

На правах рукописи



Оруджова Эмира Афлатуновна

**Клиническое значение определения антифосфолипидных антител
и генетической тромбофилии у беременных
с ранней и поздней формами задержки роста плода**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор РАН

Бицадзе Виктория Омаровна

Официальные оппоненты:

Зайнулина Марина Сабировна – доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства гинекологии и репродуктологии, профессор кафедры; Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Родильный дом № 6 имени профессора В.Ф. Снегирева», главный врач

Андреева Маргарита Дарчоевна - доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, профессор кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «06» мая 2024г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России(Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации:<https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.001.28
доктор медицинских наук, профессор



Семиков Василий Иванович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Среди проблем, связанных с патологией беременности, задержка роста плода является второй по значимости причиной перинатальной патологии и осложняет 6-10% беременностей [Подзолкова Н.М., Денисова Ю.В., 2021 г.]. Следует отметить, что несмотря на успехи биологии и медицины, вопросы ее патогенеза остаются до конца не выясненными. В последние годы изменились диагностические подходы определения задержки роста плода. С 2016 г. предложено учитывать доплерометрические показатели маточно-плацентарного кровотока вместе с центильной оценкой фетометрических параметров, что позволило дифференцировать конституционально маловесных плодов и плодов с истинной задержкой роста [Gordijn S.J., 2016; Kurtser M.A., 2023]. В новой классификации задержки роста плода, которая была включена в клинические рекомендации Российской Федерации (2022 г.), рекомендовано разделение пациенток с задержкой роста плода с учетом раннего и позднего фенотипов, что обосновано с позиции различия в патогенезе, а также перинатальных и долгосрочных исходов и позволяет определить оптимальный срок родоразрешения [Audette MC, 2018; Kiserud T., 2018; Gupta S, 2019]. Проводимые исследования позволили улучшить диагностику задержки роста плода, оптимизировать ведение беременности и родов, что в целом способствовало улучшению перинатальных исходов, а в некоторых случаях снизило частоту необоснованного досрочного родоразрешения пациенток и кесарева сечения [Lees C.C., 2020; Melamed N., 2021; Kurtser M.A., 2023].

Развиваться задержка роста плода может на любом сроке беременности. Выделяемые ранняя (до 32 недель гестации) и поздняя (после 32 недель) формы задержки роста различаются не только сроком возникновения. Различия включают спектр клинических проявлений, ассоциацию с гипертензивной патологией беременности, включая преэклампсию, тяжесть плацентарной дисфункции и нарушений у плода. Предполагаются различные патогенетические механизмы указанных фенотипов задержки роста [Зарудская О.М., 2012 г., Подзолкова Н.М., 2021 г.].

Задержка роста плода – это финальный этап или результат патологических процессов, различных по этиопатогенезу, которые возникают в системе «мать–плацента–плод». От плацентарного кровотока зависит характер течения и исход гестационного процесса [Skeith L, 2020]. Достижения современной медицины, благодаря исследованиям в области молекулярной биологии, гемостазиологии и генетики, а также появление новых методов лабораторной диагностики, позволили расширить представления о возможных причинах и механизмах нарушения плацентарного кровотока. Одна из групп причин включает нарушения в системе гемокоагуляции (патологию гемостаза); эти нарушения могут носить локальный характер, возникать на уровне формирующейся плаценты и в последующем – плацентарного кровообращения, а могут быть системными, при этом присутствовать как в организме матери, так и у плода. Физиологические изменения в системе гемостаза, связанные с беременностью, обеспечивают не только оптимальное реологическое состояние крови и готовность к остановке кровотечения в родах. Изменение активности входящих в нее клеток и факторов необычайно важны на каждом этапе гестационного процесса.

Степень ее разработанности

При имплантации оплодотворённой яйцеклетки благодаря системе гемостаза создаются оптимальные условия для nidации плодного яйца и в последующем формирования маточно-плацентарного кровообращения. Генетические (первичные) и приобретенные (вторичные) нарушения функциональной активности отдельных компонентов и системы гемостаза в целом могут определять патогенетические механизмы неблагоприятных гестационных исходов, потерь плода и развития ряда тяжелых акушерских осложнений, в том числе и задержки роста плода [Макацария А.Д, 2019 г.; Xu J, 2022; Yang R, 2022]. Однако роль тромбофилии, в частности антифосфолипидного синдрома, а также генетической (полиморфизмы генов фактора V, II), в этиопатогенезе ранней и поздней задержки роста плода окончательно не определена, что определяет актуальность проведенного исследования. До сих пор окончательно не ясно, можно ли

использовать антифосфолипидные антитела, и какие из них, в качестве предикторов задержки роста плода. Без ответа и вопрос о взаимосвязи антифосфолипидных антител с факторами ангиогенеза в этиопатогенезе ранней и поздней задержки роста плода.

Если считать, что ранняя и поздняя задержка роста плода имеют разный этиопатогенез, то закономерен вопрос о прогностическом значении различных маркеров и возможностях профилактики этих осложнений. В частности, путем применения низкомолекулярного гепарина и малых доз аспирина.

Цель и задачи исследования

Целью настоящего исследования было установить клиническое значение определения антифосфолипидных антител и генетической тромбофилии у беременных с ранней и поздней задержкой роста плода.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Изучить взаимосвязь между антифосфолипидными антителами и развитием ранней и поздней задержкой роста плода.
2. Изучить частоту генетической тромбофилии у пациенток с ранней и поздней задержкой роста плода.
3. Изучить частоту критериальных антифосфолипидных антител у пациенток с ранней и поздней формой задержки роста плода.
4. Изучить частоту некритериальных антифосфолипидных антител у пациенток с ранней и поздней формой задержки роста плода.
5. Изучить взаимосвязь между уровнем плацентарного фактора роста (PIGF), антиангиогенного фактора (s-Flt) и антифосфолипидными антителами у беременных с ранней и поздней задержкой роста плода.
6. Изучить эффективность профилактической терапии низкомолекулярным гепарином и малыми дозами аспирина у пациенток с антифосфолипидным синдромом и/или генетической тромбофилией и задержкой роста плода в анамнезе.

