

Досвід ведення вагітності у жінок з невиношуванням вагітності в умовах тромбофілії

З.М. Дубоссарська, Ю.М. Дука

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

У статті розглядаються питання впливу різноманітних форм генетичної тромбофілії та їх комбінації на ризики виникнення ускладнень вагітності: від безпліддя, пре-ембріональних втрат, невдач екстракорпорального запліднення до синдрому втрати плода, гіпертензивних порушень під час вагітності і тромбогеморагічного синдрому. Обговорюються питання впливу наявності поліморфізму генів тромбофілії на виникнення дефектів інвазії трофобласта. Представлено наукове і практичне обґрунтування застосування низькомолекулярних гепаринів у профілактиці акушерських ускладнень.

Ключові слова: вагітність, невиношування, тромбофілія, перинатальні наслідки.

Протягом існування наукового акушерства порушення в системі гемостазу – синдром дисемінованого згортання (ДВЗ-синдром) традиційно розглядали як вторинне явище по відношенню до типових патологічних синдромів, що виникають під час вагітності: передчасне відшарування нормально розташованої плаценти (ПВНRP), прееклампсії, септичний шок, синдром «мертвого плода» [1, 2].

З початком бурхливого розвитку клінічної гемостазиології та імунології в 80–90 роках ХХ століття один за іншим було відкрито низку генетичних форм тромбофілії, включаючи мутацію F.V. Leiden, мутацію протромбіну G20210A, поліморфізми генів, що контролюють систему фібринолізу, PAI-1 4G/5G, поліморфізми тканинного активатора плазміногена t-t-PA I/D, фібриногену 455 A/G, чинника XII тощо, і антифосфоліпідний синдром (АФС). Актуалізувались дослідження ролі гіпергомоцистемії в розвитку атеротромбозу і венозних тромбоемболій, а також ролі генетичної і набутої тромбофілії в етіології та патогенезі типово акушерських ускладнень – прееклампсії, невиношування вагітності, синдрому затримки росту плода (СЗРП), антенатальної загибелі плода (АЗП), ПВНRP, що визначають перинатальну захворюваність та смертність [2–4].

Тромбофілія є невід'ємним етіопатогенетичним чинником ризику розвитку більшості акушерських ускладнень, нерідко поєднується з іншими системними синдромами, у тому числі SIRS, метаболічним синдромом, ДВЗ-синдромом, оксидативним стресом, ендотеліопатією [2]. Якщо раніше участь тромбофілії в патогенезі акушерських ускладнень розглядалася тільки з точки зору процесів мікротромбування судинного ложа і відповідно порушень матково-плацентарного кровотоку, в останні роки стали розглядати і вивчати нетромботичні ефекти тромбофілії в патогенезі акушерських ускладнень ще на етапі імплантації плодового яйця і в ранню ембріонічну фазу.

Ураховуючи наведене вище, просте визначення носійства поліморфізму генів тромбофілії не дає клініцистові повної картини процесів, що відбуваються. Потрібне правильне осмислення ефектів кожного гена і їхньої комбінації.

Мета дослідження: аналіз виявлення поліморфізму генів тромбофілії, їх поєднання у вагітних з невиношуванням вагітності, міра їхнього впливу на перебіг гестації, з подальшим оцінюванням ефективності проведеної терапії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досягнення поставленої мети були обстежені 174 жінки із загрозою невиношування вагітності у віці від 20 до 41 року (середній вік – $30,7 \pm 0,4$ року), які перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні медицини плода та патології ранніх термінів вагітності комунального закладу «Дніпропетровський обласний перинатальний центр зі стаціонаром «ДОР».

