

# Корреляционные связи между показателями активности свертывающей системы крови и содержанием антифосфолипидных антител у женщин с невынашиванием беременности

Е.Н. Кравченко<sup>✉1</sup>, А.А. Гончарова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия;

<sup>2</sup>БУЗОО «Городской клинический перинатальный центр», Омск, Россия

✉kravchenko.en@mail.ru

## Аннотация

**Цель.** Изучить корреляционные связи между показателями активности свертывающей системы крови и содержанием антифосфолипидных антител у женщин с невынашиванием беременности в зависимости от количества репродуктивных потерь.

**Материалы и методы.** Проведен анализ 137 карт женщин с прерываниями беременности в анамнезе, разделенных на 2 группы по принципу наличие/отсутствие плазмафереза в схеме терапии на этапе прегравидарной подготовки с последующим ранжированием на 2 подгруппы по принципу наличие/отсутствие активности TORCH-инфекции.

**Результаты.** Выявлена наибольшая корреляционная связь для наличия аутоантител против кардиолипина с тяжестью течения антифосфолипидного синдрома. Вторым параметром по уровню корреляционной связи с количеством репродуктивных потерь были антитела к β2-гликопротеину-1. Доказаны негативное влияние, диагностическое и патогенетическое значение прежде всего иммуноглобулина (Ig)G в сравнении с IgM, IgG к кардиолипину, IgG к аннексину V, IgG к кардиолипину и волчаночного антикоагулянта. Основной экзогенной причиной антителообразования при антифосфолипидном синдроме является инфекционный агент. Ключевым эндогенным фактором антителообразования признано нарушение эндотелиального гемостаза.

**Заключение.** Выявлены и интерпретированы корреляционные взаимосвязи между исходным уровнем и динамикой содержания антифосфолипидных антител, количеством гестационных потерь, а также рядом параметров системы гемостаза. Выявлено самостоятельное негативное влияние на лабораторные параметры антифосфолипидного синдрома гестационных потерь в количестве более 2.

**Ключевые слова:** антифосфолипидные антитела, антифосфолипидный синдром, невынашивание беременности, плазмаферез, TORCH-инфекции.

**Для цитирования:** Кравченко Е.Н., Гончарова А.А. Корреляционные связи между показателями активности свертывающей системы крови и содержанием антифосфолипидных антител у женщин с невынашиванием беременности. Гинекология. 2019; 21 (5): 53–58. DOI: 10.26442/20795696.2019.5.190668

Original Article

## Correlation between indicators of hemostasis system activity and antiphospholipid antibodies levels in women with miscarriage

Elena N. Kravchenko<sup>✉1</sup>, Anastasiia A. Goncharova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Omsk State Medical University, Omsk, Russia;

<sup>2</sup>City Clinical Perinatal Center, Omsk, Russia

✉kravchenko.en@mail.ru

## Abstract

**Aim.** To study the correlation between the activity indicators of the blood coagulation system and the content of antiphospholipid antibodies in women with miscarriage, depending on the number of reproductive losses.

**Materials and methods.** 137 cards of women with a history of pregnancy termination were analyzed, divided into 2 groups according to the principle of presence/absence of plasmapheresis in the treatment regimen at the stage of pregravid preparation, followed by ranking into 2 subgroups according to the principle of presence/absence of TORCH infection activity.

**Results.** The highest correlation was found for the presence of autoantibodies against cardiolipin with the severity of antiphospholipid syndrome. Antibodies to β2-glycoprotein-1 were the second parameter in the level of correlation with the number of reproductive losses. The negative effect, diagnostic and pathogenetic value, first of all, of IgG is proved in comparison with IgM, IgG to cardiolipin, IgG to annexin V, IgG to cardiolipin and lupus anticoagulant. The main exogenous cause of antibody formation in AFL is an infectious agent. A key endogenous factor in antibody formation is recognized as a violation of endothelial hemostasis.

**Conclusion.** The correlation relationships between the initial level and the dynamics of the content of antiphospholipid antibodies, the number of gestational losses, as well as a number of parameters of the hemostasis system were revealed and interpreted. An independent negative effect on the laboratory parameters of the antiphospholipid syndrome of gestational losses in an amount of more than two was revealed.

**Key words:** antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome, miscarriage, plasmapheresis, TORCH infection.

**For citation:** Kravchenko E.N., Goncharova A.A. Correlation between indicators of hemostasis system activity and antiphospholipid antibodies levels in women with miscarriage. Gynecology. 2019; 21 (5): 53–58. DOI: 10.26442/20795696.2019.5.190668

Причины привычной потери беременности крайне разнообразны и, как правило, взаимосвязаны. Это генетические причины (хромосомные аномалии эмбриона или одного/обоих родителей), эндокринные расстройства (конечной точкой приложения которых являются нарушения функционального и структурного состояния эндометрия), иммунологические факторы (которые реализуются на уровне локального нарушения выработки различных цитокинов, в норме обеспечивающих процессы имплантации и плацентации) и гемостазиологические нарушения (наиболее изученным из которых яв-

ляется антифосфолипидный синдром – АФС) [1]. Спектр клинических проявлений АФС включает рецидивирующие тромбозы и/или акушерские патологии, развивающиеся в присутствии высоких титров антифосфолипидных антител (АФА) [2, 3]. Длительная персистенция по крайней мере одного из АФА является необходимым условием для постановки диагноза АФС. К числу антител, рассматриваемых в качестве патогенных, относятся волчаночный антикоагулянт (ВА), антикардиолипин и антитела к β2-гликопротеину-1 (анти-β2-GPI). АФА являются гетерогенной группой аутоантител, направленных против большого числа фос-

фолипидов, фосфолипидсвязывающих белков и комплексов «фосфолипид–белок». Многие пациенты с АФС позитивны по нескольким типам антител, в большинстве своем реагирующих с регуляторными компонентами системы свертывания.

