в сыворотке крови у женщины можно связать с неблагоприятными исходами беременности [3]. АФА повышают уровень ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) и тканевого фактора, что приводит к снижению секреции активаторов плазминогена и эндотелина-1. При

этом необходимо отметить, что АФА в сочетании с белками-кофакторами (β_2 -гликопротеин 1, аннексин V и др.) повреждают эндотелиальные мембраны, вызывая эндотелиопатию и, нарушая фибринолитическое звено системы гемостаза, вызывают тромбофилическое состояние [4].

АФС является системным аутоиммунным заболеванием. В настоящее время не существует единой терапевтической тактики по отношению к иммунотерапии АФС.

Значительный интерес исследователи проявляют к иммуномодуляции препаратами иммуноглобулинов [5]. Мы в своей практике применяем пассивную иммунотерапию при помощи внутривенного введения иммуноглобулинов (ВВИГ) [6]. Различные исследования указывают на способность Т-клеток (Treg) ингибировать цитотоксическую активность CD8+ Т-лимфоцитов и NK-клеток. Это дает возможность рассматривать Treg в качестве основных претендентов на роль клеток, управляющих иммунным равновесием в системе «мать–плод» [7].

При подготовке пациенток с тромбофилиями к ЭКО А.Д. Макацария и соавт. рекомендуют проводить превентивную гирудотерапию в фертильном цикле с дальнейшей терапией тромбофилии наиболее эффективными прямыми антикоагулянтами – низкомолекулярными гепаринами (НМГ) [8].

Клинический случай / Clinical case

Пациентка К., 37 лет, обратилась с жалобами на бесплодие и 4 неудачные попытки ЭКО в нескольких репродуктивных клиниках. В двух попытках ЭКО беременность прерывалась на 2-й и 3-й неделях после переноса эмбриона.

Гинекологический анамнез

Менархе с 14 лет, менструации регулярные, безболезненные. В замужестве отмечала иногда задержку месячных до 8–10 дней с последующей обильной менструацией.

Соматически здорова. В браке 15 лет. Отмечает неоднократные, по 2–3 раза в год рецидивы герпеса. Анализ на TORCH-инфекции выявил вирус герпеса тип II и цитомегаловирус с высокими уровнями антител IgG/IgM.

Семейный анамнез

Отец дважды перенес инфаркт миокарда в возрасте 45 и 47 лет; у матери в возрасте 47 лет – ишемический инсульт головного мозга.

Лабораторная диагностика

Гемостазиограмма: фибриноген – 4,6 г/л; активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) – 27 с; протромбиновый индекс (ПТИ) – 132; тромбоциты – $120 \times 10^9/\text{л}$; агрегационная активность тромбоцитов при индукции АДФ – 96 %, при индукции ристомидином – 92% (норма – 30–55 %); содержание Д-димера – 0,3 мкг/мл (норма < 0,5 мкг/мл), гомоцистеина – 18,5 мкмоль/л (норма < 7 мкмоль/л). Выявлен волчаночный антикоагулянт (ВА). Скрининг на АФА: антитела к кардиолипину (IgG/IgM) – 18 Ед/мл (норма < 10 Ед/мл); антитела к белковым кофакторам: β_2 -гликопротеину I (IgG/IgM) – 42,9 Ед/мл (норма < 5 Ед/мл); к аннексину V (IgG/IgM) – 28,09 МЕ/мл (норма < 5 МЕ/мл).

Пациентка обследована на генетические формы тромбофилии. Обнаружена гетерозиготная мутация в генах FV (Leiden), MTHFR C677T; гомозигота 675 4G/4G гена PAI-1 с уровнем PAI-1 85,5 нг/мл (норма – 7–40 нг/мл), гетерозигота 455 G/A гена фибриногена.

Клинический диагноз

Сочетанная приобретенная (АФС) и мультигенная тромбофилия, гипергомоцистеинемия, бесплодие I (повторные неудачи ЭКО в анамнезе).

Тактика ведения

Пациентке были даны рекомендации не вступать в протокол ЭКО в связи с высокими титрами маркеров тромбофилии и уровней АФА.

