

©С. Ст. Леуш¹, А. С. Дем'яненко², О. С. Загородня¹

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

²Перинатальний центр м. Києва

МІНЛИВІСТЬ ВМІСТУ АНТИФОСФОЛІПІДНИХ АНТИТІЛ У ДРУГОМУ ТРИМЕСТРІ ВАГІТНОСТІ У ПАЦІЄНТОК З РАННІМ ГЕСТОЗОМ

Мета дослідження – дослідити мінливість циркуляції антифосфоліпідних антитіл у вагітних залежно від перебігу першого триместру вагітності.

Матеріали та методи. Обстежено 109 вагітних з гестаційним терміном 11–12 тижнів, яких було розділено на 2 групи. Групу 1 утворили 58 вагітних, що мали прояви раннього гестозу, групу 2 – 51 вагітна з неускладненим перебігом першого триместру вагітності. У всіх вагітних в 11–12 та в 20 тижнів методом імуноферментного аналізу було визначено циркуляцію антитіл до основних фосфоліпідів, проаналізовано частоту виявлення різних субтипів антитіл при першому та другому обстеженні залежно від перебігу першого триместру вагітності.

Результати дослідження та їх обговорення. Частота виявлення антифосфоліпідних антитіл в першому триместрі вагітності в обох групах не перевищувала 3,4–3,9 %, не більше 1-2 вагітних у кожній групі мали циркуляцію двох або більше субтипів антитіл. Переважним субтипом, що його було виявлено в обох групах, були Ig G до кардіоліпіну. Вже в 20 тижнів між групами було виявлено відмінності – в групі 2 частота виявлення антитіл до негативно зарядженого фосфатидилсерину сягнула 13,7 %, а нейтрального фосфатидилетаноламіну – 17,6 %, в групі частка вагітних з виявленими антитілами до фосфоліпідів залишилась сталою.

Висновки. Вагітним властива мінливість концентрації АФА протягом першої половини гестації – від незначної частоти виявлення їх в 11–12 тижнів до значного зростання в 20 тижнів. Враховуючи домінування антифосфоліпідних антитіл до негативно заряджених фосфоліпідів у вагітних в 20 тижнів, які не мали їх у першому триместрі, їх поява може бути свідченням початку ендотеліальної дисфункції, що лежить в основі більшості акушерських ускладнень. Частота появи АФА до негативно заряджених фосфоліпідів є меншою серед пацієнток з раннім гестозом, ніж серед жінок з неускладненим перебігом першого гестаційного триместру.

Ключові слова: антифосфоліпідні антитіла; ранній гестоз.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ ВО ВТОРОМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ У ПАЦИЕНТОК С РАННИМ ГЕСТОЗОМ

Цель исследования – исследовать изменчивость циркуляции антифосфолипидных антител у беременных в зависимости от течения первого триместра беременности.

Материалы и методы. Обследовано 109 беременных с гестационным сроком 11–12 недель, которые были разделены на 2 группы. Группу 1 образовали 58 беременных, имевших проявления раннего гестоза, группу 2 – 51 беременная с неосложненным течением первого триместра беременности. У всех беременных в 11–12 и в 20 недель методом иммуноферментного анализа было определено циркуляцию антител к основным фосфолипидам, проанализирована частота выявления различных субтипов антител при первом и втором обследовании в зависимости от течения первого триместра беременности.

Результаты исследования и их обсуждение. Частота выявления антифосфолипидных антител в первом триместре беременности в обеих группах не превышала 3,4–3,9 %, не более 1-2 беременных в каждой группе имели циркуляцию двух или более субтипов антител. Преобладающим субтипом, который был обнаружен в обеих группах, были Ig G к кардиолипину. Уже в 20 недель между группами были обнаружены различия – в группе 2 частота выявления антител к отрицательно заряженному фосфатидилсерину достигла 13,7 %, а нейтральному фосфатидилетаноламину – 17,6 %, в группе доля беременных с выявленными антителами к фосфолипидам осталась неизменной.

