

Антифосфолипидный синдром в акушерской практике

**Е.Ю.Печёрина
Лаборатории ЦИР**

**IV Всероссийская конференция
«Репродуктивное здоровье женщин и мужчин»
Эндокринологический научный центр
Москва, 2019 г.**



Антифосфолипидный синдром

- Аутоиммунное заболевание, которое характеризуется **лабораторными** признаками (1 и более)
 - Волчаночный антикоагулянт (LA)
 - Антитела к бета2-гликопротеину I в крови IgG/IgM
 - Антикардиолипидные антитела в крови IgG/ IgM
- и **клиническими** проявлениями (1 и более)
 - Венозный или артериальный тромбоз
 - Патология беременности



Классификация АФС

- **Первичный** >50%
- **Вторичный** – на фоне заболеваний соединительной ткани, опухолей, инфекционных заболеваний, приёма лекарств
- **Катастрофический** 1%

Патология беременности (критерии АФС)



- Один или более случаев необъяснимой **внутриутробной гибели > 10 недель**
- Один или более случаев **преждевременных родов из-за выраженной преэклампсии или выраженной плацентарной недостаточности**
- **Три или более последовательных случаев спонтанных абортов до 10 недель** (кроме: анатомические дефекты матки, гормональные нарушения, материнские или отцовские хромосомные нарушения)
- 6% пациентов с проблемами репродукции имеют АФС (APS ACTION group)
- Частота репродуктивных проблем при АФС – от 50 до 75%

Патология беременности



- Плацентарная недостаточность
- Преэклампсия
- Внутриутробная задержка роста плода
- HELLP-синдром
- Тромбоцитопения
- Артериальный или венозный материнский тромбоэмболизм, ТЭЛА
- Неудачные попытки ЭКО (риск неудачи ВРТ увеличен в 3 раза)
- Chorea gravidarum
- У женщин с отягощенным акушерским анамнезом и АФА повышен риск тромбоза



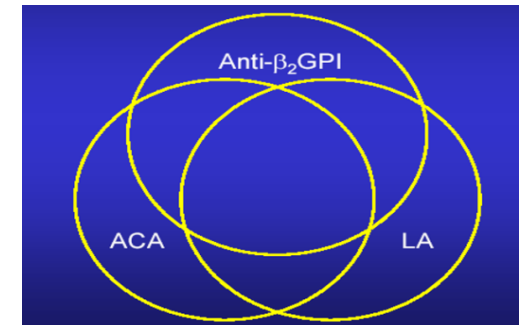
Лабораторные критерии

- **Волчаночный антикоагулянт (LA) в плазме**
 - 2 раза с промежутком не менее 12 недель
- **Антикардиолипиновые антитела в крови, ИФА**
 - IgG и/или IgM изотип
 - в средних или высоких уровнях (например > 40GPL или MPL или 99 перцентилей)
 - в двух или более случаях исследования с промежутком не менее 12 недель
- **Антитела к бета2-гликопротеину I в крови, ИФА**
 - IgG и/или IgM изотип
 - >99 перцентилей
 - 2 раза с промежутком не менее 12 недель



Особенности АФА

- В 60% случаев одновременно LA и АРА
- В 40% случаев присутствуют или LA или АРА
- Чаще антитела одного типа
- Тройная позитивность > Двойная > Моно
- IgG > IgM > IgA
- IgA при отсутствии IgG и IgM и подозрении на АФС
- Незначительное снижение при беременности (дильюция, связывание с мишенями плаценты, снижение продукции антител)
- 2% здорового населения
- Транзиторный характер
- Ответ на различные состояния: инфекции, аутоиммунные процессы, злокачественные опухоли, лекарственные, аллергические, радиационные факторы





Виды аутоантител, G, M, A

АФА - гетерогенная группа аутоантител, реагирующих против фосфолипидов, **фосфолипид-белковых комплексов («неоэпитоп»)**, и фосфолипид-связывающих белков

Волчаночный антикоагулянт

Антитела к анионным
фосфолипидам:

Антикардиолипины

Фосфатидилсерин и
Фосфатидилсерин-протромбин
комплекс

Фосфатидная кислота

Фосфатидинозитод

Фосфатидилглицерол

Антитела к нейтральным
фосфолипидам:

Фосфатидилэтаноламин

Фосфатидилхолин

Антитела к белкам

В2-ГП1

Домен 1 of β 2-glycoprotein 1
аннексин V

Аннексин A8 (AnxA8)

