

УДК 618.177-097.3:[616.89-008:159.923.31]

БОЙЧУК О.Г.<sup>1</sup>, КОЛОМІЙЧЕНКО Т.В.<sup>2</sup>, КАМІНСЬКИЙ А.В.<sup>2</sup>

ННПО Івано-Франківський національний медичний університет,  
м.Івано-Франківськ,

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика,  
кафедра акушерства, гінекології та репродуктології, м. Київ

## ЗНАЧЕННЯ АНТИФОСФОЛІПІДНИХ АНТИТІЛ У ЖІНОК З БЕЗПЛІДДЯМ ТА ПСИХОСОМАТИЧНИМИ РОЗЛАДАМИ

*Невдачі екстракорпорального запліднення (ЕКЗ) можуть бути пов'язані з протромботичними станами, циркуляцією антифосфоліпідних антитіл (АФА). Мета дослідження – встановити значення антифосфоліпідних антитіл у ефективності лікування безпліддя методами допоміжних репродуктивних технологій у жінок з психосоматичними розладами. Матеріали і методи дослідження. Обстежили 93 жінки з безпліддям: 1 група – 32 жінки без виражених психосоматичних розладів; 2 група – 61 жінка з психосоматичними розладами. Контрольну групу склали 30 фертильних жінок. Проводили визначення у сироватці крові рівня АФА до мембранних фосфоліпідів (фосфатидилетаноламіну, фосфатидилсерину, кардіоліпіну), показників системи гемостазу (кількість тромбоцитів, концентрація фібриногену, активованій частковий тромбопластиновий час - АЧТЧ, D-димер), гомоцистеїну, молекулярно-генетичне дослідження поліморфних варіантів за генами  $\beta$ -fibrinogen (C148T, -455GA). Результати дослідження та їх обговорення. Частота значимих титрів АФА у групі жінок без психосоматичних порушень була 18,9 %, а при їх наявності - 44,3 %. Лише у 11,5 % жінок 2 групи підвищений рівень АФА сполучався з одним і більше клінічними критеріями антифосфоліпідного синдрому (АФС). У пацієнток з безпліддям та психосоматичними розладами виявили підвищення агрегації тромбоцитів на тлі відносної тромбоцитопенії, вищий рівень фібриногену, подовжений АЧТЧ при підвищеному рівні D-димеру. У частини пацієнток відмічена гіпергомоцистеїнемія. У пацієнток з психосоматичними розладами частота мінорних алелів локусів C148T та -455GA гену  $\beta$ -fibrinogen перевищувала 40 % (проти 25-30 % у 1 групі). Висновки. Виділені фактори, що негативно впливають на ефективність застосування ЕКЗ у пацієнток з психосоматичними розладами: підвищення рівня АФА; зниження кількості тромбоцитів; зростання індексу АДФ-індукованої агрегації; подовження АЧТЧ; підвищення рівня фібриногену, D-димеру; гомоцистеїну; наявність мінорного алелю T поліморфного локусу C148T гену  $\beta$ -fibrinogen. Наявність протромботичних станів, що асоціюються з АФС, необхідно враховувати при підготовці до ЕКЗ та проводити їх відповідну корекцію.*

**Ключові слова:** екстракорпоральне запліднення, антифосфоліпідний синдром, система гемостазу, ген  $\beta$ -fibrinogen

Безпліддя – це складна медико-соціальна проблема світового масштабу, рівень якого суттєво впливає на демографічні показники і не має тенденції до зниження [18]. Зростає інтерес до значення психологічних чинників при безплідді, яке багато дослідників відносять до психосоматичних захворювань [3, 15].

Активно розвиваються допоміжні репродуктивні технології (ДРТ), які поступово стають рутинною процедурою при вирішенні проблеми народження дитини в безплідному шлюбі. Однак ефективність програм ЕКО зупинилась на рівні 20-35 %, що спонукає до подальшого пошуку можливостей її підвищення [22].

На думку низки авторів, невдачі ЕКО можуть бути пов'язані з підвищеною схильністю до згортання крові, протромботичними станами, циркуляцією антифосфоліпідних антитіл (АФА) [19, 33]. Виявлення одного або більше видів АФА призводить до триразового збільшення ризику невдач ЕКЗ [30], хоча деякі автори заперечують такий зв'язок [9].

З іншого боку, тромботичні ускладнення є найбільш серйозними, потенційно смертельно небезпечними ускладненнями ДРТ, що пов'язано із застосуванням високих доз гормональних препаратів [4, 13].

Наявність недіагностованих процесів активації згортання крові перед проведенням програми ЕКЗ є фактором розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників і тромбозів [16, 27]. Ризик венозної тромбоемболії після ЕКЗ зростає в 20-30 разів у порівнянні із загальною популяцією [26], що свідчить про необхідність оцінювати такий ризик при підготовці до ДРТ та проводити необхідні профілактичні заходи [24, 31].