Выводы. Беременным свойственна изменчивость концентрации АФА в течение первой половины гестации – от незначительной частоты выявления их в 11–12 недель к значительному росту в 20 недель. Учитывая доминирование антифосфолипидных антител к отрицательно заряженным фосфолипидам у беременных в 20 недель, которые не имели антител в первом триместре, их появление может быть свидетельством начала эндотелиальной дисфункции, лежащей в основе большинства акушерских осложнений. Частота появления АФА к отрицательно заряженным фосфолипидам меньше среди пациенток с ранним гестозом, чем среди женщин с неосложненным течением первого гестационного триместра.

Ключевые слова: антифосфолипидные антитела; ранний гестоз.

VARIABILITY OF ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES CIRCULARION IN THE SECOND TRIMESTER OF PREGNANCY IN PATIENTS WITH EARLY GESTOSIS

The aim of the study – to investigate the variability of circulating antiphospholipid antibodies in pregnant women, depending on the course of the first trimester of pregnancy.

Materials and Methods. The study involved 109 pregnant women with gestational period of 11–12 weeks, who were divided into 2 groups. Group 1 included 58 pregnant women who had vomiting in the first trimester, group 2 – 51 pregnant women with uncomplicated course of the first trimester. The circulation of antibodies to phospholipids by ELISA was determined in all pregnant women in the 11–12 and 20 weeks, incidence of different subtypes of antibodies in the first and second examination depending on the course of the first trimester of pregnancy was analyzed.

Results and Discussion. The frequency of antiphospholipid antibodies circulation in the first trimester of pregnancy in both groups did not exceed 3.4–3.9 %, not more than 1–2 pregnant women in each group had a circulation of two or more subtypes of

antibodies. The predominant subtype that it was found in both groups were Ig G to cardiolipin. Already in 20 weeks between the groups were found differences – in group 2 – incidence of antibodies to negatively charged phosphatidylserine reached 13.7 % and phosphatidylethanolamine neutral – 17.6 %, in the group the part of pregnant women with antibodies to phospholipids remained constant.

Conclusions. Pregnant women have variability AFA concentrations during the first half of gestation – from small detection frequency of 11–12 weeks in a significant increase in 20 weeks. Given the dominance of antiphospholipid antibodies to negatively charged phospholipids in pregnant women at 20 weeks that AFA had in the first trimester, their appearance can be a sign of early endothelial dysfunction that underlies most obstetric complications. The frequency of AFA to negatively charged phospholipids is lower among patients with vomiting in first trimester than women with uncomplicated course of the first trimester.

Key words: antiphospholipid antibodies; early gestosis.

