

ՄԽԻԹԱՐ ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

**ԱՐՐԱՀԱՄՅԱՆ ԳՈՀԱՐ ՌԱԶՄԻԿԻ**

**ՁԵՌՔԲԵՐՈՎԻ ԵՎ ԳԵՆԵՏԻԿ ԹՐՈՍԲՈՖԻԼԻԱՅՈՎ ԿԱՆԱՆՑ ԱՄԲ  
ԱՆԱՐԴՅՈՒՆԱՎԵՏ ԵՎ ԲԱՐԴԱՑԱԾ ԴԵՊԲԵՐԻ ԱԽՏԱԾՆԱՅԻՆ  
ԿԱՆԽԱՐԳԵԼՄԱՆ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ՍԿԶԲՈՒՆՔՆԵՐԸ**

ԺԴ.00.01- «Մանկաբարձություն և գինեկոլոգիա»

մասնագիտությամբ բժշկական գիտությունների դոկտորի գիտական աստիճանի  
հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2017

---

ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМ. МХИТАРА ГЕРАЦИ

**АБРАМЯН ГОАР РАЗМИКОВНА**

**ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ НЕУДАЧ И  
ОСЛОЖНЕНИЙ ЭКО У ПАЦИЕНТОК С ПРИОБРЕТЕННОЙ И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ  
ТРОМБОФИЛИЕЙ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук по специальности

ԵՐԵՎԱՆ – 2017

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ վերարտադրողական առողջության, պերինատոլոգիայի, մանկաբարձության և գինեկոլոգիայի հանրապետական ինստիտուտի գիտական խորհրդի նիստում 2014թ.

Գիտական խորհրդատու՝

ՌԴ ԳԱԱ պրոֆեսոր, բժշկական գիտությունների դոկտոր Վ. Օ. Բիցաձե

Պաշտոկան ընդդիմախոսներ՝

Բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր, Գ.Ա. Բեգլարյան  
Բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Ս.Ս. Դադբաշյան  
Բժշկական գիտությունների դոկտոր Է.Մ. Համբարձումյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԱՆ Մոր և մանկան առողջության պահպանման գիտահետազոտական կենտրոն:

Պաշտպանությունը կայանալու է 2017թ. նոյեմբերի 23-ին ժամը 15:00-ին Մ. Հերացու անվ. ԵՊԲՀ գործող ԲՈՀ-ի 061 «Մանկաբարձագինեկոլոգիայի և ուռուցքաբանության» մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ 0025, ք. Երևան, Կորյունի 2):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Մ. Հերացու անվ. ԵՊԲՀ գրադարանում: Սեղմնագիրն առաքված է 20 հոկտեմբերի 2017թ.

Մասնագիտական խորհրդի քարտուղար՝  
Բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆ.

Տ.Գ. Ավագյան

---

–  
Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета Республиканского института репродуктивного здоровья, перинатологии, акушерства и гинекологии в 2014 г.

Научный консультант:

профессор РАН, доктор медицинских наук В. О. Бицадзе

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, Г.А. Бегларян  
Доктор медицинских наук, профессор С.С. Дагбашян  
Доктор медицинских наук Э.М. Амбарцумян

Ведущее учреждение: НИЦ по охране здоровья матери и ребенка МЗ РА.

Защита диссертации состоится 23 ноября 2017 г. в 15:00 часов на заседании специализированного совета ВАК 061 по “Акушерству, гинекологии и онкологии” при Ереванском государственном медицинском университете им. М. Гераци (РА, 0025, г. Ереван, Корюна 2)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ЕГМУ им. М. Гераци  
Автореферат разослан 20 октября 2017г.

Ученый секретарь специализированного Совета  
Доктор медицинских наук, проф.

Т.Г. Авакян

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность проблемы.**

Проблема бесплодного брака имеет в настоящее время не только медицинское, но также социально-демографическое и экономическое значение. По данным экспертов ВОЗ около 100 млн. супружеских пар бесплодны, и их число с каждым годом растет.

Использование метода экстракорпорального оплодотворения является наиболее эффективным из методов лечения бесплодия и позволяет реализовать функцию деторождения, в том числе при таких формах женского бесплодия, которые раньше считались абсолютно бесперспективными для лечения. Но, несмотря на совершенствование схем стимуляции яичников, внедрение современных гормональных препаратов и качественно новых сред для культивирования эмбрионов *in vitro*, эффективность лечения бесплодия в мире в расчете частоты наступления беременности на одну попытку с переносом эмбрионов составляет в среднем 25-30%, причем за последние годы этот показатель значительно не меняется. Другой проблемой остается высокая частота невынашивания беременности после применения программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), которая по данным разных авторов, колеблется от 11 до 66%, что снижает общую эффективность лечения бесплодия.

Повышение эффективности методов ВРТ продолжает оставаться актуальной задачей современной репродуктологии. В связи с этим усилия многих специалистов, направлены на выявление факторов, влияющих на результативность экстракорпорального оплодотворения и разработку мероприятий, способных повысить его эффективность.

Интенсивное развитие в последние годы молекулярной медицины во многом расширило понимание процессов репродуктивной биологии и эмбриологии. На сегодняшний день широко исследуется влияние различных факторов на процессы имплантации и эмбриогенеза. Многочисленными исследованиями, посвященными изучению физиологии и патологии системы гемостаза, показано влияние ранее неизвестных наследственных дефектов системы гемостаза (тромбофилии) и различных иммунных форм тромбозов на этапы развития беременности, что стало возможным благодаря развитию медицинской генетики, иммунологии, клинической патофизиологии,

изучивших механизмы различных видов тромбообразования и открывших возможности их выявления.

Наличие генетических и приобретённых (АФС, гипергомоцистеинемия) форм тромбофилии может быть самостоятельной причиной повторных потерь плода, преэклампсии и задержки внутриутробного роста плода, приводить к субклиническим абортam, что маскируется в виде бесплодия неясного генеза. Обсуждается роль тромбофилии в причинах неудач экстракорпорального оплодотворения.

У пациенток с бесплодием неясного генеза и неудачами ЭКО (при исключении всех других возможных причин бесплодия и неудач ЭКО) «бесплодие» может быть обусловлено ранними преэмбрионическими потерями вследствие дефектов имплантации оплодотворенной яйцеклетки.

Если принять тромбофилию как постоянно персистирующий фактор у женщин с генетической тромбофилией или АФС, то первые её эффекты представляются как дефекты имплантации плодного яйца, недостаточная глубина инвазии трофобласта, неполноценная плацентация и, как следствие – эндотелиопатия, определяющие осложнения беременности и её потерю, в том числе на преэмбрионическом этапе.

Наличие генетических форм тромбофилий, особенно их сочетание с антифосфолипидным синдромом, однонаправленность действия различных форм тромбофилии может быть причиной клинически не диагностированных ранних преэмбрионических потерь, в том числе при ЭКО.

Серьёзными проблемами продолжают оставаться профилактика и лечение наиболее тяжелых осложнений беременности (преэклампсии, синдрома потери плода, преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты, тромбозов), в том числе у пациенток с беременностью после экстракорпорального оплодотворения.

Большинство исследований подтверждают, что более 50% беременных после ЭКО сталкивается с проблемой прерывания беременности в I триместре. Среди причин привычной потери беременности, по данным разных авторов генетические формы тромбофилии составляют 10-30%.

Повышен риск и других осложнений, среди которых наиболее опасными являются тромботические. Индукция суперовуляции сопряжена со значительной экзогенной гормональной нагрузкой на организм женщины, возможным развитием тяжёлой формы синдрома гиперстимуляции яичников и, как следствие - тромбоэмболических осложнений, особенно у пациенток с тромбофилией.

Высокая концентрация стероидных гормонов в плазме крови на фоне различной сопутствующей экстрагенитальной патологии способствует гиперкоагуляции, нарушению микроциркуляции и формированию микротромбозов с локализацией, прежде всего, в матке, что может оказывать влияние на эффективность ЭКО и исход индуцированных беременностей.

В связи с этим представляется необходимым вести поиск маркеров прогнозирования риска осложнений и неудач ЭКО и методов, позволяющих нивелировать возможные причины неэффективности ЭКО и снизить риск осложнений при проведении программы ЭКО и дальнейшем течении беременности.

В последние годы активно изучается роль ангиогенеза и ангиогенных факторов в репродуктивных процессах. По мнению ряда авторов, в основе патогенеза многих заболеваний лежит дисбаланс между факторами, регулируемыми процессы пролиферации клеток и ангиогенеза.

Результаты клинических исследований свидетельствуют о том, что изучение роли ангиогенных факторов при различных видах патологии в акушерстве и гинекологии следует считать актуальным и перспективным с клинической и научно-исследовательской точки зрения.

Данные литературы относительно целесообразности обследования на факторы риска развития тромбофилии пациенток с повторными неэффективными программами ЭКО неоднозначны. Требуют детального анализа возможные механизмы влияния наследственного полиморфизма генов предрасположенности к тромбофилии и антител к фосфолипидам на реализацию репродуктивной функции в программах ВРТ; нет единого мнения о необходимости проведения профилактической патогенетической терапии у пациенток с наследственными и приобретенными факторами риска развития тромбофилии.

Одной из стратегий, направленных на повышение эффективности ЭКО, в настоящее время является применение антикоагулянтной терапии. При этом высказываются мнения о возможном положительном эффекте схем профилактической прегравидарной терапии антикоагулянтами не только на систему гемостаза, но и на белки, участвующие в формировании рецептивности эндометрия и адекватной имплантации. Однако сроки и схемы этой терапии детально не исследованы.

Таким образом, изучение особенностей реализации программы ЭКО у пациенток с наследственными и приобретенными факторами риска развития тромбофилии, уточнение времени начала и длительности профилактической антикоагулянтной терапии является актуальным и современным.

### **Цель исследования**

Совершенствование принципов патогенетической профилактики неудач и осложнений ЭКО у пациенток с генетической и приобретенной тромбофилией.

### **Основные задачи исследования**

1. Изучить частоту генетической и приобретенной тромбофилии у пациенток с бесплодием, планирующих беременность применением вспомогательных репродуктивных технологий.
2. Изучить частоту и структуру генетической тромбофилии у пациенток с бесплодием неясного генеза.
3. Изучить частоту и особенности спектра циркулирующих антифосфолипидных антител у пациенток с бесплодием неясного генеза.
4. Изучить частоту и структуру генетической тромбофилии у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе.
5. Изучить частоту и особенности спектра циркулирующих антифосфолипидных антител и антител к кофакторам антифосфолипидных антител у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе.
6. Оценить влияние генетической тромбофилии и циркуляции АФА и антител к кофакторам антифосфолипидных антител на исход ЭКО.
7. Изучить значение определения маркеров ангиогенеза в прогнозировании исхода и осложнений ЭКО.

8. Разработать алгоритм подготовки к протоколу ЭКО и последующего ведения беременности у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе.
9. Обосновать необходимость применения противотромботических препаратов у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе.
10. Совершенствовать принципы патогенетически обоснованной, эффективной и безопасной профилактики тромботических и акушерских осложнений и неудач ЭКО пациенток с тромбофилией.

### **Научная новизна работы**

Изучены частота генетической тромбофилии, циркуляции антифосфолипидных антител и гипергомоцистеинемии как факторов, определяющих риск неудач ЭКО и осложненного течения беременности (синдром гиперстимуляции яичников, артериальные и венозные тромбозы) у пациенток, которым для лечения бесплодия применяются вспомогательные репродуктивные технологии.

Определена диагностическая и прогностическая значимость выявления разнообразного спектра антифосфолипидных антител, антител к кардиолипину, аннексину V, b2-гликопротеину I, протромбину, волчаночного антикоагулянта, мутаций и полиморфизмов в генах системы гемостаза, гомоцистеина у пациенток с различными формами бесплодия и у пациенток с бесплодием неясного генеза и пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе в определении риска венозных и артериальных тромбозов и неудач экстракорпорального оплодотворения.

Изучено прогностическое значение определения маркеров ангиогенеза в программах ЭКО. Определено клиническое значение определения уровня СЭФР в прогнозе имплантации эмбрионов в программах ВРТ, уровня PLGF, sFlt-1 и sFlt-1/ PLGF в прогнозе течения беременности у пациенток после ЭКО.

Разработаны принципы патогенетической профилактики повторных неудач ЭКО, артериальных и венозных тромбозов у беременных с после экстракорпорального оплодотворения.

Разработаны принципы ведения женщин с тромбофилией с этапа подготовки к беременности с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (экстракорпоральное оплодотворение).

Обоснована роль противотромботической терапии на этапе подготовки к экстракорпоральному оплодотворению, при проведении протокола ЭКО у пациенток с тромбофилией и неудачами ЭКО в



анамнезе под контролем молекулярных маркеров тромбофилии (ТАТ, Д-димер) и анти-Ха активности.

Впервые изучена и оценена роль вторичной профилактики повторных неудач ЭКО и осложнений беременности после ЭКО с применением низкомолекулярных гепаринов, низких доз аспирина, антиоксидантов, препаратов натурального прогестерона и витаминов.

### **Практическая значимость**

Проведенное нами исследование позволило рассмотреть неудачи ЭКО с точки зрения патогенетической роли тромбофилии.

Выработаны наиболее рациональные принципы диагностики, терапии и профилактики осложнений, вызванных генетической тромбофилией, циркуляцией антифосфолипидных антител и гипергомоцистеинемией у пациенток с бесплодием, планирующих беременность применением методов вспомогательных репродуктивных технологий, в том числе у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе.

Разработан алгоритм выявления пациенток повышенного риска неудач ЭКО, их обследования и ведения, начиная с подготовки к стимуляции овуляции. С учетом патогенетической роли тромбофилии разработан алгоритм обследования и подготовки к беременности методом ЭКО женщин с неудачами ЭКО в анамнезе.

Разработанные принципы подготовки пациенток с бесплодием и тромбофилией к протоколу ЭКО с применением патогенетически обоснованной профилактики противотромботическими препаратами (низкомолекулярного гепарина, аспирина), витаминов и антиоксидантов и к беременности позволили повысить эффективность ЭКО.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Генетическая тромбофилия, антифосфолипидный синдром и гипергомоцистеинемия являются факторами риска неудач экстракорпорального оплодотворения.

2. Ангиогенные факторы могут выступать прогностическими маркерами эффективности экстракорпорального оплодотворения.

3. Персонифицированная противотромботическая терапия у пациенток с тромбофилией улучшает исходы программ экстракорпорального оплодотворения.

4. Гормональная стимуляция в условиях генетической тромбофилии, циркуляции антифосфолипидных антител и гипергомоцистеинемии является фактором риска развития тромбозов.

#### **Апробация работы**

Апробация работы проведена на базе Республиканского Института репродуктивного здоровья, перинатологии, акушерства и гинекологии РА.

#### **Внедрение результатов работы в практику**

Полученные данные внедрены в практику Республиканского Института репродуктивного здоровья, перинатологии, акушерства и гинекологии РА.

#### **Структура и объем работы**

Диссертация изложена в традиционной форме. Состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа представлена на 252 страницах машинописного текста, иллюстрирована 29 рисунками и 30 таблицами. Библиографический указатель включает 102 работы на русском и 142 – на иностранных языках.