Наявність у жінки з безпліддям психосоматичних розладів також може бути пов'язана з АФС, адже у теперішній час під антифосфоліпідним синдромом (АФС) розуміють симптомокомплекс, що поєднує клінічні ознаки та лабораторні дані: циркуляція АФА в поєднанні з артеріальними і венозними тромбозами, синдромом втрати плода, імунної тромбоцитопенією і / або неврологічними розладами [23]. Неврологічні розлади відносяться до найбільш поширених проявів АФС. Хоча в останніх оновлених Критеріях класифікації АФС (2006 р.) неврологічні прояви охоплюють лише транзиторні ішемічні атаки та інсульт, відомі різноманітні «некритеріальні» неврологічні розлади або прояви: головний біль, мігрень, біполярний розлад, мієлопатії, деменція, хорея, епілептичні напади, розсіяний склероз, психоз, когнітивні порушення, синдром Турета, паркінсонізм, дистонія, транзиторна глобальна амнезія, розлади зору та ін. [11, 35].

Тому мета нашого дослідження – встановити значення антифосфоліпідних антитіл у ефективності лікування безпліддя методами допоміжних репродуктивних технологій у жінок з психосоматичними розладами.

## МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У Клініці репродуктивних технологій Українського державного інституту репродуктології НМАПО імені П. Л. Шупика обстежили 93 жінки з трубно-перитонеальним фактором безпліддя, які направлені на лікування безпліддя методами ДРТ (основна група). Контрольну групу склали 30 фертильних жінок, які мали народжених дітей, і звернулися до жіночої консультації Київського міського центру репродуктології та перинатології для передгравідарної підготовки перед запланованою вагітністю.

Оцінювали наявність синдрому вегетативної дисфункції (СВД) за допомогою опитувальника О.М. Вейна (1998), порушень сну (таблиця О.М. Вейна), рівень стресу (методика Холмса-Ра-

ге), реактивної та особистісної тривожності (методика Ч. Д. Спілбергера, Ю.Л. Ханіна, 1976), депресії (шкала депресії Бека). Після проведення анкетування жінок та консультації психолога пацієнтки основної групи були розподілені на 2 групи залежно від наявності та вираженості психосоматичних розладів: 1 група – 32 жінки без виражених психосоматичних розладів; 2 група – 61 жінка з вираженими психосоматичними розладами.

Визначення у сироватці периферичної венозної крові рівня антифосфоліпідних антитіл (АФА) до мембранних фосфоліпідів (фосфатидилетаноламіну PE, фосфатидилсерину PS, кардіоліпіну CL) проводили методом імуноферментного аналізу з використанням набору антитіл “Nobiwell” до двох класів імуноглобулінів: Ig G, IgM (“Amersham Pharmacia Biotech”, Великобританія). Підвищеним вважали рівень АФА більше 10 GPL-U-ml для IgG та більше 10 MPL-U-ml для IgM.

Дослідження системи гемостазу (кількість тромбоцитів, індекс АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів, концентрація фібриногену, протромбіновий індекс, активований частковий тромбопластиновий час - АЧТЧ, D-димер) проводили із застосуванням біохімічного аналізатора.

Рівень гомоцистеїну визначався методом ферментативної циклічної реакції, за допомогою набору Diasyis (Німеччина) з використанням аналізатора «Respons 920» (Німеччина) за методикою виробника.

Молекулярно-генетичне дослідження поліморфних варіантів за генами  $\beta$ -fibrinogen (C148T, -455GA) проводилось в молекулярно-генетичній лабораторії Державного закладу «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України». Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах в моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти в якості антикоагулянту («Sarstedt», Німеччина), заморожували та зберігали при  $t -20^{\circ}\text{C}$ . Із зразків крові проводили виділення геномної ДНК за допомогою комерційного набору “ДНК-сорб-В” (відповідно до інструкції наданої виробником). Для визначення C148T та -455GA гена  $\beta$ -fibrinogen використовували протокол з олігонуклеотидними праймерами з застосуванням методу ПЛР з наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ). Для цього ампліфікували специфічні ділянки генів за допомогою пари специфічних праймерів («Metabion», Німеччина). Для ампліфікації брали

3 мкл ДНК та додавали до суміші, що містить 12,5 мкл Dream Taq Green PCR робочого розчину, по 20 pmol праймеру 1 та 2, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. ПЛР проводили в термоциклері «FlexCycler BU» (Analytik Jena (Німеччина). Продукти ампліфікації фрагментів ДНК гену  $\beta$ -fibrinogen (C148T, -455GA) підлягали гідролітичному розщепленню за допомогою ендонуклеаз рестрикції *HindIII*. Стан ампліфікаційних та рестрикційних фрагментів аналізували за допомогою горизонтального електрофорезу в 2% агарозному гелі (160 V протягом 40 хвилин). Візуалізацію отриманих результатів проводили за допомогою транслюмінатора та за молекулярною вагою фрагментів ДНК досліджуваних генів визначали генотип особи.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програмних пакетів Microsoft Office 2007 for Windows XP Professional, STATISTICA 6.0 (Stat. Soft. Inc. США). Достовірність різниці між вибірками для кількісних показників, що мали нормальний розподіл, оцінювали за t-критерієм Стьюдента, для показників виражених у долях використовували критерій кутового перетворення Фішера, розбіжності вважали достовірними за  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Підвищений рівень АФА (більше 10 GPL-U-ml для IgG та більше 10 MPL-U-ml для IgM) виявлено у лише 2 (6,7 %) жінок контрольної групи і у третини жінок з безпліддям (34 паці-

