

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА НЕУДАЧНЫХ ПОПЫТОК ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ЖЕНЩИН С ТРОМБОФИЛИЕЙ

Проф. Н. А. ЩЕРБИНА, Д. Ш. ТАРАВНЕХ

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Выявлено, что этиопатогенетическими факторами риска неудачных попыток экстракорпорального оплодотворения у женщин с тромбофилией являются: наличие антифосфолипидного синдрома в сочетании с генетической тромбофилией, превалирование в структуре мультигенных форм тромбофилий, полиморфизм генов, эндогенный гипофибринолиз, нарушение синхронизации процессов фибринолиза и фибринообразования, а также высокая концентрация циркулирующих антифосфолипидных антител в сочетании с антителами к их кофакторам и гипергомоцистеинемией.

Ключевые слова: факторы риска, неудачные попытки экстракорпорального оплодотворения, тромбофилия.

Причиной развития акушерской патологии в 80% случаев являются наследственные и приобретенные аномалии системы гемостаза [1]. В настоящее время вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) особенно актуальны в решении проблемы деторождения [2]. Однако беременности, наступившие вследствие ВРТ, имеют значительно больший риск неблагоприятных перинатальных исходов [3]. Сегодня неудачные попытки экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) рассматриваются с позиции микротромбоза на уровне эндометрия и хориона на начальных этапах беременности [4].

Один из актуальных вопросов оптимизации исходов ЭКО — профилактика тромботических осложнений, которые являются наиболее серьезными осложнениями для наступления беременности [5]. У женщин с тромбофилией и неудачными попытками ЭКО в анамнезе имеют место более выраженные нарушения в фибринолитической системе крови, приводящие к риску венозных тромбоземболических осложнений [6].

До настоящего времени не изучены патофизиологические факторы риска неблагоприятных исходов программ ЭКО у женщин с тромбофилией. Установление основных патогенетических причин, неблагоприятных перинатальных исходов при ЭКО позволит разработать адекватную тактику ведения пациенток с тромбофилией и своевременно проводить профилактику и терапию данного осложнения [7].

Цель исследования — определение патофизиологических факторов риска механизмов формирования тромбозов у пациенток с тромбофилией, приводящих к неудачным попыткам ЭКО.

Нами проведено обследование 83 женщин, находившихся в программе ЭКО, из них 30 — с одной и более неудачными ЭКО (число попыток составило от 1 до 9) (I группа); 33 — с наступившей после программы ЭКО беременностью (II группа); 20 беременных после ЭКО (мужской

фактор) (III группа — сравнения); 20 беременных с физиологическим течением беременности (IV группа — контрольная).

Наблюдавшиеся женщины были репродуктивного возраста — от 21 до 43 лет, в среднем $26,3 \pm 0,6$ года. У всех обследованных собирали анамнез по специально разработанной карте, в которой фиксировали результаты проведенных исследований.

Для выяснения причин бесплодия и неудачи ЭКО выполнены гормональные, генетические исследования, HLA-типирование, УЗИ, гистеросальпингография, которые проводились по показаниям в зависимости от клинической ситуации, а также инфекционный профиль.

Все пациентки были обследованы на наличие антифосфолипидного синдрома (АФС) и наследственный полиморфизм генов предрасположенности к тромбофилии.

Концентрации антифосфолипидных антител (АФА) и кофакторов (антитела к аннексину V, антитела к кардиолипину, к $\beta 2$ -гликопротеину I, антитела к протромбину, волчаночному антигену (ВА)) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА).

У всех участниц обследования изучена система гемостаза, включая определение приобретенных и генетических форм тромбофилии. Исследование генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития тромбофилии, проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием детектирующего амплификатора «ДТ-96» с автоматическим программным обеспечением (ООО «НПО ДНК-Технология», РФ).

Концентрации гомоцистеина в плазме крови устанавливали методом ИФА с использованием реактивов Axis® (Axis-Shield AS, Норвегия) на приборе «ANTOS 2020» (США).

Из статистических методов были использованы методы оценки средних значений и стандартных ошибок, *t*-критерий Стьюдента. Для получения

Частота показателей спектра антифосфолипидных антител у обследованных женщин

Спектр АФА	Группы обследованных					
	I, n = 30		II, n = 33		III, n = 20	
	n	%	n	%	n	%
АФА (всего)	12***	40,0	5**	17,9	1	6,6
Антитела к кардиолипину IgG/M	3***	10,0	2***	7,1	0	0
Циркуляция ВА	4**	20,0	2	7,5	2	13,3
Антитела к аннексину V IgG/M	7***	35,0	3***	10,7	0	0
Антитела к β 2-GPI IgG/M	9***	45,0	4*	14,2	1	6,6
Антитела к протромбину IgG/M	5***	25,0	2*	7,1	1	6,6

Примечание. Статистически значимая разница между исходными показателями и показателями группы сравнения: * $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,05$. То же в табл. 2.

оценок использовался пакет прикладных программ Statistica 6.0.