Сто дев'ятнадцять (68,4%) вагітних із загрозою невиношування вагітності на тлі надмірної маси тіла склали основну групу дослідження. Групу порівняння склали 55 (31,6%) вагітних із зазначеними вище симптомами, у яких індекс маси тіла (ІМТ) не перевищував рекомендований ВООЗ показник. Середній вік вагітних в основній групі склав $30,9 \pm 0,4$ року (95% ДІ – 30,0–31,8), в групі порівняння – $30,3 \pm 0,6$ року (95% ДІ – 29,1–31,5) ($p=0,463$ між групами за t-критерієм). Середній гестаційний вік на момент взяття на облік дорівнював $9,24 \pm 0,57$ (95% ДІ – 8,10–10,37) тиж і $8,42 \pm 0,69$ (95% ДІ – 7,03–9,81) тиж відповідно по групах ($p=0,399$ за t-критерієм). Таким чином, за даними показниками виділені клінічні групи були статистично співставні ($p>0,05$).

Надлишкову масу тіла мали 50 (42,0%) жінок основної групи, ожиріння I ступеня – 58 (48,7%), II–III ступеня – 11 (9,3%) вагітних, середній ІМТ – $30,5 \pm 0,3$ (95% ДІ – 29,9–31,1) $\text{кг}/\text{м}^2$. У жінок групи порівняння ІМТ в середньому складав $21,3 \pm 0,2$ (95% ДІ – 20,8–21,8) $\text{кг}/\text{м}^2$ ($p<0,001$ між групами за t-критерієм).

Окрім досліджень, що регламентовані Наказами МОЗ України, за індивідуальної згоди жінки, проведено дослідження на 12 генетичних варіантів поліморфізму генів тромбофілії за допомогою комплексу реагентів компанії «ДНК-технологія» (Росія) методом ПЛР у режимі реального часу. Для зручності розрахунків кожний геном (гомозигота за алелем 1 (нормальна гомозигота), гетерозигота та гомозигота за алелем 2 (патологічна гомозигота) кодували цифрами 0, 1, 2 відповідно. Додатково визначали рівні гомотестіну (ГЦ), значення якого трактувались залежно від триместру вагітності, тому що фізіологічною особливістю під час вагітності є його зниження в міру прогресування терміну гестації: для I триместру вагітності нормальним вважався рівень ГЦ $<5,6$ мкмоль/л, для II триместру – $<4,3$ мкмоль/л, для III триместру – $<3,3$ мкмоль/л.

Статистичне оброблення матеріалів дослідження проводили з використанням пакету програм STATISTICA v.6.1® [5]. Результати для кількісних ознак, розподіл яких відповідав нормальному закону за критерієм Колмогорова–Смірнова, представлені у вигляді кількості спостережень (n), середньої арифметичної (M), стандартної похибки ($\pm m$), 95% довірчого інтервалу для середньої (95% ДІ), в інших випадках наводяться медіана (Me) та інтерквартильний розмах [25%; 75%]. Порівняння статистичних характеристик в різних групах проводили з використанням параметричних і непараметричних критеріїв (з урахуванням закону розподілу): перевірка рівності дисперсій – за критерієм Фішера (F); достовірність відмінностей середніх – за критеріями