єнтки, 36,6 %,  $p < 0,05$ ), тобто встановлено більш ніж п'ятикратне підвищення даного показника, що вказує на можливість аутоімунних та тромбоваскулярних порушень, які обумовлюють ризик неефективності ДРТ та невиношування вагітності (рис.1). При цьому у спектрі виявлених АФА переважала частка антикардіоліпінових антитіл (76,5 % проти 35,8 та 27,2 % АФА до PE та PS відповідно).

Аналіз виявлення АФА залежно від наявності та вираженості психосоматичних порушень показав (див. рис. 1), що частота значимих титрів АФА у 1-групі була 18,9 %, а при психосоматичних розладах вона була більш ніж у два рази вищою і склала 44,3 % ( $p < 0,05$ )

Поглиблений аналіз анамнестичних даних показав, що лише у 7 (11,5 %) жінок 2 групи підвищений рівень АФА сполучався з одним або кількома клінічними критеріями АФС (випадки підтвердженого інструментально або морфологічно судинного тромбозу, втрата морфологічно нормального плода після 10 тижнів вагітності, передчасні пологи до 34 тижнів вагітності внаслідок прееклампсії або вираженої плацентарної недостатності, 3 і більше послідовних випадки спонтанних абортів до 10 тижнів вагітності без анатомічних аномалій матки або хромосомних порушень). У цих випадках діагноз АФС вважали підтвердженим, у інших 23 (37,7 %) жінок 2 групи та всіх 7 (18,9 %) жінок 1 групи не підтверджений клінічно підвищений рівень АФА визначають терміном «сумнівний АФС».

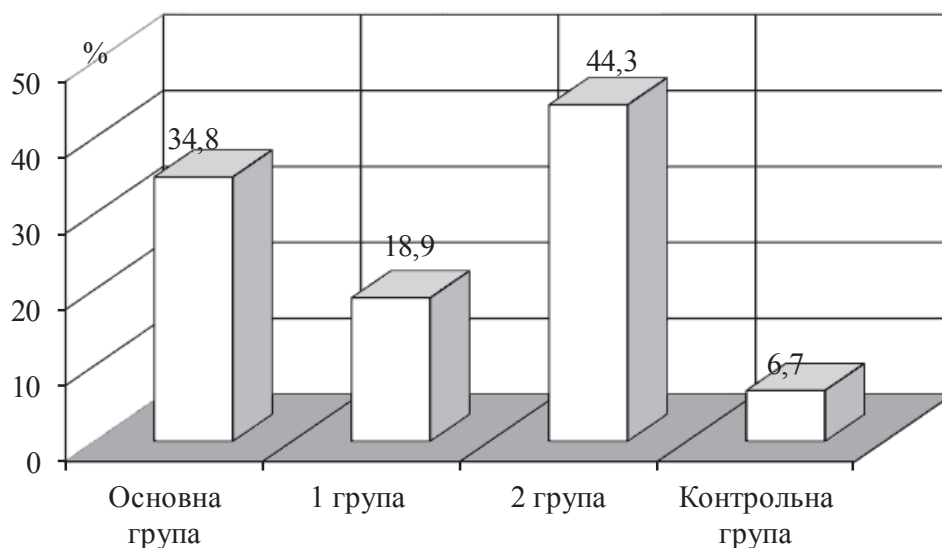


Рис. 1. Частота зустрічання АФА у жінок з безпліддям залежно від наявності та вираженості психосоматичних порушень

Дослідження системи гемостазу (табл. 1) виявило у пацієнток з безпліддям та психосоматичними розладами підвищення агрегації тромбоцитів на тлі відносної тромбоцитопенії, достовірно вищий ніж у 1-й групі та в контролі рівень фібриногену, суттєво подовжений АЧТЧ (до  $34,9 \pm 1,2$  с відносно  $29,2 \pm 1,0$  та  $26,3 \pm 1,2$  с у жінок 1-ї та контрольної груп,  $p < 0,05$ ) при достовірно підвищеному рівні D-димеру ( $328,1 \pm 37,6$  відносно  $186,2 \pm 15,4$  та  $158,3 \pm 18,4$  нг/мл,  $p < 0,05$ ). Такі

зміни вказують на певну схильність до гіперкоагуляції і тромбоемболії та часто асоціюють з АФС. При цьому відмічену також гіпергомоцистеїнемію у частини пацієнток даної групи, середнє значення концентрації показника склало  $10,5 \pm 0,36$  мкмоль/л проти  $5,7 \pm 0,32$  та  $5,0 \pm 0,24$  мкмоль/л у 1-ї та контрольній групі ( $p < 0,05$ ), що вказує на можливість пошкодження ендотелію судин і також асоціюють з АФС.