ВСТУП. На сьогодні вважають за доведене міркування про антифосфоліпідний синдром (АФС) як підґрунтя розвитку більшості акушерських ускладнень. У свою чергу, виникнення АФС пов'язують із формуванням імунної відповіді проти складників клітинних мембран – фосфоліпідів [1]. Така пряма клініко-лабораторна залежність спонукала багатьох дослідників до вивчення та монофакторного пояснення саме циркуляцією антифосфоліпідних антитіл певних акушерських ускладнень [2]. Серед іншого, дослідженнями І. Б. Венцівської та співавт. (2008) [3] було продемонстровано зв'язок передчасного відшарування нормально розташованої плаценти з виявленням антитіл до фосфоліпідів. Патогенетичне лікування АФС до настання вагітності або в першій її половині дійсно демонструє ефективні результати переважно стосовно профілактики невиношування [4]. Проте наразі відсутні навіть попередні дані про можливість прогнозування шляхом виявлення АФА та профілактики призначенням антитромботичної терапії більш пізніх ускладнень вагітності – затримки росту плода та пізнього гестозу [5]. Одним із можливих пояснень такого є мінливість циркуляції АФА в процесі гестації.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ – дослідити мінливість циркуляції антифосфоліпідних антитіл у вагітних залежно від періоду першого триместру вагітності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Було обстежено 109 вагітних, що вперше звернулись для взяття на облік до жіночих консультацій № 1 та № 2 Голосіївського району м. Києва і жіночої консультації поліклінічного відділення Клінічної лікарні Міністерства охорони здоров'я України. До обстеження свідомо не включали вагітних після допоміжних репродуктивних технологій, травмованих та оперованих за невідкладними показаннями під час даної вагітності, осіб, що зазнали гострого внутрішнього захворювання, а також токсикоінфекції або отруєння, з важкими формами екстрагенітальної патології, беручи до уваги необхідність щодо них тривалої медикаментозної терапії. У всіх пацієнток було виконано УЗД, що підтвердило життєздатну одноплідну вагітність. Вагітні, включені до дослідження, на момент першого звернення мали термін гестації від 5 до 10 тижнів. Залежно від наявності раннього гестозу, вагітних було розподілено на 2 групи. До *першої групи* добрано 58 вагітних, що протягом першого триместру вагітності відмічали блювання різного ступеня виразності – від 3 до 10 разів на добу. Розвиток надмірного блювання, що вимагало госпіталізації та інфузійної терапії, був критерієм виключення з дослідження. Пацієнткам першої групи було рекомендовано немедикаментозні (корекція дієти та режиму харчування) та медикаментозні методи впливу на ранній токсикоз (препарати, що містять екстракт імбиру, вітаміни групи В). До *другої групи* ввійшла

51 вагітна, що не мала ознак раннього гестозу, або його прояви було обмежено незначною нудотою, яка не порушувала працездатності та якості життя жінки. Важливо відмітити, що за віком, росто-ваговими показниками, кількістю вагітностей та пологів в анамнезі пацієнтки обох груп не відрізнялись між собою.

У всіх вагітних в терміні 11–12 тижнів методом імуноферментного аналізу було вивчено концентрацію АФА різних субтипів – Ig класу G до кардіоліпіну (CL Ig G), фосфатидилсерину (PS Ig G), фосфатидилетаноламіну (PE Ig G), фосфатидилгліцеролу (PG Ig G) та фосфатидилхоліну (PC Ig G). Референтними значеннями для всіх імуноглобулінів була концентрація 50 MPL, вищий результат вважався позитивним. Враховуючи широкий діапазон референтних значень, у кожній групі було визначено частку вагітних з позитивним результатом тесту.

Повторне визначення всіх перерахованих чинників було здійснено в 20 тижнів вагітності.

Статистичну обробку отриманих результатів виконано з застосуванням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Циркуляція АФА, яку виявлено двічі з інтервалом 12 тижнів, є лабораторним критерієм діагнозу антифосфоліпідного синдрому. Такий часовий діапазон фактично робить неможливим обґрунтовану діагностику АФС під час вагітності, адже від перших проявів типових для синдрому акушерських ускладнень до їх повноцінної реалізації (передчасне відшарування нормально розташованої плаценти, плацентарна дисфункція, внутрішньотробна загибель плода, тяжка форма пізнього гестозу) минає значно менше часу. Крім того, варто приділити увагу мінливості циркуляції АФА протягом вагітності, що також має вплив на діагностику синдрому.

Згідно з отриманими нами результатами, частота виявлення АФА серед вагітних у першому триместрі є незначною – близько 5–6 % всіх жінок мають циркуляцію одного або більше субтипів антитіл (табл. 1). Такий результат відповідає літературним даним [6].

Якщо аналізувати відмінності між групами, то на частоту виявлення АФА не впливала наявність раннього гестозу. Не більше 2-3 пацієнток у кожній групі мали циркуляцію 2 субтипів АФА, в першій групі в однієї пацієнтки виявлено позитивний результат щодо 3 субтипів. Найбільш поширеним субтипом в обох групах були антикардіоліпінові Ig.