Научная новизна работы

В работе представлены результаты фундаментального исследования, в котором впервые была оценена роль различных видов антифосфолипидных

антител (не только относящихся к классическим лабораторным критериям диагностики антифосфолипидного синдрома), а также генетической тромбофилии в развитии ранней и поздней задержки роста плода. Оценена частота критериальных и некритериальных антифосфолипидных антител, одинарной, двойной и тройной АФА позитивности у пациенток с ранней и поздней задержкой роста плода. Были определены корреляционные связи между антифосфолипидными антителами, генетической тромбофилией, факторами ангиогенеза (sFlt-1/PlGF) и ранней и поздней задержкой роста плода. Оценена эффективность терапии низкомолекулярным гепарином и малыми дозами аспирина с фертильного цикла и ранних сроков гестации в профилактике ранней и поздней задержки роста плода у пациенток с антифосфолипидным синдромом и/или генетической тромбофилией и ЗРП в анамнезе. Тема нова, подобная работа ранее не выполнялась.

Личный вклад автора

Для выполнения и написания диссертационной работы автором была глубоко изучена проблема, отмечена ее актуальность, проведен научно-информационный поиск, определены цель и задачи исследования, разработан дизайн и получено одобрение этического комитета. Автор принимал непосредственное участие в мониторинге состояния пациенток, сборе и анализе материалов, проведении статистической обработки и обобщении полученных данных. Исследователю также принадлежит основная роль в разработке и формулировании выводов и практических рекомендаций, а также в написании статей по результатам полученного исследования.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведенное исследование показало высокий процент присутствия АФА у пациенток с задержкой роста плода, особенно развивающейся до 32 недель гестации, и генетической тромбофилии, что позволило подтвердить роль антифосфолипидных антител и генетических тромбофилических полиморфизмов в патогенезе задержки роста плода и обосновать профилактическое применение низкомолекулярного гепарина и низких доз аспирина в последующую

беременность у пациенток с ЗРП в анамнезе и положительными тестами на АФА и генетическую тромбофилию.

Результаты исследования продемонстрировали высокую частоту присутствия некритериальных АФА (антител к фосфатидилсерин-протромбиновому комплексу и аннексину V) у пациенток с ЗРП, что подтверждает положение о важности расширения спектра определяемых АФА в рамках диагностики возможных причин патологического течения гестационного процесса.

Полученные результаты исследования показали эффективность профилактического применения низкомолекулярного гепарина и малых доз аспирина у пациенток с задержкой роста плода в анамнезе и положительными тестами на АФА и генетическую тромбофилию и необходимость дополнять указанную терапию у пациенток с высокими титрами антифосфолипидными антител другими препаратами: иммуноглобулинов, гидроксихлорохина, стероидов, статинов, плазмафереза и др.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных задач исследование было проведено в два этапа: на I этапе- проспективное случай-контроль исследование в параллельных группах; на II этапе- проспективное когортное исследование

Методы исследования основаны на комплексной оценке клинико-анамнестических, лабораторных и инструментальных данных.

Положения, выносимые на защиту

1. Антифосфолипидные антитела как критериальные, так и некритериальные и генетическая тромбофилия являются факторами риска задержки роста плода.
2. Нарушение соотношения ангиогенных и антиангиогенных факторов (sFlt-1/PlGF) отражает риск развития плаценто-ассоциированных осложнений: позволяет прогнозировать риск преэклампсии у пациенток с задержкой роста плода в анамнезе и антифосфолипидным синдромом.
3. Применение низкомолекулярного гепарина в сочетании с малыми дозами аспирина у пациенток с задержкой роста плода в анамнезе и тромбофилией патогенетически оправдано.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы, представленные к защите, соответствуют паспорту специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности: пунктам 1, 2, 3, 4 паспорта Акушерства и гинекологии.

Степень достоверности и апробация результатов

Положения диссертационной работы, вынесенные на защиту, базируются на материалах, представленных в первичной документации и полученных в ходе исследования данных. Представленные результаты анализа анамнеза пациенток, показателей клинико-инструментального и лабораторного исследования, свидетельствуют о решении поставленных задач. В исследование включено достаточное количество пациенток. Сформулированные выводы объективны и в полной мере отражают результаты проведенного исследования. Анализ литературы включает современные публикации отечественных и зарубежных исследователей.

Результаты собственных исследований и материалы диссертации доложены и обсуждены на конгрессе «Право на жизнь» (Москва, 2023 г).

Обсуждение и представление диссертационной работы состоялось 12.01.2024 г. на расширенной конференции кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Департамента здравоохранения г. Москвы (Протокол № 6). Диссертация рекомендована к защите.

Результаты представленного исследования используются в работе Перинатального центра Городской клинической больницы № 67 имени Л.А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы, филиалах Городской клинической больницы № 67 имени Л. А. Ворохобова Департамента здравоохранения города Москвы: «Женская консультация Митино», «Женская консультация Тушино», «Женская консультация Куркино», родильного дома № 4 при ГКБ им. В.В. Виноградова Департамента здравоохранения города Москвы и

Медицинского Женского Центра г.Москвы (клинические базы кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Департамента здравоохранения г. Москвы). Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры акушерства, гинекологии и перинатальной медицины Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 5 работ, в том числе 3 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук: 1 публикация в научных изданиях, включенных в международные, индексируемые базы данных Scopus, 1 –иная по теме диссертационного исследования.

Структура и объем работы

Тест диссертации изложен в рекомендуемых для оформления диссертации в виде рукописи разделах: введение, основная часть и заключение. Основная часть представлена в 5 главах: обзора литературы, описания материала исследования и методов, полученных результатов. В список литературы включено 143 источника, среди которых 32 – отечественных и 111 – иностранных авторов. Работа изложена на 145 страницах машинописного текста, иллюстрирована 14 рисунками и 24 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Циркуляция антифосфолипидных антител, генетические тромбофилические дефекты и/или гипергомоцистеинемия были выявлены у 39 (48,8%) пациенток с задержкой роста плода: у 27 (33,8%) женщин – циркуляция АФА, из них у 2 (2,5%) в сочетании с генетической тромбофилией и у 4 (5,0%) – с гипергомоцистеинемией;

у 12 (14,5%) – генетическая тромбофилия и у 5 (6,3%) – гипергомоцистеинемия, изолированно или вместе с циркуляцией антифосфолипидных антител.