#### **Личный вклад автора**

Автором лично выполнены все исследования, направленные на изучение роли генетических форм тромбофилии, циркуляции АФА и гипергомоцистеинемии в развитии осложнений и неблагоприятных исходов ЭКО и роли факторов ангиогенеза в качестве маркеров неудач ЭКО и осложнений беременности, наступившей после ЭКО. Проведена регистрация, статистическая обработка, анализ полученных данных и обобщение полученных результатов. Автор самостоятельно осуществляла набор пациентов в исследование, их клиническое, инструментальное и лабораторное обследование. Участвовала во всех исследованиях патологии гемостаза, заполняла специально разработанные для данного исследования учетные формы и клинические карты. Все пациенты были лично консультированы соискателем и подготовлены к проведению протокола ЭКО после соответствующей патогенетической терапии и нормализации параметров гемостаза. Автором лично проводилась пункция яйцеклетки и пересадка

эмбриона, подбор оптимальной терапии. Терапия начиналась с фертильного цикла, пациенты наблюдались на протяжении всей беременности и послеродового периода. Материалы диссертации были доложены на 11-ом и 12-ом всемирных армянских медицинских конгрессах.

## **СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Для решения поставленных задач нами было обследовано 514 женщин в возрасте от 20 до 42 лет, из них 434 обратилось в отделение вспомогательных репродуктивных технологий с целью лечения бесплодия методом ЭКО. 228 женщин, у которых программа ЭКО проводилась впервые, составили I группу исследования; 126 пациенток с неудачными (от 1 до 9) попытками ЭКО в анамнезе – II группу; 80 пациенток ЭКО с мужским фактором бесплодия – группу сравнения. Контрольная группа включала 80 женщин с самопроизвольно наступившей беременностью.

Длительность бесплодия составила от 3 до 12 лет (при условии регулярной половой жизни без предохранения), в среднем  $7,3 \pm 0,4$  года в I и II группах и  $6,1 \pm 0,7$  в группе сравнения.

Среди причин бесплодия у пациенток I группы выявлены трубный и трубно-перитонеальный фактор (41,2%), эндометриоз (12,3%), эндокринные нарушения (17,1%). У 30,3% женщин диагностировано бесплодие неясного генеза. Во II группе частота бесплодия неясного генеза оказалась выше (46,0%), трубно-перитонеальная форма бесплодия была у 25 (19,8%), эндокринная у 27 (21,4%). У 16 (12,7%) как причина бесплодия рассматривался эндометриоз.

Возраст менархе и характер менструальной функции достоверно не отличались в обеих исследуемых, контрольной группе и группе сравнения.

Бесплодие было первичным у 237 (66,9%) пациенток, составивших основные группы (I и II), у 117 (33,1%) вторичным. В репродуктивном анамнезе пациенток с вторичным бесплодием отмечена высокая распространенность репродуктивных потерь: самопроизвольные выкидыши (52,1%), преимущественно до 12 нед. беременности (35,9%), неразвивающаяся беременность (29,1%), смерть плода в раннем

неонатальном периоде (1,7%), а также преэклампсия средней и тяжелой степени тяжести (20,5%), преждевременные роды (15,4%).

В гинекологическом анамнезе у пациенток с бесплодием достоверно ( $p < 0,05$ ) чаще, чем в группе сравнения и контрольной группе имелись эктопические беременности, послужившие основанием для удаления маточных труб и заболевания придатков воспалительной природы.

Экстрагенитальная патология имела место у более половины всех обследованных пациенток, выявлялась чаще в группах пациенток с бесплодием, что, могло быть связано, с более старшим возрастом пациенток этих групп. Соматические заболевания находились в состоянии стойкой ремиссии и не являлись противопоказанием к проведению ЭКО.

Обследование пациенток включало комплекс стандартных клинико-лабораторных и инструментальных методов, в том числе гинекологическое исследование, УЗИ органов малого таза, эндоскопические методы (лапароскопия и гистероскопия) при наличии показаний. Исследование инфекционного профиля включало микроскопию мазка из влагалища и цервикального канала на микрофлору, а также ПЦР-диагностику *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* в пробе из цервикального канала, определение антител IgM и IgG в плазме к возбудителям *Toxoplasma Gondii*, Rubella, Cytomegalovirus, Herpes simplex (тип 1 и 2).

Определение уровней гормонов плазмы крови (ФСГ, ЛГ, пролактин, эстрадиол) проводилось при помощи метода радиоиммунного и радиоферментного анализа на 5-7 и 20-22 дни менструального цикла. Уровень ФСГ менее 10 ЕД/л указывал на достаточный резерв яичников и являлся основанием для выбора схемы индукции овуляции.

Исследование системы гемостаза включало общеоценочные тесты: АЧТВ, АВР, протромбиновый индекс, международное нормализованное отношение; оценку показателей гемостаза на приборе тромбоэластограф «Hellige» (Germany): “r+k”, “ma” «ИТП» - хронометрическая и структурная коагуляция; определение концентрации комплексов тромбин-антитромбин (ТАТ) с помощью фирменного набора Enzygnost-TAT (Behringwerke, Germany), Д-димера с помощью латекс-теста Dimertest (Agen, Australia), уровня PAI-1, АТ III и протеина С методом

синтетических хромогенных субстратов Stago, Франция на спектрофотометре с длиной волны 405 нм на приборе ST 88 Diagnostica Stago; глобальную оценку функционирования системы протеина С коагулометрическим методом с использованием коммерческих наборов «Парус»-тест фирмы «Технология-Стандарт», Барнаул, Россия на приборе «START 4», Stago, Франция.

Выявление антифосфолипидных антител (АФА) основывалось на рекомендациях Международного Общества по тромбозу и гемостазу, опубликованных в материалах XVI Всемирного конгресса по тромбозу и гемостазу (Флоренция, Италия; июль 1997 г.) и XV Международного конгресса по тромбозу (Анталия, Турция; октябрь 1998 г.).

Определение антикардиолипидных антител (АКА), анти- $\beta$ 2-GPI-антител, анти-аннексин V и антипротромбиновых антител осуществлялось ELISA – методом, включало выявления изотипа и титра антител (STAGO, France). Определение волчаночного антикоагулянта (ВА) включало 3 этапа: скрининг – тесты, коррекционная проба, подтверждающая проба с фосфолипидами.

Генетически обусловленные формы тромбофилии: FV Leiden /1691G-A/, мутации гена метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T, мутации в гене Pt G20210A, полиморфизмов PAI-1 «675 4G/4G», фибриногена «455 G/A», тромбоцитарного рецептора GpIa «807 C/T», тромбоцитарного рецептора GpIIIa «1565 T/C», АПФ «I/D», t-РА (тканевого активатора плазминогена), рецептора к ангиотензину II «1166 A/C» выполнялась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью наборов «TromboType» (Hain Diagnostica, Germany).

Для определения концентрации гомоцистеина в плазме крови иммуноферментным методом применялись реактивы Axis<sup>®</sup> фирмы Axis-Shield AS, Норвегия на приборе ANTOS 2020, США.

Определение содержания сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) использовался набор для иммуноферментного анализа фирмы «BCM Diagnostics» (Германия).

Для индукции суперовуляции использовались стандартные протоколы (классический длинный протокол, короткий протокол, протокол с антагонистами). Наступление беременности диагностировали с помощью ультразвукового исследования на 21-е сутки после переноса эмбриона.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ**

В I группе определение генетических тромбофилических мутаций, циркуляции АФА и гипергомоцистеинемии проводилось после проведенного протокола ЭКО, что позволило не только оценить их распространенность среди пациенток, планирующих наступление беременности методом ЭКО, но и сравнить результативность проведенного ЭКО в зависимости от наличия у пациентки тромбофилии.

Генетические дефекты системы гемостаза были выявлены у большинства пациенток I группы. Наиболее распространенными из мутаций были полиморфизм гена PAI-1 (диагностирован у 45,2% пациенток, у 25,4% в гетерозиготной форме «675 4G/5G», у 19,7% – в гомозиготной «675 4G/4G»), мутация гена MTHFR C677T (у 42,1% женщин, у 29,4% гетерозиготная), полиморфизм «I/D» в гене t-PA (у 40,4%, из них у 14,0% гомозиготный). У 29,4% присутствовал полиморфизм гена фибриногена «455 G/A». У 34,2% – полиморфизм тромбоцитарного гликопротеина GP Ia «807 G/T», преимущественно в гетерозиготной форме (29,8%). Реже встречался полиморфизм тромбоцитарного гликопротеина GP IIIa «1565 T/C» (20,6%), во всех случаях гетерозиготный. 16,7% пациенток имели полиморфизм гена АПФ «I/D» (7,9% и 8,8% гомозиготный и гетерозиготный соответственно), 11,4% – гетерозиготный полиморфизм рецептора к ангиотензину II «1166 A/C». Мутация FV Leiden была у 4 (1,8%) пациенток, протромбина G20210A у 2 (0,9%) (у всех гетерозиготные формы). Нередко пациентки имели более 2 мутаций и полиморфизмов.

В контрольной группе и группе сравнения указанные генетические мутации и полиморфизмы выявлялись достоверно реже ( $p < 0,001$ ). Полиморфизмы гена PAI-1 составили по 7,5% , мутация гена MTHFR C677T 7,5% и 8,8%, полиморфизм гена фибриногена «455 G/A» 2,5% и 5,0%, полиморфизмы тромбоцитарных гликопротеинов: GP Ia «807 G/T» – 6,3% и 2,5%, GP IIIa «1565 T/C» – 5,0% и 3,8% в контрольной группе и группе сравнения соответственно.

Учитывая различную степень тромбогенности выявляемых мутаций и полиморфизмов, применялись критерии, согласно которым генетическая тромбофилия диагностировалась при наличии:

- мутации FV Leiden, протромбина, их комбинации или комбинации с полиморфизмами генов;
- 3 или более гомозиготных форм полиморфизмов генов;
- 5 или более гетерозиготных полиморфизмов генов.

Согласно примененным критериям, генетическая тромбофилия была диагностирована у 24,1% пациенток.

Сопоставление результатов проведенного цикла программы ЭКО и генетического исследования показало: генетические полиморфизмы генов, сочетание которых позволяло диагностировать генетическую тромбофилию, присутствовали у 12,7% (9 из 71) пациенток с наступившей беременностью. У 32 (45,1%) беременных не было каких-либо из выявляемых нами генетических тромбофилических полиморфизмов (а также циркуляции АФА), у 30 (42,3%) были выявлены отдельные генетические тромбофилические мутации, полиморфизмы, и/или циркуляция АФА в невысоких титрах.

До начала гормональной стимуляции яичников по результатам гемостазиологического исследования у 48,2% пациенток определялось снижение фибринолитической активности крови; за 2-3 дня до пункции фолликулов яичника у 24,6% женщин были выявлены признаки избыточной генерация тромбина, что потребовало коррекции применением антикоагулянтов (низкомолекулярного гепарина).

Частота наступления беременности после проведенного цикла программы ЭКО среди пациенток с генетической тромбофилией составила 16,4% (9 из 55 пациенток), без генетической тромбофилии – 35,8% (рис. 1).

То есть при наличии генетических дефектов в системе гемостаза тромбофилического характера частота неудач в программе ВРТ была выше более чем в 2 раза ( $p < 0,001$ ).

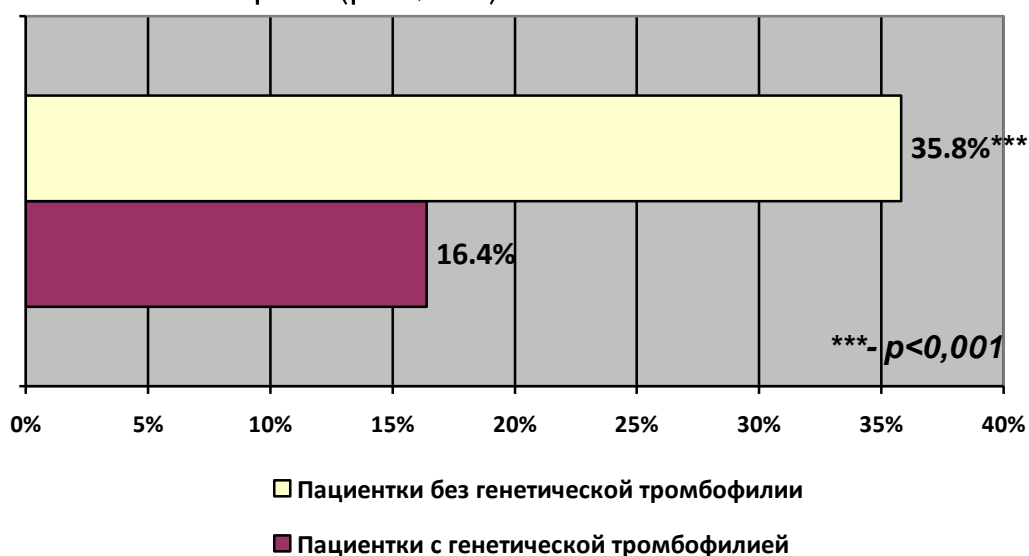


Рис. 1. Наступление беременности после первого цикла ЭКО в I группе

У пациенток без тромбофилии, нарушений в системе гемостаза и фибринолиза частота наступления беременности была наибольшей и достигла 40,3% (у 25 из 62).

Процент наступления беременности после ЭКО был ниже у пациенток с бесплодием неясного генеза – 14,5% (21 из 69), тогда как при других формах бесплодия: трубном и трубно-перитонеальном, эндокринном и эндометриозе составил 33,0%, 29,7% и 28,6% соответственно.

В тоже время у пациенток с бесплодием неясного генеза чаще, чем при других формах бесплодия, выявлялись тромбофилические мутации и полиморфизмы. Генетическая тромбофилия в этой подгруппе составила 46,5%.

Во II группе генетическая тромбофилия выявлена у 51,6% пациенток.

Сравнительный анализ структуры генетической тромбофилии у пациенток I группы с неудачей после первого протокола программы ЭКО показал соответствие таковой у пациенток II группы ( $p < 0,05$ ).

Особенностями генетической тромбофилии, выявленной у пациенток I, и II группы были не только высокая распространенность дефектов системы фибринолиза (полиморфизмы «675 4G/4G» и «675 4G/5G» гена PAI-1, «I/D» в гене тканевого активатора плазминогена, гена фибриногена «455 G/A»), но и частое их сочетание, что, вероятно, обуславливало большую выраженность нарушения. Указанные мутации и полиморфизмы по частоте значительно превышали таковые в контрольной группе и группе сравнения (рис. 2).

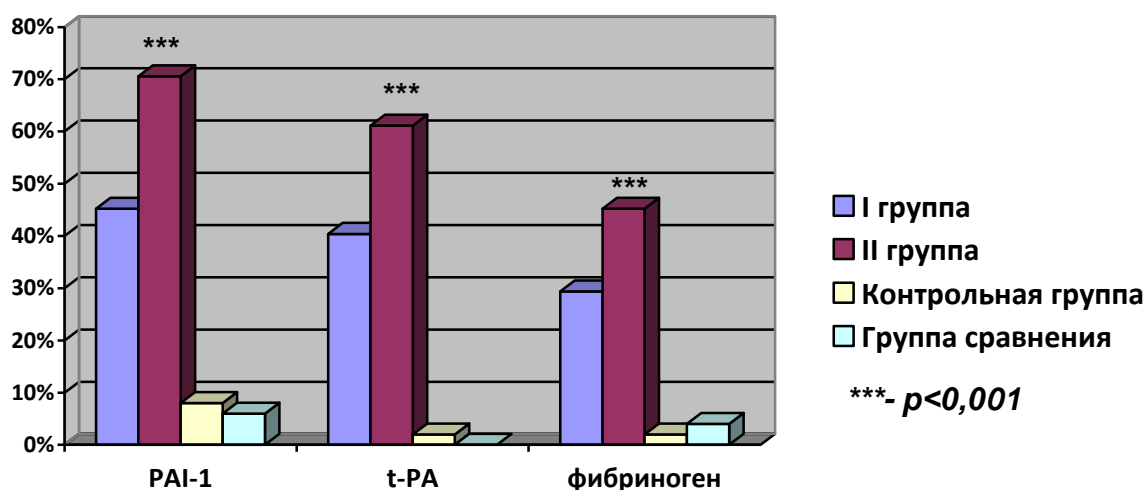


Рис. 2. Частота полиморфизмов генов PAI-1, t-PA и фибриногена в исследуемых группах.