Характеристика виявлених поліморфізмів генів тромбофілії

Ген	Поліморфізм	Результат	Основна група (n=119)	Група порівняння (n=55)	r (p)
F2-протромбін (фактор II згортання)	F2: 20210 G>A	0	113 (95,0%)	55 (100%)	0,13 (p=0,091)
		1	6 (5,0%)	-	
F5-Лейдена (фактор V згортання)	F5: 1691 G>A	0	94 (79,0%)**	52 (94,5%)	0,20 (p=0,008)
		1	18 (15,1%)	3 (5,5%)	
		2	7 (5,9%)	-	
F7 (фактор VII згортання)	F7: 10976 G>A	0	75 (63,0%)*	44 (80,0%)	0,16 (p=0,037)
		1	41 (34,5%)*	10 (18,2%)	
		2	3 (2,5%)	1 (1,8%)	
F13A1 (фактор XIII згортання)	F13A1: 9 G>T	0	58 (48,7%)	33 (60,0%)	0,09 (p=0,224)
		1	53 (44,6%)	18 (32,7%)	
		2	8 (6,7%)	4 (7,3%)	
FGB-фібриноген (фактор I згортання)	FGB: -455 G>A	0	45 (37,8%)	27 (49,1%)	0,14 (p=0,069)
		1	53 (44,5%)	24 (43,6%)	
		2	21 (17,7%)	4 (7,3%)	
Серпін 1 (PAI-1) антагоніст тканинного активатора плазміногену	PAI: -675 5 G>4G	0	18 (15,1%)	15 (27,3%)	0,18 (p=0,020)
		1	53 (44,6%)	27 (49,1%)	
		2	48 (40,3%)*	13 (23,6%)	
ITGA2- α 2 інтегрін (тромбоцитарний рецептор колагену)	ITGA2-62: 807 C>T	0	53 (44,5%)	20 (36,4%)	-0,11 (p=0,154)
		1	53 (44,5%)	24 (43,6%)	
		2	13 (11,0%)	11 (20,0%)	
ITGB3-в (тромбоцитарний рецептор фібриногену)	ITGB3-в: 1565 T>C	0	76 (63,9%)	37 (67,3%)	0,04 (p=0,591)
		1	40 (33,6%)	18 (32,7%)	
		2	3 (2,5%)	-	
MTHFR:677 (метилентетрагідрофолатредуктаза)	MTHFR:677 C>T	0	43 (36,1%)	21 (38,2%)	-0,02 (p=0,762)
		1	67 (56,3%)	26 (47,3%)	
		2	9 (7,6%)	8 (14,5%)	
MTHFR:1298 (метилентетрагідрофолатредуктаза)	MTHFR:1298 A>C	0	54 (45,4%)	33 (60,0%)	0,13 (p=0,083)
		1	53 (44,5%)	18 (32,7%)	
		2	12 (10,1%)	4 (7,3%)	
MTR (MTR:2756) – B ₁₂ -залежна метіонін-синтаза	MTR:2756 A>G	0	84 (70,6%)	31 (56,4%)	-0,16 (p=0,035)
		1	31 (26,0%)*	24 (43,6%)	
		2	4 (3,4%)	-	
MTRR (MTRR: 66 метіонін-синтаза-редуктаза)	MTRR: 66 A>G	0	31 (26,1%)	9 (16,4%)	-0,06 (p=0,451)
		1	53 (44,5%)	30 (54,5%)	
		2	35 (29,4%)	16 (29,1%)	

Примітка: * – p<0,05; ** – p<0,01 між групами за χ^2 ; r – коефіцієнт кореляції Спірмена (p – рівень значущості коефіцієнта кореляції).

Стьюдента (t) і Манна-Уїтні (U), відносних показників – за критерієм Хі-квадрат Пірсона (χ^2), в тому числі з поправкою Йетса (Yates). Для оцінювання взаємозв'язку між ознаками виконувався кореляційний аналіз з розрахунком коефіцієнтів рангової кореляції Спірмена (r). Критичне значення рівня значущості (p) приймалося $\leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Не виявлено достовірних відмінностей між групами як за паритетом вагітності: 3,0 [1,0; 4,0] вагітностей в основній групі проти 2,0 [1,0; 3,0] вагітностей в групі порівняння (p=0,224 за U-критерієм), так і за паритетом майбутніх пологів – 1,0 [1,0; 2,0] проти 1,0 [1,0; 1,0] відповідно (p=0,100 за

U). Проте у жінок з надмірною масою тіла ці показники були варіабельнішими: коефіцієнти варіації (С) дорівнювали 72,5% і 47,0% відповідно, в той час як при нормальному ІМТ варіація становила 55,9% і 40,6% (p<0,001 і p=0,037 за критерієм F). Первинне невиношування вагітності мало місце у 34 (28,6%) і 18 (32,7%) жінок обох клінічних груп (p=0,578 за критерієм χ^2), але вторинне невиношування частіше реєструвалось у жінок основної групи – 16 (13,4%) проти 2 (3,6%) жінок групи порівняння (p=0,048 за χ^2).