В целях коррекции системы гемостаза проведена иммунотерапия ВВИГ: 200 мл (5 % раствор октагема, 25 мл) внутривенно капельно 1 раз в неделю 3 нед подряд с одновременным приемом фолиевой кислоты (5 мг/сут), комбинированного препарата фолиевой кислоты (400 мкг) и цианокобаламина (2 мкг), витамина Е, антиоксидантов, комбинированного препарата ацетилсалициловой кислоты (150 мг) и магния гидроксида (30,39 мг). Через 1 мес назначено 15 сеансов гирудотерапии. После 12-го сеанса пациентка отметила задержку менструации. Тестами уровня хорионического гонадотропина человека установлена спонтанная беременность раннего срока. Гирудотерапия отменена, назначена антикоагулянтная (НМГ), антиагрегантная и антиоксидантная терапия: эноксапарин натрия по 0,6 мл 1 раз в сутки, комбинация ацетилсалициловой кислоты (150 мг) и магния гидроксида (30,39 мг), микронизированный прогестерон (200 мг) интравагинально 2 раза в сутки, комбинация фолиевой кислоты (400 мкг) и цианокобаламина (2 мкг), витамин Е, органические соли магния в комбинации с витамином В₆, омега-3-жирные кислоты.

В конце I триместра по данным повышения маркеров тромбофилии – Д-димера и комплекса тромбин–анти тромбин (1,1 мкг/мл и 5,2 мкг/мл, соответственно) доза эноксапарина натрия была увеличена до 1 мл (0,4 мл утром и 0,6 мл вечером). Ввиду усиления агрегации тромбоцитов антиагрегационная терапия была дополнена приемом дипиридамола по 25 мг 2 раза в сутки. Дальнейший мониторинг гестации прогрессирование тромбофилии не выявил.

В сроке 39 нед беременности произошло родовое излитие околоплодных вод при незрелой шейке матки. Произведено кесарево сечение. Извлечен мальчик массой 3450 г, рост – 49 см, по шкале Апгар – 8/8 баллов.

В послеродовом периоде антикоагулянтная терапия была продолжена в течение 1 мес – 0,4 мл эноксапарина натрия 1 раз в сутки.

Обсуждение / Discussion

Значимым анамнестическим фактором, могущим указать на наличие у нашей пациентки АФА и приобретенных факторов тромбофилии, могли явиться частые эпизоды рецидивов герпеса с высоким уровнем антител IgG/IgM. По данным многих исследователей, у пациентов с герпетической инфекцией в 45–50 % случаев развивается АФС [9–11]. На вероятность наличия генетических мутаций у пациентки указывал отягощенный тромбогенный анамнез ее родителей, что и было выявлено у К. при глубоком исследовании системы гемостаза. Оптимизма получить желаемый результат доставляла и информация из анамнеза о том, что у женщины наблюдались периодические задержки, а затем обильные месячные, которые можно трактовать как эмбриональные потери. Неудачу ЭКО, когда был перенос криоэмбриона после годовой паузы протокола гиперстимуляции овуляции

и диагностирована нидация эмбриона с последующим прерыванием, можно трактовать как неготовность эндометрия к полноценной нидации эмбриона в связи с разрушением аннексинного щита высоким уровнем АФА к аннексину V. Разрушение аннексина V на апикальной поверхности трофобласта является причиной тромбозов и репродуктивных потерь.

Патогенез репродуктивных потерь вследствие АФС можно связывать и с нетромботическими проявлениями АФА, так как усиливается адгезивность предимплантационного эмбриона, нарушается развитие синцития, а также глубина инвазии трофобласта. Подавляется синтез хорионического гонадотропина, при этом возникает недостаточный уровень плацентарного прогестерона, который несет ответственность за сохранение беременности.

Эти механизмы также раскрывают суть неудач при оплодотворении и пересадке эмбриона у женщин с АФА [2].

В нашем случае ситуация усугублялась еще и тем, что у пациентки имелся полиформизм в фибринолитическом звене гемостаза – гомозиготная мутация PAI-1 с высоким уровнем ингибитора (82,9 нг/мл). Тем самым эндогенный фибринолитик плазминоген был значительно блокирован при переходе в активную форму – плазмин, что усугубляло тромбофилическое состояние. В результате гипофибринолиза нарушалось внедрение бластоцисты на необходимую глубину и определяло неудачный результат ЭКО.