Система фибринолиза играет важную роль в процессах наступления беременности на этапе имплантации, в ее «гистиотрофную» фазу – наиболее уязвимую фазу имплантации. Генетически обусловленные дефекты фибринолиза, которые в ряде случаев выявлялись не изолированно, а сочетались с другими генетическими полиморфизмами, могли обуславливать нарушение процесса внедрения плодного яйца в эндометрий – ключевому моменту в возникновении беременности и последующего ее развития.

АФА присутствовали у 16,7% женщин, планировавших наступление беременности с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (I группа), выявлялись у 31,9% пациенток с бесплодием неясного генеза и у 42,1% с неудачами ЭКО в анамнезе (II группа). В контрольной группе и группе сравнения частота циркуляции АФА выявлялась достоверно ( $p < 0,01$ ) реже (5,0% и 7,5% соответственно) (рис. 3).

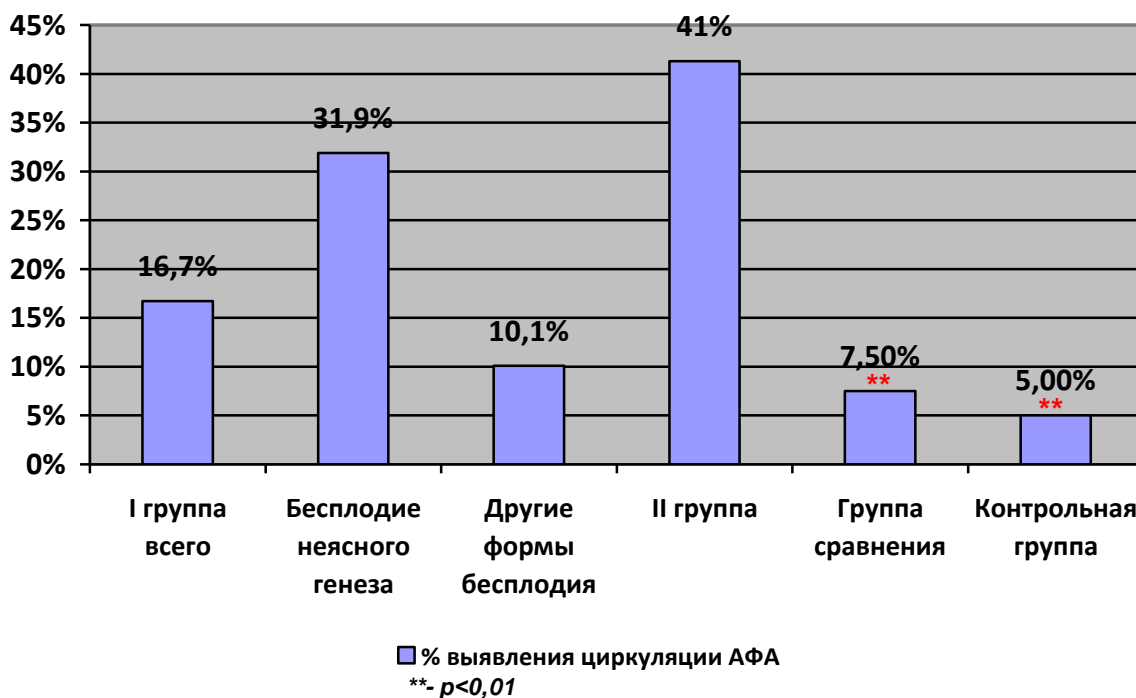


Рис. 3. Частота циркуляции АФА у пациенток исследуемых групп

Особенностью циркуляции АФА в исследуемых группах было выявление относительно низкой частоты антител к кардиолипину: выявлены у 5,3% женщин в I и у 8,7% во II группе. То есть, из 38 женщин с АФА в I группе и 52 II группе у 26 и 41 соответственно, антитела к кардиолипину отсутствовали, но при этом были выявлены антитела к другим фосфолипидам и их кофакторам. Таким образом, определение только антител к кардиолипину не всегда можно считать

информативным: можно пропустить до 80% АФА-позитивных женщин среди планирующих беременность с помощью ВРТ. Высоким был процент антител к  $\beta 2$ -GPI и к аннексину V: 21,7% (15 из 69 женщин) и 20,3% (14 из 69) в подгруппе пациенток с бесплодием неясного генеза и 29,4% (37 из 126 женщин) и 23,0% (29 из 126) в группе пациенток с неудачами ЭКО.

Пациентки с циркуляцией АФА демонстрировали большую частоту неудач ЭКО (41,3%) по сравнению с женщинами без циркуляции АФА.

Среди пациенток, у которых после проведенного протокола ЭКО наступила беременность (n=71), циркуляция АФА определялась у 12 (16,9%), но была в невысоких титрах. Возможно, именно невысокие титры циркулирующих антител, а также проводимая противотромботическая терапия с целью коррекции отклонений показателей системы гемостаза, у этих пациенток, способствовали наступлению беременности при ЭКО.

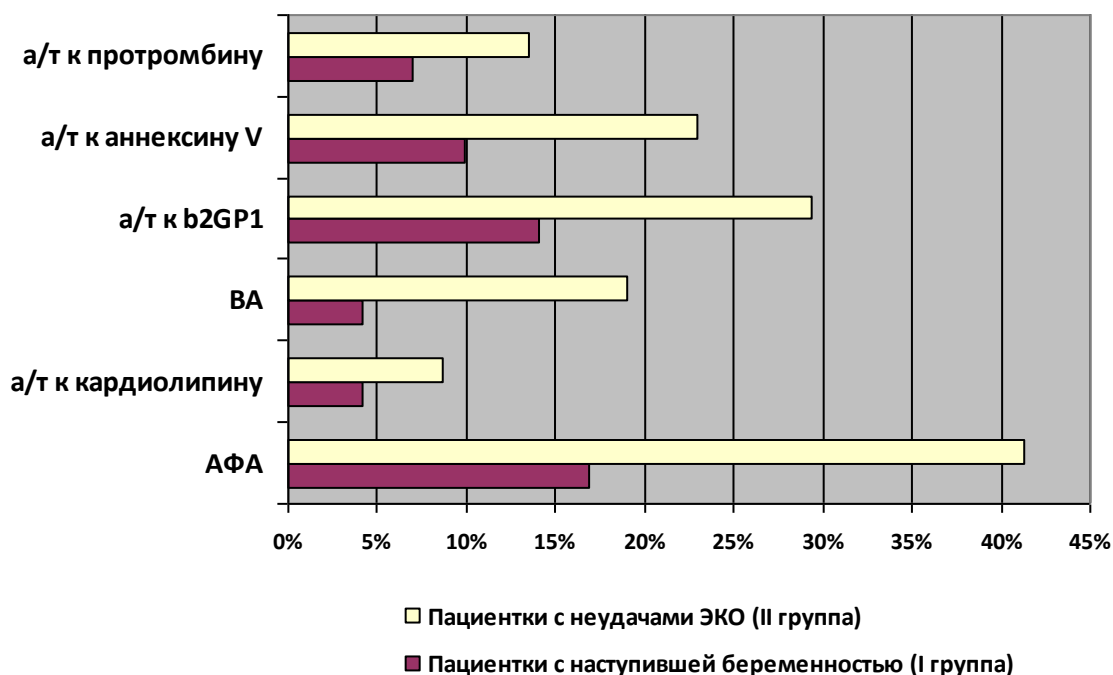


Рис. 4. Сравнительная характеристика уровней АФА у пациенток с наступившей после ЭКО беременностью и с неудачами ЭКО

В 35,7% случаях во II группе и 23,2% в подгруппе с бесплодием неясного генеза АФА были выявлены у пациенток с генетическими тромбофилическими мутациями и полиморфизмами. Среди мутаций, выявляемых комбинированно с АФА у 23,8% и 17,4% женщин был полиморфизм PAI-1 (по группам соответственно), 24,6% и 20,3% –

полиморфизм «807» G/T гена тромбоцитарного рецептора Gp Ia, у 19,8% и 13,0% – полиморфизм «I/D» в гене тканевого активатора плазминогена, у 13,2% и 17,5% – полиморфизм «I/D» в гене ангиотензин-превращающего фермента, у 12,7% и 10,2% соответственно – полиморфизм «-455G/A» в гене фибриногена.

Высокая частота циркуляции АФА у пациенток исследуемых групп, у которых полученные данные демонстрировали высокую распространенность генетических тромбофилических мутаций и полиморфизмов, среди которых преобладали полиморфизмы генов, обладающие синергичным эффектом – ведущих к гипофибринолизу, несмотря на то, что в большинстве случаев полиморфизмы были представлены в гетерозиготных формах, могла способствовать клиническому проявлению имеющихся дефектов системы фибринолиза в форме неудач ЭКО.

Повышенные уровни гомоцистеина в плазме крови определялись у 69 женщин (17,1% и 23,8% по группам соответственно). Во всех случаях присутствовала мутация MTHFR C677T и другие генетические дефекты гемостаза.

Так, гипергомоцистеинемия у 19,8% пациенток II группы выявлялась одновременно с полиморфизмом гена PAI-1, у 10,3% с полиморфизмом «I/D» в гене тканевого активатора плазминогена, у 13,5% с полиморфизмом «807G/T» тромбоцитарного рецептора Gp Ia.

Уровень гомоцистеина в среднем был  $17,9 \pm 3,1$  мкмоль/л в I группе и  $19,2 \pm 2,7$  мкмоль/л во II группе ( $p < 0,05$ ). В группе сравнения был повышен у 6,0% пациенток, соответствовал гипергомоцистеинемии легкой степени. У одной из этих женщин была выявлена циркуляция АФА. В контрольной группе гипергомоцистеинемия (легкой степени) имели 4,0% пациенток.

Повышенный уровень гомоцистеина оказывает прямое токсическое действие на эндотелий сосудов. Вследствие этого усиливается тромбоцитарная адгезия, отложение липопротеидов низкой плотности в стенке артерии, активируется коагуляционный каскад, нарушается баланс окислительно–восстановительных реакций.

У 11,1% пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе и у 8,7% с бесплодием неясного генеза имело место одновременно присутствие и генетических тромбофилических мутаций, и гипергомоцистеинемии, и циркуляции антифосфолипидных антител.

В целом, генетическая, приобретенная (циркуляция АФА, гипергомоцистеинемия) и/или комбинированная тромбофилия была диагностирована у 29,8% пациенток I группы, у 55,1% с бесплодием неясного генеза и у 57,1% пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе, что позволяет рассматривать ее в качестве этиопатогенетического фактора неудач ЭКО (рис. 5).

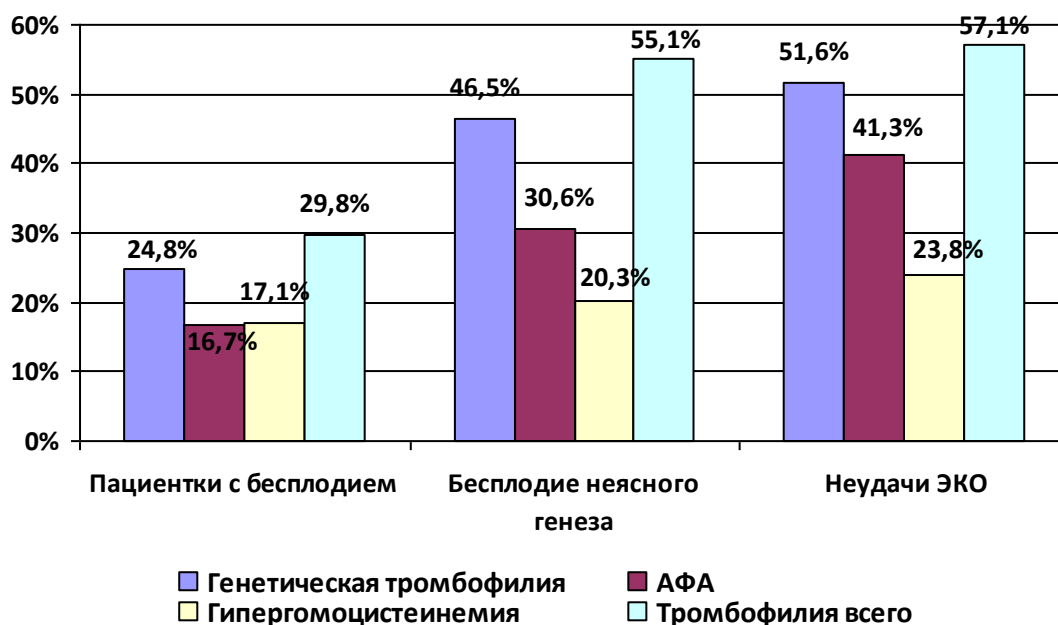


Рис. 5. Частота тромбофилии у обследованных пациенток

В то же время благоприятное влияние на наступление беременности у пациенток с отклонениями параметров гемостаза (гиперкоагуляцией) оказала проведенная терапия низкомолекулярным гепарином (НМГ), что вероятно и определило положительный результат ЭКО у пациенток с тромбофилией. Частота наступления беременности после первого цикла ЭКО у пациенток I группы составила 31,1%. Из этих пациенток 25 (40,3%) не имели нарушений в системе гемостаза и фибринолиза, 41 (37,6%) проводилась противотромботическая терапия. Среди пациенток, которые, несмотря на наличие показаний, по разным причинам не прошли предложенную терапию, направленную на коррекцию нарушений гемостаза, процент наступления беременности составил 8,8% (5 из 57 женщин) (рис. 6). Низкий процент наступления беременности у этих пациенток коррелировал с более высокими уровнями маркеров тромбофилии: ТАТ, Д-димера.