Протромбин

Протеин C

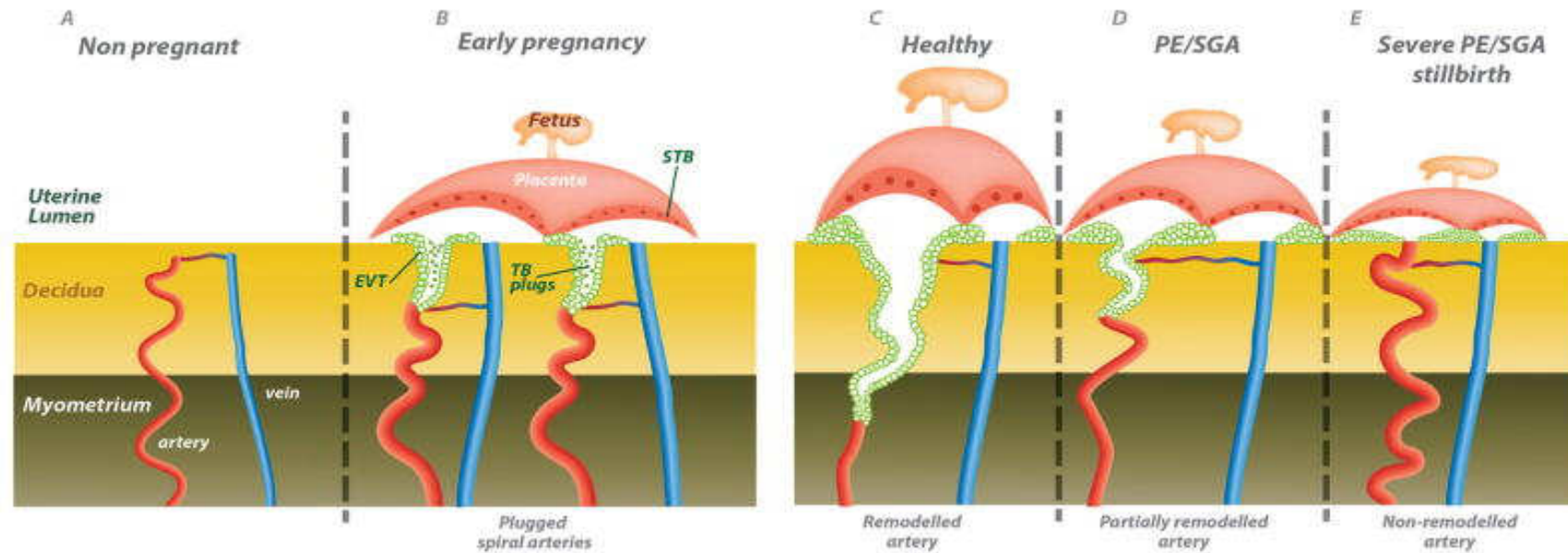
Протеин S и др.



АФС и проблемы репродукции

- Акушерский АФС рассматривается отдельно от сосудистого АФС (vAFS и oAFS).
- При васкулярном АФС всегда есть тромбоз, при акушерском главную роль играют другие механизмы.