У 23 (19,3%) жінок основної та у 7 (12,7%) групи порівняння вагітність настала за допомогою допоміжних репродуктивних технологій – ДРТ (p=0,284 за χ^2). Однак лише в одній жінки першої групи та двох жінок – другої були відсутні маткові труби. В інших випадках ДРТ було застосо-

вано за наявності обох маткових труб, які були прохідні для контрасту, коли був виключений чоловічий фактор безпліддя та безпліддя імунологічного походження. Це можливо пояснити тим, що в процесі «дозованого» руйнування матриксу під дією ферментів, що виділяються бластоцистою, клітини ендометрія, які містять певну кількість екстравакульярного фібрину, не фагоцитуються, а немовби «відкидаються» за допомогою «контактного інгібування». В умовах гіпофібринолізу (як в результаті поліморфізму PAI-1, так і з інших причин) відбувається десинхронізація локальних процесів фібринолізу і фібриноутворення при імплантації. У такій ситуації протеаз, що синтезуються бластоцистою, стає недостатньо, щоб зруйнувати екстрацелюлярний матрикс в ендометрії і проникнути на достатню глибину.

Результати дослідження поліморфізму генів тромбофілії наведені в табл. 1.

Аналіз частот визначених поліморфізмів генів виявив статистично значущий зв'язок між наявністю надмірної маси тіла у жінок та мутацією факторів згортання крові F5-Лейдена ($r=0,20$; $p=0,008$) і F7 ($r=0,16$; $p=0,037$), гена Серпін-1 (PAI-1)-антагоніста тканинного активатора плазміногена ($r=0,18$; $p=0,020$) і гена MTR: 2756 – В₁₂-залежної метіонін-синтази ($r= -0,16$; $p=0,035$). Зокрема, гетерозиготні і патологічні форми генів F5 і F7 у жінок основної групи виявлено в 21,0% і 27,0% випадків, у той час як у жінок з нормальною масою тіла таких випадків було 5,5% і 20,0% відповідно ($p=0,009$ і $p=0,025$ за критерієм χ^2). Патологічні гомозиготи гена Серпін-1 у жінок з надмірною масою тіла відзначались частіше в 1,7 рази (40,3% проти 23,6%; $p=0,032$). Гетерозиготна мутація гена MTR: 2756, навпаки, була більш характерною для жінок групи порівняння – 43,6% проти 26,0% ($p=0,020$).

Привертав увагу той факт, що 68 (57,1%) жінок основної групи та 35 (63,6%) групи порівняння в анамнезі мали завмерлі вагітності до 12 тиж ($p=0,418$ за χ^2), що частіше асоціювалося з мутацією в гені MTR: 2756 – 37 (35,9%) проти 3 (11,5%) випадків у жінок, у яких не було втрат вагітності ($p=0,016$ за χ^2). Втрати вагітності після 12 тиж мали 12 (10,1%) та 2 (3,6%) вагітні відповідно ($p=0,146$ за критерієм χ^2).

При оцінюванні рівня плацентатії були відзначені деякі особливості: у 38 (31,9%) та 22 (40,0%) пацієнток відповідно мала місце низька плацентатія ($p=0,298$), що часто служило причиною для скарг на кров'янисті виділення зі статевих шляхів у вагітних. У 2 (1,7%) жінок основної групи та однієї (1,8%) вагітної групи порівняння виявлено повне передлежання плаценти, також в 2 (1,7%) випадках у жінок основної групи мало місце неповне передлежання плаценти.

При вивченні рівнів ГЦ за триместрами картина виглядала таким чином (табл. 2).