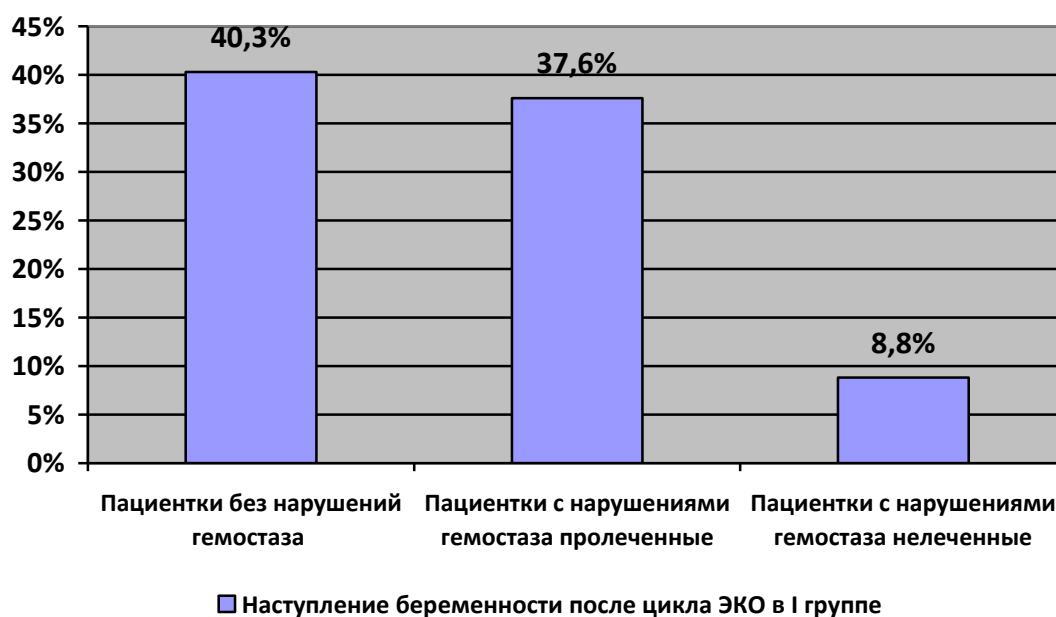


Рис. 6. Частота наступления беременности у пациенток I группы после 1 протокола ЭКО в зависимости от проводимой терапии

Таким образом, применение НМГ у пациенток с отклонениями параметров гемостаза (гиперкоагуляцией) способствовало увеличению числа благоприятных исходов ЭКО.

Отметим, что циркуляция АФА, генетические тромбофилические дефекты, а также гипергомоцистеинемия, присутствующие у пациенток I и II группы, значительно повышали риск тромботических осложнений при гормональной стимуляции яичников.

Тромботические осложнения являются наиболее серьезными, потенциально смертельными осложнениями вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Повышенный тромботический риск у пациенток программ ЭКО связан с самой процедурой: применение высоких доз гормональных препаратов с целью получения максимального количества хороших эмбрионов для переноса и криоконсервации, ассоциируется с прокоагулянтными изменениями в системе гемостаза, с характерным резким повышением уровня эстрадиола, концентрация которого в течение 2-х недель повышается более чем в 100 раз. Женские стероидные гормоны могут индуцировать гиперкоагуляционное состояние, изменяя и сосудисто-тромбоцитарное и коагуляционное звенья гемостаза; увеличиваются уровни некоторых факторов свертывания крови: фактора V, фибриногена, фактора фон Виллебранда, повышаются маркеры активации системы гемостаза

(фрагментов протромбина F1+2, Д-димера), нарушается функция эндогенной антикоагулянтной системы, что проявляется снижением уровней антитромбина и протеина S. Резистентность к активированному протеину С (APC) возрастает при стимуляции овуляции и сохраняется на повышенном уровне при проведении поддержки лютеиновой фазы.

Важно, что нарушение функции естественных антикоагулянтов и развитие резистентности к APC представляет особый риск у пациенток с мутацией FV Leiden и антифосфолипидным синдромом, когда уже исходно имеется резистентность к APC определяющая фоновое повышение риска тромбоэмболических осложнений.

В еще большей степени изменения гемостаза развиваются при синдроме гиперстимуляции яичников (СГЯ) – наиболее тяжелом из осложнений программы ЭКО. Причем эти изменения сохраняются в течение нескольких недель после завершения стимуляции. При наступлении беременности у женщин с синдромом гиперстимуляции яичников, гиперкоагуляция сохраняется в течение 3 недель после начала СГЯ при сохраняющемся низком уровне протеина S. У пациенток с СГЯ и неудачами ЭКО отмечаются более высокие уровни Д-димеров и ТАТ.

Отметим, что, несмотря на индуцируемое женскими стероидными гормонами гиперкоагуляционное состояние, реализуется оно в форме тромбозов, вероятно, только при наличии дополнительных факторов риска, которые у пациенток программы ЭКО нередко присутствуют. Это и возраст (пациентками программы ЭКО часто являются женщины позднего репродуктивного возраста), и присутствие хронической соматической патологии, синдрома поликистозных яичников, метаболического синдрома, и имеющаяся генетическая или приобретенная предрасположенность к тромбозам, которая может быть патогенетически связана с бесплодием пациентки. Тромбофилия, генетически детерминированная и приобретенная, обусловленная в частности циркуляцией антифосфолипидных антител или гипергомоцистеинемией, представляется наиболее серьезным фактором риска тромбоза при ЭКО.

Множественно повышают риск тромботических осложнений гиперкоагуляция и выраженная гемоконцентрация, характерная для СГЯ. Тяжесть последствий венозных тромбозов и эмболий у пациенток программ ЭКО, несмотря на то, что частота их согласно мировым данным невысока (0,08-0,11%), определяет важность их профилактики,

как стратегического подхода в оптимизации исходов вспомогательных репродуктивных технологий.

Ретроспективный анализ данных гемостазиограммы показал, что проведение цикла стимуляции овуляции у пациенток с тромбофилией сопровождалось большей по выраженности активацией гемостаза, чем в целом по группе и в группе сравнения (через 6 нед. после начала стимуляции овуляции). Отмечены более высокие значения Д-димера ( $1,4 \pm 0,9$  мкг/мл), , комплексов ТАТ ( $8,50 \pm 2,32$  г/л), фибриногена ( $4,6 \pm 1,9$  г/л), снижение показателя Антитромбина III ( $76,1 \pm 2,9$  %), и активности протеина С по данным «Парус-теста» ( $0,65 \pm 0,24$  НО).

Признаки синдрома гиперстимуляции яичников были отмечены у 11 (4,8%) пациенток I группы, среди которых 5 (8,8%) пациенток были из числа непрошедших противотромботическую терапию. 6 (54,5%) пациенток с СГЯ были с наступившей в результате ЭКО беременностью.

СГЯ ни в одном случае не был тяжелой формы. У 7 (63,6%) пациенток не потребовал проведения медикаментозной коррекции. У 4 (36,4%) был средней степени тяжести. В этих случаях отмечались более выраженные отклонения показателей системы гемостаза: ТАТ ( $8,7 \pm 1,73$  г/л), Д-димера ( $1,6 \pm 0,8$  мкг/мл), фибриногена ( $4,9 \pm 1,8$  г/л), Антитромбина III ( $74,3 \pm 2,5\%$ ), активности протеина С ( $0,61 \pm 0,42$  НО), агрегации тромбоцитов ( $p < 0,05$ ), чем в целом по группе и в группе сравнения.

В зависимости от выраженности нарушений реологических свойств крови и системы гемостаза пациенткам с СГЯ проводилась терапия, направленная на их коррекцию, что способствовало улучшению состояния пациенток и уменьшению отклонений лабораторных показателей.

Но, несмотря на проводимую терапию, в одном случае, на фоне уменьшения выраженности признаков СГЯ у пациентки с наступившей в результате ЭКО беременностью двойней и СГЯ средней тяжести, развился тромбоз подключичной вены справа. При дополнительном исследовании у пациентки было выявлено повышение уровня гомоцистеина и носительство патологической гомозиготы полиморфизма гена PAI-1, что могло быть фактором, определяющим условия для реализации гиперкоагуляции на фоне гормональной нагрузки и развития синдрома гиперстимуляции в тромбоз.

160 (70,2%) из 228 пациенток I группы планировали вторую попытку ЭКО. Среди них – 50 (51,6%) женщин с генетической и приобретенной тромбофилией (подгруппа IA).

Ко второй попытке ЭКО приступали только после нормализации показателей гемостазиограммы. В большинстве случаев это было спустя два-три цикла. Учитывая неудачную первую попытку ЭКО, наличие генетических мутаций и полиморфизмов генов тромбофилической направленности, циркуляцию АФА, а также высокие уровни молекулярных маркеров тромбофилии при первой попытке ЭКО и случай тромбоза, важную роль при проведении второй попытки занимала противотромботическая профилактика препаратами НМГ с целью предупреждения возможных тромботических осложнений и улучшения результата ВРТ.

Абсолютным показанием к применению противотромботических препаратов мы считали присутствие у пациентки генетической тромбофилии и наличие циркулирующих антифосфолипидных антител. Противотромботические препараты применялись с момента начала стимуляции под контролем уровня Д-димеров 1 раз в 2 недели. В случаях повышения маркеров активации внутрисосудистого свертывания крови, доза НМГ повышалась до лечебной с дальнейшей коррекцией под контролем гемостазиограммы.

Результатом проводимой терапии стали значительно меньшие отклонения показателей гемостазиограммы и повышение результативности второго цикла ВРТ.

После второй попытки ЭКО беременность наступила у 64 (40,0%) пациенток I группы, в том числе у 22 (44,0%) женщин с тромбофилией (IA подгруппа). В подгруппе IB, где были пациентки с отдельными тромбофилическими мутациями и полиморфизмами, присутствие которых не удовлетворяло применяемым критериям тромбофилии, противотромботические препараты применялись только при отклонениях показателей гемостаза; результативной вторая попытка была у 42 (38,2%) женщин. В группе сравнения беременность после проведения второй попытки наступила у 22 пациенток (40,0%) (рис. 7).



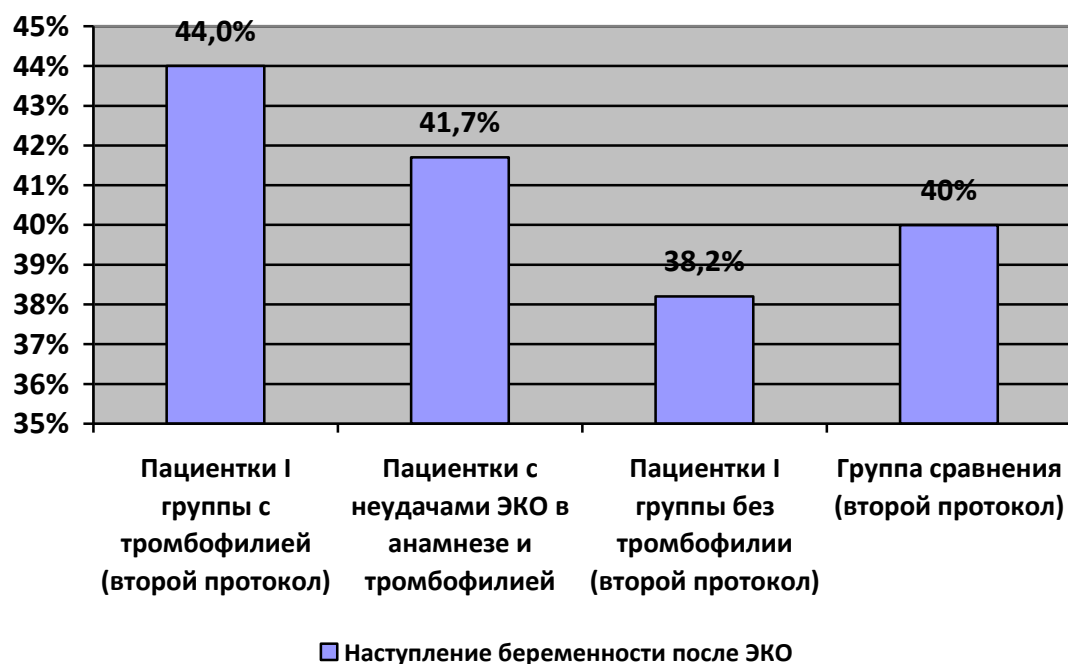


Рис. 7. Частота наступления беременности у пациенток I группы после 1 цикла ЭКО в зависимости от проводимой терапии

Не было ни одного случая тромбоза. Равно как СГЯ тяжелой и средней степени тяжести.

Применение противотромботических препаратов (низкомолекулярного гепарина) позволило корректировать отклонения показателей системы гемостаза и, таким образом, профилактировать развитие тромботических осложнений у пациенток программы ЭКО.

В то же время, противотромботическая терапия, применяемая до вступления пациенток в программу ЭКО, способствовала повышению результативности ЭКО, оцениваемой по частоте наступления беременности из расчета на одну попытку.

Уровни маркеров тромбофилии у пациенток, получающих противотромботические препараты в процессе стимуляции овуляции, после наступления беременности были ниже таковых у пациенток без тромбофилии, которые противотромботические препараты не применяли, и контрольной группы. При продолжении противотромботической терапии в течение беременности уровни маркеров не имели тенденции к повышению, оставались ниже показателей контрольной группы. В IB подгруппе у пациенток, которым противотромботические препараты не применялись, маркеров тромбофилии повышались, превышая показатели, характерные для I

триместра беременности с последующим постепенным выравниванием во II триместре с показателями контрольной группы.

Осуществляя поиск оптимальных маркеров прогноза имплантации, был оценен уровень маркера ангиогенеза – сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) в сыворотке крови у пациенток I группы в день пункции яичников. Результаты анализировались с учетом наступления после переноса эмбрионов беременности и сравнивались с таковыми в группе сравнения.

Уровень СЭФР в сыворотке крови у пациенток с наступившей после эмбриопереноса беременностью в исследуемой группе (n=120) находился в интервале от 276 пг/мл до 446 пг/мл, с отсутствием беременности – от 463 пг/мл до 692 пг/мл (рис. 8).

Среднее значение уровня СЭФР в сыворотке крови у женщин с наступившей после переноса эмбриона беременностью ( $358,7 \pm 28,3$  пг/мл) был в 1,6 раза ниже такового у пациенток с отсутствием беременности ( $581,2 \pm 47,6$  пг/мл).

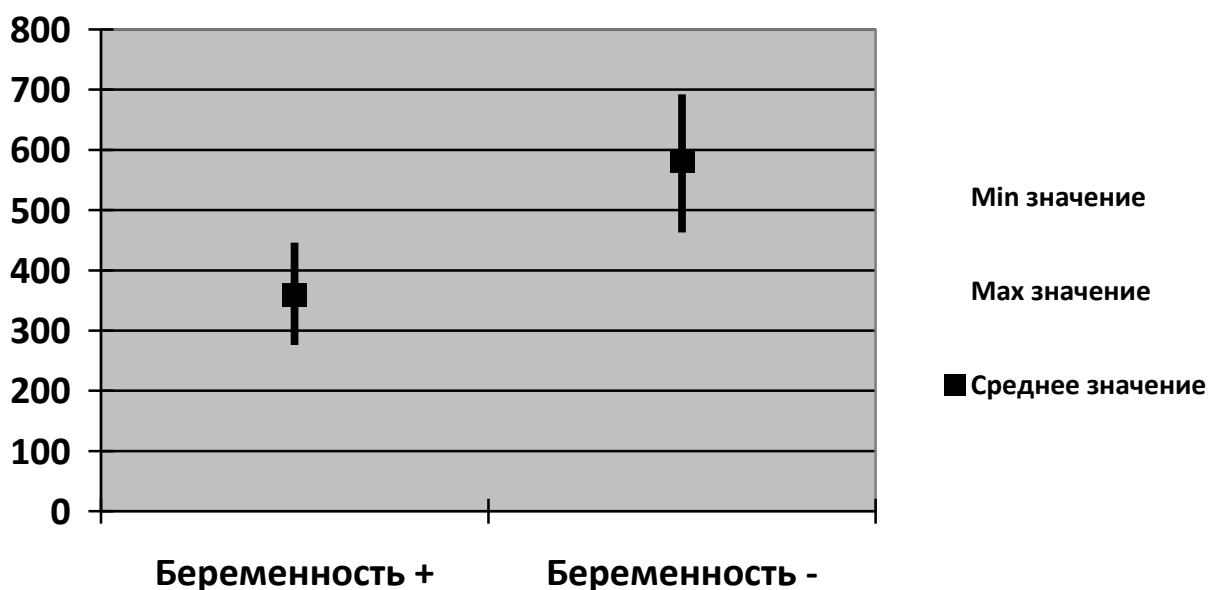


Рис. 8. Уровень СЭФР (пг/мл) у пациенток I группы в день пункции яичников с результатом эмбриопереноса

В группе сравнения показатели СЭФР в сыворотке крови у пациенток с наступившей беременностью ( $392,8 \pm 96,4$  пг/мл) и при отсутствии беременности ( $468,3 \pm 87,1$  пг/мл) были сопоставимы (рис. 9).