Таблиця 1

Показники системи гемостазу та рівень гомоцистеїну у жінок з безпліддям ( $M \pm m$ )

| Показник                            | Група жінок      |                      |                   |
|-------------------------------------|------------------|----------------------|-------------------|
|                                     | 1,<br>n = 32     | 2,<br>n = 61         | Контроль,<br>n=30 |
| Кількість тромбоцитів, $10^9$ /л    | $278,2 \pm 17,4$ | $231,4 \pm 15,5$     | $341,3 \pm 18,4$  |
| Індекс АДФ-індукованої агрегації, % | $48,3 \pm 6,2$   | $[58,8 \pm 4,6]^*$   | $39,7 \pm 6,8$    |
| Фібриноген, г/д                     | $3,0 \pm 0,21$   | $[4,2 \pm 0,26]^8$   | $2,8 \pm 0,40$    |
| Протромбіновий індекс, %            | $92,2 \pm 8,5$   | $107,4 \pm 13,6$     | $85,1 \pm 6,7$    |
| АЧТЧ, с                             | $29,2 \pm 1,0$   | $34,9 \pm 1,2$       | $26,3 \pm 1,2$    |
| D-димер, нг/мл                      | $186,2 \pm 15,4$ | $[328,1 \pm 37,6]^*$ | $158,3 \pm 18,4$  |
| Гомоцистеїн, мкмоль/л               | $5,7 \pm 0,32$   | $10,5 \pm 0,36$      | $5,0 \pm 0,24$    |

Примітки: \* - різниця достовірна щодо показника жінок групи 1 ( $p < 0,05$ ).

Генетичне дослідження поліморфних локусів C148T та -455GA гену  $\beta$ -fibrinogen, які асоціюють з АФС та репродуктивними розладами у жінок, встановило, що у групі жінок з безпліддям без психосоматичних розладів частота мінорних алелів даних локусів була у межах чисел,

відомих з літературних джерел (16-29 %), тоді як у пацієнток з психосоматичним розладами вона перевищувала 40 %, так частота мінорного алеля T поліморфного локусу C148T склала 45,9 проти 25,0 % у жінок 1 групи ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 2

Частота мутантних алелей поліморфних локусів гену  $\beta$ -fibrinogen у жінок з безпліддям

| Показник                                    | Група жінок |      |           |       |
|---|-------------|------|-----------|-------|
|   | 1, n = 32   |      | 2, n = 61 |       |
|   | абс.ч       | %    | абс.ч     | %     |
| мінорний алель T поліморфного локусу C148T  | 8           | 25,0 | 28        | 45,9* |
| мінорний алель A поліморфного локусу -455GA | 10          | 31,3 | 25        | 41,0  |

Примітка: \* - різниця достовірна щодо показника жінок групи 1 ( $p < 0,05$ ).

Аналіз ефективності застосування ДРТ у пацієнток обстежених груп показав наступне: вагітність настала майже у половини жінок 1 групи (46,8 %) і лише у 14 (23,0 %) пацієнток з психосоматичними розладами ( $p < 0,05$ ), що може бути обумовлено високою частотою встановлених у них протромботичних показників, які асоціюються з АФС і можуть бути прогностичними факторами ризику неефективності ДРТ:

- підвищення рівня АФА (відношення шансів ВШ = 2,4; довірчий інтервал ДІ 0,7–8,7,  $p > 0,05$ );
- зниження кількості тромбоцитів (ВШ = 3,1; ДІ 0,4 – 26,7,  $p > 0,05$ );
- зростання індексу АДФ-індукованої агрегації (ВШ = 2,8; ДІ 0,6 – 14,2,  $p > 0,05$ );
- підвищення рівня фібриногену (ВШ = 3,4; ДІ 0,7 – 17,0,  $p > 0,05$ );



- подовження АЧТЧ (ВШ = 3,1; ДІ , 0,6 – 15,6,  $p > 0,05$ );
- підвищення рівня D-димеру (ВШ = 1,3; ДІ 0.3 – 5.3,  $p > 0,05$ );
- підвищення рівня гомоцистеїну (ВШ = 2,8; ДІ 0,6 – 14.2,  $p > 0,05$ );
- наявність мінорного алелю Т поліморфного локусу C148T гену  $\beta$ -fibrinogen (ВШ = 4.2; ДІ 1,0 – 16.9,  $p < 0,05$ ).

Як видно з розрахунку відношення шансів найбільш значимий вплив на ефективність ДРТ у жінок з безпліддям та психосоматичними розладами серед розглянутих показників має генетична обумовленість – наявність мінорного алелю Т поліморфного локусу C148T гену  $\beta$ -fibrinogen (ВШ = 4.2; ДІ 1,0 – 16.9,  $p < 0,05$ ).

Нами встановлено більш ніж п'ятикратне підвищення частоти виявлення значимих титрів АФА у жінок з безпліддям, що вказує на можливість аутоімунних та тромбоваскулярних порушень, які обумовлюють ризик неефективності ДРТ та невиношування вагітності, що відповідає результатам інших досліджень [9, 29, 30, 32, 33].