Статистично значущих взаємозалежностей рівнів ГЦ з ІМТ або мутацією генів фолатного циклу не виявлено ($p>0,05$). Водночас, ці показники у I і II триместрах були вищими у жінок з наявністю випадків втрати вагітності в анамнезі: $7,16\pm 0,19$ (95% ДІ – 6,77–7,54) проти $6,45\pm 0,25$ (95% ДІ – 5,94–6,95) в I триместрі ($p=0,027$ за t-критерієм); $5,69\pm 0,14$

(95% ДІ – 5,42–5,95) проти $5,15\pm 0,21$ (95% ДІ – 4,82–5,48) в II триместрі ($p=0,050$). Кількість спостережень за триместрами в обох групах була різною у зв'язку із втратами вагітності та недоношуванням під час спостереження.

Основні зусилля з попередження тяжких ускладнень вагітності були спрямовані на ранню діагностику та корекцію порушень в системі згортання крові. На першому етапі ведення вагітності призначали лікування ГПЦ: препарати фолієвої кислоти та вітаміни групи В, застосовували антиоксиданти (омега-3-поліненасичені жирні кислоти).

У I триместрі, перед початком лікування, визначали ознаки активації внутрішньосудинного згортання: визначали вміст Д-димеру як маркера тромбемії, концентрацію розчинних фібрин-мономерних комплексів у крові та реєстрували масу тіла вагітної. Якщо нагромадження Д-димера або розчинних фібрин-мономерних комплексів перевищують $0,5$ мкгФЕО/мл або $0,2$ мг/л відповідно впливали підшкірними ін'єкціями надропарину (фраксипарин) або беміпарину (цибор), як низькомолекулярними гепаринами (НМГ), з розрахунку по $0,3$ – $0,6$ мл/добу або 2500 – 3500 МО антифактора-Ха відповідно, під стаціонарним контролем рівнів тромбоцитів і кальцію, кожні 5 і 14 днів відповідно до нормалізації показників тромбемії. Рівні тромбоцитів і кальцію підтримували на рівні $\geq 180 \times 10^9$ /л і $2,20$ – $2,55$ ммоль/л відповідно.

Призначення НМГ проводили з урахуванням тромботичних ускладнень в анамнезі та втрати вагітності, визначення поліморфізму генів тромбофілії, а також ІМТ. Контролювання стану згортальної системи крові перед початком лікування допускало реалізацію більш високого терапевтичного ефекту, спрямованого на поліпшення перебігу гестації та зниження ризику антенатальних і перинатальних втрат. Застосування цих ознак дозволяє визначати як моменти, так і режими надання стаціонарної та амбулаторної терапії. Вплив НМГ під час гестації, до 12-го тижня вагітності, у вигляді підшкірних ін'єкцій, сприяє переверженню терапевтичного ефекту без заподіяння побічних ускладнень. Введення $0,3$ – $0,6$ мл ін'єкцій надропарину або беміпарину 2500 – 3500 МО антифактора-Ха під контролем тромбоцитів і кальцію істотно знижує ризику виникнення ускладнень (тромбоцитопенії, виникнення внутрішніх та зовнішніх геморагій, нудоти, блювання), виключає вплив тромбофілії на перебіг вагітності. Для підвищення ефекту дозування НМГ коригували за ІМТ вагітної або породіллі та рівнями маркерів тромбемії (Д-димеру, розчинних фібрин-мономерних комплексів), числом тромбоцитів, рівнем кальцію на кожні 5 і 14 днів відповідно. Індивідуалізація дози НМГ за розрахунком ІМТ має значущість у зв'язку пов'язаності ожиріння з підвищеним ризиком розвитку венозних тромбозів. Нормалізація дози протягом гестаційного процесу посилює терапевтичний курс. Надропарин кальцію та беміпарин натрію не проникають крізь плаценту, покращують процеси імплантації, інвазію трофобласта та плацентатію у ранні терміни вагітності, запобігають тромбуванню судин плаценти та утворенню макротромбозів у більш пізній час.