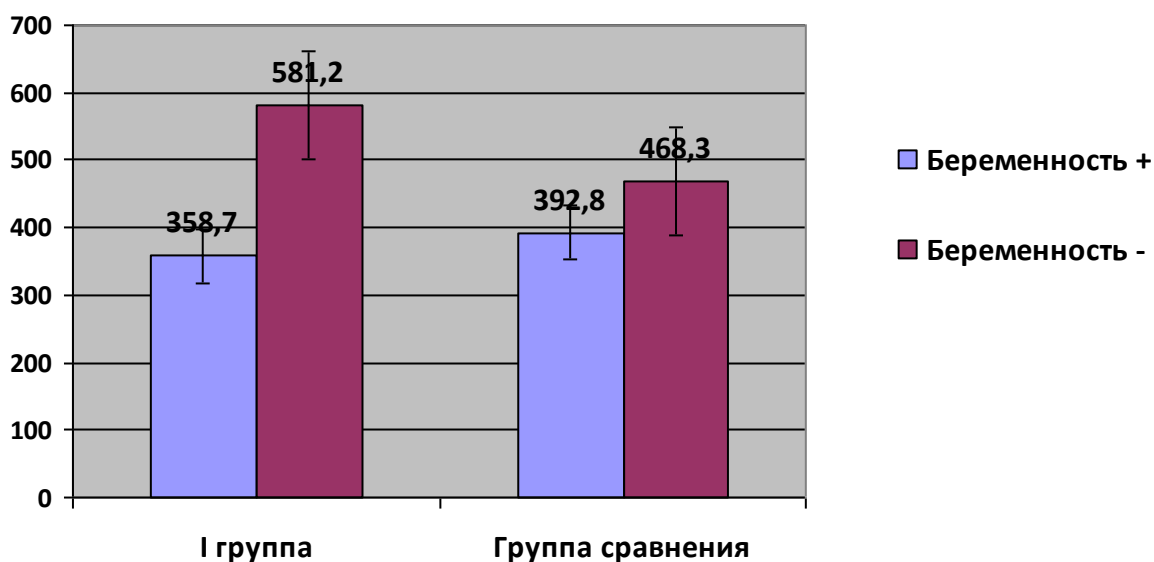


Рис. 9. Уровень СЭФР (пг/мл) сыворотке крови в зависимости от наступления беременности

С целью определения оптимальных пороговых значений концентрации СЭФР был проведен ROC-анализ. Установлено, что у пациенток с уровнем СЭФР более 450 пг/мл в день пункции яичников (чувствительность теста – 90%, специфичность – 93%) высок риск ненаступления беременности.

Таким образом, у пациенток с бесплодием высокое содержание СЭФР в сыворотке крови можно рассматривать как неблагоприятный прогностический фактор для имплантации. При превышении показателя более 450 пг/мл в сыворотке крови требуется проведение коррекции патологического ангиогенеза для улучшения исходов программ ВРТ.

У 120 пациенток I группы и 47 пациенток группы сравнения с наступившей после первого и второго циклов ЭКО беременностью, проводилось определение PLGF (плацентарного фактора роста), sFlt-1 (растворимого рецептора фактора роста эндотелия сосудов) и их отношения sFlt-1/ PLGF как маркеров риска осложнений наступившей беременности. В I триместре кровь для исследования бралась в 11-13 нед. беременности, во II триместре – в 16-20 и 24-28 нед. Выбранные сроки были обусловлены проведением в эти периоды скрининговых исследований с целью выявления внутриутробной патологии плода. Результаты сравнивались с соответствующими показателями, полученными в контрольной группе.

В контрольной группе в I триместре беременности концентрация PLGF оказалась ниже таковой во II триместре (разница достоверна).

Показатель составил в I триместре от 31,4 пг/мл до 168,2 пг/мл, среднее значение  $57,7 \pm 3,8$  пг/мл. Во II триместре – от 65,4 пг/мл до 406,2 пг/мл в 16-20 нед. беременности, среднее значение  $208 \pm 12,3$  пг/мл и от 130,2 пг/мл до 1262,4 пг/мл в 24-28 нед. беременности, среднее значение  $426 \pm 19,5$  пг/мл. С увеличением срока беременности наблюдалась тенденция к возрастанию уровня данного показателя, наиболее выраженная с 19-20 нед. гестации.

Концентрация sFlt-1 в течение I и II триместров достоверно не различалась. В I триместре показатель был от 616 пг/мл до 1986 пг/мл, среднее значение  $1618 \pm 17,3$  пг/мл. Во II триместре – от 538 пг/мл до 2361 пг/мл, среднее значение  $1597 \pm 32,3$  пг/мл в 16-20 нед. беременности и от 630 пг/мл до 3896 пг/мл, среднее значение  $1470 \pm 23,8$  пг/мл в 24-28 нед (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели концентрации PLGF, sFlt-1 и их отношения у пациенток I группы с наступившей беременностью**

Показатели	Пациентки I группы, беременные после ЭКО, n=120	Группа сравнения, n=47	Контрольная группа n=80
<b>11-13 недель</b>			
PIGF, пг/мл	$56,2 \pm 2,9$	$56,7 \pm 2,1$	$57,7 \pm 3,8$
sFlt-1, пг/мл	$1778 \pm 13,5$	$1726 \pm 12,8$	$1618 \pm 17,3$
sFlt-1/PIGF	$31,7 \pm 2,9$	$32, \pm 3,4$	$35,9 \pm 3,2$
<b>16-20 недель</b>			
PIGF	$158 \pm 11,6$	$174 \pm 13,3$	$208 \pm 12,3$
sFlt-1	$1989 \pm 36,2$	$1873 \pm 29,4$	$1597 \pm 32,3$
sFlt-1/PIGF	$19,6 \pm 3,8$	$20,1 \pm 1,9$	$22,2 \pm 2,6$
<b>24-28 недель</b>			
PIGF	$254 \pm 16,8$	$296 \pm 18,3$	$426 \pm 19,5$
sFlt-1	$3189 \pm 36,2$	$2976 \pm 34,2$	$1470 \pm 23,8$
sFlt-1/PIGF	$12,6 \pm 4,2$	$10,3 \pm 2,9$	$8,2 \pm 0,8$

Значение отношения концентрации sFlt-1 к концентрации PLGF имело тенденцию к уменьшению с увеличением срока беременности с 11-13 до 24-28 нед. беременности. Такая динамика показателя в контрольной группе была, вероятно, обусловлена увеличением со сроком беременности концентрации PLGF, продуцируемого плацентой, в то время как концентрация sFlt-1 в течение времени наблюдения достоверно не изменялась (с 11 до 28 нед. беременности). Тенденция к снижению показателя была более заметна после 19-20 нед. беременности.

У пациенток I группы с наступившей после ЭКО беременностью концентрация PLGF составила в I триместре от 29,4 пг/мл до 86,1 пг/мл, среднее значение  $56,2 \pm 2,9$  пг/мл. Во II триместре от 57,7 пг/мл до 246,8 пг/мл, среднее значение  $158 \pm 11,6$  пг/мл в 16-20 нед. и от 38,7 пг/мл до 346,8 пг/мл, среднее значение  $254 \pm 16,8$  пг/мл в 24-28 нед. (рис. 10).

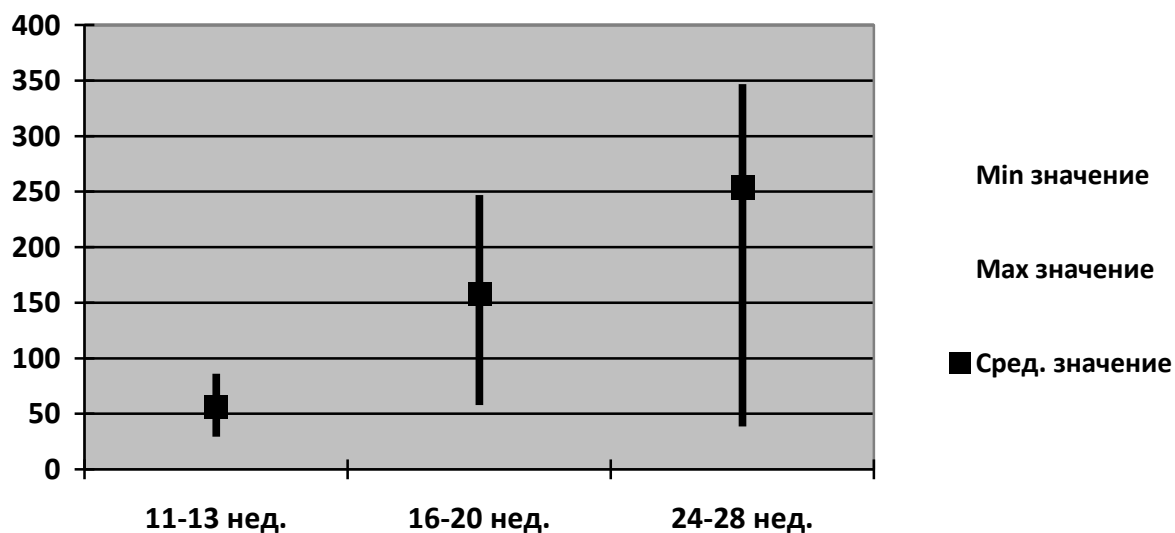


Рис. 10. Уровень PLGF (пг/мл) у пациенток I группы

Уровень sFlt-1 в I триместре был от 816 пг/мл до 2359 пг/мл, среднее значение  $1778 \pm 13,5$  пг/мл. Во II триместре от 1056 пг/мл до 5284 пг/мл, среднее значение  $1989 \pm 36,2$  пг/мл в 16-20 нед. и от 1256 пг/мл до 12849 пг/мл, среднее значение  $3189 \pm 36,2$  пг/мл в 24-28 нед. гестации (рис. 11).

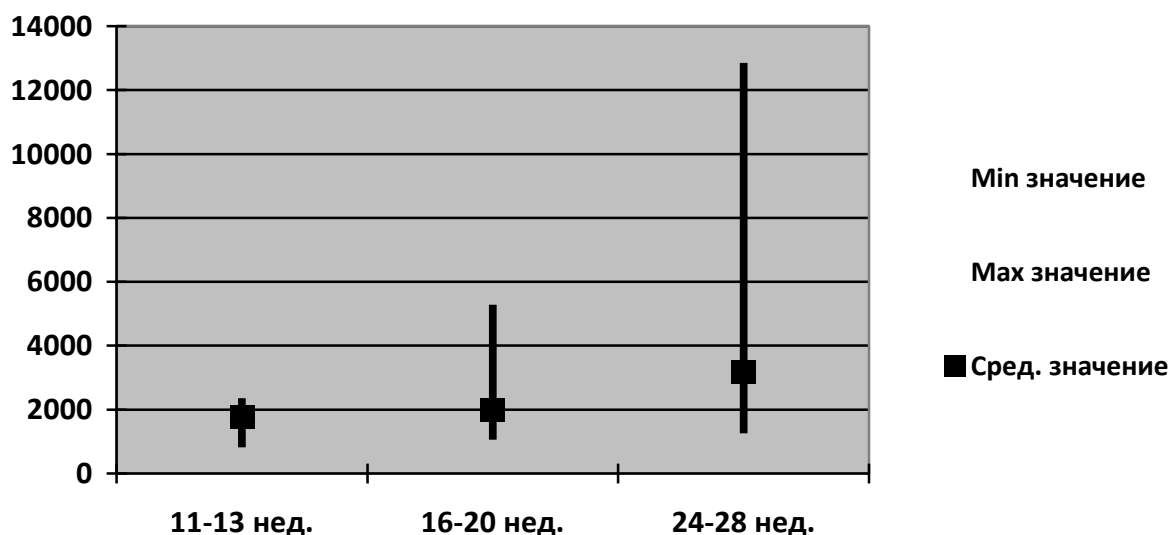


Рис. 11. Уровень sFlt-1 (пг/мл) у пациенток I группы

Анализируя динамику изменения показателей, отмечено сохранение тенденции, наблюдаемой в контрольной группе: повышение уровня PLGF и незначительная динамика уровня sFlt-1. В то же время с увеличением срока беременности возрастал диапазон колебания уровня показателей, что отражало формирование отклонений от нормального течения беременности.

Значение отношения sFlt-1 и PLGF I триместре составило  $31,7 \pm 3,2$  (от 6,3 до 59,2), во II триместре –  $19,6 \pm 3,8$  (от 5,2 до 133,2) в 16-20 нед. и  $12,6 \pm 4,2$  (2,9 до 452) в 24-28 нед. беременности.

Отмечался широкий диапазон колебания значения отношения концентрации sFlt-1 к концентрации PLGF. Наиболее высокие значения отмечались у пациенток с диагностированной с последствие преэклампсией. В целом по группе сохранялась тенденция к снижению показателя (среднее значение) (рис. 12).

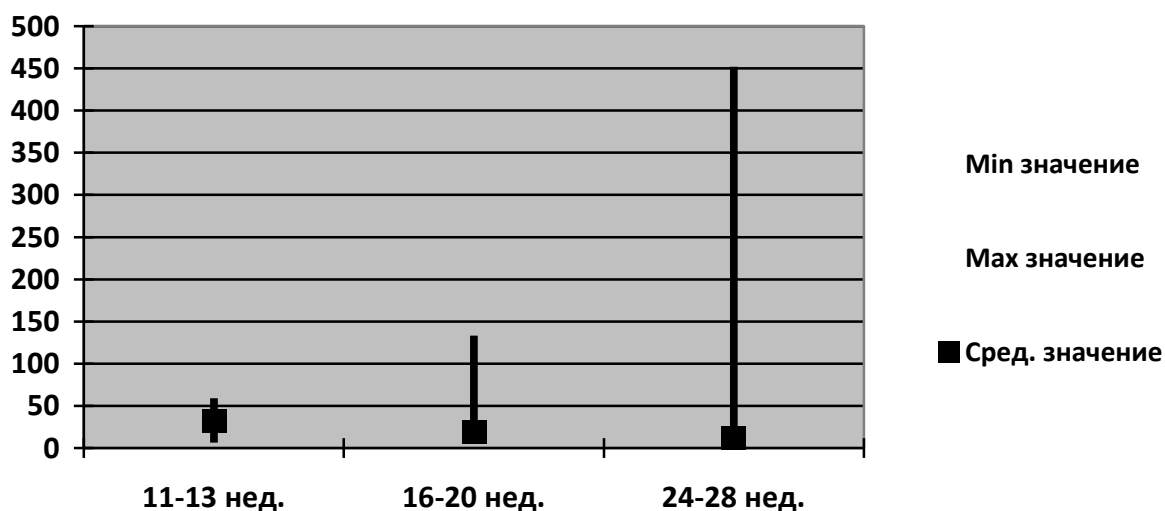


Рис. 12. Значение sFlt-1/PLGF у пациенток I группы

В группе сравнения концентрация PLGF составила в I триместре от 30,1 пг/мл до 79,6 пг/мл, среднее значение  $56,7 \pm 2,1$  пг/мл. Во II триместре от 68,7 пг/мл до 339,9 пг/мл, среднее значение  $174 \pm 13,3$  пг/мл в 16-20 нед. и от 40,3 пг/мл до 354,6 пг/мл, среднее значение  $296 \pm 18,3$  пг/мл в 24-28 нед.