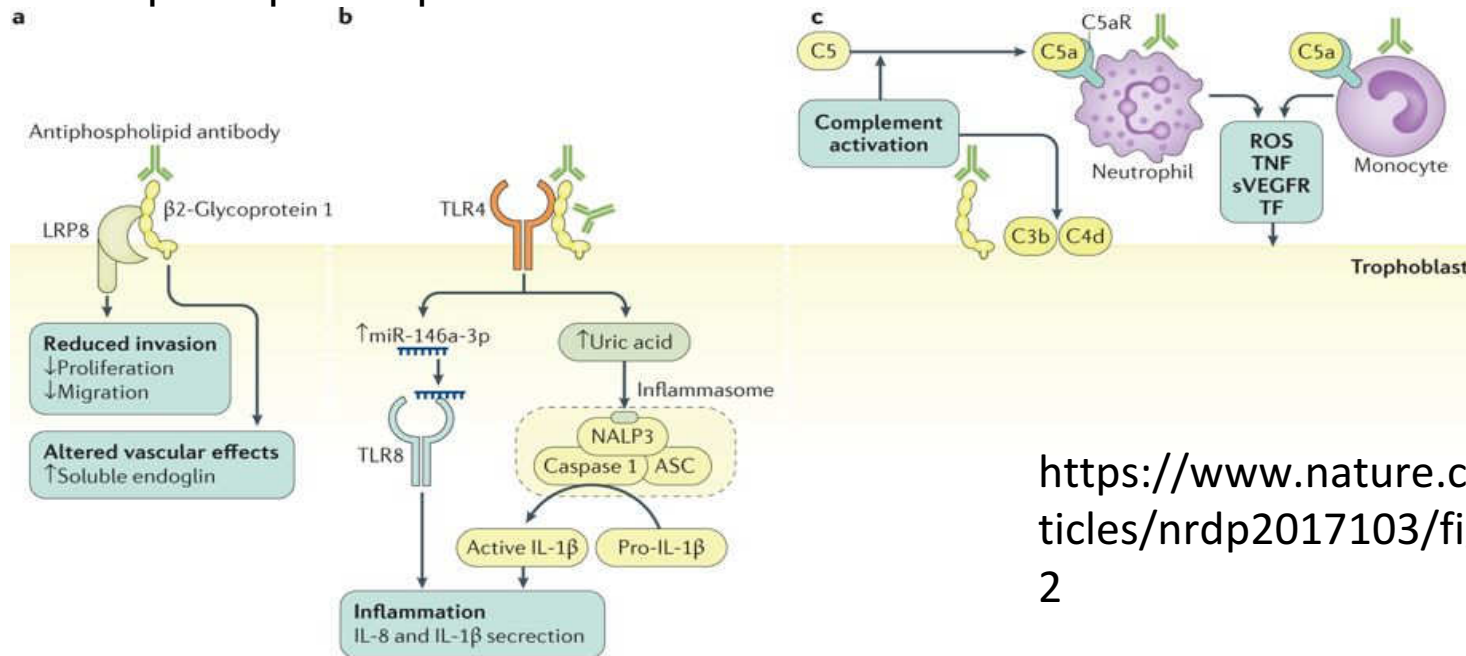
Механизм развития плацентарных нарушений



Норма: инвазия трофобласта, ремоделирование спиральных артерий

Патология: нарушение инвазии трофобласта, ремоделирования спиральных артерий, нарушение кровотока

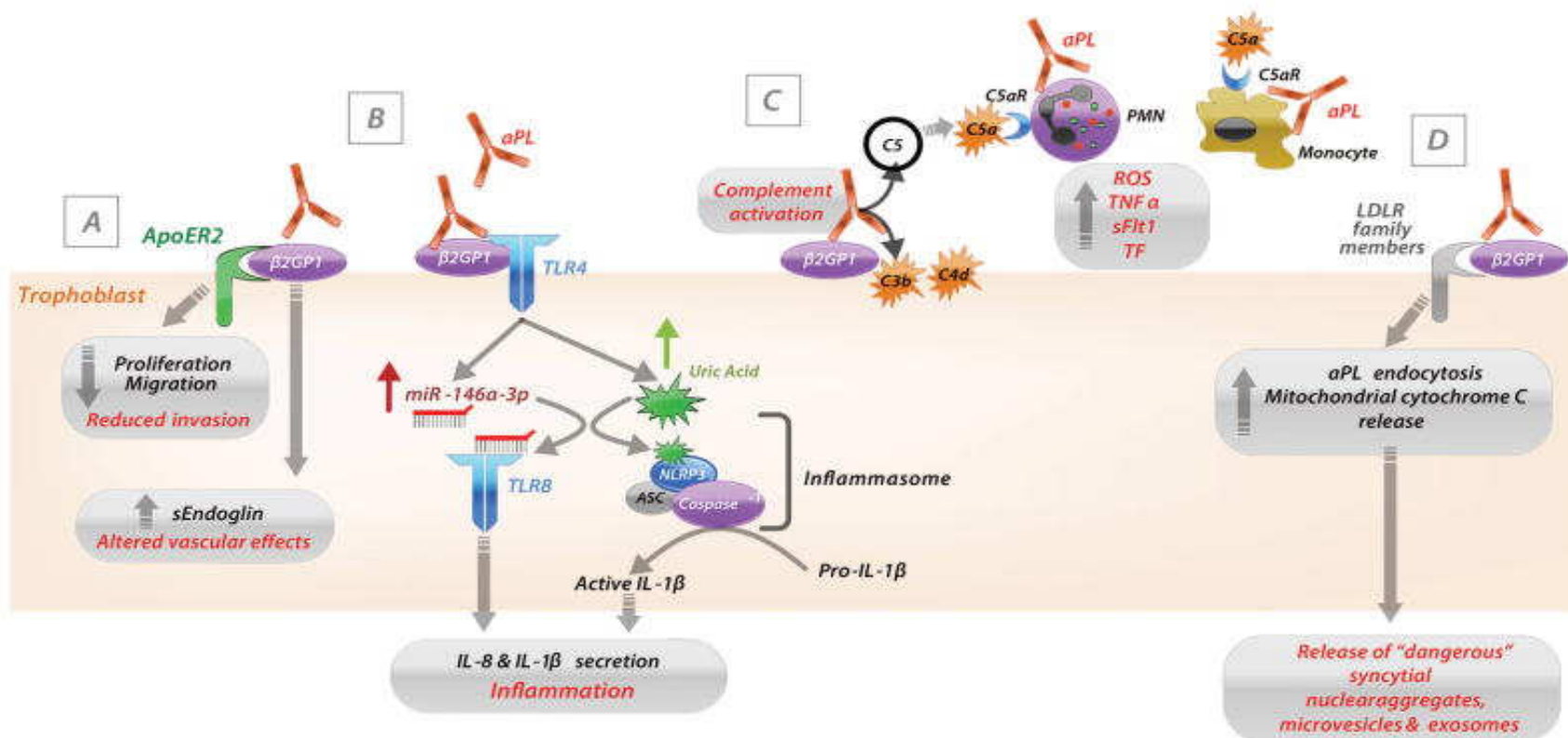
Плацента - основная мишень для β 2GPI-зависимого патогенного связывания aPL. aPL может активировать эндотелиальные клетки, тромбоциты, моноциты, систему комплемента и факторы свертывания.