Аналіз виявлення АФА залежно від наявності та вираженості психосоматичних порушень показав, що частота значимих титрів АФА при психосоматичних розладах у пацієнток з безпліддям була більш ніж у два рази вищою і склала 44,3 % проти 18,9 % ( $p < 0,05$ ), подібних даних у доступній нам літературі ми не виявили, але такий результат може пояснюватись тісною сполученістю з різною соматичною патологією, зокрема ендокринною та кардіоваскулярною [7, 21].

Поглиблений аналіз анамнестичних даних показав, що лише у 11,5 % цих жінок підвищений рівень АФА сполучався з одним або кількома клінічними критеріями АФС, у цих випадках діагноз АФС вважають підтвердженням [6], у 18,9 % жінок не підтверджений клінічно підвищений рівень АФА визначають терміном «сумнівний АФС», однак авторами показано [5], що у цих випадках мова йде про так звані «кофакторне-залежні антифосфоліпідні антитіла», які все ж асоціюються з підвищеним ризиком характерних репродуктивних та акушерських ускладнень, вказують на певні імунорегуляторні порушення та ризик аутоімунних змін у майбутньому.

Дослідження системи гемостазу виявили у пацієнток з безпліддям та психосоматичними розладами певну схильність до гіперкоагуляції і тромбоутворення, що асоціюють з АФС [2, 10,

20]. При цьому у частини пацієнток даної групи відмітили гіпергомоцистеїнемію, яка вказує на можливість пошкодження ендотелію судин [14] і також асоціюється з АФС [8].

При дослідженні поліморфних локусів C148T та -455GA гену  $\beta$ -fibrinogen, які ряд дослідників пов'язують з АФС та репродуктивними розладами у жінок [1, 12, 34], ми встановили, що у групі жінок з безпліддям без психосоматичних розладів частота мінорних алелів даних локусів була у межах чисел, відомих з літературних джерел (16-29 %) [17, 25, 28], тоді як у пацієнток з психосоматичним розладами вона перевищувала 40 %.

Провівши аналіз відношення шансів досліджених протромботичних показників, ми показали їх вплив на ефективність ДРТ у жінок з безпліддям та психосоматичними розладами, що співвідноситься з даними інших дослідників, які проте при цьому не враховували наявність психосоматичних розладів [19, 30, 33]. Найбільше значення серед розглянутих показників, за нашими даними, має генетична обумовленість – наявність мінорного алелю Т поліморфного локусу C148T гену  $\beta$ -fibrinogen (ВШ = 4.2; ДІ 1,0 – 16.9,  $p < 0,05$ ).

## ВИСНОВКИ

Для жінок з безпліддям та психосоматичними розладами характерна висока частота підвищення рівня антифосфоліпідних антитіл та інших протромботичних станів (зрушення в системі гемостазу в бік тромбоутворення та підвищення коагуляційного потенціалу, гіпергомоцистеїнемія, носійство мутантних алелів поліморфних локусів гену  $\beta$ -fibrinogen), що асоціюються з антифосфоліпідним синдромом.

Виділені фактори, що негативно впливають на ефективність застосування допоміжних репродуктивних технологій у пацієнток з психосоматичними розладами: підвищення рівня АФА (ВШ = 2,4); зниження кількості тромбоцитів (ВШ = 3,1); зростання індексу АДФ-індукованої агрегації (ВШ = 2,8); підвищення рівня фібриногену (ВШ = 3,4), подовження АЧТЧ (ВШ = 3,1); підвищення рівня D-димеру (ВШ = 1,3); підвищення рівня гомоцистеїну (ВШ = 2,8); наявність мінорного алелю Т поліморфного локусу C148T гену  $\beta$ -fibrinogen (ВШ = 4.2). Найбільше значення серед розглянутих показників, за нашими даними, має генетична обумовленість – наявність мінорного алелю Т поліморфного локусу C148T гену

$\beta$ -fibrinogen. Перераховані показники можуть бути прогностичними маркерами неефективності допоміжних репродуктивних технологій у пацієнтів з психосоматичними розладами.

Наявність протромботичних станів, що асоціюються з АФС, необхідно враховувати при підготовці до допоміжних репродуктивних технологій та проводити їх відповідну корекцію.