Уровень sFlt-1 в I триместре был от 841 пг/мл до 2366 пг/мл, среднее значение  $1726 \pm 12,8$  пг/мл. Во II триместре от 1043 пг/мл до 2832 пг/мл, среднее значение  $1873 \pm 29,4$  пг/мл в 16-20 нед. и от 1248 пг/мл до 12634 пг/мл, среднее значение  $2976 \pm 34,2$  пг/мл в 24-28 нед.

sFlt-1 /PLGF I триместре составило  $32,5 \pm 3,4$ , во II триместре –  $20,1 \pm 1,9$  в 16-20 нед. и  $10,3 \pm 2,9$  в 24-28 нед. беременности.

Наибольшие изменения изучаемых показателей отмечены у пациенток, у которых позднее появились клинические признаки преэклампсии. Таких пациенток было 47 (39,2%) в I группе и 10 (20,8%) в группе сравнения. Наиболее выраженное изменение уровней PLGF, sFlt-1 и sFlt-1/PLGF отмечалось при третьем исследовании. В 11-13 нед. и 16-20 нед. гестации значения указанных показателей, как правило, не отличались от таковых в целом по группе (рис. 13, 14, 15).

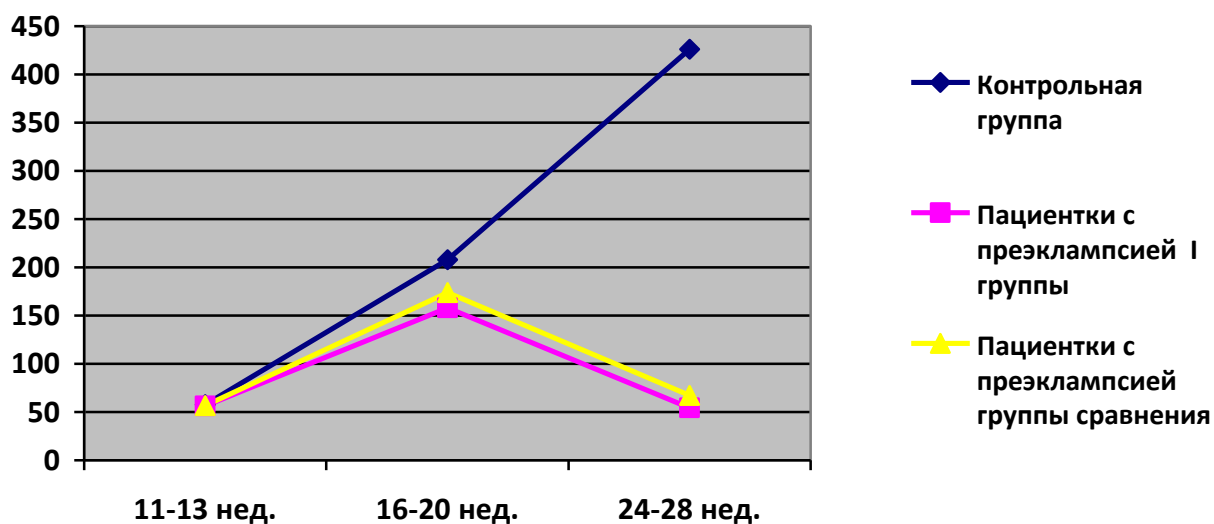


Рис. 13. Динамика PLGF (пг/мл) у пациенток с развившейся преэклампсией

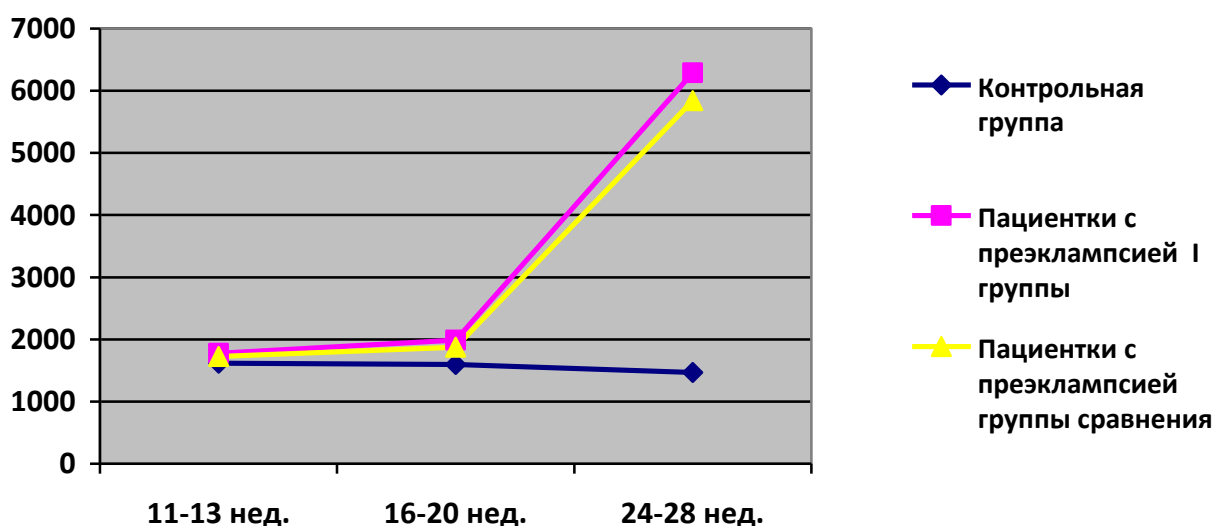


Рис. 14. Динамика sFlt-1 (пг/мл) у пациенток с развившейся преэклампсией

Значительное повышение уровня sFlt-1 уже на 20 нед. беременности определялось только у одной пациентки I группы. У этой пациентки отмечалось раннее развитие тяжелой формы преэклампсии (в 32 нед.), которая, несмотря на проводимую терапию, закончилась антенатальной гибелью плода в 33 нед. беременности.



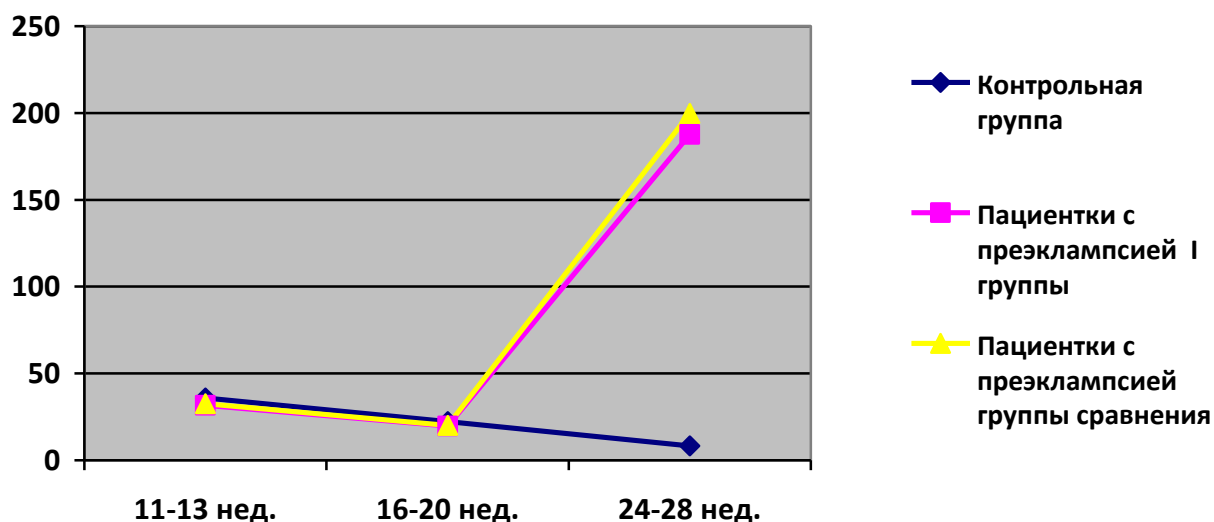


Рис. 15. Динамика sFlt-1/ PLGF у пациенток с развившейся преэклампсией

Таким образом, результаты нашего исследования подтверждают опубликованные в научной литературе данные: повышение отношения уровня sFlt-1 к уровню PLGF свидетельствует о развитии преэклампсии.

Помимо преэклампсии, которая в одном случае была тяжелой формы, у пациенток этой группы беременность сопровождалась другими гестационными осложнениями: угроза прерывания (20,0%), неразвивающаяся беременность (10,0%), фето-плацентарная недостаточность I-II ст. (29,2%), задержка внутриутробного роста плода (8,3%), истмико-цервикальная недостаточность (9,2%), низкая плацентация (5,8%), предлежание плаценты (5,8%). У 38 (31,7%) женщин беременность была многоплодная, из них у 35 (29,2%) двойней и у 3 (2,5%) – тройней. У 16 (13,3%) беременность прервалась на ранних сроках, у 3 (2,5%) после 12 нед., у 14 (11,7%) произошли преждевременные роды.

Анализируя течение и исход беременностей, наступивших после ЭКО, было отмечено, что, исходы беременности были хуже у женщин с генетическими формами тромбофилии и циркуляцией антифосфолипидных антител, в сравнение с пациентками без генетической тромбофилии и теми, у которых циркуляция АФА не выявлялась или была в низком титре.

Это указывает на необходимость обследования женщин, планирующих беременность с помощью ВРТ, на наличие генетических тромбофилических мутаций и полиморфизмов и антител к

фосфолипидам и кофакторам АФА, а также необходимость начала терапии на этапе подготовки к ЭКО.

Важным фактором, влияющим на течение и исход беременностей, наступивших в результате ЭКО, оказалась длительность проводимой противотромботической терапии. У пациенток с генетическими дефектами системы гемостаза, применявших противотромботические препараты (НМГ) в течение как минимум I триместра беременности, течение и исход беременности оказался лучше в сравнение с пациентками, которым проводился короткий курс противотромботической терапии, направленный на коррекцию возникших нарушений системы гемостаза, и теми, которые по различным причинам противотромботические препараты не применяли.

В результате 73,3% беременностей, полученных при ЭКО, завершились рождением живых детей. Самопроизвольными родами без осложнений завершилось 9,2% беременностей, в остальных случаях роды были оперативными путем операции кесарева сечения, что составило 87,8% среди родоразрешенных пациенток.

Учитывая полученные данные, был разработан алгоритм подготовки и ведения программы ЭКО у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе и тромбофилией, примененный у пациенток II группы.

Гемостазиологическое исследование позволяло определить исходный уровень тромбофилии и подобрать адекватную дозу антикоагулянта и антиагреганта.

Персонифицированная патогенетически обоснованная подготовка к планируемой процедуре ЭКО начиналась с фертильного цикла, в процессе стимуляции овуляции. Базисной являлась терапия противотромботическими препаратами: аспирином в дозе 75 мг и низкомолекулярным гепарином (эноксапарин), доза которого подбиралась индивидуально с учетом уровней маркеров тромбофилии, агрегационной активности тромбоцитов и веса женщины. За сутки до планируемой пункции препарат отменяли с последующим продолжением терапии через 12 ч после подсадки эмбрионов.

Контроль эффективности и коррекция дозы препарата осуществлялся 1 раз в 2 нед. и подразумевал определение уровня молекулярных маркеров тромбофилии комплексов ТАТ и Д-димера.

Дополнительная терапия включала витамины для беременных; фолиевую кислоту (у пациенток с гипергомоцистеинемией не менее 4

г/сутки в качестве базисной терапии + витамины В6, В12); полиненасыщенные жирные кислоты (омега-3, омега-6).

В день пункции яичников проводилось определение СЭФР в сыворотке крови, по уровню которого определялась целесообразность переноса эмбриона в текущем цикле.

Частота наступления беременности у женщин оценивалась в первом цикле ЭКО, составила 38,8%, что соответствовало результату в группе сравнения и второго цикла ЭКО в I группе (рис. 7).

Все женщины, с наступившей в результате процедуры ЭКО беременностью, находились в дальнейшем под нашим наблюдением.

С наступлением беременности пациенткам с тромбофилией назначался низкомолекулярный гепарин в профилактической дозе 1 раз в сутки подкожно. Терапия НМГ проводилась в непрерывном режиме в течение всей беременности; в зависимости от агрегационной активности тромбоцитов назначался аспирин.

Перед назначением НМГ производилось УЗИ с целью уточнения маточной локализации плодного яйца и отсутствия участков отслойки хориона, особенно при скудных мажущих кровянистых выделениях из половых путей.

Дополнительно все беременные получали витамины для беременных; фолиевую кислоту (у пациенток с гипергомоцистеинемией не менее 4 г/сутки в качестве базисной терапии + витамины В6, В12); полиненасыщенные жирные кислоты (омега-3, омега-6).

Контроль эффективности и безопасности проводимой терапии на протяжении наступившей беременности, подразумевал анализ лабораторных данных (определение молекулярных маркеров тромбофилии ТАТ, Д-димера и анти-Ха) и оценку клинических тестов, в том числе функциональных. Критериями эффективности и безопасности противотромботической профилактики у беременных с тромбофилией после программы ЭКО были:

Лабораторные:

1. Снижение уровня маркеров тромбофилии: ТАТ, Д-димер;
2. Нормализация агрегации тромбоцитов;
3. Нормализация количества тромбоцитов или отсутствие снижения их количества (при исходно нормальных значениях);

И клинические:

1. Купирование угрозы прерывания беременности;

2. УЗИ-контроль;
3. Допплерометрия маточно-плацентарного кровотока;
4. Отсутствие тромботических осложнений.

Наличие кровянистых выделений из половых путей, признаки отслойки участка плаценты или ворсин хориона по данным УЗИ, а также тромбоцитопения на 5-7 день применения НМГ рассматривались как временное противопоказание к применению препарата.

В I триместре в 11-13 нед. беременности, во II триместре – в 16-20 и 24-28 нед. бралась кровь для определения маркеров ангиогенеза (sFlt-1, PLGF и их отношения), рекомендуемые к определению с целью оценки риска развития преэклампсии.

После 20 нед. беременности с целью максимально раннего выявления возможных осложнений второй половины беременности (преэклампсии, ЗВРП, плацентарной недостаточности), оценивались данные доплерометрии маточно-плацентарного кровотока, УЗИ, кардиотокографии.

В зависимости от показателей гемостазиологического исследования (ТАТ, Д-димер, агрегация тромбоцитов) доза НМГ корректировалась. В большинстве случаев после 20 нед. потребовалось увеличение дозы, что было закономерно связано с прогрессированием беременности.