<https://www.nature.com/articles/nrdp2017103/figures/2>

Nature Reviews | Disease Primers

- Трофобласт экспрессирует В2ГП1, с которым связываются антитела → уменьшение пролиферации и миграции через белок 8, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности (LRP8); также известен как ApoER2
- Запуск секреции цитокинов и хемокинов путем активации Toll-like рецептора (TLR)
- Активация комплемента на клеточной поверхности, что приводит к активации нейтрофилов и моноцитов с выделением активных форм кислорода (ROS), фактора некроза опухоли (TNF), антиангиогенных факторов (рост растворимых сосудов) фактор рецептора (sVEGFR) и тканевого фактора (TF).
- Непосредственная активация нейтрофилов антителами к бета-2ГП1 и формирование нейтрофильной внеклеточной ловушки (NET).



Существует гипотеза, которая предполагает, что АФС вызывает гибель клеток, образуются узлы и синцитиальные ядерные агрегаты (SNA) и попадают в материнское кровообращение



Волчаночный антикоагулянт

- Волчаночный антикоагулянт – смесь антител, определяемая пролонгацией фосфолипид-зависимого времени свертывания крови
- Антитела препятствуют взаимодействию фосфолипидов с кофакторами коагуляции → нарушение формирования протромбиназного комплекса и образования тромбина → увеличение АЧТВ, теста с ядом гадюки Рассела → но не кровотечение, а тромбоз.



Стадии определения ВА

Выполняются из одного образца плазмы пациента

1. Скрининговый тест: один из двух. Если положительный – подтверждаем. Отрицательный – делаем второй тест.

•dRVVT - тест с разведенным ядом гадюки Рассела

•АЧТВ, чувствительный к ВА

Заключение: Скрининг >1,2

2. Миксинг – тест (для исключения дефицита факторов), если скрининговый тест АЧТВ удлинён.

3. Подтверждающий тест с реагентом, давшим удлинение в скрининговом тесте. Тест проводится в случае отсутствия коррекции удлинения в миксинг-тесте:

- Тест с высокой концентрацией фосфолипидов, содержащий яд гадюки Рассела в качестве активатора
- Подтверждающий тест 2: АЧТВ с высокой концентрацией фосфолипидов и кремниевым активатором

Заключение:

