

УДК 618.179-036.88:616.151.5-07

*Д.Ш. Таравнех**Харківський національний медичний університет***СТАН СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ У ПАЦІЄНТОК З ТРОМБОФІЛІЄЮ ТА НЕВДАЛИМИ СПРОБАМИ ЕКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ЗАПЛІДНЕННЯ В АНАМНЕЗІ**

Обстежені 62 жінки з невдалими спробами екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) в анамнезі, тромбофілією та трубно-перитонеальним фактором безпліддя, що склали основну групу. До контрольної групи увійшли 30 здорових жінок. Результати дослідження показали, що у жінок з тромбофілією і невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі відбувається патологічна активація системи гемостазу, що грає істотну роль в патогенезі невдалих спроб ЕКЗ. При тромбофілії розвивається субклінічна форма хронічного дисемінованого тромбофілічного згортання крові, провідною ланкою в розвитку якого є активація тромбоцитарно-судинного гемостазу з подальшим залученням до процесу коагуляційного потенціалу, обумовленого зниженням показників протизгортальної системи крові.

Ключові слова: *тромбофілія, система гемостазу, екстракорпоральне запліднення, безпліддя.*

Екстракорпоральне запліднення (ЕКЗ) є одним із найбільш перспективних методів лікування безпліддя. У зв'язку з широким розповсюдженням допоміжних репродуктивних технологій особливої актуальності набуває питання підвищення їх ефективності [1].

Незважаючи на великий інтерес до проблеми діагностики тромбофілії і профілактики тромбозів у пацієнток з невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі, ще залишається недостатньо вивченим механізм тромбоутворення у пацієнток з дефектами гемостазу, не встановлені ранні маркери тромбогенних ускладнень гестації, відсутні методи скринінгової діагностики порушень системи гемостазу [2].

Відомо, що система гемостазу є збалансованим процесом механізмів коагуляції та фібринолізу, і на будь-якому з етапів, що включають каскад гемокоагуляційних реакцій, можливі зриви і прояви дезадаптації системи механізмів згортання та протизгортання [3].

Важливу роль у формуванні стану тромбоцитарної готовності організму має надлишкова генерація тромбіну [4]. При тромбофілії у пацієнток підвищується ризик розвитку внутрішньосудинного згортання крові з утворенням в неї безлічі мікрозгортків фібрину і агрегатів клітин крові (тромбоцитів, ери-

троцитів), які блокують мікроциркуляцію в органах і тканинах, у тому числі в матці і ендометрії [5].

Функціонально-дистрофічні зміни супроводжуються активацією і виснаженням плазмових ферментних систем (згортання, фібринолітичної, калікреїн-кінінової) і тромбоцитарного гемостазу [6].

Всі ці процеси мають велике значення для з'ясування основних показників системи гемостазу при проведенні допоміжних репродуктивних технологій та визначення патологічних маркерів, оскільки відсутність чітких уявлень про патофізіологічні процеси, що відбуваються у пацієнток з тромбофілією, призводять до неадекватної терапії і невдалих спроб ЕКЗ [7].

Метою дослідження було визначення стану в системі гемостазу і патофізіологічних механізмів формування тромбозів у пацієнток з генетичною і набутою тромбофілією.

Матеріал і методи. У дослідження були включені 62 жінки з невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі, з трубно-перитонеальним фактором безпліддя і тромбофілією, які склали основну групу. До контрольної групи увійшли 30 здорових жінок. Всі жінки були репродуктивного віку, від 21 до 43 років, у середньому – (26,3±0,6) років.

© Д.Ш. Таравнех, 2016

В усіх обстежених жінок збирали анамнез за спеціально розробленою картою, в якій фіксували усі результати проведених досліджень.

У пацієнток основної групи в анамнезі вагітностей не спостерігалось, однак у кожній з них були 2 і більше невдалі спроби ЕКЗ в анамнезі.

Обстеження щодо причин безпліддя і невдачі ЕКЗ включало гормональні, генетичні дослідження, HLA-типівання, УЗД, гістеросальпінгографію, визначався інфекційний профіль. Обстеження проводили за показаннями, залежно від клінічної ситуації.

Методи дослідження тромбофілії вибирали відповідно до рекомендацій з лабораторної діагностики системи гемостазу [8]. Пацієнтки були обстежені на наявність антифосфоліпідного синдрому і спадковий поліморфізм генів схильності до тромбофілії. Діагностику антифосфоліпідного синдрому здійснювали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з використанням діагностичних наборів компанії ТОВ «НВО ДНК-Технологія» (Росія). Антифосфоліпідні антитіла визначали методом непрямого твердофазного імуоферментного аналізу (ELISA) з використанням тест-систем фірми Orgentec (Німеччина).