Повышенный уровень АФА в группе женщин с неудачами ЭКО в анамнезе наблюдался у 12 (40,0%) пациенток I группы. При этом циркуляция антител к кардиолипину была выявлена лишь у 3 (10,0%) женщин I группы и у 2 беременных II группы, т. е. из 30 женщин с АФА и неудачами ЭКО у 27 антитела к кардиолипину отсутствовали, но при этом у них были выявлены антитела к другим фосфолипидам и их кофакторам. В связи с этим определение антител к кардиолипину не всегда можно считать информативным (табл. 1).

Наличие генетических форм тромбофилий, особенно их сочетание с АФС, односторонность действия различных форм тромбофилии могут быть причинами клинически не диагностированных ранних преэмбрионических потерь [8]. В связи с этим нами проведен анализ структуры тромбофилии у пациенток I группы.

При анализе структуры тромбофилии в I группе наиболее распространенной ее формой оказался полиморфизм гена PA1-1, который был диагностирован у 21 (70,0%) пациентки ($p < 0,01$). Полиморфизм гена PA1-1 675 4G/5G (гетерозиготная форма) был обнаружен у 12 (40,0%) женщин ($p < 0,01$), а 675 4G/4G (гомозиготная форма) — у 9 (30%) обследованных ($p < 0,05$). Мутация гена MTHFR C677T отмечена у 18 (60,0%) пациенток ($p < 0,01$), из них гомозиготная форма — у 5 (25,0%) ($p < 0,01$), а гетерозиготная — у 9 (30,0%) ($p < 0,05$). Мутация FV Leiden была обнаружена у 3 (10,0%) ($p > 0,5$) обследованных (гетерозиготная форма). Мутация протромбина G20210A была выявлена у 1 (3,3%) женщины — гетерозиготная форма ($p > 0,5$). У 7 (23,3%) пациенток был обнаружен полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фактора (АПФ) I/D, у 6 (20,0%) — полиморфизм рецептора к ангиотензину II 1166 A/C — гетерозиготная форма ($p < 0,5$).

Комбинированные (генетические и приобретенные) формы тромбофилии были обнаружены у 11 (36,6%) обследованных. Генетические формы

тромбофилии и гипергомоцистеинемия наблюдались у 8 (26,6%) пациенток I группы.

При анализе структуры тромбофилии во II группе наиболее распространенной ее формой оказался полиморфизм гена MTHFR C677T, что было диагностировано у 15 (45,4%) пациенток ($p < 0,01$). Полиморфизм гена PA1-1 675 4G/5G диагностирован у 9 (27,3%) ($p > 0,5$) пациенток.

Мутация FV Leiden не была обнаружена ни у одной из женщин. Мутация протромбина G20210A установлена у 1 (3,0%) обследованной — гетерозиготная форма ($p > 0,5$). У 11 (33,3%) пациенток был обнаружен полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фактора I/D ($p > 0,5$). У пациенток II группы полиморфизма рецептора к ангиотензину II 1166 A/C не было.

У пациенток III группы признаки тромбофилии не были обнаружены.

Таким образом, согласно нашим данным, выявлена более высокая частота разнообразных структурных форм тромбофилии у пациенток с неудачными попытками ЭКО. При этом обращает на себя внимание сочетание высокой частоты генетических форм тромбофилии, PA1-1, MTHFR C677T, полиморфизма I/D в гене ангиотензинпревращающего фермента, мутация протромбина G20210A, влияющих на уровень эндогенного фибринолиза в сочетании с циркуляцией АФА.

Нами проведено исследование по определению сочетания циркуляции АФА, гипергомоцистеинемии и антител к кофакторам АФА (табл. 2).

Спектр АФА разнообразен. Из них в структуре причин неудачных ЭКО (I группа) повышенный уровень АФА наблюдался у 12 (40,0%) пациенток. Среди женщин, беременность у которых наступила с помощью ВРТ (II группа), АФА выявлены у 6 (18,1%) пациенток. В группе сравнения (III группа) циркуляция АФА наблюдалась в 1 (5,0%) случае.

Полученные данные подтверждают тот факт, что если у женщины изначально присутствует АФС или генетическая тромбофилия (мутация FV Leiden, мутация протромбина G20210A,

**Сочетание циркуляции антифосфолипидных антител, гипергомоцистеинемии
и антител к кофакторам антифосфолипидных антител**

Формы тромбофилии	Группы обследованных					
	I, n = 30		II, n = 33		III, n = 20	
	n	%	n	%	n	%
АФА (всего)	12***	40,0	6**	18,19	1	5,0
Гипергомоцистеинемия	6***	20,0	3***	9,1	—	—
Генетические формы + АФС	9***	30,0	3*	9,1	1	5,0
Генетические формы + гипергомоцистеинемия	7***	23,3	4**	12,1	1	5,0
Генетические формы + АФС + гипергомоцистеинемия	5**	16,6	1*	3,03	0	0

МТНFRC677Т, полиморфизм гена PAI-1 или другие тромбогенные дефекты фибринолиза и тромбоцитов), то снижение и без того угнетенных естественных противотромботических механизмов многократно повышает риск тромботических осложнений [9]. Это необходимо учитывать при проведении ЭКО и своевременно проводить соответствующую терапию.