Нормализованное отношение

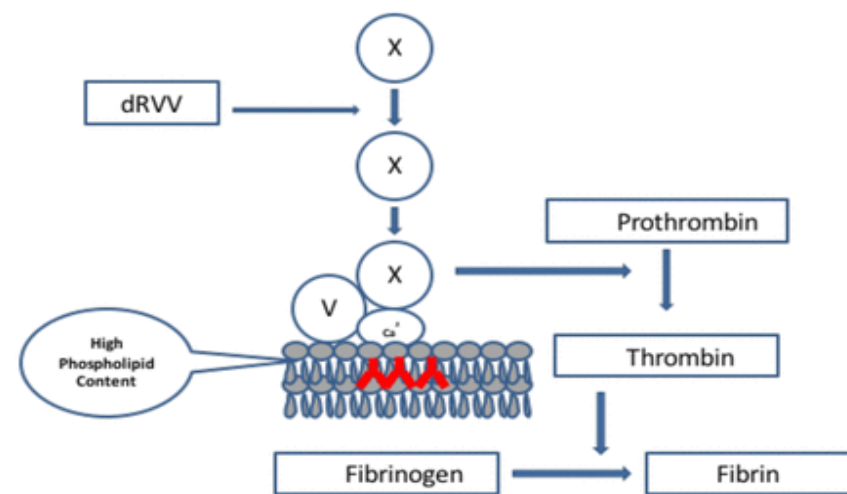
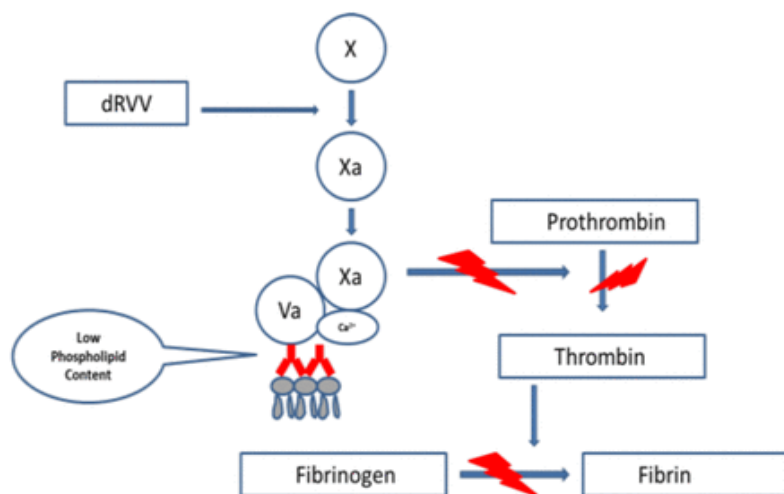
ВА присутствует или ВА отсутствует.

Любой из положительных подтверждающих тестов говорит о наличии ВА.

Recommendations for the detection of lupus anticoagulant published in 2009 by the Scientific and Standardization Subcommittee on Antiphospholipid Antibodies of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (SSC-ISTH) have been useful in the standardization of this assay

Тест с ядом гадюки Рассела

- Высокая специфичность dRVVT
- Яд гадюки Рассела + кальций активируют фактор X



Скрининг.

СО = время свертывания пациента/время свертывания нормальной плазмы

СО > 1.2 → подтверждение

Подтверждение.

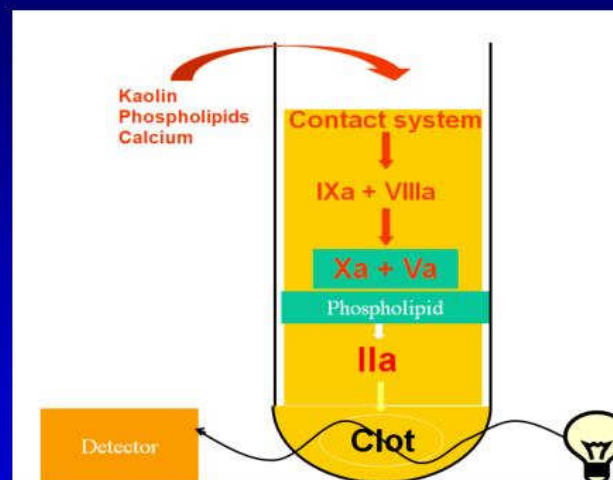
ПО = время свертывания пациента/время свертывания нормальной плазмы

Нормализованное Отношение = СО/ПО. НО > 1,2 → ВА

АЧТВ чувствительный к ВА

- Если CO или НО в dRVV <1,2
- Пулированная нормальная плазма
- **Реагент, чувствительный к ВА с низкой концентрацией фосфолипидов.**
- Сравнение с реф.интервалом.
- **Миксинг-тест**
- **Подтверждение** с высокой концентрацией фосфолипидов (или гексагональная фаза фосфолипидов) и кремнием в качестве активатора.
- Расчет ((скрининг-подтверждение)/скрининг)*100%
- Сравнение с cut-off

APTT (Activated Partial Thromboplastin Time)



substances are:

kaolin (hydrated aluminum silicate) and cephalin. Kaolin serves to activate the contact-dependent Factor XII, and cephalin substitutes for platelet phospholipids.