АФА достоверно чаще выявлялись при наличии осложненного задержкой роста плода беременности (33,8%), чем в контрольной группе (7,5%), были в высоких и средних титрах. Достоверность различий была значимой как для АФА в целом ($p = 0,00008$), так и для каждого типа и критериальных антител, и некритериальных антител ($p < 0,05$). В контрольной группе тест на ВА был положителен у 1 (2,5%) пациентки ($p = 0,00245$), титры АФА были низкими, диагностически незначимыми (Рисунок 1, 2).

Полученные данные демонстрировали более высокий процент присутствия антифосфолипидных антител у пациенток в группе 1 по сравнению с группой 2. Тест на антифосфолипидные антитела был положительным у 17 (42,5%) беременных с ранней задержкой роста плода и 10 (25,0%) с поздней. Достоверность различия была значимой и составила $p = 0,04807$. В тоже время для каждого типа антител, достоверность различий между группами статистическими методами оценки не подтверждалась ($p > 0,05$), что вероятно, было связано с выборкой. Случаев тройной позитивности выявлено не было.

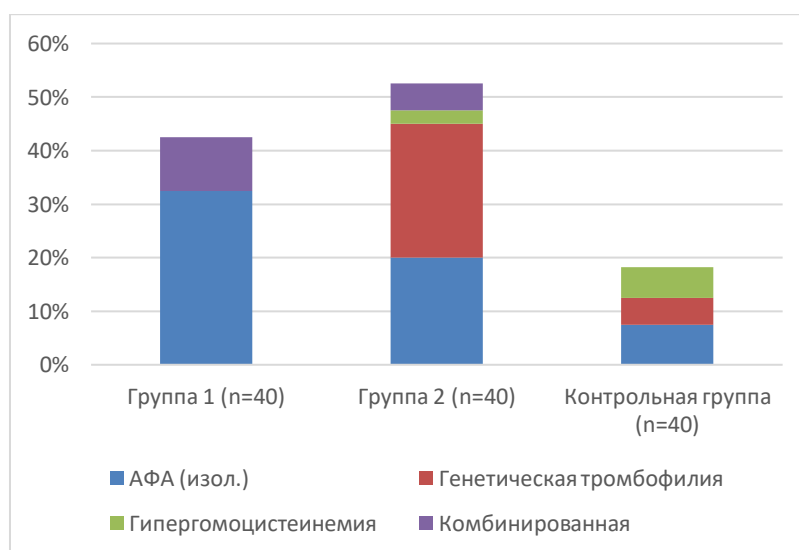


Рисунок 1 – Структура тромбофилии в группах обследованных женщин

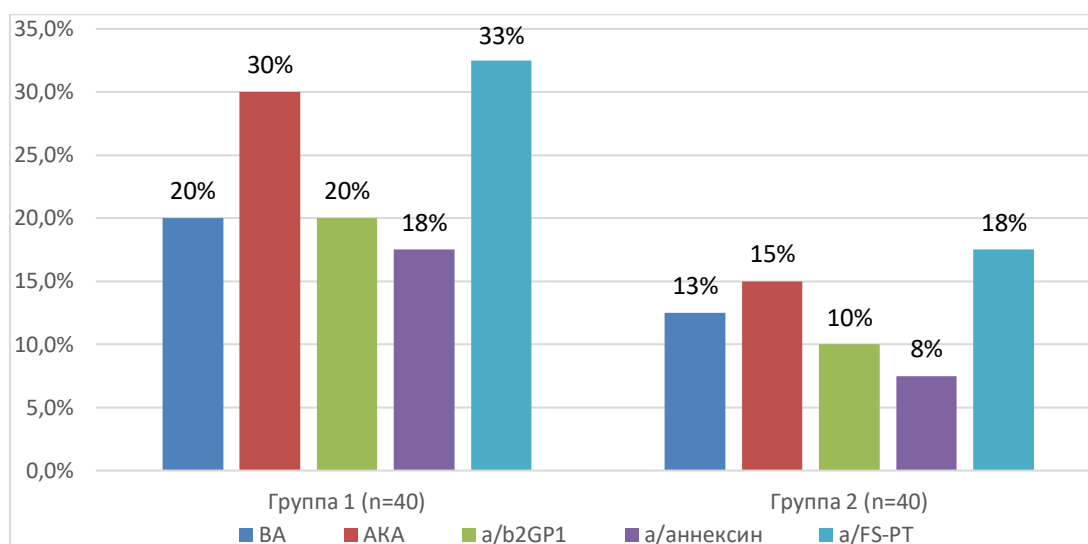


Рисунок 2 – Спектр антифосфолипидных антител у пациенток с ранней и поздней задержкой роста плода

Примечание: ВА – волчаночный антикоагулянт; АКА – антикардиолипидные антитела; aβ₂-GP1 – антитела к β₂-гликопротеину 1; aFS-PT – антитела к фосфатидил-протромбину; a/аннексин – антитела к аннексину

Двойная позитивность по критериальным АФА в средних и высоких титрах определялась у 30,0% пациенток в группе 1 и 12,5% в группе 2, $p = 0,02687$. Процент выявления некритериальных АФА: к аннексину V и фосфатидилсерин-протромбиновому комплексу в клинически значимых титрах составил 17,5% и 32,5% в группе 1, и 7,5% и 17,5% в группе 2 соответственно. Достоверность различия между группами $p=0,08948$ и $p=0,05989$.