Таким образом, этиопатогенетическими факторами риска неудачных попыток ЭКО у женщин с тромбофилией являются:

1) наличие АФС и генетической тромбофилии (мутации FV Leiden, протромбина G20210A,

МТНFRC677Т, полиморфизм гена PAI-1 или другие тромбогенные дефекты фибринолиза и тромбоцитов), сочетание которых многократно повышает риск тромботических осложнений и приводит к отсутствию имплантации эмбриона в полости матки;

2) превалирование в структуре мультигенных форм тромбофилий, полиморфизм генов, эндогенный гипофибринолиз и нарушение синхронизации процессов фибринолиза и фибринообразования;

3) высокая концентрация циркулирующих АФА в сочетании с гипергомоцистеинемией и антителами к кофакторам АФА.

Список литературы

1. Тромбофилии и пути совершенствования анти-тромботической профилактики и терапии при беременности / З. С. Баркаган, Е. Ф. Котовщикова, Г. В. Сердюк [и др.] // Сибирский мед. журн.— 2014.— № 5.— С. 62–68.
2. Влияние патологии эндометрия и нарушений в системе гемостаза на исходы вспомогательных репродуктивных технологий / Е. Б. Рудакова, М. А. Пилипенко, Е. В. Полторака [и др.] // Вестн. РУДН.— 2009.— № 7.— С. 101–107.
3. Судомы И. А. Алгоритм обследования и лечения пациенток с многократными неудачными программами ВРТ / И. А. Судомы, Ю. В. Маслий // Репродуктивные технологии сегодня и завтра: материалы XVII междунар. конф., 6–8 сент. 2007, г. Казань.— Казань, 2012.— С. 20–21.
4. Шуришалина А. В. Хронический эндометрит у женщин с патологией репродуктивной функции: дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук; спец. 14.01.01 «Акушерство и гинекология» / А. В. Шуришалина.— М., 2007.
5. Kujovich J. L. Thrombophilia and pregnancy complications / J. L. Kujovich // Am. J. Obstet. Gynecol.— 2014.— Vol. 191.— P. 412–424.
6. Robert W. Hemostasia and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice / W. Robert.— N.Y.: Colman and others, 2013.— 125 p.
7. Ольховская М. А. Комплексная оценка состояния эндометрия в программе экстракорпорального оплодотворения: дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук; спец. 14.01.01 «Акушерство и гинекология» / М. А. Ольховская.— М., 2007.— 120 с.
8. Yasuda S. Pathogenesis of antiphospholipid antibodies: impairment of fibrinolysis and monocyte activation via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway / S. Yasuda, M. Bohgaki, T. Atsumi // Immunobiology.— 2013.— Vol. 210, № 10.— P. 775–780.
9. Galli M. Antiphospholipid syndrome: clinical and diagnostic utility of laboratory tests / M. Galli, T. Barbui // Semin. Thromb. Hemost.— 2014.— Vol. 1, № 31.— P. 17–24.

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ФАКТОРИ РИЗИКУ НЕВДАЛИХ СПРОБ ЕКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ЗАПЛІДНЕННЯ У ЖІНОК ІЗ ТРОМБОФІЛІЄЮ

М. О. ЩЕРБИНА, Д. Ш. ТАРАВНІХ

Виявлено, що етіопатогенетичними факторами ризику невдалих спроб екстрокорпорального запліднення у жінок із тромбофілією є: наявність антифосфоліпідного синдрому в поєднанні

з генетичною тромбофілією, превалювання в структурі мультигенних форм тромбофілій, поліморфізм генів, ендогенний гіпофібриноліз, порушення синхронізації процесів фібринолізу і фібриноутворення, а також висока концентрація циркулюючих антифосфоліпідних антитіл у поєднанні з антитілами до їх кофакторів та гіпергомоцистеїнемією.

Ключові слова: фактори ризику, невдалі спроби екстракорпорального запліднення, тромбофілія.

**PATHOGENETIC RISK FACTORS OF UNSUCCESSFUL IN VITRO FERTILIZATION
IN WOMEN WITH THROMBOPHILIA**

M. O. SHCHERBYNA, D. Sh. TARAVNEKH

It was revealed that etiopathogenetic risk factors for failed attempts of IVF in women with thrombophilia were the presence of antiphospholipid syndrome in combination with genetic thrombophilia, prevalence in the structure of multigenic thrombophilia, gene polymorphism, endogenous hypofibrinolysis, disorders of synchronization processes of fibrinolysis and fibrin formation, as well as high concentration of circulating antiphospholipid antibodies in conjunction with hyperhomocysteinemia with antibodies to their.

Key words: risk factors, unsuccessful IVF attempts, thrombophilia.

Поступила 01.04.2016