Дослідження системи гемостазу проводили за такими показниками: загальний коагуляційний потенціал крові, час рекальцифікації плазми, протромбіновий час згортання (ПТЧЗ), тромбіновий час, активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ), що визначали за допомогою наборів реактивів науково-виробничої фірми «Simko-LTD», м. Львів. Кількість тромбоцитів у капілярній крові підраховували за методикою З.С. Баркаган [9]. Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів, а також за індексом спонтанної агрегації тромбоцитів. При вивченні системи регуляції агрегатного стану крові як стабілізатор використовували 3,8%-вий розчин цитрату натрію. Для визначення розчинних комплексів фібрин-мономерів, продуктів деградації фібриногену-фібрину та фібринолітичної активності плазми крові користувалися інструкціями до відповідних наборів реактивів науково-виробничої фірми «Simko-LTD». Антитромбін III (АТ-III) в плазмі визначали шляхом інкубації розведеної цитратної плазми зі стандартною кількістю тром-

біну, потім за часом згортання фібриногену визначали залишкову активність тромбіну.

Всі обстежені жінки підписали інформовану згоду щодо можливості їх обстеження.

Отримані результати статистично обробили.

Результати та їх обговорення. При вивченні структури тромбофілії у пацієнток основної групи ($n = 62$) було встановлено, що найчастішою формою тромбофілії є антифосфоліпідний синдром, який був діагностований у 26,4 % випадків. Високим залишався відсоток поєднаних форм тромбофілії (генетичних і антифосфоліпідного синдрому), який склав 27 %. Поліморфізм в гені метилентетрагідрофолатредуктази (MTHFR-C677) був діагностований у 14,5 % пацієнток, що є одним з найбільш значущих спадкових фолатдефіцитних станів, які призводять до істотного підвищення гомоцистеїну в крові. У 11,5 % випадків визначалася мутація в гені фібриногену (FGB-455), в 9,3 % поліморфізм в гені інгібітора активатора плазміногену (PAI-1), в 5,5 % мутація в гені протромбіну (F2-20210), в 4,6 % поліморфізм в гені рецептора мембрани тромбоцитів (ITGB3) і в 1,2 % випадків гетерозиготна форма мутації Лейдена (F5).

Вовчаковий антикоагулянт був виявлений в усіх обстежених пацієнток основної групи з різними формами тромбофілії на рівні високого ризику тромбозів. Отримані результати дозволили припустити, що вовчаковий антикоагулянт є не тільки маркером антифосфоліпідного синдрому, але й відображає сумарні коагулопатичні зміни у пацієнток з різними формами тромбофілії.

Було проведено дослідження системи гемостазу у пацієнток з усіма формами тромбофілії з метою уточнення характеру коагулопатії і порівняння цих показників з показниками контрольної групи.

Загальний коагуляційний потенціал у жінок з тромбофілією та невдалими спробами ЕКО в анамнезі порівняно з такими жінок контрольної групи наведений в табл. 1.

Як видно з даних табл. 1, кількість тромбоцитів крові та час рекальцифікації плазми в основній групі були вірогідно знижені й склали $(220,1 \pm 1,7) \cdot 10^9/\text{л}$ та $(89,2 \pm 3,1)$ с відповідно; у контрольній групі – $(242,3 \pm 2,1) \cdot 10^9/\text{л}$ та $(95,2 \pm 3,5)$ с, що характеризує внутрішній шлях згортання крові, який мав тенденцію до незначного зниження у порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Показники загального коагуляційного потенціалу в крові обстежених пацієнток

Показник	Основна група (n=62)	Контрольна група (n=30)
Тц, $\cdot 10^9/\text{л}$	220,1 \pm 1,7*	242,3 \pm 2,1
Час рекальцифікації плазми, с	89,2 \pm 3,1*	95,2 \pm 3,5
Протромбіновий час згортання, с	22,4 \pm 1,3	22,9 \pm 2,1
Тромбіновий час, с	19,9 \pm 1,1*	16,2 \pm 1,2
Активований частковий тромбoplastиновий час, с	26,9 \pm 1,7**	42,1 \pm 2,1
АТ-III, %	72,0 \pm 2,2**	82,6 \pm 2,1

Примітка. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; достовірність різниці між основною і контрольною групами.

Протромбіновий час згортання, що відбиває активність факторів зовнішнього шляху згортання крові, у жінок основної групи практично не змінювався у порівнянні з контролем.

Стосовно тромбінового часу, діагностична цінність якого полягає у визначенні стану фібриногенезу, цей показник вірогідно збільшувався у жінок з тромбофілією та невдалими спробами ЕКЗ в порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

Активований частковий тромбoplastиновий час, що вважається найбільш чутливим тестом відображення коагуляційної активності крові [10], навпаки, був коротший в порівнянні з групою контролю, що свідчило про збільшення потенціалу гемокоагуляції при тромбофілії.