Миксинг-тест при удлинении АЧТВ

- Используется смесь - пулированная нормальная плазма POOL NORM + плазма пациента (1:1) без предварительной инкубации.
- Реагент, чувствительный к ВА.
- **Индекс Циркулирующих Антикоагулянтов (ИЦА),**
$$\text{ИЦА} = [(b-c/a) \times 100]$$
- где a – время свертывания плазмы пациента, b – время свертывания в миксинг-тесте, c – время свертывания нормальной плазмы
- **ИЦА > 15 → подтверждающий тест**



Правила определения ВА

ЗАБОР и ОБРАБОТКА КРОВИ

- Используется свежая венозная кровь с цитратом 3,2% натрия в отношении 0.109 М (9:1)
- Кровь должна быть набрана до метки
- Бедная тромбоцитами плазма (двойное центрифугирование) 2000g 15 мин и >2500 g 10 мин – отсутствие осколков фосфолипидных мембран
- Замораживание (если необходимо) проводится быстро при
- Размораживание проводится быстро при 37° С в течение 5 мин (-4°С - активация VII ф). Перемешать перед исследованием

ПРЕПАРАТЫ

- Аспирин и клопидогрель не влияют
- Гидроксихлорохин – незначительно влияет
- Приостановка анти-витамин К терапии за 1-2 недели или МНО<1,5
- НМГ за 12 часов, но лучше не проводить исследование
- Если МНО 1.5-3.0 рекомендуется развести исследуемую плазму в отношении 1:1 пулированной плазмой. В этом случае результат интерпретировать достаточно сложно, т.к. LA разведены в 2 раза
- Новые антикоагулянты также влияют (удлинение АЧТВ – дабигатран, удлинение ПВ – анти-Ха препараты- ривароксабан, апиксабан) – отмена на 2 дня.
- Повышенный фактор VIII или С-реактивный белок могут привести к ложноотрицательным или ложноположительным результатам теста



«Некритериальные» антитела

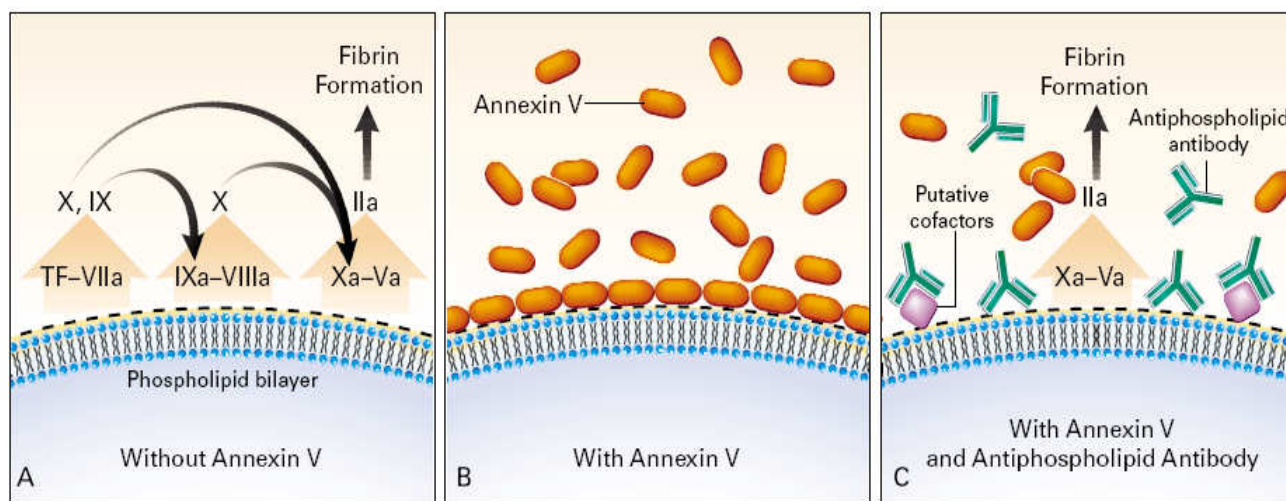
- Роль «некритериальных» антител в APS Оценка тяжести течения
- Диагностика серонегативного APS (SNAPS).
- Шкалы риска, например GAPSS