Проведение длительной терапии с применением противотромботических препаратов и витаминов в постоянном режиме способствовало благоприятному течению беременности, наступившей в результате ЭКО у пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе.

Можно с большой степенью вероятности утверждать о доминирующей роли генетической тромбофилии и АФС в патогенезе бесплодия и повторных неудачных попыток ЭКО. Исходя из вышеизложенного, меняется и взгляд на профилактику указанных осложнений: патогенетически обоснованной представляется дифференцированная терапия противотромботическими препаратами, антиоксидантами и витаминами. В том числе и у пациенток с тромбозами в анамнезе или отягощенным семейным тромботическим анамнезом.

Можно предположить, что применение противотромботических препаратов как меры терапевтического воздействия на систему гемостаза и фибринолиз способствуют более эффективной инвазии трофобласта и полноценному формированию плаценты, что улучшает

результативность ЭКО и приводит к меньшему числу репродуктивных потерь в ранние сроки беременности после ЭКО.

С нашей точки зрения, все пациентки с бесплодием и повторными неудачными попытками ЭКО, а также, отягощенным семейным тромботическим анамнезом должны подвергаться скринингу на скрытую тромбофилию (антифосфолипидные антитела и генетические формы) с целью оптимизации ведения следующей беременности.

Патогенетически обоснованная профилактика с использованием противотромботических препаратов, витаминов и антиоксидантов у пациенток с бесплодием и неудачами ЭКО позволяет улучшить эффективность ЭКО, а также течение гестационного процесса и перинатальные исходы у беременных после программы ЭКО.

Важную роль в прогнозировании результатов ВРТ играет определение маркеров ангиогенеза: СЭФР, PLGF, sFlt-1и отношения sFlt-1/PLGF.

Оценка указанных показателей в сыворотке крови позволяет выявить пациенток, требующих проведения коррекции патологического ангиогенеза, что способствует увеличению частоты наступления беременности после переноса эмбриона, и контролировать процессы ангиогенеза в течение беременности (sFlt-1, PLGF, sFlt-1/PLGF) и тем самым предупреждать развитие возможных осложнений (в частности, преэклампсию) и улучшать исходы программ ВРТ.

### **ВЫВОДЫ:**

1. Наличие генетической и приобретенной тромбофилии является дополнительным фактором риска неудач экстракорпорального оплодотворения.
2. У 29,8% пациенток с бесплодием, планирующих беременность с применением вспомогательных репродуктивных технологий, выявляется скрытая тромбофилия: у 24,1% генетическая, у 16,7% обусловленная циркуляцией антифосфолипидных антител, у 11,2% их сочетанием.
3. У пациенток с бесплодием неясного генеза частота как генетических, так и приобретенных форм тромбофилии достоверно выше, в сравнении с пациентками, имеющих другие формы бесплодия.
4. Частота наступления беременности у пациенток с тромбофилией, получающих противотромботическую терапию достоверно выше, чем

у пациенток с тромбофилией не получающих противотромботическую терапию.

5. Циркуляция антифосфолипидных антител имеет место у 30,6% с бесплодием неясного генеза и у 41,3% с неудачами экстракорпорального оплодотворения в анамнезе. Особенностью циркулирующих антифосфолипидных антител являются высокий титр антител к  $\beta_2$ -гликопротеину<sub>1</sub>, антител к аннексину V, антител к протромбину, волчаночного антикоагулянта и низкий титр антител к кардиолипину.
6. У 51,6% пациенток с неудачами ЭКО в анамнезе и 46,5% с бесплодием неясного генеза обнаружена генетическая тромбофилия. Среди генетических мутаций и полиморфизмов доминируют полиморфизмы генов, определяющие нарушения фибринолиза, непосредственно влияющие на процессы инвазии трофобласта, имплантации и плацентации: PAI-1, t-PA, фибриногена и их сочетания.
7. Частота неудач экстракорпорального оплодотворения достоверно выше у пациенток с генетической тромбофилией по сравнению с женщинами без генетической тромбофилии, у пациенток с циркуляцией антифосфолипидных антител по сравнению с женщинами без циркуляции антифосфолипидных антител.
8. Ангиогенные и антиангиогенные факторы являются ценными прогностическими маркерами наступления беременности после экстракорпорального оплодотворения и развития преэклампсии при прогрессировании беременности. Риск ненаступления беременности высок при значениях сосудистого эндотелиального фактора роста в день пункции яичников более 450 пг/мл (чувствительность теста 90%, специфичность 93%).
9. У пациенток с синдромом гиперстимуляции яичников достоверно выше уровень молекулярных маркеров тромбофилии ТАТ, Д-Димера и сосудистого эндотелиального фактора роста, чем у пациенток без синдрома гиперстимуляции яичников.
10. У женщин после экстракорпорального оплодотворения в I триместре наблюдается более высокие значения маркеров тромбофилии по сравнению с пациентками I триместра без экстракорпорального оплодотворения.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:**

1. Применение вспомогательных репродуктивных технологий требует индивидуального подхода к каждой пациентке: при наличии в анамнезе, в том числе семейном, тромботических осложнений и неудач экстракорпорального оплодотворения, следует проводить диагностику тромбофилии и нарушений гемостаза и подготовку к планируемой процедуре экстракорпорального оплодотворения, особенно в случаях бесплодия неясного генеза.
2. Диагностика генетической тромбофилии, определение циркуляции антифосфолипидных антител, гипергомоцистеинемии наряду с исследованием системы гемостаза с определением молекулярных маркеров тромбофилии позволяет выявить пациенток группы риска неудач экстракорпорального оплодотворения, синдрома гиперстимуляции яичников и тромботических осложнений, которым требуется подготовка к экстракорпоральному оплодотворению.
3. Наиболее неблагоприятным в прогностическом плане является сочетание циркуляции антифосфолипидных антител с генетической тромбофилией и одновременная циркуляция нескольких разновидностей антифосфолипидных антител – антител к кардиолипину, b2-GPI, аннексину V, протромбину и волчаночного антикоагулянта.
4. При подтверждении диагноза тромбофилии пациентке рекомендуется проведение дифференцированной противотромботической профилактики, с учетом формы тромбофилии, включающей назначение препарата низкомолекулярного гепарина в сочетании с аспирином в низких дозах и антиоксидантной терапией, препаратами натурального прогестерона. В случае обнаружения мутации метилентетрагидрофолатредуктазы C667T обязательно дополнительное назначение фолиевой кислоты (4 мг/сут) и витаминов группы В.
5. При подготовке к программе экстракорпорального оплодотворения пациенток с тромбофилией патогенетически оправданным является начало антитромботической терапии в фертильном цикле, в процессе стимуляции овуляции с отменой терапии за сутки до планируемой пункции яичников и возобновлением через 12 ч после переноса эмбрионов.
6. У пациенток с тромбофилией терапия препаратами низкомолекулярного гепарина показана на протяжении всей беременности, с отменой за

сутки до родоразрешения и возобновлением через 8 ч в течение 10-ти дней послеродового/послеоперационного периода. Контролем эффективности противотромботической терапии служат маркеры тромбинемии и фибринообразования (ТАТ, Д-димер) и анти-Ха.

7. Не рекомендуется начало программы экстракорпорального оплодотворения у пациенток с тромбофилией, как наследственной, так и приобретенной, в условиях выраженной активации системы гемостаза и/или повышенных уровней антифосфолипидных антител до проведения адекватной подготовки к беременности с применением антикоагулянтной терапии и нормализации или улучшения показателей системы гемостаза.
8. Оценка уровня сосудистого эндотелиального фактора роста в сыворотке крови на этапе подготовки к экстракорпоральному оплодотворению позволяет выявить пациенток, требующих коррекции патологического ангиогенеза, что способствует увеличению частоты наступления беременности.
9. Контроль динамики ангиогенных и антиангиогенных факторов позволяет предупреждать развитие осложнений и тем самым улучшать исход экстракорпорального оплодотворения.

### **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1 Тромбоэмболические осложнения, связанные с использованием вспомогательных репродуктивных технологий, Акушерство, гинекология и перинатология, Ереван, Vol. 4, No. 1-2, 2010, с. 74-86, А.Д. Макацария, Л.Р. Абрамян, В.О. Бицадзе, С.М. Баймурадова, Н.А. Макацария, Г.Р. Абрамян.

2 Effectiveness of antioxidants in prevention of hypertensive disorders among pregnant and in case of complex treatment. The New Armenian Medical Journal, Yerevan, Vol. 4, No. 3, 2010, p. 64, Abrahamyan G.R., Abrahamyan R.A.

3 Simultaneous prescription of Metformin and Orlistat in treatment of insulin resistant polycystic ovarian disease. The New Armenian Medical Journal, Yerevan, Vol. 4, No. 3, 2010, p.79, Vardapeytan V.V., Kerkeryan J., Abrahamyan G.R.

4 Применение артротекса с целью профилактики и лечения гиперстимуляции матки , Акушерство, гинекология и перинатология,



Ереван, Vol. 5, No. 1-2, 2011, с. 42-44 3, Л.Р. Абрамян, Г.Р. Абрамян, К.С. Антонян

5 Состояние иммунного статуса рожениц при слабости родовой деятельности, Акушерство, гинекология и перинатология, Ереван, Vol. 5, No. 1-2, 2011, с. 32-34, Р.А. Абрамян, Л.Р. Абрамян, К.С. Антонян, Г.Р. Абрамян.

6 Особенности перинатального периода при применении мизопростола, 3-й Международный медицинский конгресс Армении “Вместе во имя здоровья”, Сборник тезисов, Ереван, 2011, с. 275, Абрамян Р., Абрамян Г., Антонян К.

7 Применение Грандаксина у рожениц с легкой формой преэклампсии, 3-й Международный медицинский конгресс Армении “Вместе во имя здоровья”, Сборник тезисов, Ереван, 2011, с. 276, Вардапетян В., Абрамян Г., Абрамян Л.

8 Применение антигипоксантов в акушерской практике, 3-й Международный медицинский конгресс Армении “Вместе во имя здоровья”, Сборник тезисов, Ереван, 2011, с. 278, Абрамян Р., Абрамян Г.

9 Стимуляция овуляции у больных с поликистозными яичками при помощи ингибитора ароматазы, Акушерство, гинекология и перинатология, Ереван, Vol. 6, No. 2, 2012, с.23-28, А.С. Саакян, Р.А. Абрамян, Г.Р.Абрамян.

10 Растительные антигипоксанты в акушерской практике, Акушерство, гинекология и перинатология, Ереван, Vol. 6, No. 1, 2012, с. 38-39, Абрамян Р.Р., Абрамян Г.Р.

11 Система протеина С и патологические состояния организма, в частности в акушерской практике, Медицинская наука Армении, т. LIII, N4, Ереван, 2013, с.8-19, А.Д. Макацария, Р.А. Абрамян, Д.Х. Хизроева, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

12 Պտղի կրստի համախտանիշը ժառանգական թրոմբոֆիլիաների դեպքում, Մանկաբարձություն, գինեկոլոգիա, նեոնատալոգիա, Երևան, Vol. 7, No. 2, 2013, էջ.՝ 79-84, Ռ.Ա. Արրահամյան, Ա.Ա. Շարրատյան, Ռ.Ռ. Արրահամյան, Գ.Ռ.Արրահամյան

13 Вспомогательные репродуктивные технологии и тромбозы, Акушерство, гинекология и перинатология, Ереван, Vol. 7, No. 2, 2013, с.13-21, В.О. Бицадзе, С.В. Акиншина, А.Д. Макацария, Г.Р. Абрамян, Р.Р.Абрамян

14 Течение беременности у женщин с метаболическим синдромом с учетом патогенетической роли тромбофилии, *Акушерство, гинекология и перинатология*, Ереван, Vol. 7, No. 2, 2013, с. 22-32, Е.Б. Передеряева, Т.Б. Пшеничникова, А.Д. Макацария, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

15 Частота и структура генетических и приобретенных форм тромбофилии при беременности высокого риска, *Акушерство, гинекология и перинатология*, Ереван, Vol. 7, No. 2, 2013, с. 46-53, Р.А. Абрамян, П.О.Соцкий, А.С. Айрапетян, Л.Л. Сафарян, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

16 Современная тактика профилактики и лечения гиперстимуляции матки, *Репродуктивный потенциал России: Уральские чтения. Конroversии повседневной жизни, Тезисы*, Москва, 2013, с. 05-06. Абрамян Г.Р.

17 Особенности сократительной деятельности матки у рожениц при поздних гестозах, *World congress of perinatal medicine, Abstract book*, Moscow, 2013, Р.А. Абрамян, Р.Р. Абрамян, Г.Р. Абрамян

18 Современная тактика ведения послеродового периода с субинволюцией матки беременных высокого риска, *World congress of perinatal medicine, Abstract book*, Moscow, 2013 2, Р.А. Абрамян, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

19 The impact of ovarian reserve on the effectiveness of stimulation of ovulation, *11th Armenian Medical World Congress, Congress program and abstract book*, Los Angeles, 2013, p. 182, R.A. Abrahamyan, V.V. Vardapetyan, G.R. Abrahamyan, R.R. Abrahamyan

20 Etiology and prevalence of unfecund marriages in Armenia, *11th Armenian Medical World Congress, Congress program and abstract book*, Los Angeles, 2013, p. 183, R.A. Abrahamyan, V.M. Gyulkhasyan, L.R. Abrahamyan, G.R. Abrahamyan

21 Molecular markers of thrombophilia at premature birth, *11th Armenian Medical World Congress, Congress program and abstract book*, Los Angeles, 2013, p. 189, A.K. Bbulyan, R.A. Abrahamyan, G.R. Abrahamyan, T.A. Bbulyan

22 Роль тромбофилии в развитии акушерской патологии, *Акушерство, гинекология и перинатология*, Ереван, Vol. 8, No. 1, 2014, с. 30-36, П.О.Соцкий, Р.А. Абрамян, Г.Р. Абрамян, Р.Р.Абрамян

23 Антифосфолипидный синдром и вспомогательные репродуктивные технологии, *Акушерство, гинекология и перинатология*,

Ереван, Vol. 8, No. 1, 2014, с. 12-20, Д.Х. Хизроева, А.Д. Макацария, Р.А. Абрамян, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

24 Синдром гиперстимуляции яичников и тромбозы, Акушерство, гинекология и перинатология, Ереван, Vol. 8, No. 1, 2014, с. 5-11, В.О. Бицадзе, С.В. Акиншина, А.Д. Макацария, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

25 Fetal loss syndrome and anticoagulation system deficiency, Научно-практический журнал КРОВЬ, Гемостаз. Проблемы и достижения, Ереван, N2 (18), 2014, с.77, R.A. Abrahamyan, A.A. Sharbatyan, L.R. Abrahamyan, R.R. Abrahamyan, G.R. Abrahamyan

26 Антифосфолипидные антитела и проблемы ЭКО, Научно-практический журнал КРОВЬ, Гемостаз. Проблемы и достижения, Ереван, N2 (18), 2014, с.84, Д.Х. Хизроева, А.Д. Макацария, Р.А. Абрамян, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

27 Оценка эффективности гравитационной хирургии крови и коррекции функциональной гиперпролактинемии у женщин детородного возраста, Научно-практический журнал КРОВЬ, Гемостаз. Проблемы и достижения, Ереван, N2 (18), 2014, с.87, Р.А. Абрамян, А.К. Блбулян, О.К. Асланян, Г.Р. Абрамян, Р.Р. Абрамян

28 Genetic and acquired thrombophilias in high risk pregnancy in women of Armenian population, Научно-практический журнал КРОВЬ, Гемостаз. Проблемы и достижения, Ереван, N2 (18), 2014, с.92, P.O. Sotsky, G.R. Abrahamyan, R.R. Abrahamyan, R.A. Abrahamyan

29 The role of physiological anticoagulation systems deficiency in the fetal loss syndrome pathogenesis, Национальная Академия наук РА, Электронный журнал Естественные науки, Медицина, Ереван, 2(23) 2014, с. 20-22, R.A. Abrahamyan, A.A. Sharbatyan, G.R. Abrahamyan, L.R. Abrahamyan, R.R. Abrahamyan

30 The role of hereditary thrombophilias in fetal loss syndrome pathogenesis, Национальная Академия наук РА, Электронный журнал Естественные науки, Медицина, Ереван, 2(23) 2014, с. 23-25, R.A. Abrahamyan, L.R. Abrahamyan, A.A. Sharbatyan, G.R. Abrahamyan, R.R. Abrahamyan

31 Спектр антифосфолипидных антител у пациенток с синдромом потери плода, Акушерство, гинекология, репродукция, Москва, 2014, том 8, N4, с.84, Селхаджиева М.С., Абрамян Г.Р., Стулева Н.С.