## REFERENCES

1. Alÿssio, A.M., Siqueira, L.H., de Carvalho E.C., Barini R., Mansur Ade P., Hoehr N.F., & Annichino-Bizzacchi J.M. (2008). Estrogen receptor alpha and beta gene polymorphisms are not risk factors for recurrent miscarriage in a Brazilian population. *Clin Appl Thromb Hemost.* 14(2),180-5.
2. Bao, S.H., Sheng, S.L., Liao, H., Zhou, Q., Frempong, S.T., & Tu, W.Y. (2017). Use of D-dimer measurement to guide anticoagulant treatment in recurrent pregnancy loss associated with antiphospholipid syndrome. *Am J Reprod Immunol.* 78(6). doi: 10.1111/aji.12770.
3. Boivin, J., & Gameiro S. (2015). Evolution of psychology and counseling in infertility. *Fertil Steril.*, 104(2):251-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.05.035.
4. Chan W.S. (2009).The 'ART' of thrombosis: a review of arterial and venous thrombosis in assisted reproductive technology. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 21 (3), 207–18. doi: 10.1097/GCO.0b013e328329c2b8.
5. Chernyshov V., Dons'koi B., Vodyanik M. (2011). Anti-idiotypic regulation of cofactor-independent antiphospholipid antibodies. *Central European Journal of Immunology*, 36 (4), 220-5.
6. Chighizola, C. B., Ubiali, T., & Meroni, P. L. (2015). Treatment of Thrombotic Antiphospholipid Syndrome: The Rationale of Current Management—An Insight into Future Approaches. *Journal of Immunology Research*, 951424. <http://doi.org/10.1155/2015/951424>
7. da Silva, F.F., Levy, R.A., & de Carvalho, J.F. (2014). Cardiovascular risk factors in the antiphospholipid syndrome. *J Immunol Res.* 621270. doi: 10.1155/2014/621270.
8. de Souza, A.W., Silva N.P., de Carvalho, J.F., D'Almeida, V., Noguti, M.A., & Sato, E.I. (2007). Impact of hypertension and hyperhomocysteinemia on arterial thrombosis in primary antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 16(10),782-7.
9. Di Nisio M., Rutjes A.W., Ferrante, N., Tiboni, G.M., Cuccurullo, F., & Porreca, E. (2011). Thrombophilia and outcomes of assisted reproduction technologies: a systematic review and meta-analysis. *Blood*, 118 (10), 2670-8. doi: 10.1182/blood-2011-03-340216.
10. Fabris, M., Cifci, A., Pistis, C., Siega-Ducaton, M., Fontana, D.E., Giacomello, R., Tonutti, E., Curcio, F. (2017). Exploring the plasmatic platelet-activating factor acetylhydrolase activity in patients with anti-phospholipid antibodies. *Auto Immun Highlights*, 8 (1): 5. doi: 10.1007/s13317-017-0092-7. Epub 2017 Mar 25.
11. Islam, Md.A., Alam, F., Kamal, M.A., Wong, K.K., Sasongko, T.H., & Gan, S.H. (2016). *CNS & Neurological Disorders. Drug Targets*, 15 (10), 1253 - 1265. doi: <https://doi.org/10.2174/1871527315666160920122750>.
12. Jeddi-Tehrani, M., Torabi, R., Zarnani, A.H., Mohammadzadeh, A., Arefi, S., Zeraati, H., Akhondi, M.M., Chamani-Tabriz, L., Idali, F., Emami, S., & Zarei, S. (2011). Analysis of plasminogen activator inhibitor-1, integrin beta3, beta fibrinogen, and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in Iranian women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.*, 66(2),149-56. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00974.x.
13. Kasum, M., Danolić, D., Orešković, S., Ježek, D., Beketić-Orešković L. & Pekez M.(2014). Thrombosis following ovarian hyperstimulation syndrome, *Gynecological Endocrinology*, 30 (11), 764-8, doi: 10.3109/09513590.2014.927858
14. Lai, W.K., & Kan, M.Y. (2015). Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction. *Ann Nutr Metab.*, 67(1),1-12. doi: 10.1159/000437098.
15. Lampe, A., & Schöler, G. (2015). Psychosocial factors in reproductive medicine. *Z Psychosom Med Psychother*, 61(4):309-26. doi: 10.13109/zptm.2015.61.4.309.
16. Levy, G., & Lucidi, R. S. (2011). Thrombophilia and Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Case Report. *Hawaii Medical Journal*, 70(5), 97–98.
17. Madjunkova, S., Volk, M., Peterlin, B., & Plaseska-Karanfilska, D. (2012). Detection of thrombophilic mutations related to spontaneous abortions by a multiplex SNaPshot method. *Genet. Test Mol. Biomarkers.* 16 (4), 259–64. doi: 10.1089/gtmb.2011.0173.
18. Mascarenhas, M.N., Flaxman, S.R., Boerma, T., Vanderpoel, & S., Stevens, G.A. (2012). National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLoS Med.*, 9(12): e1001356. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>
19. Mashkova, T.Ia. (2015). Trombofilii i neudachi JeKO [Thrombophilia and failure of IVF]. *Akusherstvo, ginekologija i reprodukcija.* 9 (3): 17-21 (in Russian). DOI: 10.17749/2070-4968.2015.9.3.017-021
20. Masliah-Planchon, J., & Darnige, L. (2012). Antiphospholipid antibodies and haemostasis. *Rev Med Interne*, 33 (4), 181-8. doi: 10.1016/j.revmed.2011.10.008.