The Global Anti-Phospholipid Syndrome Score (GAPSS)	The Antiphospholipid Score(aPL-S)
Anticardiolipin antibodies (immunoglobulin G (IgG) or IgM isotype): 5 points Anti- β 2-glycoprotein antibodies (IgG or IgM isotype): 4 points Lupus anticoagulant: 4 points Anti-prothrombin/phosphatidylserine complex antibodies (IgG or IgM isotype): 3 points Hyperlipidaemia: 3 points Arterial hypertension: 1 point	(IgG/IgM anticardiolipin antibodies, IgG/IgM anti- β (2)-glycoprotein I, and IgG/IgM phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies)

Аннексин V - «Плацентарный антикоагулянт» (1988 год)



- Аннексин A5 связывается с фосфолипидами, образуя кристаллы, которые блокируют фосфолипиды от реакций коагуляции.
- aPL вызывают разрывы в кристаллизации AnxA5, которые обнажают фосфолипиды и тем самым ускоряют реакции свертывания крови
- Антитела к аннексину V индуцируют прокоагулянтную активность эндотелиальных клеток



Антитела к протромбину или фосфатидилсерин-протромбиновому комплексу



- Антитела к протромбину увеличивают время фосфолипидзависимых коагуляционных тестов
- До 13% в группе с акушерскими осложнениями
- aPS / PT связаны с неблагоприятным исходом беременности независимо от других антифосфолипидных антител
- Увеличивается риск тромбоза
- Самопроизвольный выкидыш
- Тяжелая преэклампсия
- Антенатальная гибель плода