АФС – это системный процесс, который поражает все органы и ткани и диагностируется при наличии клинических и лабораторных критериев [4, 5]. Установленные в настоящее время клинические проявления АФС поражают две системы: сосудистую, вызывающую тромботические проявления, и маточно-плацентарный кровоток, что приводит к осложнениям беременности [6, 7]. Международный консенсус по АФС [4] выделил 3 ключевых типа АФА, патогномичных для данной патологии (антитела к кардиолипину, ВА и анти-β2-GPI). Достоверным лабораторным критерием для постановки диагноза АФС является умеренный или высокий уровень данных антител в двух или более исследованиях венозной крови, полученных с временным интервалом не менее 12 нед.

Для женщин с АФС с 3 или более случаями потери плода и без тромбоза в анамнезе 9-е рекомендации American College of Chest Physicians рекомендуют введение до родов профилактических или средних доз нефракционированного гепарина или профилактических доз низкомолекулярного гепарина (НМГ) в сочетании с низкими дозами ацетилсалициловой кислоты – АСК (75–100 мг/сут) без лечения [8]. Стандартом терапии при верифицированном диагнозе акушерского АФС является назначение НМГ для эффективной профилактики тромботических нарушений [9, 10]. Терапевтические дозы НМГ с поправкой на массу тела пациентки рекомендуются в случае тромбозов в анамнезе с регулярным контролем активности показателя анти-Ха [8]. Несмотря на то что комбинированная терапия с использованием низких доз АСК и НМГ является основой лечения для женщин с АФС, достоверность доказательств эффективности этого подхода остается спорной. Возможность улучшить ведение беременности у женщин с АФС должна быть оценена [11]. Европейское совместное исследование среди 49 женщин с акушерским АФС с неблагоприятными исходами в анамнезе, несмотря на лечение низкими дозами АСК и НМГ, показало, что дополнительные методы лечения, такие как стероиды (13%) и гидроксихлорохин (71%), могут снизить показатели потери беременности с 76 до 14%, с 33 до 10%, однако этого не было в рандомизированных контролируемых исследованиях [12]. Некоторые авторы [13] предлагают в схему антикоагулянтной, антиагрегантной, антиоксидантной и иммуномоделирующей терапии (внутривенный иммуноглобулин) включать также к применению эфферентный метод терапии – плазмаферез, другие исследователи применяют плазмаферез в сочетании с энзимотерапией [14]. Доступные методы лечения имеют очевидные ограничения и иногда противоречия, но улучшениям часто не хватает методологических и контролируемых исследований [6].

**Цель исследования** – изучить корреляционные связи между показателями активности свертывающей системы крови и содержанием АФА у женщин с привычным невынашиванием в зависимости от количества репродуктивных потерь на фоне терапии.

## Материалы и методы

Проведен проспективный анализ 137 индивидуальных карт беременных с прерыванием беременности в анамнезе за период 2014–2017 гг. в БУЗОО «Городской клинический перинатальный центр». У всех женщин подтвержден АФС, получены письменные информированные согласия на добровольное участие в исследовании, которое одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО ОмГМУ, протокол №82 от 04.10.2016.

Обследованные женщины были разделены на 2 группы по наличию или отсутствию процедур плазмафереза в схеме терапии привычного невынашивания на этапе прегравидарной подготовки: 1-ю (основную) группу составили пациентки (n=73) с одноплодной беременностью, которым

на этапе планирования беременности проводили комплексную терапию с включением плазмафереза; 2-я группа (сравнения, n=64) была представлена женщинами, в комплексной терапии которых на прегравидарном этапе эфферентная терапия не проводилась. Основным элементом комплексной терапии обеих групп служил стандартный протокол лечения и профилактики венозных тромбоемболических осложнений согласно национальным клиническим рекомендациям. Количество перенесенных самопроизвольных выкидышей было сопоставимо в группах и подгруппах. Более того, основные лабораторные критерии диагностической верификации АФС не имели достоверных отличий. Основополагающими элементами профилактики венозных тромбоемболических осложнений на фоне приобретенной тромбофилии АФС у беременных обеих групп были: максимально раннее начало терапии НМГ при подтверждении факта наступления беременности; проведение профилактической терапии НМГ на протяжении всей беременности, родов и 6 нед послеродового периода; в случае прекращения клинических проявлений АФС при наличии персистенции АФА допускалось ведение беременности без профилактической терапии НМГ, но при этом в послеродовом периоде профилактическая терапия проводилась в обязательном порядке.