21. Mehdi, A.A., Salti, I., & Uthman I. (2011). Antiphospholipid syndrome: endocrinologic manifestations and organ involvement. *Semin Thromb Hemost.*, 37(1), 49-57.
22. Messerlian, C., Gaskins, A.J. (2017). Epidemiologic Approaches for Studying Assisted Reproductive Technologies: Design, Methods, Analysis and Interpretation. *Curr Epidemiol Rep.*, 4(2):124-32. doi: 10.1007/s40471-017-0105-0.
23. Negrini, S., Pappalardo, F., Murdaca, G. Indiveri, F., & Puppo, F. (2017). The antiphospholipid syndrome: from pathophysiology to treatment. *Clin Exp Med*, 17 (3), 257-267. doi: <https://doi.org/10.1007/s10238-016-0430-5>
24. Nelson, S.M. (2013). Venous thrombosis during assisted reproduction: novel risk reduction strategies. *Thromb Res.* 131 (1), S1-S3. [https://doi.org/10.1016/S0049-3848\(13\)00023-6](https://doi.org/10.1016/S0049-3848(13)00023-6)
25. Oszejca K., Wroński K., Janiszewska G., Bieńkiewicz M., Panek M., Bartkowiak J., & Szemraj J. (2012). Association analysis of genetic polymorphisms of factor V, factor VII and fibrinogen  $\beta$  chain genes with human abdominal aortic aneurysm. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 4 (3), 514-8. doi: 10.3892/etm.2012.608
26. Rao, A.K., Chitkara, U., & Milki, A.A. (2005). Subclavian vein thrombosis following IVF and ovarian hyperstimulation: a case report. *Hum Reprod.*, 20 (12), 3307-12. <https://doi.org/10.1093/humrep/dei235>
27. Rova K, Passmark H, & Lindquist PG. Venous thromboembolism in relation to in vitro fertilization: an approach to determining the incidence and increase in risk in successful cycles. *Fertil Steril* 2012;97:95-100. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.10.038.
28. Rupert, J.L., Devine, D.V., Monsalve, M.V., & Hochachka, P.W. (1999). Beta-fibrinogen allele frequencies in Peruvian Quechua, a high-altitude native population. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 109 (2), 181-6. doi: 10.1002/(SICI)1096-8644(199906)109:2<181::AID-AJPA4>3.0.CO;2-Y
29. Saccone, G., Berghella V., Maruotti, G.M., Ghi, T., Rizzo, G., Simonazzi, G., Rizzo, N., Facchinetti, F., Dall'Asta, A., Visentin, S., Sarno, L., Xodo, S., Bernabini, D., Monari, F., Roman, A., Eke, AC., Hoxha, A., Ruffatti, A., Schuit, E., Martinelli, P.; PREGNANTS (pregnancy in women with antiphospholipid syndrome) working group. (2017). Antiphospholipid antibody profile based obstetric outcomes of primary antiphospholipid syndrome: the PREGNANTS study. *Am J Obstet Gynecol*, 216, 525.e1-12. doi: 10.1016/j.ajog.2017.01.026
30. Sauer R., Roussev R., Jeyendran R.S., & Coulam, C.B. (2010). Prevalence of antiphospholipid antibodies among women experiencing unexplained infertility and recurrent implantation failure. *Fertil Steril.*, 93 (7): 2441-3. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.08.062>
31. Sennström, M., Rova, K., Hellgren, M., Hjertberg, R., Nord, E., Thurn, L., Lindqvist, P.G. (2017). Thromboembolism and in vitro fertilization - a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand.*;96(9),1045-52. doi: 10.1111/aogs.
32. Song, Y., Wang, H.-Y., Qiao, J., Liu, P., & Chi, H.-B. (2017). Antiphospholipid Antibody Titers and Clinical Outcomes in Patients with Recurrent Miscarriage and Antiphospholipid Antibody Syndrome: A Prospective Study. *Chinese Medical Journal*, 130(3), 267-272. <http://doi.org/10.4103/0366-6999.198934>
33. Stuleva N.S., Khizroeva D.Kh., Mashkova T.Ia. & Abramian G.R. (2015). Cirkuljacija antifosfolipidnyh antitel i neudachi JeKO [Circulation of antiphospholipid antibodies and IVF failures]. *Akusherstvo, ginekologija i reprodukcija*, 9 (3), 6-10 (in Russian). DOI: 10.17749/2070-4968.2015.9.3.006-010
34. Tatarchuk T.F., Giulmamedova I.D., Rossokha Z.I. , Zadoorozhnaia T.D., Giulmamedova E.Iu. (2015). Beremennost' i rody posle cikla VRT u pacientki s mutaciej gena receptora FSG, vtorichnoj amenoreej, gipoplaziej matki i narusheniem receptivnosti jendometrija [Pregnancy and childbirth after the ART cycle in a patient with a mutation of the FSH receptor gene, secondary amenorrhoea, uterine hypoplasia and impaired endometrial receptivity] *Reproduktyvna endokrynologhiia*, 6 (26), 72-5. (in Russian) doi: <http://dx.doi.org/10.18370/2309-4117.2015.26.72-7>
35. Yelnik, C.M., Kozora, E., & Appenzeller, S. (2016). Non-stroke Central Neurologic Manifestations in Antiphospholipid Syndrome. *Curr Rheumatol Rep.*,18(2),11. doi: 10.1007/s11926-016-0568-x.