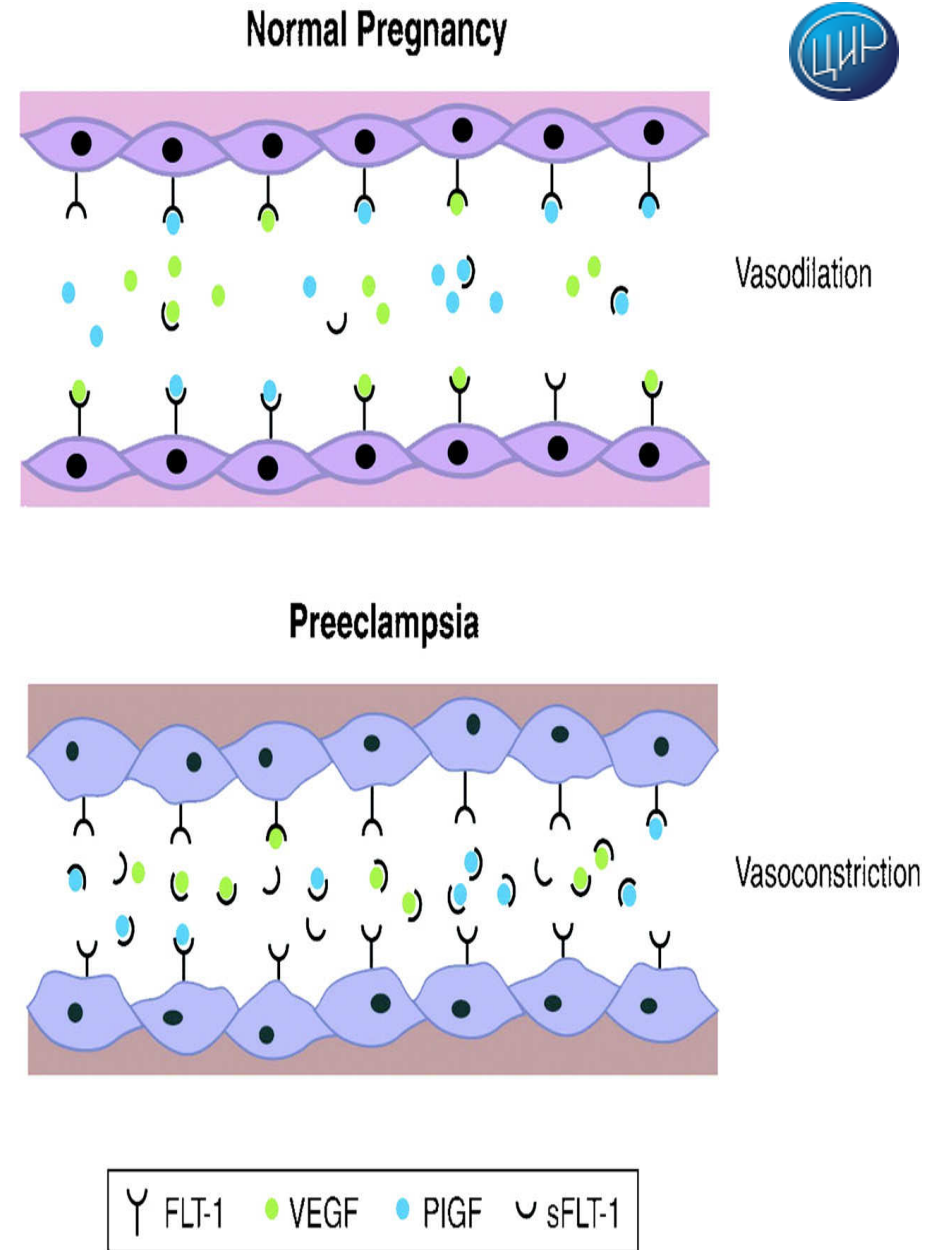
Скрининг носительства антител

- Антифосфолипид-скрининг IgG/IgM (определение суммарного количества антител к кардиолипину, фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу, фосфатидиловой кислоте)
- Скрининг определение антител к 8 различным антигенам: протромбин, тромбин, кардиолипин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, фосфатидилсерин и сфингомиелину
- Антитела к кардиолипину скрининг (суммарные IgA, IgM, IgG)
- Антитела к β 2-гликопротеину I, скрининг (суммарные IgA, IgM, IgG)

Нарушение плацентации



- При патологической плацентации снижается уровень PlGF и увеличивается уровень sFlt1 (растворимая fms- подобная тирозинкиназа 1), эндоглина.
- Индекс антиангиогенной активности - это отношение sFlt-1 к PlGF - коррелирует с ухудшением маточно-плацентарного кровотока после 22 недели беременности





Оценка риска осложнений при АФС

1 триместр – ранняя оценка поздних рисков	2-3 триместр – своевременная диагностика
<ul style="list-style-type: none">• PAPP-A• PIGF• Пульсационный индекс в маточных артериях (ПИ-МА)• Среднее артериальное давление (САД)	<ul style="list-style-type: none">• PIGF/sFlt1• УЗИ с доплерометрией с расчетом церебро-плацентарного отношения*• Оценка развития плода, контроль за размерами, количеством околоплодных вод• КТГ• Тромбоциты, креатинин, АЛТ, АСТ, протеинурия• Растворимый эндоглин

Церебро-плацентарное отношение рассчитывается путем деления пульсационного индекса (ПИ), индекса сопротивления (ИС) или систоло-диастолического отношения (С/Д) Средней Мозговой Артерии (СМА) на аналогичные индексы в Артериях Пуповины (АП).

Физиологически ЦПО представляет собой взаимодействие изменений притока крови в мозг



Выявление факторов риска

- Аутоиммунные заболевания, в первую очередь, СКВ (anti-Ro/SSA and anti-La/SSB антитела)
- Предшествующие тромбозы
- Полиморфизм генов системы гемостаза
- Полиморфизм генов сосудистого тонуса
- Гипокомплементемия
- Продукты активации альтернативного пути комплемента, фактор В (Vb) и терминальный комплекс комплемента (sC5b-9) на ранних сроках беременности



Лечение

- **Низкодозированный аспирин + препараты гепарина улучшают прогноз более чем на 70-85% .**
- Худший результат при нарушении приёма препаратов (70%). The European Registry on Obstetric Antiphospholipid Syndrome (EUROAPS 2019)
- **Гепарин:** предотвращение активации комплемента, противовоспалительный эффект, адсорбция АФА, ингибирование апоптоза, улучшение формирования плаценты. Другие антикоагулянты (гирудин, фондапаринукс) неэффективны. Гепарин может усиливать аутоиммунный удар и вызывать парадоксальный тромбоз.
- **Аспирин** в низких дозах усиливает продукцию интерлейкина-3 из лейкоцитов, что стимулирует нормальный рост трофобласта и экспрессию гормонов
- **Гидроксихлорохин** подавляет активность антител и восстанавливает антикоагулянтную активность аннексина 5
- **Иммуноглобулин** по факту наступления беременности
- **Преднизолон**
- **Правастатин**
- Стероиды, обмен плазмы, фолиевая кислота, витамин D

Спасибо за внимание!



Центр иммунологии
и репродукции
cironline.ru
cirlab.ru