Фосфоліпіди являють собою структурно подібні молекули, утворені гліцеринним скелетом з фосфодіетерними групами, з'єднаними зі спиртовими полярними групами та двома етерифікованими гліцерином жирними кислотами. В клітинах людини спиртові групи утворені азотистими основами (холін, етаноламін, серин), гліце-

Таблиця 1. Виявлення антифосфоліпідних антитіл в обстежених вагітних, %

Субтип антитіл	Група 1 (n=58)		Група 2 (n=51)	
	11–12 тижнів	20 тижнів	11–12 тижнів	20 тижнів
CL Ig G	3,4	5,2	3,9	5,9
PS Ig G	1,7	5,2	2,0	13,7*
PE Ig G	1,7	6,8	2,0	17,6*
PG Ig G	1,7	3,4	2,0	5,9
PC Ig G	–	1,7	–	–

Примітка. * – різниця статистично вірогідна в динаміці групи.

рином або інозитолом. Відповідно, фосфоліпіди іменують фосфатидилхоліном (стара назва – лецитин, PC), фосфатидилетаноламіном (стара назва – кефалін, PE), фосфатидилсеріном (PS), фосфатидилгліцеріном (PG), фосфатидилінозитолом та дифосфатидилгліцеріном (кардіоліпін). Унікальність кардіоліпіну полягає у наявності в його складі двох діетерних фосфатних груп, з'єднаних з молекулою гліцерину. Хімічна структура полярної «голови» визначає кінцевий електричний заряд та йонний стан фосфоліпіду. PC та PE мають негативно заряджену фосфатну групу й позитивно заряджену аміногрупу, тому електрично нейтральні, за що названі нейтральними фосфоліпідами. Ці два фосфоліпіди метаболічно пов'язані один з одним і є головними ліпідами, що забезпечують так звану ламелярну конфігурацію, типову для всіх клітинних мембран, коли фосфоліпіди розташовані двома шарами, де гідрофобні ланцюжки жирних кислот орієнтовані в середину мембрани, а гідрофільні полярні групи – назовні. Фосфатидилсерин, фосфатидилгліцерол, фосфатидилінозитол та кардіоліпін – негативні, або аніонні фосфоліпіди, мають негативно заряджену фосфатну групу, фосфатидилінозитол взагалі не має аміногрупи [7].

Клітинній мембрані практично всіх клітин властива виразна асиметрія в розподілі фосфоліпідів різних класів у зовнішньому та внутрішньому шарах. Похідні холіну нейтральні фосфоліпіди сфінгомелін та PC локалізуються на зовнішній поверхні мембрани спільно з незначною кількістю PE. Внутрішня (цитозольна) поверхня утворена невеликою кількістю PC, сфінгомеліну, і переважно PE, а також PS та фосфатидилінозитолу. Кардіоліпін відсутній на плазматичних мембранах, на котрих до 50–60 % загального пулу фосфоліпідів складає сфінгомелін і PC, 20–30 % – PE, 10–15 % – PS. З'ясовано, що збереження фосфоліпідної асиметрії підтримується складним процесом, пов'язаним з активністю АТФ та ферменту амінофосфоліпідтранслокази, що зрушує амінофосфоліпіди в напрямі внутрішнього шару мембрани [8, 9]. Тобто в нормі аніонні (кислі) фосфоліпіди на зовнішній поверхні біомембран відсутні. Втрата клітиною нормальної структури неодмінно спричинить втрату асиметрії мембранних фосфоліпідних шарів і приведе до екстерналізації аніонних фосфоліпідів (насамперед ФС). Цей процес відіграє важливу фізіологічну роль у розвитку локальної реакції зсідання крові. В нормальних умовах поява на зовнішньому боці мембрани аніонних ФС стимулює швидке видалення таких клітин з кровообігу [6].

Для утворення АТ взагалі та АФА зокрема необхідна поява на зовнішній поверхні мембрани антигенних детермінант, якими є кислі (аніонні) фосфоліпіди. Проілюструвати це явище зручно за допомогою прокоагулянтної

активності тромбоцитарних фосфоліпідів, що ґрунтується на такому ж процесі екстерналізації.

З огляду на участь у процесах коагуляції фосфоліпіди мембран тромбоцитів поділяються на 2 групи: 1) позбавлені прокоагулянтної активності холінові – фосфатидилхолін та сфінгомелін, 2) прокоагулянтно активні: нейтральний фосфатидилетаноламін, та кислі фосфатидилсерин і фосфатидилінозитол. Фосфоліпіди першої групи розподілені по обох поверхнях клітинної мембрани неактивованих тромбоцитів. Фосфоліпіди другої групи в неактивованих тромбоцитах локалізовані переважно на внутрішній поверхні мембрани. В процесі активації тромбоцита концентрація PE, PS та фосфатидилінозитолу зовні мембрани значно зростає та утворює прокоагулянтну поверхню, необхідну для фіксації, активації та взаємодії плазматичних білків гемостазу. Крім того, такий перерозподіл змінює гнучкість клітинної мембрани, що також важливо для перебігу гемостатичних реакцій. Кислі (аніонні) фосфоліпіди мембран тромбоцитів PS та PG називають фактором 3 тромбоцитів, або тромбоцитарним тромбопластином.

Тобто, як і для зовнішнього шляху коагуляції, для початку антитілоутворення необхідні умови, при котрих компоненти внутрішньої поверхні клітинних мембран екстерналізуються. Наступною істотною обставиною є інтенсивність цієї екстерналізації, спрощено кажучи – масштаб uszkodження мембран та тривалість впливу патогенного фактора.

Проаналізувавши розподіл виявлених антитіл за субтипами, констатуємо, що в 20 тижнів переважно реєструється циркуляція АФА до негативно заряджених фосфоліпідів. Враховуючи неускладнений перебіг вагітності у всіх пацієнок (відсутність випадків переривання вагітності, первинної плацентарної дисфункції та інших клінічних проявів тромбофілії), циркуляція АФА у них ще не є захворюванням та важко говорити про її значення в перебігові вагітності та прогнозуванні віддалених ускладнень, власне, це і стане предметом подальшого дослідження. Втім, вже можемо зробити висновки про процес екстерналізації негативних фосфоліпідів, що є проявом мембранної нестабільності. Видається дивним і потребує прискіпливого вивчення той результат, що значно меншою мірою цей процес властивий жінкам, які протягом першого триместру вагітності мали клінічні прояви раннього гестозу. В перспективі подальших досліджень передбачається дослідити саме механізм протективного впливу блювання в першому триместрі вагітності на попередження uszkodження мембран.

ВИСНОВКИ. 1. Вагітним властива мінливість концентрації АФА протягом першої половини гестації – від не-

значної частоти виявлення їх в 11–12 тижнів до значного зростання в 20 тижнів.

2. Враховуючи домінування антифосфоліпідних анти-тіл до негативно заряджених фосфоліпідів у вагітних в 20 тижнів, які не мали АФА в першому триместрі, їх поява може бути свідченням початку ендотеліальної дисфункції, що лежить в основі більшості акушерських ускладнень.

3. Частота появи АФА до негативно заряджених фос-

фоліпідів є меншою серед пацієнок з раннім гестозом, ніж серед жінок з неускладненим перебігом першого гестаційного триместру.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

полягають у вивченні залежності циркуляції антифосфоліпідних антитіл та пізніх ускладнень вагітності. Зокрема, поява антитіл до негативно заряджених фосфоліпідів може стати маркером тяжких форм пізнього гестозу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Макацарія А. Д. Антифосфоліпідний синдром в акушерській практиці / А. Д. Макацарія. – М. : Руссо, 2001. – 343 с.
2. Загородня О. С. Вплив антифосфоліпідного синдрому на перебіг пологів / О. С. Загородня // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2014. – № 4. – С. 23–27.
3. Венцківська І. Б. Носійство антифосфоліпідних анти-тіл в патогенезі передчасного відшарування нормально розташованої плаценти / І. Б. Венцківська, О. С. Загородня, К. О. Венцківський // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2008. – № 1. – С. 16–18.
4. Профилактика повторных осложнений беременности в условиях тромбофилии. Руководство для врачей / [А. Д. Макацарія, В. О. Бицадзе, С. М. Баймурадова и др.]. – М. : «Триада-Х», 2008. – 152 с.
5. Alijotas-Reig J. Anti-beta(2)-glycoprotein-I and anti-phosphatidylserine antibodies in women with spontaneous pregnancy

- loss / J. Alijotas-Reig, R. Ferrer-Oliveras, M. J. Rodrigo-Anoro [et al.] // Fertil. Steril. – 2009. – Vol. 16. – P. 67.
6. Насонов Е. Л. Антифосфоліпідний синдром / Е. Л. Насонов. – М. : Литтерра, 2004. – 434 с.
7. McNeil H. P. Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies / H. P. McNeil, C. N. Chesterman, S. A. Krilis // Adv. Immunol. – 1991. – Vol. 49. – P. 193–280.
8. Schroit A. J. Transbilayer movement of phospholipids in red cell and platelet membrane / A. J. Schroit, R. F. A. Zwaal // Biochem. Biophys. Acta. – 1991. – Vol. 1071. – P. 313–329.
9. Devaux P. F. Protein involvement in transmembrane lipid asymmetry / P. F. Devaux // Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. – 1992. – Vol. 21. – P. 417–439.
10. Antiphospholipid antibodies induce a pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway / M. Mulla, J. Brosens, L. Chamley [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. – 2009. – N 62 (2). – P. 96–111.

REFERENCES

1. Makatsariia, A.D. (2001). *Antifosfolipidnyi sindrom v akusherskoi praktike [Antiphospholipid syndrome in obstetrics practice]*. Moscow: Russo [in Russian].
2. Zagorodnia, O.S. (2014). Vplyv antyfosfolipidnoho syndromu na perebih polohiv [Antyphospholipid syndrome on labour course]. *Ukrainskyi zhurnal klinichnoii ta laboratornoii medytsyny – Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine*, 4, 23-27 [in Ukrainian].
3. Ventskivska, I.B., Zahorodnia, O.S., & Ventskivskiy, K. (2008). Nosiistvo antyfosfolipidnykh antytil v patohenezi peredchasnoho vidsharuvannia platsenty [Antyphospholipid antibodies circulation in preterm placenta abruption pathogenesis]. *Zdobutky klinichnoii ta eksperymentalnoii medytsyny – Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 1, 16-18.
4. Makatsariia, A.D., Bitsadze, V.O., Baimuradova, S.M., Perederiaeva E.B., & Pshenichnikova, T. B. (2008). *Profilaktika povtornykh oslozhnenii beremennosti v usloviiakh trombofilii [Prevention of repeat pregnancy loss by thrombophilia]*. Moscow: Triada-X [in Russian].

5. Alijotas-Reig, J., Ferrer-Oliveras, R., & Rodrigo-Anoro, M. (2009). Anti-beta(2)-glycoprotein-I and anti-phosphatidylserine antibodies in women with spontaneous pregnancy loss. *Fertil. Steril.*, 16, 67.
6. Nasonov, Ye.L. (2007). *Antifosfolipidnyi sindrom [Antiphospholipid syndrome]*. Moscow: Littera [in Russian].
7. McNeil, H., Chesterman, C., & Krilis, S. (1991). Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Adv. Immunol.*, 49, 193-280.
8. Schroit, A., & Zwaal, R. (1991). Transbilayer movement of phospholipids in red cell and platelet membrane. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1071, 313-329.
9. Devaux, P. (1992). Protein involvement in transmembrane lipid asymmetry. *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 21, 417-439.
10. Mulla, M., Brosens, J., & Chamley, L. (2009). Antiphospholipid antibodies induce a pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 62(2), 96-111.

Отримано 16.01.17