Фермент гирудин, находящийся в слюне пиявок, помимо более 100 биологически активных веществ, имеет огромную фибринолитическую активность, сохраняющуюся в организме несколько месяцев, эффективен при дефиците эндогенных фибринолитиков и подавленном фибринолизе.

Гипергомоцистеинемия рассматривается сейчас как одна из форм приобретенной тромбофилии. Эндотелиопатия, возникающая при высоких уровнях гомоцистеина, приводит к активации коагуляции, нарушается также процесс фибринолиза.

Фолиевая кислота занимает главное место в лечении гипергомоцистеинемии в комплексе с кофакторами реметилирования гомоцистеина – витаминов B₆ и B₁₂. Прием фолиевой кислоты в количестве 400–500 мкг/сут до и во время беременности нормализует уровень гомоцистеина, снижает частоту развития дефекта нервной трубки, аномалий эмбриогенеза мозга и других опасных аномалий у плода.

Таким образом, персональный подход, особенно в результате повторных неудач ЭКО, с возможным обнаружением причин, вызванных приобретенной и/или генетической тромбофилией, а также избирательная терапия могут приводить к значительному улучшению результатов программ ЭКО.

Заключение / Conclusion

Выявление АФА, приобретенной и генетической тромбофилии информирует репродуктолога о нецелесообразности проведения ЭКО без превентивной коррекции системы гемостаза.

Иммунная терапия ВВИГ эффективна при высоких уровнях АФА, а гирудотерапия – при подготовке к беременности у пациенток с мутацией гена PAI-1 и высоким уровнем ингибитора.

Прямой антикоагулянт низкомолекулярный гепарин является базовым препаратом при терапии тромбофилии на протяжении всей гестации и в послеродовом периоде для профилактики тромботических осложнений.

Литература:

- Макацария А.Д., Акиншина С.В., Бицадзе В.О. и др. Тромбофилия и тромбозомболические осложнения, связанные с использованием вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2014;8(2):89–96.
- Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х. и др. Патогенетическое значение антифосфолипидных антител. *Практическая медицина*. 2012;(5):9–21.
- Simone N., Meroni P.L., de Papa N. et al. Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered β_2 -glycoprotein I. *Arthritis Rheum*. 2000;43(1):140–50. DOI: 10.1002/1529-0131(200001)43:1<140::AID-ANR18>3.0.CO;2-P.
- Franklin R.D., Kuten W.H. Antiphospholipid antibodies (APA) and recurrent pregnancy loss: treating a unique APA positive population. *Hum Reprod*. 2002;17(11):2981–5. DOI: 10.1093/humrep/17.11.2981.
- Carp H.J., Sapir T., Shoenfeld Y. Intravenous immunoglobulin and recurrent pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2005;29(3):327–32. DOI: 10.1385/CRIAI:29.3:327.
- Линников В.И. Клинико-лабораторные показатели беременных с антифосфолипидным синдромом при комплексной терапии с применением внутривенного иммуноглобулина. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2015;9(3):11–6. DOI: 10.17749/2070-4968.2015.9.3.011-016.
- Chen M.L., Sapir R.M., Porter T.F. Regulatory T-cells suppress tumorspecific CD8 T-cell cytotoxicity through TGF-beta signals in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(2):419–24. DOI: 10.1073/pnas.0408197102.
- Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Баймурадова С.М. и др. Антифосфолипидный синдром – иммунная тромбофилия в акушерстве и гинекологии. Под ред. А.Д. Макацария. М.: Триада-Х, 2007. 456 с.
- Долгушина Н.В. Ведение беременности и родов у больных генитальным герпесом и антифосфолипидным синдромом: Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 2000. 25 с.
- Prober C.G. Epidemiology and transmission of herpes simplex virus in pregnancy and the neonate. *Herpes*. 1995;2(1):13–5.
- Линников В.И. Диагностика, принципы лечения и профилактики тромбофилических состояний, обусловленных первичным антифосфолипидным синдромом у беременных, рожениц и родильниц: Автореф. дис. докт. мед. наук. Одесса, 2006. 36 с.