32 Роль антифосфолипидных антител в генезе синдром потери плода, *Акушерство, гинекология, репродукция*, Москва, 2014, том 8, N4, с.82, Хизроева Д.Х., Капанадзе Д., Андреева М.Д., Абрамян Г.Р.

33 Предикторы осложнений гестации при генетической и приобретенной тромбофилии, *Հայաստանի 4-րդ միջազգային բժշկական համագումար, Նյութերի ժողովածու, Երևան*, 2015, с 196-197, Абрамян Р.А., Соцкий П.О., Абрамян Г.Р.

34 Тромбофилия и врожденные пороки развития, *Հայաստանի 4-րդ միջազգային բժշկական համագումար, Նյութերի ժողովածու, Երևան*, 2015, с 197-198, Абрамян Р.А., Шарбатян А.А., Абрамян Г.Р.

35 Pregnancy in women with history of ischemic stroke and thrombophilia, *Акушерство, гинекология, репродукция*, Москва, 2015, том 9, N2, с.89-98, Makatsariya A.D., Akinshina S.V., Bitsadze V.O., Zhuravleva E.V., Idrisova L.E., Abrahamyan G.R.

36 Complicated thrombophilic anamnesis and pregnancy, *Акушерство, гинекология и перинатология*, Ереван, Vol. 10, No. 1, 2016, с. 5-8, Makatsariya A.D., Akinshina S.V., Bitsadze V.O., Zhuravleva E.V., Idrisova L.E., Abrahamyan G.R.

37 Профилактика тромбозов в программах ЭКО, *Акушерство, гинекология и перинатология*, Ереван, Vol. 10, No. 2, 2016, с. 14-17, Абрамян Г.Р.

38 Прогностическое значение сосудистого эндотелиального фактора роста в программах ЭКО, *Акушерство, гинекология и перинатология*, Ереван, Vol. 10, No. 2, 2016, с. 18-20, Абрамян Г.Р.

39 Клиническое значение выявления антифосфолипидных антител и генетической тромбофилии у пациенток с неудачными попытками экстракорпорального оплодотворения, *Практическая медицина, Аллергология. Иммунология. Пульмонология*, Казань, N3 (95), 2016, с.113-118, Г.Р. Абрамян

40 Ժառանգական թրոմբոֆիլիաները պտղի կորստի համախտանիշի դեպքում, *Տեսական և կլինիկական բժշկության հարցեր*, Երևան, Ա.Ա. Շարբատյան, Ռ.Ռ' Արրահամյան, Գ.Ռ. Արրահամյան

41 Клиническое значение определения проангиогенных и антиангиогенных факторов в прогнозе течения беременности у пациенток после экстракорпорального оплодотворения, *Практическая медицина, Хирургия*, Казань, N6 (106), 2017, с.113-117, Г.Р. Абрамян

42 Тромбофилии у женщин с бесплодием и неудачами экстракорпорального оплодотворения, Практическая медицина, Акушерство, Гинекология, Казань, N7 (108), 2017, с.81-85, Г.Р. Абрамян

43 Профилактика тромбоза в программах вспомогательных репродуктивных технологий, Практическая медицина, Акушерство, Гинекология, Казань, N7 (108), 2017, с.143-146, Г.Р. Абрамян

44 Подготовка и проведение программы экстракорпорального оплодотворения у пациенток с тромбофилией и анамнезом неудачного экстракорпорального оплодотворения, Медицинские новости Грузии, Тбилиси-Нью Йорк, N 7-8 (268-269), 2017, с.17-23, Абрамян Г.Р.

45 Тромбофилические генетические мутации и полиморфизмы у женщин с бесплодием и неудачами экстракорпорального оплодотворения, Медицинские новости Грузии, Тбилиси-Нью Йорк, N 7-8 (268-269), 2017, с.28-34, Абрамян Г.Р.

46 Thrombophilia and IVS, 12th Armenian Medical World Congress, Buenos Aires, 2017, G.R. Abrahamyan, R.A. Abrahamyan.

## **MAJOR PRINCIPLES OF PATHOGENETIC PROPHYLAXIS OF IVF FAILURES AND COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH ACQUIRED AND GENETIC THROMBOPHILIAS**

**G.R. Abrahamyan**

### **Summary**

Regardless of the obvious success in treatment of infertility, especially with introduction of ART, the per cent of IVF failures remains high. Thus the necessity to search for new ways to implement reproductive efficiency has become the prerogative of time, where one of the most important roles is played by thrombophilia factor.

The results of our research showed that:

Presence of both genetic and acquired thrombophilias is an additional risk factor for IVF failure.

In 29,8% of patients with infertility, planning pregnancy with application of assisted reproductive technologies, latent thrombophilia was identified as follows: in 24,1% - genetic, in 16,7% - conditioned by circulation of antiphospholipid antibodies, in 11,2% - combination of those.

Patients with infertility of uncertain origin the frequency of both genetic and acquired forms of thrombophilia was significantly higher, compared to patients with other types of infertility.

Frequency of occurrence of pregnancy in patients with thrombophilia, receiving antithrombotic therapy was significantly higher compared to patients with thrombophilia, not receiving antithrombotic therapy.

The circulation of antiphospholipid antibodies took place in 30,6% of women with infertility of uncertain origin and in 41,3% of women with history of failed IVF. The peculiarity of circulating antiphospholipid antibodies was the high titre of antibodies to b2-glycoprotein1, antibodies to annexin V, antibodies to prothrombin, to lupus anticoagulant and low titre of antibodies to cardiolipin.

In 51,6% of patients with history of failed IVF and in 46,5% with infertility of uncertain origin genetic thrombophilia was identified. Among genetic mutations and polymorphisms, dominated polymorphisms of genes, determining dysfibrinogenemia, immediately influencing the trophoblast invasion, implantation and placentation processes: PAI-1, t-PA, fibrinogen and combination of those.

Frequency of in vitro fertilization failures was significantly higher in patients with genetic thrombophilia, compared to women without genetic thrombophilia, in patients with circulation of antiphospholipid antibodies, compared to women without circulation of antiphospholipid antibodies.

Angiogenic and anti-angiogenic factors are valuable prognostic markers for occurrence of pregnancy after in vitro fertilization and development of preeclampsia as the pregnancy progresses. The risk of pregnancy occurrence was high at values of vascular endothelial growth factor on the day of  $\beta$  paracentesis of ovary at 450 pg/ml (test sensibility - 90%, specificity 93%).

In patients with Ovarian Hyper-Stimulation Syndrome the level of molecular markers of thrombophilia TAT, D-Dimer and vascular endothelial growth factor (VEGF), was significantly higher than among patients without Ovarian Hyper-Stimulation Syndrome.

Finally, after successful IVF in I trimester of pregnancy, the value of thrombophilia markers were higher than in the group of pregnant women without IVF.

For the first time the role of secondary prophylaxis of recurrent IVF failures and complications of pregnancy after IVF with application of low-molecular heparins, low doses of aspirin, antioxidants, preparations of progesterone and vitamins.

The dominating role of genetic thrombophilia and APS in pathogenesis of infertility and recurrent failed IVFs can be stated with high degree of probability.

Based upon the foregoing the view to prophylaxis of the specified complications: it seems to be pathogenetically justified to introduce differentiated therapy with antithrombotic medication, antioxidants and vitamins. Including in patients with history of thrombosis or aggravated with familial thrombotic history.

**ՁԵՌՔԵՐՈՎԻ ԵՎ ԳԵՆԵՏԻԿ ԹՐՈՄԲՈՑԻԼԻԱՅՈՎ ԿԱՆԱՆՑ ԱՄԲ ԱՆԱՐԴՅՈՒՆԱՎԵՏ ԵՎ ԲԱՐԴԱՑԱԾ ԴԵՊՔԵՐԻ ԱԽՏԱԾՆԱՅԻՆ ԿԱՆԽԱՐԳԵԼՄԱՆ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ՍԿԶԲՈՒՆՔՆԵՐԸ**

**Գ.Ռ. Աբրահամյան  
Ամփոփում**

Չնայած անպտղության բուժման ոլորտում գրանցված ակնհայտ հաջողություններին, հատկապես պայմանավորված վերարտադրողականության օժանդակ տեխնոլոգիաների ներդրմամբ, անարդյունավետ ԱՄԲ-ի տոկոսը շարունակում է մնալ բարձր: Վերարտադրողականության արդյունավետության բարձրացման նոր ճանապարհներ փնտրելը դարձել է ժամանակի հրամայական, ուր թրոմբոֆիլիայի գործոնն ունի կարևորագույն դերերից մեկը:

Մեր հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ՝ գենետիկ և ձեռքբերված թրոմբոֆիլիայի առկայությունը հանդիսանում է անարդյունավետ արտամարմնային բեղմնավորման լրացուցիչ ռիսկի գործոն:

Անպտղություն ունեցող և վերարտադրողականության օժանդակ տեխնոլոգիաների կիրառմամբ հղիությունը պլանավորող կանանց 29,8%-ի մոտ հայտնաբերված է թաքնված թրոմբոֆիլիա՝ 24,1%-ի մոտ՝ գենետիկ, 16,7%-ի մոտ՝ հակաֆոսֆոլիպիդային հակամարմինների շրջանառությամբ պայմանավորված, 11,2%-ի մոտ՝ դրանց համադրությունը:

Անհայտ ծագման անպտղությամբ կանանց մոտ, թրոմբոֆիլիայի ինչպես գենետիկ, այնպես էլ ձեռքբերված ձևերի հաճախականությունը զգալիորեն ավելի բարձր էր, համեմատ անպտղության այլ ձևեր ունեցող կանանց հետ:

Թրոմբոֆիլիա ունեցող և հակաթրոմբոտիկ թերապիա ստացող կանանց մոտ հղիության հաճախականությունը զգալիորեն ավելի բարձր

էր, քան թրոմբոֆիլիա ունեցող և հակաթրոմբոտիկ թերապիա չստացող կանանց մոտ:

Հակաֆոսֆոլիպիդային հակամարմինների շրջանառությունը առկա էր անհայտ ծագման անպտղություն ունեցող կանանց 30,6% -ի մոտ և անարդյունավետ ԱՄԲ ունեցող կանանց 41,3%-ի մոտ: Հակաֆոսֆոլիպիդային հակամարմինների շրջանառության առանձնահատկություն է համարվում b2-գլիկոպրոտեին1-ին, V անեքսինին, պրոտրոմբինին հակամարմինների, գայլախտային հակամակարդիչի բարձր տիտրը և կարդիոլիպինային համակարմինների ցածր տիտրը:

Անարդյունավետ ԱՄԲ պատմություն ունեցող կանանց 51,6% և անհայտ ծագման անպտղություն ունեցող 46,5%-ի մոտ հայտնաբերվել էր գենետիկ թրոմբոֆիլիա: Գենետիկական մուտացիաների և գեների պոլիմորֆիզմների մեջ գերիշխում էին գեների պոլիմորֆիզմները, որոնք որոշում են Ֆիբրինալուծման խանգարումները, որոնք անմիջական ազդեցություն ունեն թրոմբոլաստի ինվազիայի, իմպլանտացիայի և պլացենտացիայի գործընթացների վրա՝ PAI-1, t-PA, ֆիբրինոգենը և դրանց համադրումը:

Արտամարմնային բեղմնավորման անհաջողությունների հաճախականությունը զգալիորեն ավելի բարձր էր գենետիկական թրոմբոֆիլիա ունեցող կանանց մոտ, համեմատած գենետիկական թրոմբոֆիլիա չունեցող կանանց հետ և հակաֆոսֆոլիպիդային հակամարմինների շրջանառությամբ կանանց մոտ, համեմատած այդպիսի շրջանառություն չունեցող կանանց հետ:

Անգիոգեն և հակաանգիոգեն գործոնները արտամարմնային բեղմնավորումից հետո հղիության և հղիության զարգացման ընթացքում պրեէկլամպսիայի զարգացման կանխատեսման արժեքավոր մարկերներ են հանդիսանում. Հղիության առաջացման ռիսկը բարձր էր երբ ձվարանների պունկցիայի օրը անոթային էնդոթելի աճի գործոնի ցուցանիշը հավասար էր 450 պգ/մլ (թեստի զգայունությունը 90%, առանձնահատկությունը՝ 93%).

Ձվարանների գերխթանման համախտանիշ ունեցող կանանց մոտ թրոմբոֆիլիայի մոլեկուլյար մարկերների մակարդակը /TAT/, D-Դիմերը և անոթային էնդոթելի աճի գործոնը (VEGF) զգալիորեն ավելի բարձր էր, քան ձվարանների գերխթանման համախտանիշ չունեցող կանանց մոտ:



Ի վերջո, հաջողված ԱՄԲ-ից հետո առաջացած հղիության առաջին եռամսյակում թրոմբոֆիլիայի մարկերների ցուցանիշները ավելի բարձր էին, քան առանց ԱՄԲ-ի հղիների խմբում:

Առաջին անգամ ուսումնասիրվել է կրկնվող անարդյունավետ ԱՄԲ երկրորդական կանխարգելման և ցածր մոլեկուլյար հեպարինների, ասպիրինի ցածր չափաբաժինների, հակաօքսիդանտների, պրոգեստերոնի պրեպարատների և վիտամինների կիրառմամբ ԱՄԲ-ից հետո հղիության բարդացումների դերը:

Բարձր հավանականությամբ կարելի է պնդել գենետիկական թրոմբոֆիլիայի և ՀՖՀ-ի գերակշռող դերը անպտղության պաթոգենեզի և ԱՄԲ կրկնվող անարդյունավետ փորձերի համար:

Վերը շարադրվածից ելնելով փոխվում է նաև վերաբերմունքը նշված բարդացումների կանխարգելման հանդեպ՝ պաթոգենետիկորեն հիմնավորված է համարվում դիֆերենցված թերապիան հակաթրոմբոտիկ դեղամիջոցներով, հակաօքսիդանտներով և վիտամիններով, այդ թվում անամնեզում թրոմբոզներ ունեցող կամ ընտանեկան թրոմբոտիկ անամնեզով ծանրաբեռնված կանանց մոտ: