

Криоконсервированная сыворотка кордовой крови в восстановлении репродуктивной функции при антифосфолипидном синдроме

UDC 618.2:612.017.1:611-018.5.013.8

V.YU. TRIFONOV¹, V.YU. PROKOPYUK^{1*}, A.V. ZAYCHENKO²

Cryopreserved Cord Blood Serum for Reproductive Function Restoration During Antiphospholipid Syndrome

Изучали влияние криоконсервированного препарата сыворотки кордовой крови “Криоцелл-Криокорд” на репродуктивную систему, течение и исход беременности у лабораторных животных с моделью антифосфолипидного синдрома (АФС) и пациенток с АФС. Показано, что прегравидарная подготовка с использованием препарата “Криоцелл-Криокорд” в сочетании с традиционным лечением АФС позволяет избежать репродуктивных потерь и максимально уменьшить количество осложнений при беременности за счёт снижения концентрации антител, нормализации процессов гемостаза, улучшения кровоснабжения в эндометрии и плаценте.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, беременность, криоконсервирование, сыворотка, кордовая кровь.

Вивчали вплив криоконсервованого препарату сироватки кордової крові “Кріоцелл-Кріокорд” на репродуктивну систему, перебіг та результат вагітності у лабораторних тварин з моделлю антифосфоліпідного синдрому (АФС) та пацієток з АФС. Показано, що прегравідарна підготовка з застосуванням препарату “Кріоцелл-Кріокорд” у комбінації з традиційним лікуванням АФС дозволяє уникнути репродуктивних втрат та максимально зменшити кількість ускладнень при вагітності за рахунок зниження концентрації антитіл, нормалізації процесів гемостазу, поліпшення кровообігу в ендометрії та плаценті.

Ключові слова: антифосфоліпідний синдром, вагітність, криоконсервування, сироватка, кордова кров.

There was studied the influence of cord blood serum cryopreserved preparation Cryocell-Cryocord on reproductive system, gestation course and outcome of laboratory animals with experimental antiphospholipid syndrome (APS) and patients with APS. Pre-conceptional preparation with preparation CC together with traditional treatment of APS was shown to allow the avoiding of reproductive losses and maximal decrease of the number of complications during gestation due to the reduction of antibody concentration, normalization of homeostasis, improvement of blood supply in endometrium and placenta.

Key words: antiphospholipid syndrome, gestation, cryopreservation, serum, cord blood.

Относительно “новое” и малоизученное заболевание в акушерской практике – антифосфолипидный синдром (АФС). По данным разных авторов у беременных антифосфолипидные антитела (аФЛ) выявляются в 11% случаев. При этом акушерская патология наблюдается в 76–81% случаев, что проявляется в таких осложнениях гестационного процесса, как синдром потери плода (4–5%), гестоз (46,2%), преждевременные роды (10,5%), синдром задержки развития плода (12–46%), тромбозы (5–53%), угрожающий аборт (46%), угроза преждевременных родов (42%), плацентарная дисфункция (около 50%) [1, 2].

Важным аспектом АФС является способность аФЛ влиять как на эмбрион, так и на эндометрий до имплантации [6, 7], что приводит к нарушению имплантации и инвазии трофобласта, повышенному тромбообразованию в спиральных артериях и как следствие – к патологии беременности. Поскольку

Antiphospholipid syndrome (APS) is relatively “new” and poorly studied disease in obstetrical practice. Many authors reported the presence of antiphospholipid antibodies (aPL) in 11% pregnant women. In these patients the obstetrical pathology occurs in 76–81% cases, and is manifested in such complications of gestational process as syndrome of fetus loss (4–5%), gestosis (46.2%), premature birth (10.5%), syndrome of fetus growth retardation (12–46%), thrombosis (5–53%), threatened abortion (46%), threat of premature labour (42%), placental dysfunction (about 50%) [1, 2].

An important aspect of APS is the ability of aPL to affect the embryo as well as endometrium prior to implantation [6, 7], that lead to disorders in trophoblast implantation and its invasion, risen thrombosis in spiral arteries and as a result, to the pathology of pregnancy. As the treatment of APS is often started during pregnancy so early pathological changes are inevitable. It is known that progress of disease after 34 pregnancy

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 373-59-53, факс: (+38 057) 373-30-84, электронная почта: prokopyuk@mail.ru

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

²National Pharmaceutical University, Kharkov

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 5953, fax: +380 57 373 3084, e-mail: prokopyuk@mail.ru

лечение АФС зачастую начинается во время беременности, то ранние патологические изменения неизбежны. Известно, что прогрессирование заболевания после 34 недель беременности, как и развитие АФС у плода маловероятны [1, 5]. Можно предположить, что в конце беременности фетоплацентарный комплекс вырабатывает факторы, препятствующие аутоиммунизации плода и матери. Содержание противовоспалительных, гормональных, иммуномодулирующих дезагрегантных агентов в криоконсервированной сыворотке кордовой крови, в частности в препарате "Криоцелл-Криокорд" (КК), нами было установлено ранее [4]. Препарат содержит 35% криоконсервированной сыворотки кордовой крови, разработан в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины и разрешен к клиническому применению Министерством здравоохранения Украины.

Цель работы – изучение возможности проведения прегравидарной профилактики АФС с использованием препарата КК.

Материалы и методы

Эксперименты проведены в соответствии с "Общими принципами экспериментов на животных", одобренными III Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2007) и согласованными с положениями "Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей" (Страсбург, 1985).

На первом этапе исследования изучали состояние репродуктивной системы мышей линии BALB/c с моделью АФС, а также возможность прегравидарной подготовки в эксперименте.

В работе было использовано 56 6-месячных самок мышей со средней массой 25 г. Модель АФС создавали по стандартным методикам [8] в собственной модификации. Половине экспериментальных животных четырёхкратно внутривенно вводили кардиолипидный антиген в дозе 30 мг 1 раз в 14 дней. Развитие патологии подтверждалось положительной реакцией микропреципитации (РМП) с кардиолипидным антигеном.

Для сравнительного анализа биологического влияния КК животных разделили на 4 группы (по 14 в каждой): группа 1 – животные с моделью АФС без лечения; группа 2 – животные с моделью АФС, которым через день внутримышечно вводили КК в дозе 0,01 мл (курс – 5 инъекций), которую рассчитывали по методике Ю.Р. Рыболовлева [3]; группа 3 – интактные животные, которым вводили КК по схеме, применявшейся для группы 2; группа 4 – интактные животные.

На 75-е сутки эксперимента у лабораторных животных с помощью РМП с кардиолипидным

weeks as well as APS development in fetus are unlikely [1, 5]. It is possible to suggest that in the end of pregnancy the fetoplacental complex produces the factors preventing fetus and mother autoimmunization. Content of anti-inflammatory, hormonal, immunomodulatory disagregant agents in cryopreserved serum of cord blood, in particular, in preparation Cryocell-Cryocord (CC) were previously established by us [4]. Preparation contains 35% cryopreserved cord blood serum, and it was developed at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine and is allowed to the clinical application by Ministry of Health Care of Ukraine.

The aim of work was to investigate the possibility of pre-conceptual prophylaxis of APS using preparation CC.

Materials and methods

Experiments have been carried-out according to the General Principles of Experiments in Animals approved by the 3rd National Congress for Bioethics (Kiev, 2007) and agreed with the regulations of European Convention on the Protection of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1985).

The first stage of investigation included the study of reproductive system of BALB/c mice with APS model and also possibility of pre-conceptual preparation in experiment.

Fifty six 6-month old female mice with average mass of 25 g were used in the work. APS model was developed by the standard methods [8] in our own modification. A half of experimental animals were 4 times intravenously injected with 30 mg cardiolipin antigen once in 14 days. Pathology development was confirmed by positive microprecipitation reaction (MPR) with cardiolipin antigen.

For comparative analyses of CC biological effect the animals were divided into 4 groups (14 animals in each): group 1 was the animals with experimental APS without treatment; group 2 consisted of animals with experimental APS and course of intravenous injections with 0.01 ml CC (course involved 5 injections), the dosage was estimated with method of Yu.R. Rybolovlev [3]; group 3 was the intact animals, injected with CC according to the protocol of the group 3; group 4 comprised intact animals.

To the 75th experimental day the animals were assessed for the presence of antiphospholipid antibodies using MPR with cardiolipin antigen; indices of blood coagulation according Morowitz and platelet number were determined; the histology of endometrium, ovaries, thymus sections stained by hematoxylin and eosin was investigated using light microscopy.

антигеном выявляли наличие антифосфолипидных антител; определяли показатели свёртываемости крови по Моровицу и число тромбоцитов; исследовали эндометрий, яичники, тимус путём микроскопии гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином.

На втором этапе исследования оценивали течение беременности и состояние плодов в каждой группе. Для моделирования АФС использовали описанный выше метод. Самок спаривали с самцами в соотношении 3:1. Наступление беременности констатировали по наличию вагинальных пробок. Животных разделили на 5 групп (по 10 в каждой): группа А – самки с АФС; В – мыши с АФС, которым проводилась прегравидарная профилактика с использованием КК по вышеуказанной схеме; С – животные с АФС, которым проводили прегравидарную профилактику с применением КК и лечение аспирином (0,0003 г 1 раз в сутки с 5-го по 15-й день беременности) и гепарином (6 ЕД на животное массой 30 г внутримышечно 1 раз в сутки с 5-го по 10-й день беременности); D – животные с АФС, которым проводилось только лечение с использованием аспирина и гепарина; E – интактные животные. Дозы препаратов для лабораторных животных рассчитывали по стандартной методике [3].

На 19-е сутки беременности мышей выводили из эксперимента. Подсчитывали количество беременных животных и плодов, а также животных с наличием резорбции плодов и мёртвыми плодами, среднюю массу плодов и среднюю массу плацент.

Полученные в эксперименте данные явились предпосылкой для клинического использования разработанных схем. На третьем (клиническом) этапе исследования определяли эффективность прегравидарной подготовки у женщин с АФС препаратом КК. Обследованы 123 женщины в соответствии с требованиями МЗ (приказ МЗ Украины № 626 от 08.10.2007 "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим з імунними захворюваннями"). Пациентки были разделены на 3 клинические группы: группа I – 41 пациентка с АФС, получавшая лечение с использованием КК до беременности и стандартную терапию АФС во время беременности; группа II – 39 женщин с АФС, получавших традиционную терапию во время беременности [5]; группа III – 43 здоровые женщины.

Всех женщин обследовали в соответствии с требованиями МЗ Украины. Кроме того, проводили доплерографическое исследование сосудов матки до и во время беременности, определяли уровни аФЛ.

Полученные данные статистически обрабатывали в пакете Statgraphics v2.1 с использованием критериев Стьюдента и Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

At the second stage of investigation the gestation course and state of fetuses in each group were evaluated. Above mentioned method was used for APS modelling. Females were coupled with males in 3:1 ratio. The onset of pregnancy was assessed by presence of vaginal plugs. Animals were divided into 5 groups (10 animals in each): group A – females with APS; B – mice with APS and carried-out pre-conceptional prophylaxis with CC by above mentioned protocol; C – animals with APS and pre-conceptional prophylaxis with CC and treatment by aspirin (0.0003 g once/day from 5th to 15th gestation day) and heparin (6 units per animal with 30 g mass intravenously once a day from 5th to 15th gestation day); D – animals with APS and treated by aspirin and heparin; E – intact animals. Preparation doses for laboratory animals were estimated by the standard method [3].

In the 19th gestation day mice were sacrificed. Then we assessed the number of pregnant animals and fetuses and also the animals with presence of fetal resorption and dead fetuses, average mass of fetuses and placenta.

Experimental findings have become the precondition for clinical using of the developed protocols. At the third (clinical) stage of investigation the efficiency of pre-conceptional treatment in women with APS using preparation CC was determined. The women ($n = 123$) have been examined according to the regulations of Ministry of Health Care of Ukraine (order №626 dated of 08.10.2007 "About approval of clinical protocols of health care delivery to patients with immune diseases"). Patients were divided into 3 clinical groups: group I – 41 patients with APS treated by CC before gestation and standard therapy of APS during gestation; group II – 39 women with APS received traditional therapy during gestation period [5]; group III – 43 healthy women.

All women were examined according to the requirements of Ministry of Health Care of Ukraine. In addition the dopplerographic investigation of uterine vessels prior to and during the pregnancy was carried-out and aPL level was determined.

The obtained data were statistically processed with Statgraphics v2.1 software, Student and Mann-Whitney criteria. Differences were considered as significant at $p < 0.05$.

Results and discussion

After modelling APS all the animals are noted to have positive MPR which remained the same in group 1 (without treatment) during 3 weeks of investigation. After CC injection according the suggested protocol in group 2 the content of antibodies decreased to the level not recordable by qualitative MPR. In animals of the 3rd (intact with CC injection) and 4th (intact) groups the MPR was negative.

Результаты и обсуждение

После моделирования АФС у всех животных отмечена положительная РМП, которая оставалась таковой у группы 1 (без лечения) в течение 3-х недель исследования. После введения КК по предложенной схеме в группе 2 содержание антител снижалось до уровня, неопределяемого с помощью качественной РМП. У животных групп 3 (интактные с введением КК) и 4 (контроль) РМП была отрицательной.

При изучении свёртывающей системы отмечены достоверное увеличение скорости свёртывания и тромбоцитопения у животных с экспериментальной моделью АФС (группа 1), которые оставались таковыми в течение 3-х недель. Данные показатели приближались к норме в группе животных, получавших КК (группа 2). Через 3 недели различия в скорости свёртывания крови нивелировались, а различия в числе тромбоцитов между группами 1 и 2 оставались. Показатели животных группы 3 не отличались от показателей контрольной группы в течение всего времени исследования (табл. 1).

При гистологическом исследовании в эндометрии мышей группы 1 выявлены атрофические изменения, истончение функционального слоя с уменьшением количества желёз и частичной десквамацией цилиндрического эпителия (рис. 1, а), микротромбозы. Данные патологические изменения наблюдали в течение 3 недель, в последующем гистологическая картина эндометрия практически приближалась к норме.

Эндометрий животных группы 2 был в активном морфофункциональном состоянии, утолщён, с многочисленными маточными железами, дилатированными кровеносными сосудами (рис. 1, б). Через 3 недели количество маточных желез соответствовало физиологической норме, некоторая их часть была в неактивном состоянии, сосуды полнокровны, дилатированы, цилиндрический эпителий без признаков десквамации, с гиперхромными ядрами, размер которых несколько уменьшен (рис. 1, в).

У животных группы 3 наблюдали некоторую гипертрофию эндометрия и увеличение количества желез по сравнению с группой 1.

В результате дальнейшего исследования показано, что в каждой группе беременность наступила у 6–8 животных из 10, при этом наибольшее количество беременностей отмечено в группе здоровых животных, наименьшее – в группах с АФС.

Таблица 1. Показатели свёртывающей системы крови у экспериментальных животных ($M \pm m$)

Table 1. Indices of experimental animal blood coagulation system ($M \pm m$)

Группа животных Group of animals	Свёртываемость крови по Моровицу, мин Blood coagulation according Morowitz, min		Число тромбоцитов, $\times 10^3/\text{мл}$ Platelet number, $\times 10^3/\text{ml}$	
	Через 1 неделю in 1 week	Через 3 недели in 3 weeks	Через 1 неделю in 1 week	Через 3 недели in 3 weeks
1 АФС APS	3,5 \pm 0,6	5,4 \pm 0,54	92,3 \pm 18,2	84,8 \pm 12,5
2 АФС + КК APS + CC	5,5 \pm 1,7 ^{1,2}	5,0 \pm 0,12 ²	176,1 \pm 21,5 ^{1,2}	175,2 \pm 18,96 ^{1,2}
3 КК CC	8,4 \pm 1,4 ¹	7,6 \pm 0,44 ¹	231,9 \pm 44,8 ¹	218,1 \pm 20,8 ¹
4 интактная intact	8,9 \pm 2,0 ¹	7,8 \pm 0,46 ¹	234,3 \pm 17,5 ¹	227,2 \pm 19,1 ¹

Примечания: ^{1, 2} – различия достоверны по сравнению с группами 1 и 4 соответственно.

Notes: ^{1, 2} – differences are significant comparing with groups 1 and 4, accordingly.

During investigation of coagulation system there was noted a significant increase of coagulation and thrombocytopenia rate of animals with experimental APS model (group 1) that remained the same during 3 weeks. These indices approached the norm in group of animals received CC (group 2). In 3 weeks the differences in rate of blood coagulation disappeared, and differences in platelet number between group 1 and 2 remained. Indices of third group animals did not differ from the control group within all the time of investigation (Table 1).

During histological investigation of the first group mice endometrium there were detected atrophic changes, thinning of functional layer with decrease of gland number and partial desquamation of cylindrical epithelia (Fig. 1, a), microthrombosis. Given pathological changes were observed during 3 weeks, later histological image of endometrium almost approached the norm.

Endometrium of the second group animals was in an active morphofunctional state, thickened, with multiple uterine glands, dilated blood vessels (Fig. 1, b). In 3 weeks the number of uterine glands corresponded to physiological norm, some of them were in inactive state, vessels were full-blooded, dilated, cylindrical epithelia was without desquamation signs, with hyperchromic nuclei, the size of which was slightly reduced (Fig. 1, c).

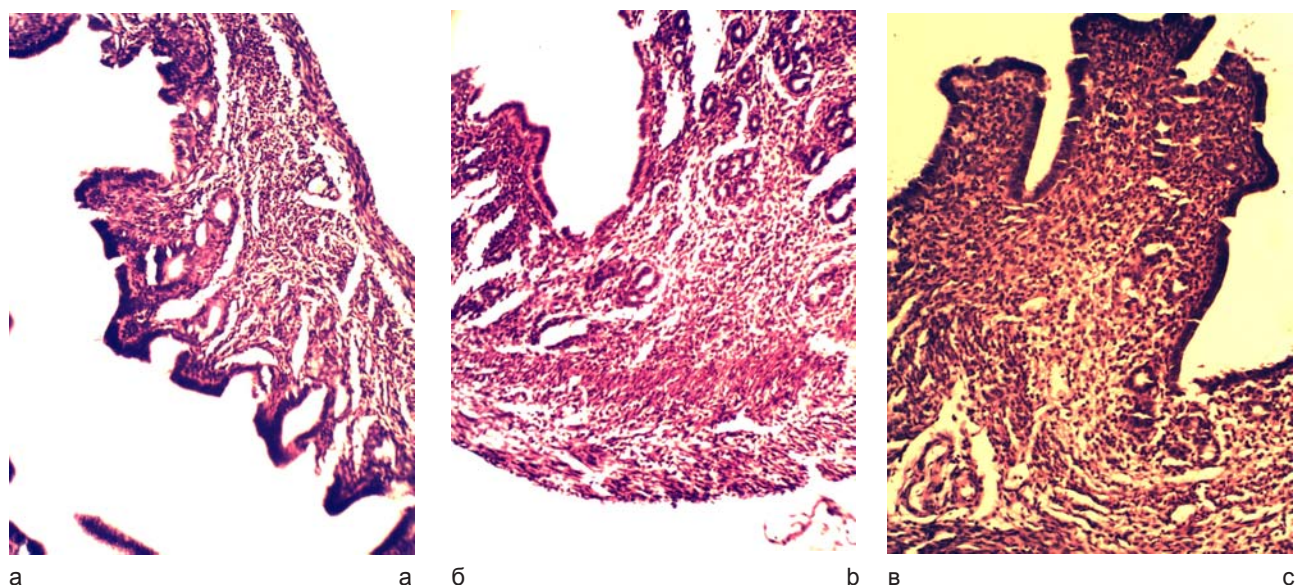


Рис. 1. Эндометрий мышей: а – группа 1 (АФС); б – группа 2 через 1 неделю (АФС + КК); в – группа 2 через 3 недели (АФС + КК). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.

Fig. 1. Mice endometrium: a – group 1 (APS); b – group 2 in 1 week (APS + CC); c – group 2 in 3 weeks (APS + CC). Staining with hematoxylin and eosin, $\times 200$.

У одной мыши из группы с АФС роды произошли до 19 дня беременности (табл. 2).

Количество плодов в группах А, В, D было достоверно ниже, чем в группе здоровых (Е). Количество плодов в группе С достоверно не отличалось от группы интактных животных.

Резорбции внутриутробных плодов (1–2 случая на животное) наблюдались только в группах А, В и D, причём максимальное количество резорбций установлено в группе животных с АФС (А). В группе после лечения (D) и после профилактики

The study of the animals of the third group revealed some hypertrophy of endometrium and increase of gland number comparing with group 1.

Further investigations showed that 6–8 animals of 10 in each group became pregnant, moreover the most number of pregnancies were noted in group of healthy animals, the least, in groups with APS. One mouse from group with APS laboured before the 19th day of gestation (Table 2).

The number of fetuses in groups А, В, D was significantly lower than in the group of healthy animals

Таблица 2. Показатели репродуктивной функции экспериментальных животных ($M \pm m$)

Table 2. Reproductive function indices of experimental animals ($M \pm m$)

Показатели Indices	Группа животных Group of animals				
	А АФС APS	В АФС + КК APS + CC	С АФС + КК + АГ APS + CC + AH	Д АФС + АГ APS + AH	Е интактная intact
Количество плодов Number of fetuses	$5,4 \pm 0,5^*$	$7,4 \pm 0,9^*$	$7,6 \pm 1,0$	$6,6 \pm 0,9^*$	$8,1 \pm 1,2$
Животные с резорбцией, % Animals with resorption, %	75	20	0	33,3	0
Животные с мёртвыми плодами, % Animals with dead fetuses, %	20	0	0	0	0
Средняя масса плодов, г Average mass of fetuses, g	$0,7 \pm 0,06^*$	$0,7 \pm 0,06^*$	$1,0 \pm 0,08$	$1,1 \pm 0,07$	$1,06 \pm 0,04$
Средняя масса плацент, г Average mass of placentas, g	$0,17 \pm 0,006$	$0,19 \pm 0,004$	$0,19 \pm 0,012$	$0,21 \pm 0,007$	$0,21 \pm 0,011$

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$); АГ – лечение аспирином и гепарином.

Note: * – differences are significant comparing with the control ($p < 0.05$); AH – treatment with aspirin and heparin.

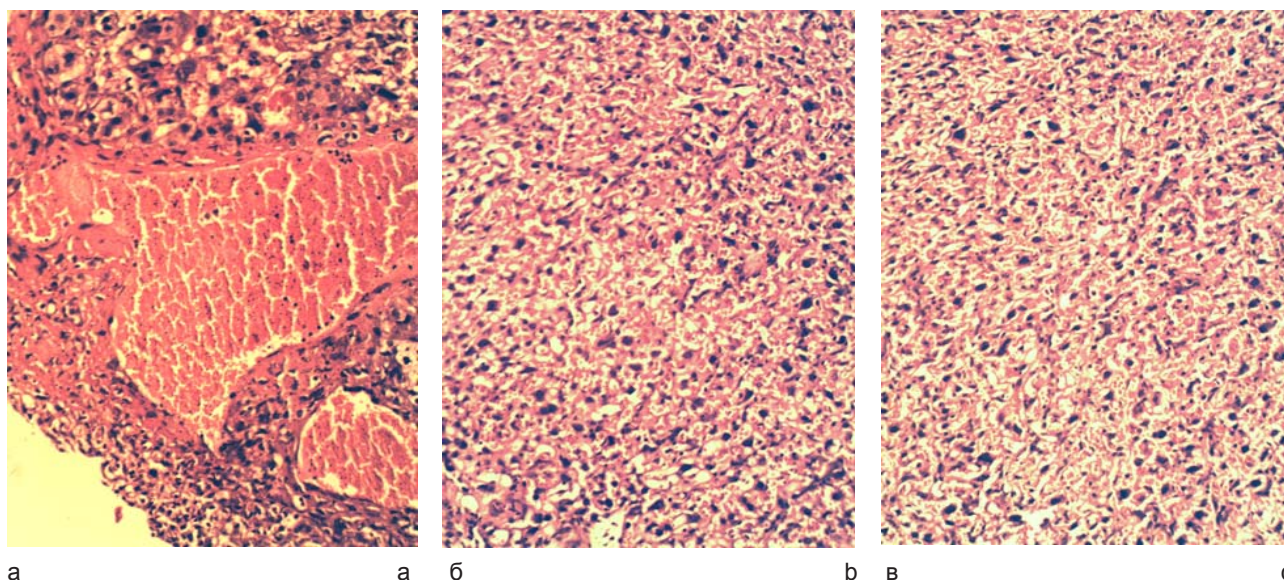


Рис. 2. Структура плаценты мышей различных групп: а – А, б – В, в – Е. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$.
Fig. 2. Placenta structure of mice from different groups: a – A, b – C, c – E. Staining with hematoxylin and eosin, $\times 200$.

(В) количество животных с резорбцией плодов было меньше.

Мертвые плоды (1–2 на животное) были найдены только в группе А. У животных, которых лечили или проводили профилактику, мёртвых плодов не было.

Средняя масса плодов была достоверно ниже в группах А, В. Средняя масса плацент у животных не изменялась ни в одной из групп.

При гистологическом исследовании препаратов плацент (рис. 2) в группе животных с АФС без лечения наблюдали микротромбозы, инфаркты плаценты. В случае внутриутробной гибели плодов выявлены геморрагические некрозы и тромбозы в ткани плаценты. После комплексного лечения мышей (группа С) встречались единичные микротромбозы.

После исследования эффективности прегра-видарной профилактики у женщин с АФС показано, что применение КК позволяет корректировать реологические нарушения. Так, после курса КК количество тромбоцитов достоверно повышается, достигая значений физиологической нормы, однако отличается от показателя контрольной группы. Подобные изменения характерны для времени рекальцификации. В то же время активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ) после курса лечения практически не отличается от этого показателя у здоровых женщин. Эти изменения являются следствием снижения уровня аФЛ и антикардиолипиновых антител (аКЛ) (табл. 3).

После лечения снижается индекс резистентности в маточных и аркуатных артериях (рис. 3), повышенный при АФС. При ультразвуковом исследо-

(Е). The number of fetus in group C did not significantly differ from group of intact animals.

Resorption of antenatal fetus (1–2 cases per animal) was observed only in the groups A, B, D, furthermore the maximal number of resorption was established in group A (animals with APS). In groups D (after treatment) and B (after prophylaxis) the number of animals with fetal resorption was less.

Dead fetuses (1–2 for animals) were found only in group A. Treated and received prophylaxis animals had no dead fetuses.

Average mass of fetuses was significantly lower in groups A, B. Average mass of animal placenta did not change in any group.

During histological investigation of placental preparations (Fig. 2) in the group of animals with APS without treatment there were observed the microthrombosis and placental infarctions. In the case of antenatal fetus death the hemorrhagic necrosis and thrombosis in placental tissue were detected. After combined treatment of mice (group C) single microthromboses were noted.

The investigation of pre-conceptional prophylaxis efficiency in women with APS showed that application of CC allows the correction of rheologic disorders. So, after CC course the platelet number significantly increases reaching the indices of physiological norm, however, it differs from the index of the control group. Similar changes are characteristic for recalcification time. At the same time an activated partial thrombin time (APTT) after treatment course almost does not differ from this index in healthy women. These changes are the result of aPL and anticardiolipin antibodies (aCL) level decrease (Table 3).

Таблица 3. Изменения коагулограммы и концентрации антител ($M \pm m$)
Table 3. Changes of coagulogram and antibody concentration ($M \pm m$)

Показатели Indices	Группа женщин Group of women			
	I		II	III
	до лечения before treatment	после лечения after treatment		
Протромбиновый индекс, % Prothrombin index, %	104 ± 9,6	101 ± 5,6	110 ± 5,8	97,6 ± 6,9
Время свертывания по Ли – Уайту, мин Coagulation time according Lee – White, min	11,9 ± 2,08	10,4 ± 1,2	12,23 ± 1,6	10,9 ± 1,6
Тромбоциты, ×10 ⁶ /мл Platelets, ×10 ⁶ /ml	169 ± 17,6 ¹	240 ± 11,0 ^{1,2}	168 ± 15,1 ¹	292 ± 16,8
Время рекальцификации, с Recalcification time, s	119 ± 5,8 ¹	101 ± 4,8 ^{1,2}	121 ± 6,3 ¹	78 ± 3,2
АЧТВ, с APTT, s	41,0 ± 1,3 ¹	36,2 ± 1,7	40,6 ± 1,8 ¹	35,3 ± 2,2
Фибриноген, г/л Fibrinogen, g/l	4,3 ± 1,5	3,9 ± 1,3	4,3 ± 1,3	3,7 ± 1,3
aКЛ IgG, Ед/мл aCL IgG, Unit/ml	15,0 ± 2,0 ¹	10,5 ± 1,46 ^{1,2}	17,4 ± 2,2 ¹	1,2 ± 0,20
aКЛ IgM, Ед/мл aCL IgM, Unit/ml	17,2 ± 2,3 ¹	6,1 ± 0,18 ^{1,2}	16,6 ± 1,3 ¹	0,9 ± 0,1
aФЛ IgG, Ед/мл aPL IgG, Unit/ml	16,5 ± 1,3 ¹	11,4 ± 1,83 ^{1,2}	17,5 ± 1,31 ¹	1,1 ± 0,11
aФЛ IgM, Ед/мл aPL IgM, Unit/ml	19,2 ± 1,8 ¹	7,5 ± 1,16 ^{1,2}	13,9 ± 1,28 ¹	0,8 ± 0,1

Примечание: ^{1,2} – различия достоверны по сравнению с контрольной группой и группой I до лечения соответственно ($p < 0,05$).
Note: ^{1,2} – the differences are significant comparing with the control group and group I before treatment, correspondingly ($p < 0.05$).

вании установлена физиологическая гипертрофия эндометрия, что, по нашему мнению, является следствием не только улучшения кровоснабжения, но и прямого трофического действия препарата КК (рис. 4). Принципиально значимым было увеличение количества беременностей после проведения прегравидарной подготовки пациенток с АФС по предлагаемой методике. Так, в группе I беременность наступила у 85,4% женщин, во II – у 64,1%, в III – у 90%, что, очевидно, является следствием улучшения предимплантационной готовности эндометрия.

При изучении течения беременности, родов, послеродового периода у женщин с АФС после прегравидарной профилактики и без неё по сравнению со здоровыми женщинами показано, что при АФС чаще наблюдаются невынашивание, гестоз и плацентарная дисфункция, поэтому такие пациентки нуждаются в стационарном лечении (табл. 4). Одновременно беременность сопровождалась достоверным увеличением частоты развития синдрома дистресса плода в родах (11,6% – группа I, 21% – II и 2,6% – III) и в дальнейшем повышением заболеваемости ребёнка в неонатальном периоде

Resistance index in uterine and arcuate arteries, elevated during APS, decreased after treatment (Fig. 3). Ultrasonic investigation revealed the physiological hypertrophy of endometrium, that, on our opinion, is the consequence of both blood supply improvement and direct trophic effect of CC preparation (Fig. 4). The number of pregnancies significantly increase after the pre-conceptual treatment in women with APS by suggested method. So, in the group I 85.4% women became pregnant, in II – 64.1%, in III – 90%, that is obviously the consequence of improvement in endometrium pre-implantation readiness.

Studying the gestation course, the labour and postnatal period of women with APS after pre-conceptual prophylaxis and without it and comparing with healthy women showed that during APS the miscarriage, gestosis and placental dysfunction were observed more often and that is why these patients need the hospital treatment (Table 4). Simultaneously the gestation was accompanied with significant increase in frequency of developing fetus distress syndrome during labour (11.6% – group I, 21% – II, 2.6% – III) and following infant disease incidence increase in neonatal period (10.1% – group I, 33.8% – II, 6.4% – III). As a

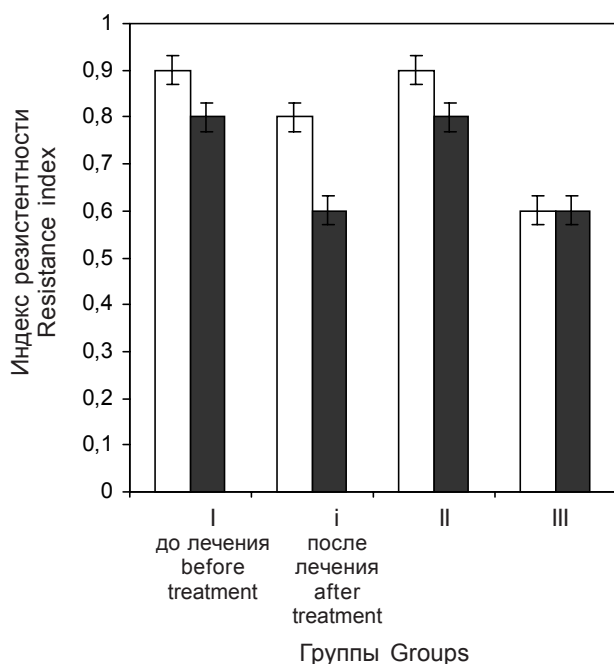


Рис. 3. Индекс резистентности в аркуатных (□) и маточных (■) артериях в предимплантационный период.
Fig. 3. Resistance index in arcuate (□) and uterine (■) arteries in pre-implantation period.

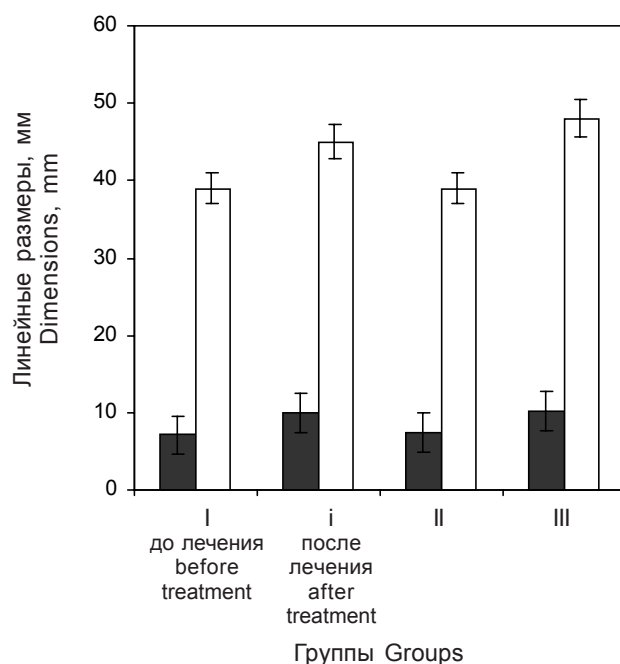


Рис. 4. Изменение размеров тела матки (□) и толщины эндометрия (■) у наблюдаемых пациенток в предимплантационный период.
Fig. 4. Changes of uterine body size (□) and endometrium thickness (■) of patients in pre-implantation period.

Таблица 4. Осложнения беременности в исследуемых группах
Table 4. Pregnancy complications in investigated groups

Течение беременности Gestation course	Группа Group					
	I		II		III	
	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%
Без осложнений Without complications	19	55,1 ^{1,2}	7	28 ¹	32	83,2
Гестоз Gestosis	3	8,7	5	20 ¹	2	5,2
Угрожающий аборт Threatened abortion	3	8,7	8	32 ¹	2	5,2
Угроза преждевременных родов Threat of premature birth	1	2,9	2	8	—	—
Варикоз Varicose	4	11,6 ¹	3	12 ¹	1	2,6
Плацентарная дисфункция Placental dysfunction	4	11,6 ^{1,2}	10	40 ¹	1	2,6
Количество госпитализаций Number of hospitalisations	7	—	15	—	6	—
Количество койко-дней Patient-day number	92	—	173	—	62	—

Примечание: ^{1,2} – различия достоверны по сравнению с контрольной группой и группой II соответственно (p<0,05).
Note: ^{1,2} – the differences are significant comparing with the control group and group II, accordingly (p<0,05)

(10,1% – группа I, 33,8% – II и 6,4% – III). Прогностическими критериями могут быть индексы резистентности в маточных артериях и артериях пуповины, ультразвуковые признаки плацентарной недостаточности, которые морфологически чаще соответствуют компенсаторным изменениям в плаценте, иногда микротромбозам. Течение послеродового периода у женщин с АФС осложняется субинволюцией матки (5,8% – группа I, 25,2% – II и 2,6% – III), реже лохиометрой, эндометритом, что в ряде случаев требовало серьезных вмешательств.

В целом после проведения прегравидарной подготовки женщин, страдающих АФС, значительно повышается фертильность, в комплексе с соответствующей терапией во время беременности нормализуются гестационный послеродовый период, состояние внутриутробного плода и новорожденного.

Выводы

1. Показано, что у животных при АФС наблюдаются гиперкоагуляция, тромбоцитопения, атрофические изменения, микротромбозы в эндометрии, уменьшение количества плодов в помёте и резорбций плодов, интранатальная гибель плодов, гистологические проявления в плаценте в виде микротромбозов, инфарктов.