Антитела к фосфатидилсерин-протромбину были выявлены у 74,1% АФА положительных беременных с задержкой роста плода. Наиболее частым было сочетание PS-PT с волчаночным антикоагулянтом. Антитела к PS-PT были выявлены у 12 из 13 ВА положительных женщин (92,3%). ВА положительны были 60,0% женщин с PS-PT и 14,3% без PS-PT ($p=0,00938$). PS-PT позитивны были 61,1% беременных с антителами к кардиолипину и 83,3% с иммуноглобулинами к β₂-гликопротеину I. Достоверность разницы в частоте позитивных и PS-PT негативных среди пациенток с АФА была статистически значимой также для IgG к кардиолипину ($p=0,00029$) и IgM к кардиолипину и/или β₂-гликопротеину ($p=0,03125$). Различия в частоте PS-PT позитивных и PS-PT негативных среди

пациенток с антителами к β 2-гликопротеину I (IgG) не была статистически достоверна ($p=0,16701$), и в целом для IgG β 2-гликопротеину и IgM к β 2-гликопротеину I и/или кардиолипину – статистически значимо сочетание с PS-PT было реже.

В 1 случае наблюдалась PS-PT позитивность изолировано. В 14 (82,4%) – с двойной позитивностью по критериальным АФА, в 5 (55,5%) – с монопозитивностью. Присутствие антифосфолипидных антител к фосфатидилсерин-протромбину у пациенток с задержкой роста плода в сочетании с позитивностью и, особенно, с двойной позитивностью по критериальным АФА, вероятно, определяет патогенетические механизмы развития этой акушерской патологии.

В группе 1 высокие титры АФА имели 8 (20,0%) пациенток, средние – 9 (22,5%). В 1 случае у беременной с циркуляцией АФА в средних титрах была выявлена недостаточная активность протеина S. Полученные результаты предполагают наличие патогенетической связи патологии развития и роста плода не просто с фактом циркуляции АФА, а с уровнем циркулирующих антител и их комбинации с другими (генетически определенными или приобретенными) нарушениями в системе гемостаза, потенцирующими эффекты АФА.

Из генетических тромбофилических дефектов мы выявляли наиболее тромбогенные: мутацию фактора V Leiden, полиморфизм гена протромбина G20210A, определяли уровни протеина S, протеина C, антитромбина и гомоцистеина. В целом среди пациенток с задержкой роста плода было обнаружено 18 случаев (22,5%) тромбофилических дефектов. Шесть пациенток (7,5%) были носителями мутации фактора V Лейдена, в 1 (1,3%) случае гомозиготной, 3 (3,6%) – полиморфизма гена протромбина G20210A. Был один случай сочетания гетерозиготного полиморфизма гена протромбина (1,3%) с лейденской мутацией. У 1 (1,3%) женщин выявлен дефицит антитромбина III, активность которого составила 45%. У 2 (2,5%) имел место дефицит протеина S, у 1 (1,3%) – дефицит протеина C. Вероятно, расширение спектра исследуемых тромботических

дефектов гемостаза, увеличило бы долю пациенток, имеющих скрытую тромбофилию. В 5 (6,3%) случаях выявлена гипергомоцистеинемия.

В контрольной группе генетические мутации были выявлены у 2 женщин (5,0%): у 1 (2,5%) была мутация Leiden (гетерозиготная), у второй (2,5%) – гена протромбина G20210A (тоже гетерозиготная). Нарушения активности естественных антикоагулянтов (протеинов C, S, антитромбина III) выявлены не были. У двух (5,0%) пациенток уровень гомоцистеина в крови превышал рефересные значения, что соответствовало легкой степени гипергомоцистеинемии.

Процент выявления генетических тромбофилических дефектов оказался выше у пациенток с поздней задержкой роста плода (32,5%) в сравнении с группой пациенток с ранними формами ЗРП (10,0%). Достоверность разницы между группами была значимой, $p=0,04807$. Из генетических мутаций у 12,5% представительниц 2 группы был выявлен генетический дефект фактора V Leiden (Лейденовская мутация): у 4 (10,0%) – гетерозиготный, у 1 (2,5%) – гомозиготный. Три женщины (7,5%) имели мутацию гена протромбина (полиморфизм G20210A), в одном случае (2,5%) – гомозиготную, в 2 (5,0%) – гетерозиготную, у 3 (7,5%) выявлена недостаточность компонентов системы естественных антикоагулянтов: у 1 (2,5%) был дефицит антитромбина III, у 2 (5,0%) – дефициты протеина C и протеина S соответственно. У 3 (7,5%) пациенток выявлена гипергомоцистеинемия. При сравнении частоты встречаемости каждого из выявленных дефектов (мутации или дефицита фактора) по группам значимых различий не было, кроме мутации FV Leiden, что вероятнее всего связано с выборкой пациенток.

И хотя эти результаты получены на основании анализа сравнительно небольшой группы пациенток, позволяют предполагать неблагоприятное влияние тромбофилических дефектов системы гемостаза на развитие гестационного процесса, а в условиях циркуляции АФА – усугубление эффектов антифосфолипидных антител.

АФА ассоциируются с различными акушерскими осложнениями. В первую очередь, с потерями плода, преимущественно на ранних сроках, с преэклампсией и

HELLP-синдром, преждевременными родами, недоношенностью и задержкой роста плода. Анализ акушерского анамнеза пациенток исследуемых групп, подтвердил факт высокой частоты гестационной патологии у пациенток с АФА. Осложненное течение гестационного процесса в анамнезе имели 56,8% повторнобеременных пациенток 1 и 2 группы. У 29,5% женщин в анамнезе были потери плода до 12 недель беременности (самопроизвольные прерывания), у 13,6% – на поздних сроках. У 34,1% женщин гестационные осложнения в анамнезе носили сосудистый характер: у 11,4% была преждевременная отслойка плаценты, у 18,2% – преэклампсия (средней степени тяжести и тяжелая), 27,3% – фето-плацентарная недостаточность и ЗРП, было 9,1% случаев антенатальной гибели плода на фоне тяжелого течения преэклампсии или в результате преждевременной отслойки плаценты. У 59,3% повторнородящих роды были оперативными, в 32,1% случаях экстренными, в связи с тяжестью состояния матери и/или плода.