Більш виражене зниження активованого часткового тромбoplastинового часу в основній групі пацієнток свідчить про явний розвиток перманентної гіперкоагуляції: (26,9 \pm 1,7) с і в контролі (42,1 \pm 2,1) с ($p < 0,01$).

При дослідженні головного компонента протизгортальної системи АТ-III відзначали зниження його активності в основній групі пацієнток ($p < 0,01$).

Отже, аналіз проведених досліджень показав, що пацієнтки з тромбофілією та невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі мають підвищений загальний коагуляційний потенціал. Крім того, у них розвивається субклінічна форма хронічного синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові.

Можна припустити, що ініціюючі механізми розвитку синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові в основній групі обстежених пов'язані з порушенням в інших ланках системи регуляції агрегатного стану крові, що супроводжується активацією первинного гемостазу [11].

Показники первинного гемостазу у жінок основної групи склали: індекс спонтанної агрегації тромбоцитів – 18,9 \pm 1,7; кількість адгезивних тромбоцитів – (75,8 \pm 3,3) %; у контролі – 5,4 \pm 1,7 та (43,6 \pm 3,9) % відповідно, $p < 0,05$.

Показники як індексу спонтанної агрегації тромбоцитів, так і відсотка адгезивних тромбоцитів у жінок з тромбофілією були значно більшими, ніж у жінок контрольної групи.

Стан внутрішньосудинної гемокоагуляції оцінювали за концентрацією в плазмі крові патологічних гемокоагулянтів – розчинних комплексів фібрин-мономерів і продуктів деградації фібриногену-фібрину.

У жінок з тромбофілією та невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі вміст у плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономерів складав (33,3 \pm 1,9) мкг/мл і був у 3,8 раза більший у порівнянні з контрольною групою. Концентрація продуктів деградації фібриногену-фібрину при цьому збільшувалася у жінок основної групи у 8 разів порівняно з нормальними показниками і складала (0,9 \pm 0,05) мкг/мл.

Отримані результати свідчать про високий рівень тромбемії та внутрішньосудинної активації згортання крові при тромбофілії з реалізацією розвитку субклінічної форми хронічного дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові і, можливо, як одну з причин невдалих спроб ЕКЗ завдяки підвищеному тромбоутворенню в ендометрії ($p < 0,01$).

Характер функціонування фібринолітичної системи крові оцінювали на підставі визначення сумарної фібринолітичної активності, потенційної активності плазміногену, концентрації фібриногену, Хагеман-залежного фібринолізу.

Сумарна фібринолітична активність в плазмі крові достовірно збільшувалася у

пацієнок основної групи до (17,1±0,8) Е440/мл/год, в контролі була (9,6±0,5) (p<0,01).

Потенційна активність плазміногену та концентрація фібриногену у пацієнок з тромбофілією збільшувалися незначно: до (20,14±1,05) Е440/мл/год та (3,80±0,29) г/л проти (20,54±1,03) Е440/мл/год та (3,12±0,27) г/л відповідно у контролі (p>0,5), а значення Хагеман-залежного фібринолізу досягало ступеня вірогідності (p<0,05) і складало (18,34±1,87) та (2,14±1,43) хв відповідно в основній і контрольній групі.

Антиплазміновий потенціал крові у обстежених у жінок з тромбофілією характеризувався збільшенням антиплазміну зі (107,96±2,14) % в контролі до (120,16±3,01) %, тобто на 12,2 % (табл. 2). Це було зумовлено

швидкодіючого антиплазміну чи повільно діючого антиплазміну в основній групі.

Таким чином, результати проведеного дослідження показали, що у жінок з тромбофілією та невдалими спробами екстракорпорального запліднення в анамнезі відбувається патологічна активація системи гемостазу, що відіграє роль у патогенезі невдалих спроб допоміжних репродуктивних технологій. При цьому наявність у крові всіх пацієнок основної групи вовчакового коагулянта дозволяє припустити, що він є не тільки маркером антифосфоліпідного синдрому, але відображає та впливає на сумарні коагулопатичні зміни у пацієнок з різними формами тромбофілії. У жінок з тромбофілією та невдалими спробами екстракорпорального заплід-

Таблиця 2. Показники антиплазмінового потенціалу крові у обстежених пацієнок, (M±m) %

Показники	Основна група (n=62)	Контрольна група (n=30)
Активність плазміногену	120,16±3,01**	107,96±2,14
Швидкодіючий антиплазмін	118,46±1,58*	99,08±1,24
Повільно діючий антиплазмін	102,05±2,31*	108,37±2,16

Примітка. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; достовірність різниці між основною і контрольною групами.