## РЕЗЮМЕ

### ЗНАЧЕНИЕ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ И ПСИХОСОМАТИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ

БОЙЧУК О.Г., КОЛОМИЙЧЕНКО Т.В.,  
КАМИНСКИЙ А.В.

Неудачи экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) могут быть связаны с протромботическими состояниями, циркуляцией антифосфолипидных антител (АФА). Цель исследования - установить значение антифосфолипидных антител в эффективности лечения бесплодия метода-



ми вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с психосоматическими расстройствами. **Материалы и методы исследования.** Обследовали 93 женщины с бесплодием: 1 группа - 32 женщины без выраженных психосоматических расстройств; 2 группа - 61 женщина с психосоматическими расстройствами. Контрольную группу составили 30 фертильных женщин. Проводили определение в сыворотке крови уровня АФА в мембранных фосфолипидах (фосфатидилетаноламина, фосфатидилсерину, кардиолипину), показателей системы гемостаза (количество тромбоцитов, концентрация фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время - АЧТВ, D-димер), гомоцистеин, молекулярно-генетическое исследование полиморфных вариантов по генам  $\beta$ -fibrinogen (C148T, -455GA). **Результаты исследования и их обсуждение.** Частота значимых титров АФА в группе женщин без психосоматических нарушений была 18,9%, а при их наличии - 44,3%. Только у 11,5% женщин 2 группы повышенный уровень АФА сочетался с одним и более клиническими критериями антифосфолипидного синдрома (АФС). У пациенток с бесплодием и психосоматическими расстройствами обнаружили повышение агрегации тромбоцитов на фоне относительной тромбоцитопении, высокий уровень фибриногена, удлиненное АЧТВ при повышенном уровне D-димера. У части пациенток отмечена гипергомоцистеинемия. У пациенток с психосоматическими расстройствами частота минорных аллелей локусов C148T и -455GA гена  $\beta$ -fibrinogen превышала 40% (против 25-30% в 1 группе). **Выводы.** Выделены факторы, негативно влияющие на эффективность применения ЭКО у пациенток с психосоматическими расстройствами: повышение уровня АФА; снижение количества тромбоцитов; рост индекса АДФ-индуцированной агрегации; удлинение АЧТВ; повышение уровня фибриногена, D-димера; гомоцистеина; наличие минорного аллеля T полиморфного локуса C148T гена  $\beta$ -fibrinogen. Наличие протромботических состояний, ассоциированных с АФС, необходимо учитывать при подготовке к ЭКО и проводить соответствующую их соответствующую коррекцию. **Ключевые слова:** экстракорпоральное оплодотворение, антифосфолипидный синдром, система гемостаза, ген  $\beta$ -fibrinogen

## SUMMARY

### PROTHROMBOTIC STATES IN WOMEN WITH INFERTILITY AND PSYCHOSOMATIC DISORDERS

BOYCHUK O.G., KOLOMIICHCHENKO T.V., KAMINSKYI A.V.

Failures of in vitro fertilization (IVF) may be associated with prothrombotic states, the circulation of antiphospholipid antibodies (APA). **The aim of the study** was to establish the value of antiphospholipid antibodies in the effectiveness of infertility treatment by assisted reproductive technologies in women with psychosomatic disorders. **Material and methods.** 93 women with infertility were screened: 1 group - 32 women without severe psychosomatic disorders; group 2 - 61 women with psychosomatic disorders. The control group consisted of 30 fertile women. **Results.** Definition in the blood serum of the level of AFA to membrane phospholipids (phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine, cardiolipin), hemostasis (platelet count, ADP-induced platelet aggregation index, fibrinogen concentration, prothrombin index, activated partial thromboplastin time - APTT, D-dimer), homocysteine, molecular genetic study of polymorphous variants for  $\beta$ -fibrinogen (C148T, -455GA) genes. The frequency of significant AFA titres in the group of women without psychosomatic disorders was 18.9%, and if they were present - 44.3%, respectively. Only in 11.5% of women in 2 groups, elevated levels of APA were associated with one or more clinical criteria for antiphospholipid syndrome (APS). In patients with infertility and psychosomatic disorders, increased platelet aggregation in the context of relative thrombocytopenia, higher fibrinogen levels, soluble fibrin-monomeric complexes, and prolonged APTT with elevated D-dimer levels. Some patients have hyperhomocysteinemia. In patients with psychosomatic disorders, the frequency of the minor alleles of the locus C148T and -455GA of the  $\beta$ -fibrinogen gene was greater than 40% (25-30% in group 1). **Conclusions.** Allocated factors that adversely affect the efficiency of IVF at the patients with psychosomatic disorders: elevation of APA; reduction in the number of platelets; growth of the ADP-induced aggregation index; extension of APTT; increase of fibrinogen, D-dimer; homocysteine; the presence of the minor allele of the T polymorphic locus C148T of the  $\beta$ -fibrinogen gene. The presence of prothrombotic states associated with APS should be taken into account when preparing for IVF and make the appropriate correction for them.

**Keywords:** in vitro fertilisation, antiphospholipid syndrome, hemostasis system,  $\beta$ -fibrinogen gene