Таблиця 2

Рівні ГЦ (ммоль/л) у жінок тематичних груп за триместрами вагітності

Триместри	Основна група		Група порівняння		p між групами за t-критерієм
	n	M±m (95%ДІ)	n	M±m (95%ДІ)	
I	117	6,84±0,20 (6,46-7,23)	53	7,03±0,25 (6,53-7,53)	0,573
II	115	5,61±0,14 (5,32-5,90)	49	5,34±0,19 (4,95-5,72)	0,283
III	108	4,84±0,14 (4,56-5,12)	48	4,51±0,16 (4,20-4,83)	0,166

Примітка: у всіх випадках порівнянь середніх рівнів ГЦ в групах в динаміці спостереження $p<0,001$ порівняно з I триместром за t-критерієм Стьюдента для залежних вибірок.

ВИСНОВКИ

1. Вагітність є унікальним тестом або іспитом наявності прихованої тромбофілії і сприяє її фенотипічному прояву.
2. У клінічній практиці інформація про наявність або відсутність тромбофілії вкрай важлива з практичної точки зору. Присутність тромбофілії погіршує перинатальні результати і гострі ускладнення вагітності.

Опыт ведения беременности у женщин с невынашиванием беременности в условиях тромбофилии
З.М. Дубоссарская, Ю.М. Дука

В статье рассматриваются вопросы влияния разнообразных форм генетической тромбофилии и их комбинации на риски возникновения осложнений беременности: от бесплодия, преембринальных потерь, неудач экстракорпорального оплодотворения до синдрома потери плода, гипертензивных нарушений во время беременности и тромбгеморрагического синдрома. Обсуждаются вопросы влияния наличия полиморфизма генов тромбофилии на возникновение дефектов инвазии трофобласта. Дано научное и практическое обоснование применения низкомолекулярных гепаринов в профилактике акушерских осложнений.

Ключевые слова: беременность, невынашивание, тромбофилия, перинатальные исходы.

3. Застосування низькомолекулярних гепаринів як базового препарату в комплексі профілактичних заходів з ранніх термінів вагітності (у пацієток зі звичним невиношуванням вагітності, що зумовлене тромбофілічним станом, і високим рівнем молекулярних маркерів тромбінемії) дозволяє мінімізувати терміни антикоагулянтної терапії та попередити повторні репродуктивні втрати.

Experience of conducting pregnancy at women with pregnancy losses in the conditions of thrombophilia
Z.M. Dubossarskaya, Y.M. Duka

In article considered the general pathological role of different forms of thrombophilia and their combination on risks of emergence of complications of pregnancy: from infertility, preembryonic losses, IVF failures to a syndrome of loss of pregnancy, preeclampsia, thrombosis and bleeding syndrome. The role of polymorphism of genes of a thrombophilia on emergence in the defective of trophoblast invasion. It was given a scientific explanation of multistage and multiple-factor therapy which considers use of low-molecular heparins in the prevention of obstetric complications.

Key words: pregnancy, pregnancy losses, thrombophilia, perinatal outcomes.

Сведения об авторах

Дубоссарская Зинаида Михайловна – ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», 49000, г. Днепропетровск, ул. Космическая, 17, КЗ «ДОПЦС «ДОР»; тел.: (0562) 68-52-62, (050) 320-52-83

Дука Юлия Михайловна – ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», 49000, г. Днепропетровск, ул. Космическая, 17, КЗ «ДОПЦС «ДОР»; тел.: (0562) 68-52-62. E-mail rduka@ukr.net

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зайнулина М.С. Пути снижения материнской и перинатальной смертности при нарушении системы гемостаза // Медицинский академический журнал. – 2013. – Т. 13, № 1. – С. 73–82.
2. Макацария А.Д. Системные синдромы в акушерско-гинекологической практике / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, С.М. Баймурадова и др. // М.: МИА. – 2010. – 888 с.
3. Макацария А.Д. Профилактика вторичных осложнений беременности в условиях тромбофилии / А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе // М.: «Триада-Х». – 2008. – 152 с.
4. Пюрбеева Е.Н. Значимость врожденной тромбофилии в патогенезе внутриутробной задержки развития плода / Е.Н. Пюрбеева, М.С. Зайнулина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – Т. LIV (2). – С. 9–12.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.

Статья поступила в редакцию 15.07.2014