Помимо деления групп на основную и группу сравнения каждая из них была поделена на 2 подгруппы по признаку наличия или отсутствия лабораторных и клинических признаков активной TORCH-инфекции. Так, в подгруппах 1 по результатам клинического обследования и лабораторных анализов признаков активности TORCH-инфекции не наблюдалось, в подгруппах 2, напротив, имелись клинические и лабораторные признаки активации TORCH-инфекции. Частота встречаемости определенной инфекционной сопутствующей патологии в обеих подгруппах была сопоставима. В обеих подгруппах до наступления беременности проводили стандартизованную терапию, направленную на деактивацию TORCH-инфекционной составляющей. Лечение, динамический контроль и фиксацию факта ремиссии осуществляли совместно с инфекционистом. Протоколы терапии сопутствующей инфекционной патологии основаны на клинических рекомендациях и сопоставимы между подгруппами. После нивелирования признаков активности процесса из-за наличия инфекционного агента в группе сравнения приступали к планированию беременности, в основной группе – к плановому проведению сеансов плазмафереза. В 1-й группе по окончании проведения процедур плазмафереза и на фоне нормализации лабораторных параметров переходили к планированию и подготовке женщин к беременности.

Длительность бесплодия в анамнезе колебалась от 1,5 до 16 лет и в среднем составила  $4,7 \pm 2,9$  года. Первичное бесплодие в анамнезе выявлено у 28 (35%) пациенток, вторичное – у 51 (65%). Главной причиной нарушения репродуктивной функции у женщин основной группы подтвержден тубо-перитонеальный фактор бесплодия.

Критерии включения больных в исследование: привычное невынашивание на фоне развития АФС в анамнезе; наличие письменного информированного согласия; возраст 22–32 года; одноплодная беременность; отсутствие на момент включения, а также на протяжении всего исследования тяжелых сопутствующих терапевтических, инфекционных, иммунологических и хирургических заболеваний и осложнений; гомозиготный физиологический набор здоровых генов системы гемостаза. Критерии не включения больных в исследование: моложе 22 и старше 32 лет; наличие тяжелых эндокринных заболеваний, в том числе синдром поликистозных яичников, сахарный диабет, патология щитовидной железы, надпочечников, гипофиза, гипоталамуса; тяжелый физический труд, профессиональные вредности; склонность к гемофилии, тромбофилии или мутации генов системы гемостаза; наличие в анамнезе или развитие в ходе клинического исследования аборт с генетическими мутациями abortивного материала, свидетель-

ствующими о невозможности благополучного завершения текущей беременности.

Средний возраст пациенток, принявших участие в исследовании, составил  $26,1 \pm 2,7$  года. Статистически значимых различий по возрасту между пациентками основных групп, группы сравнения и подгруппами не выявлено ( $p > 0,05$ ). С целью идентификации инфекционного процесса, отслеживания динамики его развития, эффективности лечения и верификации клинического и лабораторного излечения использовали определение антител классов иммуноглобулинов (IgG и IgM, их avidности, наличие/отсутствие антигенов инфекционных агентов, их титр. Исследования проводили с помощью иммунохемилюминесценции на автоматических анализаторах Architect 2000 (Abbott, США) и Immulite 2000 (Siemens, Германия), используя стандартизованные оригинальные реагенты. При этом определяли маркеры следующих инфекций: TORCH, включая сифилис, вирус Эпштейна–Барр, вирус иммунодефицита человека, гепатиты А, В и С. Всем женщинам проводили бактериоскопическое и бактериологическое исследование цервикального отделяемого, мазков на микрофлору. С целью идентификации воспалительных агентов, исследования биоценоза влагалища обследуемых женщин использовались бактериоскопия и микроскопия мазка половых органов, которые проводились трижды в динамике – I, II и III триместры беременности.

Ключевые параметры звеньев гемостаза определяли с помощью исследования тромбоцитарного и плазменного компонентов. Для исследования тромбоцитарного звена использовали импедансный агрегометр фирмы Roche (Франция) Multiplate с набором стандартизованных специфических активаторов агрегации. Концентрацию фибриногена в венозной крови, активность и содержание факторов свертывания крови, гепарина, ингибитора плазмина, плазминогена, протеина С, S определяли на автоматическом коагулометре ACL-700 (Laboratories Instrumentals, США). У всех обследованных женщин определяли наиболее часто встречающиеся полиморфизмы генов системы гемостаза: мутацию Лейдена (фактор V); мутацию гена протромбина, мутацию метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR); мутацию метилентетрагидрофолатредуктазы (MTRR); мутацию ингибитора активатора плазминогена (PAI-1). Молекулярные исследования венозной крови проводили с использованием полимеразной цепной реакции на амплификаторе Rotor-Gene (QIAGEN, Германия) и ДТ-96 («ДНК-Технология», Россия). Для оценки максимально изолированного эффекта влияния наличия элементов АФС на зачатие, вынашивание беременности и исход родов, а также эффективности эфферентной терапии АФС в исследование включались только те пациентки, которые не имели лабораторных признаков перечисленных мутаций.

Лабораторную диагностику АФС проводили с помощью идентификации аутоантител: ВА, антител к фосфолипидам (антитела класса IgG, IgM, IgA к кардиолипину, фосфатидилсерину – ФС, гликопротеину, аннексину, протромбину) и/или к  $\beta$ -субъединице хорионического гонадотропина человека (IgM и IgG). Наличие антител в венозной крови определяли на анализаторе Multiscan EX методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием оригинальных наборов тестов. Кратность лабораторных исследований в динамике составляла 6-кратное определение параметра в идентичных условиях.