Сравнение акушерского анамнеза по группам показало, что у пациенток с ранней задержкой роста плода потери беременности (более 2 в анамнезе) прерывались чаще до 12 недель, (42,9%), чем в группе 2 (17,4%), $p=0,03490$. Обратным было соотношение потерь плода после 12 недель гестации: в первой группе у 9,5%, в группе 2 – у 17,3%, $p=0,22603$. Самопроизвольные прерывания беременности в анамнезе на ранних сроках у пациенток исследуемых групп могли быть результатом циркуляции АФА в высоких титрах, что определяло патогенетические механизмы нарушения развития предыдущих беременностей и их прерывания.

Поскольку задержка роста плода рассматривается как клиническое проявление нарушения функции плаценты (трофической, эндокринной, метаболической и прочих), обусловленное ее морфологическими и функциональными изменениями, а дисбаланс проангиогенных (ПФР) и антиангиогенных факторов (s-Flt) факторов роста является отражением нарушения роста, развития и функционирования плаценты, определяющее развитие осложненного течения беременности, в первую очередь преэклампсией, интерес представляла оценка связи между уровнем плацентарного фактора роста PlGF,

антиангиогенным фактором s-Flt и антифосфолипидными антителами у пациенток с ранней и поздней задержкой роста плода.

Значения плацентарного фактора роста были ниже референсных значений, соответствующим сроку гестации в 2 и более раза у 90,0% беременных с ЗРП ($p < 0,05$). Средние значения составили $146 \pm 9,3$ пг/мл у пациенток с ЗРП, диагностированной до 28 нед., $176 \pm 11,4$ пг/мл при ЗРП в 29-32 нед. и $125,7 \pm 16,1$ пг/мл – в 33-36 нед. Уровень sFlt-1 у пациенток с задержкой роста плода превысил средние нормативные значения в 4,5 раза ($p < 0,05$), составив в среднем $8,693 \pm 0,67$ нг/мл до 28 нед., $9,8 \pm 0,43$ нг/мл в 29-32 нед., $10,7 \pm 0,76$ нг/мл в 33-36 нед. Наиболее значимыми были отклонения показателей у пациенток с ЗРП в случаях, когда это осложнение беременности развивалось на фоне преэклампсии. У всех пациенток с задержкой роста плода в условиях преэклампсии значение соотношения sFlt-1/PlGF превышало 85 при развитии преэклампсии до 32 нед. гестации и 110 при поздних формах преэклампсии. Отмечена связь между высокими значениями соотношения, степенью тяжести преэклампсии и задержки роста плода. Высокие значения sFlt-1/PlGF (кратно превышающие подтверждающие преэклампсию) имели 34 (42,5%) беременных с задержкой роста плода, из которых у 32 (64,0%) задержка роста плода была на фоне преэклампсии и у 2 (6,7%) с ЗРП без преэклампсии ($p < 0,001$).

Для оценки взаимосвязи между маркерами риска преэклампсии (уровнем плацентарного фактора роста PlGF, антиангиогенным фактором s-Flt) и антифосфолипидными антителами у пациенток с ранней и поздней задержкой роста плода, были использованы статистические методы сравнения совокупностей по качественным признакам, включая расчеты отношения шансов, коэффициентов ассоциации, коэффициента контингенции, хи-квадрата и коэффициента корреляции Спирмена. Полученные данные позволили заключить, что присутствие антифосфолипидных антител повышают шансы выявления дисбаланса проангиогенных и антиангиогенных факторов (сниженного ПФР и повышенного sFlt-1 у беременных с задержкой роста плода, ОШ = 1,9 (95% ДИ (0,367 - 9,857)). Для ранней задержки роста плода АФА в большей степени связаны с дисбалансом

ангиогенных и антиангиогенных факторов: ОШ = 2,4 (95% ДИ 0,227 - 25,336), в сравнении с поздней задержкой роста плода ОШ = 1,4 (95% ДИ 0,136 - 14,072). Но выявленная связь между изучаемыми факторами статистически недостоверна ($p > 0,05$). Точный критерий Фишера (двусторонний) составил 0,71043; для ранней задержки роста плода – 0,62350, для поздней задержки роста – 1,0000 ($p > 0,05$). Сила связи между исследуемыми факторами для пациенток с ранней задержкой роста оказалась слабая, в целом по группе и для беременных с поздней ЗРП – незначительная, коэффициент сопряженности Пирсона (C) составил 0,117; 0,086 и 0,044 соответственно. Таким образом, присутствие антифосфолипидных антител повышает вероятность задержки роста плода ($p < 0,05$), но проангиогенные и антиангиогенные факторы являются в первую очередь предиктором развития преэклампсии, а не задержки роста плода.

Профилактика тромботических и акушерских осложнений у пациенток с генетическими тромбофилиями также предполагает коррекцию функции системы гемостаза применением препаратов антикоагулянтной и антиагрегантной терапии. Согласно опубликованным данным ряда исследователей, использование препаратов указанных групп, позволяет профилактировать потери плода и развитие тяжелой акушерской патологии у пациенток с АФС и генетической тромбофилией при условии начала профилактики с предгравидарного периода или ранних сроков беременности.

Учитывая известные патогенетические механизмы развития гестационных осложнений и возможность обеспечения полноценной nidации плодного яйца и плацентации у пациенток с генетической тромбофилией и АФС применением антикоагулянтов и антиагрегантов, мы исследовали эффективность профилактического применения НМГ и малых доз аспирина для предупреждения повторного развития ранней и поздней задержки роста плода и других осложнений беременности у пациенток с АФС, генетически обусловленной тромбофилией и задержкой роста плода в анамнезе.