зниженням повільно діючого антиплазміну, тому що активність швидкодіючого антиплазміну у пацієнок основної групи була підвищена на 19,3%.

Отримані результати свідчать про активацію антиплазмінової системи у обстежених жінок з тромбофілією та невдалими спробами ЕКЗ в анамнезі без чіткої переваги

нення в анамнезі розвивається субклінічна форма хронічного дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, провідною ланкою в розвитку якого є активація тромбоцитарно-судинного гемостазу з наступним залученням у процес коагуляційного потенціалу, обумовленого зниженням показників протизгортальної системи крові.

Література

1. Охтырская Т.А. Оптимизация программы экстракорпорального оплодотворения у пациенток с риском развития тромбофилии : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т.А. Охтырская. – М., 2011. – 19 с.
2. Макацария А.Д. Тромбофилические состояния в акушерской практике / А.Д. Макацария, В.О.Бицадзе. – М.: РУССО, 2011. – 704 с.
3. Тромбофилии в акушерской практике : метод. рекомендации / М.С. Зайнулина, Е.А. Корнюшина, М.Л. Степанян и др. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2015, 40 с.
4. Заболотских И.Б. Диагностика и коррекция расстройств системы гемостаза: руководство для врачей / И.Б. Заболотских, С.В. Синьков, И.А. Шапошников. – М.: Практич. медицина, 2007. – 335 с.
5. Bick R.L. Disorders of thrombosis and hemostasis. Clinical and laboratory practice / R.L. Bisk. – Lippincott: Williams & Wilkins, 2012. – 446 p.
6. Boda Z. Thrombophilia, anticoagulant therapy and pregnancy / Z. Boda, P. Laszlo, G. Pfliegler, et al. // Orvosi Hetilap. 2013. – Vol. 139. – P. 3113–3116.
7. Пилипенко М.А. Значение тромбофилии в формировании ранних эмбрионических потерь при проведении экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов : автореф. дис. ... канд. мед. наук / М.А. Пилипенко. – Омск, 2009. – 20 с.

8. Сидельникова В.М. Гемостаз и беременность / В.М. Сидельникова, П.А. Кирющенко. – М.: Триада-Х, 2004. – 231 с.

9. Баркаган З.П. Принципы лабораторной диагностики антифосфолипидного синдрома / З.П. Баркаган, А.П. Момот, Л.П. Цывкина // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 3. – С. 47–51.

10. Баркаган З.С. Новые методы диагностики диссеминированного внутрисосудистого свертывания : метод. рекомендации / З.С. Баркаган. – М., 2009. – 26 с.

11. Грицюк А.И. Практическая гемостазиология / А.И. Грицюк, Е.Н. Амосова, И.А. Грицюк. – К.: Здоров'я, 2014. – 256 с.

Д.Ш. Таравнех

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОК С ТРОМБОФИЛИЕЙ И НЕУДАЧНЫМИ ПОПЫТКАМИ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ В АНАМНЕЗЕ

Обследованы 62 женщины с неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) в анамнезе, тромбофилией и трубно-перитонеальным фактором бесплодия, составивших основную группу. В контрольную группу вошли 30 здоровых женщин. Результаты исследования показали, что у женщин с тромбофилией и неудачными попытками ЭКО в анамнезе происходит патологическая активация системы гемостаза, что играет существенную роль в патогенезе неудачных попыток ЭКО. При тромбофилии развивается субклиническая форма хронического диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, ведущим звеном в развитии которого является активация тромбоцитарно-сосудистого гемостаза с последующим вовлечением в процесс коагуляционного потенциала, обусловленного снижением показателей противосвертывающей системы крови.

Ключевые слова: *тромбофилия, система гемостаза, экстракорпоральное оплодотворение, бесплодие.*

D.Sh. Tarawneh

THE STATUS OF HEMOSTASIS SYSTEM IN PATIENTS WITH THROMBOPHILIA AND UNSUCCESSFUL EXTRACORPORAL FERTILIZATION ATTEMPTS IN THE ANAMNESIS

The state of the hemostasis system in 62 women with thrombophilia studied. Women with unsuccessful extracorporal fertilization attempts in anamnesis and tubo-peritoneal factor of infertility, compose the main group. The control group consisted of 30 healthy women. The results of study showed that women with thrombophilia and unsuccessful IVF attempts in anamnesis had abnormal activation of the hemostatic system, which plays a significant role in the pathogenesis of unsuccessful IVF attempts. At the same time thrombophilia leads to development of subclinical chronic blood disseminated intravascular coagulation syndrome (DICS), the leading element in the development is the activation of platelet-vascular hemostasis with subsequent involvement in the process of coagulation potential caused by a decrease in blood anticoagulation system.

Key words: *thrombophilia, hemostasis system, in vitro fertilization, infertility.*

Поступила 25.05.16