References:

1. Makatsariya A.D., Akinshina S.V., Bitsadze V.O. et al. Thrombophilia and thromboembolic complications associated with use of assistive reproductive technologies. [Trombofiliya i tromboembolicheskie oslozheniya, svyazannye s ispol'zovaniem vspomogatel'nyh reproduktivnyh tekhnologij]. *Akusherstvo, ginekologiya i reprodukcija*. 2014;8(2):89–96. (In Russ.).
2. Makatsariya A.D., Bitsadze V.O., Khizroeva D.Kh. et al. Pathogenetic significance of antiphospholipid antibodies. [Patogeneticheskoe znachenie antifosfolipidnyh antitel]. *Prakticheskaya medicina*. 2012;(5):9–21. (In Russ.).
3. Simone N., Meroni P.L., de Papa N. et al. Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered β_2 -glycoprotein I. *Arthritis Rheum*. 2000;43(1):140–50. DOI: 10.1002/1529-0131(200001)43:1<140::AID-ANR18>3.0.CO;2-P.
4. Franklin R.D., Kuttan W.H. Antiphospholipid antibodies (APA) and recurrent pregnancy loss: treating a unique APA positive population. *Hum Reprod*. 2002;17(11):2981–5. DOI: 10.1093/humrep/17.11.2981.
5. Carp H.J., Sapir T., Shoenfeld Y. Intravenous immunoglobulin and recurrent pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2005;29(3):327–32. DOI: 10.1385/CRIAI.29.3.327.
6. Linnikov V.I. Clinical and laboratory indicators of pregnant women with antiphospholipid syndrome in complex therapy with using of intravenous immunoglobulin. [Kliniko-laboratornye pokazateli beremennyh s antifosfolipidnym sindromom pri kompleksnoj terapii s primeneniem vnutrivennogo immunoglobulina]. *Akusherstvo, ginekologiya i reprodukcija*. 2015;9(3):11–6. (In Russ.). DOI: 10.17749/2070-4968.2015.9.3.011-016.
7. Chen M.L., Sapir R.M., Porter T.F. Regulatory T-cells suppress tumorspecific CD8 T-cell cytotoxicity through TGF-beta signals in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(2):419–24. DOI: 10.1073/pnas.0408197102.
8. Makatsariya A.D., Bitsadze V.O., Baimuradova S.M. et al. Antiphospholipid syndrome – immune thrombophilia in obstetrics and gynecology. Ed. A.D. Makatsaria. [Antifosfolipidnyj sindrom – immunnaya trombofiliya v akusherstve i ginekologii. Pod red. A.D. Makatsariya]. *Moskva: Triada-X*, 2007. 456 s. (In Russ.).
9. Dolgushina N.V. Management of pregnancy and childbirth in patients with genital herpes and antiphospholipid syndrome. [Vedenie beremennosti rodov u bol'nyh genital'nyh herpesom i antifosfolipidnym sindromom]. Avtoref. dis. kand. med. nauk. *Moskva*, 2000. 25 s. (In Russ.).
10. Prober C.G. Epidemiology and transmission of herpes simplex virus in pregnancy and the neonate. *Herpes*. 1995;2(1):13–5.
11. Linnikov V.I. Diagnosis, principles of treatment and prevention of thrombophilic conditions caused by the primary antiphospholipid syndrome in pregnant women, parturient women and puerperas. [Diagnostika, principy lecheniya i profilaktiki trombofilicheskikh sostoyanij, obuslovlennyh pervichnym antifosfolipidnym sindromom u beremennyh, rozhenic i rodil'nic]. Avtoref. dis. dokt. med. nauk. *Odessa*, 2006. 36 s. (In Russ.).

Сведения об авторе:

Линников Валерий Иванович – д.м.н., профессор, Немецкий лечебно-диагностический центр Святого Павла, Одесса, Украина. E-mail: linnikovsyava@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6877-2777>.

About the author:

Valery I. Linnikov – MD, PhD, Professor, Saint Paul German Medical and Diagnostic Center, Odessa, Ukraine. E-mail: linnikovsyava@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6877-2777>.