НМГ и аспирин применялись при подготовке к беременности и при последующем ведении 32 пациенток с задержкой роста плода в анамнезе

(группа 3). Тромбофилия у 27 женщин группы 3 была обусловлена антифосфолипидными антителами, в 1 случае совместно с гетерозиготной мутацией фактора V (Leiden) и в 1 случае с дефицитом протеина S. Обе пациентки с комбинированной тромбофилией были из группы 1. Спектр антифосфолипидных антител представлен в Таблице 1. Всего мутацию фV Leiden имели 3 (9,4%) женщины (1 гомозиготный и 2 гетерозиготных варианта). У 1 (3,1%) пациентки был полиморфизм гена протромбина гетерозиготный, у 1 (3,1%) наблюдались нарушения в системе протеина C в отсутствие мутации фактора V Leiden, у 2 (6,2%) дефицит протеина S и у 1 (3,1%) – гипергомоцистеинемия (уровень гомоцистеина 17 ммоль/л) +АФА.

Таблица 1– Спектр антифосфолипидных антител у пациенток 3 группы

Антифосфолипидные антитела	Группа 3, n=32, n (%)
Волчаночный антикоагулянт	13 (40,6)
Антитела к кардиолипину IgG, норма< 10 Ед/мл	18 (56,3)*
Антитела к β2-гликопротеину I IgG, норма<10 Ед/мл	12 (37,5)*
Антитела к β2-гликопротеину I и/или к кардиолипину IgM, норма< 10 Ед/мл	8 (25,0)*
Антитела к аннексину V IgG/IgM, норма<5 Ед/мл	10 (31,3)*
Антитела к фосфатидилсерин-протромбиновому комплексу IgG/IgM, норма<16 Ед/мл	20 (62,5)*
Двойная позитивность	17 (53,1)**

*Примечание: *средние и высокие титры, **по критериальным антифосфолипидным антителам*

Применение аспирина начиналось в фертильном цикле при положительном тесте на АФА и повышенной агрегационной активности тромбоцитов по данным гемостазиограммы (в дозе 150 мг). Препарат применялся в течение всего периода гестации, отменялся в 36–37 недель. После подтверждения беременности и ее маточной локализации при условии отсутствия признаков угрозы прерывания начиналось применение низкомолекулярного гепарина (эноксапарин натрия, надропарин кальция, дальтепарин натрия и бемипарин натрия (1 раз в сутки

подкожно). Режим дозирования НМГ зависел от веса беременной и значений показателей гемостазиограммы, доза корректировалась динамикой анти-Ха активности. НМГ применялся на протяжении всего гестационного срока, с прерыванием при появлении признаков начала родовой деятельности или за 24 часа, если планировались оперативные роды, с последующим возобновлением применения через 8–12 ч после родоразрешения.

Дополнительно, в рамках подготовки к беременности и на ее протяжении пациентки получали препараты витаминов (с фолиевой кислотой в дозе не меньше 1 мг в сутки, витамина Е 400 МЕ), антиоксидантов (микрогидрин) и полиненасыщенных жирных кислот (омега-3). Пациентке с гипергомоцистеинемией дополнительно были назначены витамины группы В (В6 и В12) внутримышечно в течение месяца с последующим переходом на таблетированную форму. Всем пациенткам с АФА назначался утрожестан вагинально (доза составляла от 200 мг) на ночь. Применение препаратов прогестерона при АФС имеет особое значение, поскольку антифосфолипидные антитела обладают анти-ХГЧ-эффектом – подавляют продукцию хорионического гонадотропина, что влечет за собой вторичное снижение концентрации прогестерона.

Для оценки результатов применялись клинические критерии: учитывалось развитие любых гестационных осложнений, повторной задержки роста плода и неблагоприятные исходы; лабораторные: характер динамики исследуемых показателей; инструментальные: параметры ультразвуковой фетометрии, доплерографии, кардиотокографии, др. Сравнивались с соответствующими данными, полученными при ведении пациенток с задержкой роста плода и тромбофилией (АФА и/или генетическая тромбофилия/дефекты антикоагулянтов) групп 1 и 2 (группа сравнения) и контрольной группы.

Эффективность и безопасность проводимой терапии контролировалась клиничко-инструментальными и лабораторными методами. Повторное гемостазиологическое исследование проводилось через 2 недели после начала применения препаратов. В случаях недостаточной динамики снижения агрегации

тромбоцитов со 2 триместра к проводимой терапии добавлялся дипиридамо́л (у 21,9% беременных). Далее гемостазиологическое исследование с оценкой основных параметров гемостаза проводилось 1 раз в месяц. Исследования включали определение агрегационной активности тромбоцитов, функции протеина С, уровней маркеров тромбофилии и гомоцистеина.

Раннее начало патогенетической профилактики с применением противотромботических препаратов (с фертильного цикла и ранних сроков гестации) в большинстве случаев позволило нормализовать измененные показатели состояния системы гемостаза и поддерживать их в пределах референсных значений, корректируя дозу НМГ по мере прогрессирования беременности, и способствовало благоприятному развитию гестационного периода. Важно отметить, что уровень антифосфолипидных антител у пациенток с высокими и средними титрами на фоне проводимой терапии, оцениваемые в динамике снижались незначительно (к кардиолипину и β 2-гликопротеину в среднем на 5,8% и 7,9% соответственно).

Отсутствие значимого снижения титра антител на фоне применения антикоагулянтов предполагает, что эффекты АФА реализуются не только через коагулопатические механизмы, а патогенез акушерской патологии, инициируемый АФА более сложный, чем предполагалось ранее. Существует мнение, что успешное развитие беременности определяется балансом провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, которые выделяются лимфоцитами (Т-хелперами 1 и 2 типов (Th1 и Th2)), эндотелиальными клетками и моноцитами, участвующими в гестационном процессе. Провоспалительные цитокины инициируют развитие местной воспалительной реакции, которая патогенетически определяет развитие мальформации формирующейся плаценты и как результат в последующем потерю плода. Указанные механизмы определяют, по-видимому, одно из важнейших патогенетических звеньев механизма развития рецидивирующих потерь плода, связанных с антифосфолипидными антителами.