2. Комплексное применение в эксперименте на животных при АФС как прегравидарной подготовки с использованием КК, так и традиционной терапии (использование аспирина и гепарина) позволяет сохранить морфофункциональное состояние эндометрия, избежать нарушений гемостаза, репродуктивных потерь. Лечение или профилактика отдельно недостаточно эффективны (смертность плодов на позднем этапе эмбриогенеза не наблюдается, а резорбции плодов на ранних сроках после имплантации сохраняются).

3. Прегравидарная подготовка с использованием КК у женщин с АФС позволяет снизить уровень антифосфолипидных антител, улучшить кровоснабжение и предимплантационную готовность эндометрия, повысить вероятность беременности, уменьшить количество осложнений беременности и послеродового периода, снизить заболеваемость новорожденных и таким образом принципиально повысить вероятность благоприятного исхода беременности.

Литература

1. Макацария А.Д. Антифосфолипидный синдром в акушерской практике.– М.: Руссо, 2001.– 344 с.
2. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром.– М.: Литтерра, 2004.– 440 с.

prognostic criteria one could use the resistance indices in uterine and funicular arteries, ultrasonic signs of placental inefficiency, which morphologically refer to compensatory changes in placenta, sometimes to microthromboses. Postnatal period course of women with APS more often is complicated by uterine subinvolution (5.8% – group I, 25.2% – II and 2.6% – III), more rarely by lochiometra, endometritis that in some cases demanded a serious interference.

Generally, after carrying-out pre-conceptional prophylaxis in women suffered from APS the fertility rises significantly, and the combination with corresponding therapy normalizes the gestation postnatal period course and the state of antenatal fetus and infant.

Conclusions

1. It is shown that in animals the APS is accompanied by the hypercoagulation, thrombocytopenia, atrophic changes, microthromboses in endometrium, decrease in number of fetuses in brood and rise in resorption of fetuses, intranatal death of fetuses, appearance of histological changes in placenta like infarctions or microthromboses.

2. Combination of pre-conceptional treatment with CC and traditional therapy (application of aspirin and heparin) during experimental APS allows to preserve the morphofunctional state of endometrium, and to avoid the disorders in homeostasis, reproductive losses. Nor treatment or prophylaxis with CC injections solely are not quite effective (there was no dead fetuses at late embryogenesis stage, but fetal resorption at early stages after implantation are preserved).

3. Pre-conceptional treatment with CC in women with APS allows to lower the level of antiphospholipid antibodies, improve the blood supply and pre-implantation readiness of endometrium, increase the probability of pregnancy, decrease the amount of complications in gestation and postnatal period, decrease the infant disease incidence and in this way to rise the probability of favourable pregnancy outcome.

References

1. Makatsariya A.D. Antiphospholipid syndrome in obstetrical practice.– Moscow: Russo, 2001.– 344 p.
2. Nasonov E.L. Antiphospholipid syndrome.– Moscow: Litterra.– 2004.– 440 p.
3. Rybolovlev Yu.R., Rybolovlev R.S. Dosage of substances for mammals for control of biological activity // Vestnik AN SSSR.– 1979.– Vol. 247, N6.– P. 1513–1516.
4. Trifonov V.Yu., Prokopyuk V.Yu., Prokopyuk O.S. et al. Experimental substantiation of possibility of antiphospholipid syndrome pre-conceptional prophylaxis // Tavricheskiy Mediko-Biologicheskii Vestnik.– 2010.– Vol. 13, N4.– P. 188–192.
5. Backos M., Rai R., Baxter N. et al. Pregnancy complications in women with recurrent miscarriage associated with antiphospholipid antibodies treated with low dose aspirin and heparin // Br. J. Obstet Gynaecol.– 1999.– Vol. 106, N2.– P. 102–107.

3. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по контролю биологической активности // Вестник АН СССР.– 1979.– Т. 247, №6.– С. 1513–1516.
4. Трифонов В.Ю., Прокопюк В.Ю., Прокопюк О.С. и др. Экспериментальное обоснование возможности прегравидарной профилактики антифосфолипидного синдрома // Таврический медико-биологический вестник.– 2010.– Т. 13, №4.– С. 188–192.
5. Backos M., Rai R., Baxter N. et al. Pregnancy complications in women with recurrent miscarriage associated with antiphospholipid antibodies treated with low dose aspirin and heparin // Br. J. Obstet Gynaecol.– 1999.– Vol. 106, N2.– P. 102–107.
6. Francis J., Rai R., Sebire N.J. et al. Impaired expression of endometrial differentiation markers and complement regulatory proteins in patients with recurrent pregnancy loss associated with antiphospholipid syndrome // Hum. Reprod.– 2006.– Vol. 12, N7.– P. 435–442.
7. Mak I.Y., Brosens J.J., Christian M. et al. Regulated expression of signal transducer and activator of transcription, Stat5, and its enhancement of PRL expression in human endometrial stromal cells in vitro // J. Clin. Endocrinol. Metab.– 2002.– Vol. 87, N6.– P. 2581–2588.
8. Velayuthaprabhu S., Archunan G. Evaluation of anticardiolipin antibodies and antiphosphatidylserine antibodies in women with recurrent abortion // Ind. J. Med. Sci.– 2005.– Vol. 59, N8.– P. 347–352.

Accepted in 18.01.2011

*Поступила 18.01.2011
Рецензент Т.М. Шарлай*