Плазмаферез проводили пациенткам, включенным в основную группу, соблюдая рекомендации по применению данной процедуры при подготовке к беременности с целью удаления из крови (снижения концентрации) аутоантител, а также показания и противопоказания к эфферентной терапии. Плазмаферез осуществляли по прерывистой методике на фоне обязательной стандартизованной премедикации, включавшей в себя антигистаминные и гормональные препараты. Все женщины получали традиционную перфузионную подготовку, направленную на снижение концентрации аутоантител, обуславливающих развитие АФС и свидетельствующих о нем. Среднее количество из-

влекаемой в течение одной процедуры плазмы составляло  $976,5 \pm 112,3$  мл. В связи с этим предперфузионную подготовку всем женщинам проводили в формате инфузионной терапии в режиме умеренной гемодилюции с коррекцией электролитного и белкового баланса. Операция завершилась постепенным восполнением плазменного дефицита с помощью свежзамороженной донорской плазмы не менее 80% объема эксфузированной плазмы, белковыми кровезаменителями, кристаллоидами. Кровь эксфузировали в стерильные пластиковые контейнеры с антикоагулянтом типа «Гемакон» и подвергали центрифугированию на центрифуге «ОС-6М» в течение 20 мин при скорости 1500 оборотов в минуту. После центрифугирования плазму удаляли, а эритроцитарную массу разводили изотоническим раствором натрия хлорида в соотношении 1:1,5 при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Подобное экстракорпоральное «отмывание» эритроцитов проводили трехкратно последовательно друг за другом без интервалов. Последняя порция разведенной изотоническим раствором эритроцитарной массы после трехкратного отмывания подвергалась дозированной воздействию лучей гелий-неонового лазера длиной волны 632 нм с помощью аппарата «Алок-1». Для этого в сегмент системы ПК-11-05, по которой переливали эритроцитарную массу, с помощью моноволоконного световода подавали луч гелий-неонового лазера. При мощности излучения на дистальном конце световода 10 мВт, скорости инфузии 0,2–0,4 мл/с и времени облучения 18–22 мин суммарная доза облучения составляла  $(3–3,5) \times 0,1$  Дж/мл. Плазма эксфузировалась в объеме 35–40% от объема циркулирующей плазмы. Плазмазамещение проводилось коллоидными растворами, белковыми препаратами, свежзамороженной донорской плазмой в объеме не менее 100% от эксфузии.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6. Нормальность распределения полученных результатов в вариационном ряду оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова, а также согласно правилу двух и трех сигм ( $\sigma$ ). При сравнении количественных признаков двух совокупностей несвязанных выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали t-критерий Стьюдента. Критерий Манна–Уитни применяли, если сравниваемые совокупности несвязанных выборок не подчинялись закону нормального распределения. Критерий Вилкоксона использовался при сравнении двух связанных выборок. При сравнении качественных признаков применяли  $\chi^2$ . Критический уровень значимости статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05, так как при этом вероятность различия составляла более 95%.

## Результаты и обсуждение

В ходе исследования выявлено, что IgG к  $\beta 2$ -гликопротеину-1 ( $\beta 2$ -GPI) фиксируется чаще всего у женщин с АФС с частотой 60–80%. При этом у каждой 4-й данный маркер встречается в изолированном виде. Вторым по частоте встречаемости классом антител были суммарные антитела к фосфолипидам, повышение которых наблюдалось у 80% обследованных. При этом в изолированной форме данный маркер не встречался, что, безусловно, указывает на его низкую диагностическую специфичность. Более того, данный класс внутри каждой группы увеличивался при положительных маркерах TORCH-инфекции. Еще реже в крови фиксировались IgG к кардиолипину, уровень которых был повышен практически у каждой 3-й пациентки. При этом 75% случаев характеризовались сочетанным повышением данного класса и иных АФА. IgG к кардиолипину также достоверно чаще наблюдались у женщин с положительными маркерами TORCH-инфекции, что, вероятно, связано с антигенной схожестью кардиолипина с антигенами микробной и вирусной этиологии. Лишь у каждой 4-й из обследованных женщин наблюдалось наличие ВА в крови. Данный маркер практически в 2 раза чаще встречался в изолированном виде, нежели в сочетанном варианте. Особенностью ВА была также сопоставимая частота встречаемости у пациенток с наличием и без TORCH-инфекции.

Таблица 1. Корреляционные связи между числом репродуктивных потерь и наличием АФА в зависимости от количества репродуктивных потерь (r; p) Table 1. Correlation between the number of reproductive losses and the presence of antiphospholipid antibodies depending on the number of reproductive losses (r; p)					
Пара сравниваемых показателей	Подгруппа	I1 (n=36)	I2 (n=37)	II1 (n=34)	II2 (n=30)
Количество репродуктивных потерь – ВА		0,47; p=0,012	0,57; p=0,013	0,39; p=0,001	0,67; p=0,023
Количество репродуктивных потерь – IgG к кардиолипину		0,79; p=0,001	0,87; p=0,012	0,89; p=0,007	0,92; p=0,005
Количество репродуктивных потерь – IgM к кардиолипину		0,38; p=0,042	0,29; p=0,015	0,49; p=0,017	0,32; p=0,010
Количество репродуктивных потерь – IgG к $\beta$ 2-GPI		0,44; p=0,042	0,57; p=0,012	0,69; p=0,007	0,34; p=0,005
Количество репродуктивных потерь – IgM к $\beta$ 2-GPI		0,74; p=0,001	0,53; p=0,001	0,50; p=0,002	0,20; p=0,003
Количество репродуктивных потерь – IgG к аннексину V класса		0,33; p=0,012	0,17; p=0,001	0,15; p=0,001	0,02; p=0,005
Количество репродуктивных потерь – IgM к аннексину V класса		0,64; p=0,020	0,59; p=0,010	0,73; p=0,002	0,42; p=0,002
Количество репродуктивных потерь – антитела к хорионическому гонадотропину		0,15; p=0,002	0,22; p=0,011	-0,07; p=0,001	0,11; p=0,001
Количество репродуктивных потерь – IgG к фосфолипидам		0,11; p=0,002	-0,06; p=0,013	0,13; p=0,047	-0,13; p=0,001
Количество репродуктивных потерь – IgM к фосфолипидам		0,02; p=0,001	0,05; p=0,001	0,16; p=0,011	-0,04; p=0,001

В динамике наблюдения за пациентками с АФС оценивались не только абсолютные значения величин, выражающих уровень содержания того или иного маркера, но и частота встречаемости каждого признака, а также изменение данной частоты после проведения терапии. Так, при сравнении частоты встречаемости АФА у обследованных до и после плазмафереза выявлено максимальное (в 2–3 раза) уменьшение встречаемости IgG к  $\beta$ 2-GPI после эфферентной терапии. При этом у TORCH-инфицированных женщин данное снижение было более выражено, в то время как у пациенток, подвергшихся стандартной терапии, изменений по частоте встречаемости IgG к  $\beta$ 2-GPI не отмечено.

Встречаемость в крови IgG к кардиолипину у женщин с АФС процедуры плазмафереза не позволили существенно снизить, уменьшив их только в виде тенденции к снижению. Стандартная терапия, проводимая во 2-й группе, не привела к изменениям по частоте встречаемости повышенного уровня IgG к кардиолипину. Статистически значимо после проведения плазмафереза снизилась частота встречаемости одного из ключевых маркеров плазмафереза – ВА (более чем в 2 раза). Во 2-й группе снижение встречаемости ВА после проведения стандартной терапии происходило только в случаях изолированного присутствия данного маркера в крови. На 20% уменьшалась встречаемость женщин с повышенным содержанием антител к хорионическому гонадотропину после проведения курса эфферентной терапии. Стандартная терапия по данному показателю приводила к положительным изменениям только у TORCH-неинфицированных женщин.

В ходе проведения исследования четко доказано снижение титра АФА у женщин с привычным невынашиванием после проведения курса плазмафереза. Эфферентная терапия приводила к достоверному снижению антител следующих классов: ВА, IgG к кардиолипину, IgM к кардиолипину, IgG к  $\beta$ 2-GPI, IgM к  $\beta$ 2-GPI, IgG к аннексину V класса, IgM к аннексину V класса, антитела к хорионическому гонадотропину, IgG к фосфолипидам, IgM к фосфолипидам.

Помимо более специфических и изученных IgG исследовались и IgM, которые более характерны для остро протекающего воспалительного процесса и/или иммунного ответа. При изучении содержания острофазных антител выявлены 2 особенности. Во-первых, их статистическая обработка сопровождалась выявлением более существенных крайних значений (минимальные и максимальные величины в большей степени отклонялись от медианы). Во-вторых, плазмаферез в большей степени способствовал нормализации данных показателей в сравнении с изменениями содержания IgG, возникающими после эфферентной терапии, которые характеризовались меньшим снижением относительно исходных величин. В-третьих, у пациенток, которым не проводился плазмаферез и тем более у которых были положительные маркеры наличия TORCH-инфекции, после стандартной терапии отмечалась тен-

денция к незначительному росту концентрации АФА класса IgM.

Стандартная терапия, которая проводилась женщинам 2-й группы, способствовала достоверному снижению титра антител следующих классов: ВА, IgG к кардиолипину, IgG к  $\beta$ 2-GPI, т.е. только к 3 классам против 10 (снижение последних характерно для женщин, в прегравидарную подготовку которых включен плазмаферез).

Использование плазмафереза у женщин 1-й группы позволило снизить уровень АФА более чем в 3–5 раз по отношению к исходному (до терапии) уровню. При этом большинство из показателей иммуноглобулинов приближалось в конце курса терапии к показателям физиологической нормы и не отличалось от группы контроля.

Стандартная терапия в меньшей степени, чем плазмаферез, способствовала нормализации уровня таких антител, как IgM к кардиолипину, IgM к  $\beta$ 2-GPI, IgG к аннексину V класса, IgM к аннексину V класса, антитела к хорионическому гонадотропину, IgG к фосфолипидам, IgM к фосфолипидам. Однако необходимо отметить, что профилактика тромботических осложнений в совокупности с комплексной противовирусной терапией способствовала более выраженному снижению титра АФА у TORCH-инфицированных женщин, чем стандартная терапия у женщин с отсутствием маркеров активности TORCH-инфекции. В среднем стандартная терапия у TORCH-инфицированных женщин была на 15–20% эффективнее (по уровню снижения титра антител), чем у неинфицированных. Более того, в ряде случаев на фоне стандартной терапии наблюдалась слабая тенденция к увеличению ряда показателей содержания в крови АФА. Так, у пациенток подгруппы II1 после терапии выявлена тенденция к росту концентрации следующих антител: IgG и IgM к фосфолипидам, IgG и IgM к аннексину V класса, IgM к кардиолипину. Такая логика изменений содержания АФА на фоне применения плазмафереза и стандартного протокола профилактики тромбообразования с противовирусной терапией позволяет утверждать о наличии иммунологических механизмов развития невынашивания, инфицированных вирусами и коагулопатией, как самостоятельной патогенной единицы.

В настоящее время определенную значимость в патогенезе АФС придает дифосфотидилглицеролу (кардиолипину) – фосфолипиду, являющемуся составной частью внутренней мембраны митохондрий [15]. Именно для наличия аутоантител против кардиолипина выявлена наибольшая корреляционная связь с тяжестью течения АФС (табл. 1). При этом сильная прямая корреляция с количеством репродуктивных потерь была как при расчетах с IgM, так и с IgG.

Вторым параметром по уровню корреляционной связи с количеством репродуктивных потерь были анти- $\beta$ 2-GPI. Важным ключом к лучшему пониманию патофизиологии АФС является разгадка биологии  $\beta$ 2-GPI. Он состоит из 5 до-

Таблица 2. Корреляционные связи между показателями активности протеина С, S, протромбина и содержанием в крови АФА у женщин с привычным невынашиванием в зависимости от количества репродуктивных потерь в динамике  
Table 2. Correlation between indicators of protein C, protein S and prothrombin activity and blood antiphospholipid antibodies levels in women with recurrent miscarriage depending on the number of reproductive losses in dynamics

Пара	Подгруппа	I1 (n=36)	I2 (n=37)	II1 (n=34)	II2 (n=30)
Количество репродуктивных потерь – 1					
ВА – протеин С		0,17; p=0,002	0,04; p=0,033	0,24; p=0,036	0,04; p=0,010
IgG к кардиолипину – протеин С		0,18; p=0,001	0,15; p=0,002	-0,10; p=0,022	-0,25; p=0,012
IgG к $\beta$ 2-GPI – протеин S		0,20; p=0,054	0,12; p=0,005	-0,22; p=0,033	-0,12; p=0,013
ВА – протромбин		0,30; p=0,030	0,42; p=0,015	0,30; p=0,022	0,52; p=0,045
Количество репродуктивных потерь – 2 и более					
ВА – протеин С		0,20; p=0,041	-0,11; p=0,001	-0,13; p=0,001	-0,17; p=0,002
IgG к кардиолипину – протеин С		0,12; p=0,020	0,13; p=0,011	0,22; p=0,031	-0,23; p=0,007
IgG к $\beta$ 2-GPI – протеин S		-0,11*; p=0,011	-0,16*; p=0,003	-0,32; p=0,016	-0,50; p=0,001
ВА – протромбин		0,11*; p=0,013	-0,11*; p=0,001	-0,41; p=0,012	-0,61; p=0,001

менов, 5-й положительно заряжен, и с ним связываются анионные фосфолипиды, а 1-й домен содержит эпитоп GLY40-ARG43, который распознает анти- $\beta$ 2-GPI, обладает ВА-активностью и строго ассоциирован с тромбозами [6]. При этом наибольшее значение коэффициента корреляции было у IgG, в то время как IgM у TORCH-инфицированных женщин не имел четко установленной связи с количеством репродуктивных потерь. Подобные изменения выявлены и при анализе связей между количеством репродуктивных потерь и уровнем антител к хорионическому гонадотропину у женщин обеих групп. Существует известная связь между АФА и анти- $\beta$ 2-GPI, АФС и инфекционными агентами. Среди инфекционных заболеваний, связанных с наличием анти- $\beta$ 2-GPI, есть вирусы (парвовирус В19, цитомегаловирус, ВИЧ, вирус ветряной оспы, вирус Эпштейн-Барр, гепатиты В/С, аденовирус, Т-лимфотропный вирус человека 1), бактерии (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhi*, *Mycobacterium leprae*, *Escherichia coli*, *Rickettsia typhi*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydia psittaci*, *Mycoplasma pneumoniae*) и паразиты (*Plasmodium falciparum*, *Borrelia burgdorferi*, *leptospirosis*, *leishmania*). Согласно исследованиям экспериментальных моделей АФС  $\beta$ 2-GPI-связанные синтетические пептиды и инфекционные агенты имеют высокую гомологию и демонстрируют молекулярную мимикрию между синтетическими пептидами, родственными  $\beta$ 2-GPI, предназначенными для обеспечения эпитопов для анти- $\beta$ 2-GPI и патогенных структур [6].  $\beta$ 2-GPI представляет собой молекулу-уборщика со специфическим сайтом связывания для отрицательно заряженного фосфолипидного ФС [16]. Благодаря связыванию с ФС  $\beta$ 2-GPI облегчает удаление частиц и апоптотических тел из кровообращения. Клеточные микрочастицы являются основными источниками экспрессии ФС в кровообращении. Таким образом, анти- $\beta$ 2GPI могут вызывать нарушения клеточных микрочастиц путем маскировки молекул  $\beta$ 2-GPI, следствием чего является накопление клеточного «мусора», который влияет на аутоиммунитет и воспалительные состояния [6].

Вероятно, длительность формирования иммунологического ответа у беременных женщин, а также необходимость наличия плаценты для полноценной продукции антител к аннексину V являлись причиной отсутствия корреляционных связей между уровнем IgG к аннексину V класса и количеством репродуктивных потерь. Одновременно с данными показателями корреляция в паре «количество репродуктивных потерь – IgM к аннексину V класса» характеризовалась как прямая умеренной или средней силы, что, в том числе, свидетельствует о необходимости диагностически верного использования интерпретации изменений данных показателей до наступления беременности и на разных этапах развития беременности и патологии плаценты. Обращает на себя внимание и факт отсутствия какой-либо корреляции между количеством репродуктивных потерь и содержа-

нием в крови антител к фосфолипидам класса IgG и IgM. Это в очередной раз подтверждает малое диагностическое и клиническое значение данного показателя, а также свидетельствует о необходимости оптимального, клинически обоснованного подбора времени сдачи крови для проведения лабораторных исследований, направленного прежде всего на максимальное исключение неспецифического увеличения антителообразования вследствие индифферентных в акушерском направлении воспалительных процессов.

В настоящее время установлено, что не только и не столько играют ключевую роль в аутоиммунной агрессии изолированные антитела к фосфолипидам [15]. Развитие полноценного аутоиммунного процесса и всей «цепочки» патогенных факторов считается невозможным без участия так называемых кофакторов, при связывании с которыми образуются истинные комплексы «антиген-антитело», а фосфолипиды приобретают свойства «полных» антигенов. К подобным кофакторам относятся: протромбин,  $\beta$ 2-GPI, протеин С, протеин S, плацентарный антикоагулянтный протеин (РАР-1), аннексин V, мембранные белки тромбоцитов и эндотелиальных клеток. В нашем исследовании в обязательный объем обследования женщин входило определение активности и содержания протеинов С и S,  $\beta$ 2-GPI и протромбина (табл. 2). В ходе проведения корреляционного анализа между содержанием показателей системы гемостаза, АФА и количеством репродуктивных потерь учитывались лабораторные параметры, оцененные в динамике наблюдения, в ходе проведения назначенной специфической терапии.

Противопоставление уровней корреляционных связей, их характера и силы позволило сделать несколько заключений. Во-первых, обращает на себя внимание смена направленности корреляционной связи с положительной у женщин основной группы на отрицательную в группе сравнения. Такая динамика изменений была отмечена в следующих парах сравнения: IgG к кардиолипину – протеин С и IgG к  $\beta$ 2-GPI – протеин S у женщин с однократной репродуктивной потерей и в парах IgG к  $\beta$ 2-GPI – протеин S, ВА – протромбин у женщин с 2 и более потерями беременности. Это может свидетельствовать об усилении расходования естественных антикоагулянтов или снижении их активности/содержания и существенном росте тромбообразования у TORCH-инфицированных женщин на фоне АФС, многократных потерь беременности и стандартной терапии.

Во-вторых, у TORCH-инфицированных женщин с одной репродуктивной потерей вне зависимости от комплекса терапевтических мероприятий в рамках умеренной корреляции коэффициент «r» в паре ВА – протромбин был практически на 50% выше, чем у неинфицированных женщин, что, вероятно, свидетельствовало о постепенной подготовке организма к родам и профилактике кровопотери. В-третьих, особого внимания заслуживает динамика изменений IgG к  $\beta$ 2-GPI, протеина S, ВА и протромбина у женщин с многочисленными репродуктивными потерями в

анамнезе. В ходе корреляционного анализа выявлено кратное увеличение отрицательной связи до среднего уровня в парах IgG к  $\beta$ 2-GPI – протеин S и ВА – протромбин у TORCH-инфицированных женщин с многочисленными репродуктивными потерями на фоне стандартной терапии, что однозначно свидетельствовало о разнонаправленном движении данных показателей, усиливая процессы тромбообразования в женском организме. В многочисленных исследованиях выявлено, что антителообразование при АФС инициируется под воздействием как экзогенных, так и эндогенных факторов [15]. Основной экзогенной причиной является инфекционный агент.

## Выводы

1. Выявлены и интерпретированы корреляционные взаимосвязи между исходным уровнем и динамикой содержания АФА, количеством гестационных потерь, а также рядом параметров системы гемостаза. Для наличия аутоантител против кардиолипина выявлена наибольшая корреляционная связь с тяжестью течения АФС. Вторым параметром по уровню корреляционной связи с количеством репродуктивных потерь были анти- $\beta$ 2-GPI. Доказаны негативное влияние, диагностическое и патогенетическое значение прежде всего IgG в сравнении с IgM, IgG к кардиолипину, IgG к аннексину V, IgG к кардиолипину и ВА.
2. Выявлено самостоятельное негативное влияние на лабораторные параметры АФС гестационных потерь в количестве более 2.
3. Основной экзогенной причиной антителообразования при АФС является инфекционный агент. Ключевым эндогенным фактором антителообразования признано нарушение эндотелиального гемостаза. Дальнейшее исследование будет посвящено результатам взаимного влияния генитальной инфекции, активации гемостаза и течения АФС.

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

**Conflict of interests.** The authors declare that there is not conflict of interests.

## Литература/References

1. Скворцова М.Ю., Прилуцкая С.Г. Современное состояние проблемы привычной потери беременности: дискуссионные вопросы причин и факторов риска, тактика периконцепционного ведения. *Гинекология*. 2017; 19 (2): 59–65. [Skvortsova M.Yu., Prilutskaia S.G. Current state of the problem of habitual loss of pregnancy: discussion questions of causes and risk factors, tactics of periconceptive management. *Gynecology*. 2017; 19 (2): 59–65 (in Russian).]
2. Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Макацария Н.А. и др. Антифосфолипидные антитела, их патогенетическое и диагностическое значение при акушерской патологии. *Акуш., гинекол. и репрод.* 2014; 8: 39–60. [Bitsadze V.O., Khizroeva D.Kh., Makatsariia N.A. et al. Antifosfolipidnye antitela, ikh patogeneticheskoe i diagnosticheskoe znachenie pri akusher'skoi patologii. *Akush., ginekol. i reprod.* 2014; 8: 39–60 (in Russian).]
3. Cervera R. Antiphospholipid syndrome. *Thromb Res* 2017; 151: S43–S47.
4. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4 (2): 295–306.
5. Макацария А.Д., Хизроева Д.Х., Бицадзе В.О. Катастрофический антифосфолипидный синдром. *Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2016; 15 (6): 37–51. [Makatsariia A.D., Khizroeva D.Kh., Bitsadze V.O. Katastroficheskiy antifosfolipidnyi sindrom. *Vopr. ginekologii, akusherstva i perinatologii*. 2016; 15 (6): 37–51 (in Russian).]
6. Гри Ж.-К., Макацария А.Д., Бицадзе В.О. и др. Антифосфолипидный синдром и беременность. *Акушерство и гинекология*. 2018; 10: 5–11. [Gri Zh.-K., Makatsariia A.D., Bitsadze V.O. et al. Antifosfolipidnyi sindrom i beremennost'. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2018; 10: 5–11 (in Russian).]
7. Хизроева Д.Х., Бицадзе В.О., Макацария А.Д., Стулева Н.С. Катастрофическая форма антифосфолипидного синдрома во время беременности. *Акушерство и гинекология*. 2017; 7: 155–60. [Khizroeva D.Kh., Bitsadze V.O., Makatsariia A.D., Stuleva N.S. Katastroficheskaia forma antifosfolipidnogo sindroma vo vremia beremennosti. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2017; 7: 155–60 (in Russian).]
8. Bates SM, Greer IA, Middeldorp S et al. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012; 141 (Suppl. 2): e691S–736S.
9. Гончарова А.А., Кравченко Е.Н., Кривчик Г.В. и др. Антифосфолипидный синдром в акушерской практике. *Мать и Дитя в Кузбассе*. 2018; 1 (72): 52–6. [Goncharova A.A., Kravchenko E.N., Krivchik G.V. et al. Antifosfolipidnyi sindrom v akusherskoi praktike. *Mat' i Ditiya v Kuzbasse*. 2018; 1 (72): 52–6 (in Russian).]
10. Тетруашвили Н.К., Ионанидзе Т.Б., Агаджанова А.А., Менжинская И.В. Использование бемипарина в лечении акушерского антифосфолипидного синдрома. *Гинекология*. 2015; 17 (3): 49–51. [Tetrushvili N.K., Ionanidze T.B., Agadzhanova A.A., Menzhinskaya I.V. The use of bemiparin in obstetric antiphospholipid syndrome. *Gynecology*. 2015; 17 (3): 49–51 (in Russian).]
11. Akinshina S, Makatsariya A, Bitsadze V et al. Thromboprophylaxis in pregnant women with thrombophilia and a history of thrombosis. *J Perinat Med* 2018; pii: /j/jpme.ahead-of-print/jpm-2017-0329/jpm-2017-0329.xml
12. Mekinian A, Alijotas-Reig J, Carrat F et al. On the behalf of the SNFMI and the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. Refractory obstetrical antiphospholipid syndrome: Features, treatment and outcome in a European multicenter retrospective study. *Autoimmun Rev* 2017; 16 (7): 730–4.
13. Запорожан В.И., Линников В.И., Евдокимова В.В. Катастрофический антифосфолипидный синдром в акушерской практике. *ScienceRise* 2015; 5/4 (10): 61–4. [Zaporozhan V.I., Linnikov V.I., Evdokimova V.V. Katastroficheskiy antifosfolipidnyi sindrom v akusherskoi praktike. *ScienceRise* 2015; 5/4 (10): 61–4 (in Russian).]
14. Танышева Г.А., Желпакова М.С., Маусымбаева Н.Б. и др. Способ прегравидарной подготовки женщины с антифосфолипидным синдромом и его клинические результаты. *Наука и здравоохранение*. 2015; 6: 124–32. [Tanysheva G.A., Zhelpakova M.S., Mausymbaeva N.B. et al. Sposob pregravidarnoi podgotovki zhenshchin s antifosfolipidnym sindromom i ego klinicheskie rezul'taty. *Nauka i zdavoookhranenie*. 2015; 6: 124–32 (in Russian).]
15. Дубоссарская З.М., Дубоссарская Ю.А. Основные вопросы иммунологии репродукции. *Мед. аспекты здоровья женщины*. 2010; 31 (4): 15–21. [Dubossarskaia Z.M., Dubossarskaia Yu.A. Osnovnye voprosy immunologii reproduktivnoi. *Med. aspekty zdorov'ia zhenshchiny*. 2010; 31 (4): 15–21 (in Russian).]
16. De Groot PG, Meijers JC. b(2)-Glycoprotein 1: evolution, structure and function. *J Thromb Haemost* 2011; 9 (7): 1275–84.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Кравченко Елена Николаевна** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. акушерства и гинекологии ДПО ФГБОУ ВО ОмГМУ. E-mail: kravchenko.en@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9481-8812>

**Гончарова Анастасия Александровна** – зам. глав. врача по клинико-экспертной работе БУЗОО ГКПЦ. E-mail: goncharova220986@rambler.ru

**Elena N. Kravchenko** – D. Sci. (Med.), Prof., Omsk State Medical University. E-mail: kravchenko.en@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9481-8812>

**Anastasiia A. Goncharova** – deputy head physician, City Clinical Perinatal Center. E-mail: goncharova220986@rambler.ru

Статья поступила в редакцию / The article received: 27.09.2019

Статья принята к печати / The article approved for publication: 28.10.2019