Эффективной проводимая профилактика акушерских осложнений и повторного развития задержки роста плода была у 78,1% пациенток 3 группы. У 7 (21,9%) беременных, несмотря на проводимую профилактическую терапию, повторно наблюдалась задержка роста плода. У 2 (6,3%) пациенток признаки недостаточности плацентарного кровотока и задержки роста плода были выявлены при ультразвуковом исследовании в 20 и 22 недели соответственно. Одна из пациенток с хроническим пиелонефритом в анамнезе имела протеинурию (до 0,66 г/л) и повышенное артериальное давление (145/90 мм рт.ст.). У второй беременной по УЗИ определялись множественные пороки развития плода, диагностирован синдром Дауна. У 3 (9,4%) пациенток признаки умеренной задержки роста плода были выявлены в 30-32 недели, у 2 (6,3%) – после 34 недели беременности. Высокие уровни АФА у этих женщин позволили предполагать их роль в развитии и других гестационных осложнений: угрозы прерывания (28,1%), преэклампсии (9,4%), нарушения маточно-плацентарного кровотока (21,9%) и антенатальной гибели плода (3,1%). Использование низкомолекулярного гепарина у пациенток с генетической тромбофилией (5 пациенток) позволило профилактировать повторное развитие задержки роста плода (Рисунок 3).

Случаи (21,9%) неэффективности проводимой терапии (аспирин + НМГ) были расценены как «рефрактерный акушерский АФС». По данным литературы, несмотря на описанную высокую эффективность низкомолекулярных гепаринов в профилактике тромботических и акушерских проявлений АФС, благодаря их противотромботической и противовоспалительной активности, около 20–30% пациентов демонстрирует повторное развитие акушерских осложнений на фоне такой профилактической терапии, что ставит вопрос о поиске альтернативных методов лечения: плазмаферез, иммуноглобулины, стероиды, статины, гидроксихлорохин, антикомплементарные препараты и др. У НМГ не выражено влияние на систему комплемента, что может определять развитие случаев рефрактерного к терапии низкомолекулярными гепаринами АФС. Это следует учитывать при подборе дополнительной терапии пациенток группы риска.

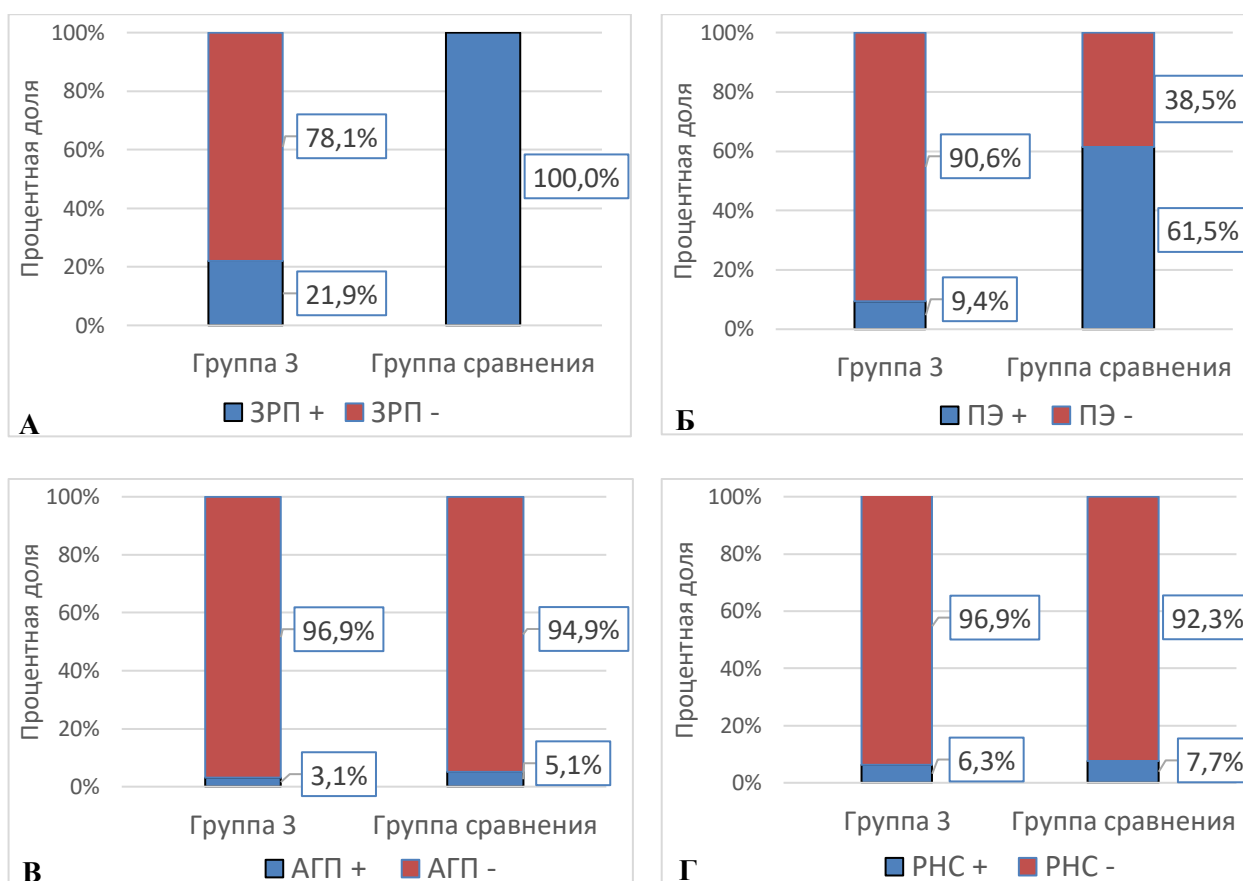


Рисунок 3 – Частота задержки роста плода (А), преэклампсии (Б), антенатальной гибели плода (В) и ранней неонатальной смерти (Г) в группе 3 и группе сравнения
Примечание: ЗРП – задержка роста плода, ПЭ – преэклампсия, АГП – антенатальная гибель плода, РНС – ранняя неонатальная смерть

В целом по результатам исследования назначение терапии, включающей низкомолекулярный гепарин, антиагреганты, антиоксиданты и витамины в фертильном цикле и с ранних сроков беременности у пациенток с задержкой роста плода в анамнезе при наличии у них АФА и генетической тромбофилии позволяет улучшить течение гестационного процесса и перинатальные исходы, и в высоком проценте (78,1%) случаев профилактировать развитие тяжелых гестационных осложнений и неблагоприятных акушерских исходов. Относительный риск (RR) развития задержки роста плода при проведении профилактической терапии составил 0,219 (95% ДИ 0,114; 0,421). Точный критерий Фишера $p < 0,05$ (0,00001). Коэффициент сопряженности Пирсона $C = 0,631$, сила связи сильная.

ВЫВОДЫ

1. Определение антифосфолипидных антител и генетической тромбофилии у пациенток с задержкой роста плода патогенетически оправдано для обоснования профилактики с использованием низкомолекулярного гепарина и низких доз аспирина в последующую беременность.
2. Антифосфолипидные антитела и генетические формы тромбофилии выявлены у 48,8% пациенток с задержкой роста плода: у 42,5% с ранней задержкой роста плода и у 52,5% с поздней задержкой роста плода.
3. Критериальные антифосфолипидные антитела обнаружены у 42,5% беременных с ранней задержкой роста и у 25,0% с поздней задержкой роста, ($p=0,04807$). Волчаночный антикоагулянт – у 20,0% и 12,5% ($p=0,18179$); антитела к кардиолипину IgG – у 30,0% и 15,0% ($p=0,05325$); антитела к $\beta 2$ -гликопротеину I IgG – у 20,0% и 10,0% ($p=0,10483$), антитела к кардиолипину и/или $\beta 2$ -гликопротеину I IgM – у 17,5% и 10,0% ($p=0,16511$). Случаи двойной позитивности составили 30,0% и 12,5% ($p=0,02687$), одинарной позитивности – 10,0% и 12,5% ($p=0,36211$), соответственно.
4. Некритериальные антифосфолипидные антитела (антитела к аннексину V и фосфатидилсерин-протромбиновому комплексу) в клинически значимых титрах обнаружены у 17,5% и 32,5% пациенток с ранней задержкой роста и у 7,5% и 17,5% с поздней задержкой роста ($p=0,08948$ и $p=0,05989$), соответственно. Положительный тест на антитела к фосфатидилсерин-протромбину (PS-PT) имели 74,1% беременных с задержкой роста плода и антифосфолипидными антителами, 92,3% – с волчаночным антикоагулянтом ($p=0,00938$).
5. Отношение проангиогенных и антиангиогенных факторов (sFlt-1/PlGF) являются предикторами развития преэклампсии, но не задержки роста плода.
6. Применение низкомолекулярного гепарина и низких доз аспирина с фертильного цикла и ранних сроков беременности у пациенток с задержкой роста плода в анамнезе, антифосфолипидными антителами и генетической тромбофилией предотвращает развитие повторной задержки роста плода в 78,1% случаев.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Акушерское обследование пациенток с задержкой роста плода в анамнезе должно включать скрининг на антифосфолипидные антитела и генетические тромбофилические полиморфизмы, что патогенетически оправдано для обоснования профилактики с использованием низкомолекулярного гепарина и малых доз аспирина в последующую беременность.
2. Для оценки риска задержки роста плода необходимо определять как критериальные, так и некритериальные антифосфолипидные антитела.
3. У пациенток с задержкой роста плода в анамнезе и антифосфолипидными антителами показано определение отношения проангиогенных и антиангиогенных факторов (sFlt-1/PlGF) с целью прогнозирования риска преэклампсии. Связь между дисбалансом проангиогенных и антиангиогенных факторов и антифосфолипидными антителами у пациенток с задержкой роста плода статистически недостоверна ($p > 0,05$), что не позволяет использовать их для прогнозирования риска задержки роста плода.
4. У пациенток с задержкой роста плода в анамнезе и антифосфолипидными антителами показано проведение противотромботической терапии применением профилактических доз низкомолекулярного гепарина в сочетании с малыми дозами (150 мг) аспирина.
5. В рефрактерных случаях у пациенток с антифосфолипидным синдромом (высокими титрами антифосфолипидных антител, двойной или тройной позитивностью по антифосфолипидным антителам) оправдана дополнительная терапия (иммуноглобулины, гидроксихлорохин, стероиды, статины, плазмаферез и др.).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ошибки противотромботической терапии при ведении беременности и родов у пациентки после экстракорпорального оплодотворения и переноса двух

эмбрионов / Н.С. Стулева, Д.А. Дороничева, И.В. Хамани, Э.А. Оруджова //Акушерство, Гинекология и Репродукция.– 2020. – Т.14. – №4. – С. 534-538.

2. Оруджова, Е.А. Антифосфолипидные антитела, генетическая тромбофилия и задержка роста плода / **Е.А. Оруджова** // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2021. – Т.15. – №6. – С. 695-704.

3. Профилактика повторного развития задержки роста плод у пациенток с циркуляцией антифосфолипидных антител и генетической тромбофилией / **Э.А. Оруджова**, В.О. Бицадзе, М.В. Третьякова [и др.] // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2022. – Т.16. – №2. – С. 134-142.

4. Тромбофилии в патогенезе задержки роста плода / **Э.А. Оруджова**, Н.В. Самбурова, Е.В. Аничкова [и др.] // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2021. – Т.15. – №2. – С.189–200. [**Scopus**](**K1**).

5. Стулёва, Н.С. Клинический случай тромбоза мезентериальных вен в I триместре беременности, наступившей у пациентки с антифосфолипидным синдромом после экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбриона / Н.С. Стулёва, А.В. Воробьев, **Э.А. Оруджова** // Акушерство, Гинекология и Репродукция. – 2018. – Т.12. – №4. – С.72-78.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АКА – антикардиолипиновые антитела

АФА-антифосфолипидные антитела

АФС-антифосфолипидный синдром

ВА – волчаночный антикоагулянт

ЗРП -задержка роста плода

НМГ -низкомолекулярные гепарины