

УДК 615:618.2-008.9-005.6

В. Ю. Прокопюк, О. В. Фалько, О. С. Прокопюк, В. В. Воліна, В. Ю. Трифонов

Аналіз методологічних підходів при моделюванні гестаційного антифосфоліпідного синдрому

Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України, м. Харків

Ключові слова: антифосфоліпідний синдром, експериментальна модель, вагітність.

Експериментальне вивчення гестаційного антифосфоліпідного синдрому (АФС) є значним резервом зниження захворюваності та смертності жінок, новонароджених. З метою аналізу даних сучасної літератури щодо моделювання гестаційного АФС, вибору найбільш прийнятної моделі та її відтворення відповідно до наявних клінічних критеріїв усебічно проаналізували сучасні погляди на моделювання цієї патології залежно від цілей, вибору лабораторних тварин, лікування та дозування препаратів, оцінювання ефективності моделювання, лікування. Встановили, що найбільш прийнятною є модель активної імунізації мишей кардіоліпіновим антигеном, що була відтворена в авторській модифікації.

Анализ методологических подходов при моделировании гестационного антифосфолипидного синдрома

В. Ю. Прокопюк, О. В. Фалько, О. С. Прокопюк, В. В. Волина, В. Ю. Трифонов

Экспериментальное изучение гестационного антифосфолипидного синдрома (АФС) является значительным резервом снижения заболеваемости и смертности женщин и новорожденных. Цель работы заключалась в анализе данных современной литературы по моделированию гестационного АФС, выборе наиболее приемлемой модели и ее воспроизведению в соответствии с существующими клиническими критериями. Всесторонне проанализированы современные взгляды на моделирование этой патологии в зависимости от целей, выбор лабораторных животных, лечение и дозирование препаратов, оценка эффективности моделирования и экспериментального лечения. Установлено, что наиболее приемлемой является модель активной иммунизации мышей кардиолипидным антигеном, которая была воссоздана в авторской модификации.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром, экспериментальная модель, беременность.**Патология.** – 2015. – №2 (34). – С. 4–10

Analysis of methodological approaches for simulation of gestational antiphospholipid syndrome

V. Yu. Prokopyuk, A. V. Falko, O. S. Prokopyuk, V. V. Volina, V. Yu. Trifonov

Experimental study of obstetric antiphospholipid syndrome may reduce morbidity and deaths of women and newborns.

Aim. The aim of the work is to examine relevant literature on modeling obstetric antiphospholipid syndrome, to choose the most appropriate model and to reproduce it in accordance with existing clinical criteria. The current views on the modeling of disease depending on the purposes, selection of laboratory animals, treatment and dosing medications, evaluation of the effectiveness of simulation and experimental treatment were comprehensively analyzed.

Results. According to the authors the most appropriate model is a model of active immunization of mice with the cardiolipin antigen, which was reproduced in the author's modification.

Key words: Antiphospholipid Syndrome, Experimental Model, Pregnancy.**Pathologia.** 2015; №2 (34): 4–10

Антифосфоліпідний синдром (АФС) – аутоімунне захворювання, що характеризується наявністю антифосфоліпідних антитіл, одним проявом венозного чи артеріального тромбозу або синдрому втрати плоду [4,7]. Гестаційний АФС належить до найбільш актуальних мультидисциплінарних проблем сучасної медицини. Це акушерська патологія, при якій невиношування вагітності та антенатальна загибель плода посідає провідне місце. Згідно з дослідженнями А.Д. Макаарія (2001), за відсутності адекватного лікування внутрішньоутробна загибель плода може настати в будь-які терміни вагітності, але дещо частіше відзначають у другому та третьому триместрах [4]. Ризик втрати плоду при наступній вагітності у разі відсутності лікування у жінок із гестаційним АФС досягає 80–90%, що становить суттєвий відсоток серед пренатальних

втрат [4,7]. Отже, гестаційний АФС – це гостра медична та соціально-демографічна проблема, котра потребує всебічного дослідження причин виникнення, пошуку ефективних методів лікування.

У 1983 році G.R.V. Hughes уперше звернув увагу на те, що в пацієнток із «вовчаковим антикоагулянтном» доволі часто спостерігають такі клінічні прояви, як тромбози, рецидивуючі інсульти, спонтанні аборти. Автор запропонував називати цей симптомокомплекс «антикардіоліпіновим», а з 1986 року – АФС. Відтоді гестаційний АФС активно досліджують біологи, фармакологи, акушери-гінекологи та лікарі інших спеціальностей [4,6,7].

Згідно з літературними даними, поширеність гестаційного АФС у популяції коливається від 0 до 14%. У здорових дітей антитіла до фосфоліпідів (аФЛ) виявляють у 5% випадків, згодом цей показник дещо збільшується

[4,7]. Клінічні прояви АФС мають 30–50% людей, у крові яких присутні разом з аФЛ, антикардіоліпінові антитіла (аКЛ) чи вовчаків антикоагулянт (ВА). У хворих з аутоімунною, інфекційною чи цереброваскулярною патологією аФЛ виявляють у 20–40% випадків. Первинний АФС трапляється в 53,1% випадків, вторинний – у 46,9%. У жінок первинний АФС спостерігають в 4 рази частіше, ніж у чоловіків, вторинний – у 7 разів, середній вік хворих на АФС становить 35 років [4,7,11].

У жінок після екстракорпорального запліднення аФЛ виявляють у 24% випадків, а у жінок із вовчаком – у 37%. Серед пацієнток зі звичайним невиношуванням вагітності аФЛ виявляють у 27–42% випадків. У цілому акушерська патологія в жінок з АФС трапляється в 76–81% випадків. У групі жінок із підвищеним рівнем аФЛ ризик загибелі плода становить 4,5%, при прееклампсії – 10,5%, передчасних пологах – 10,5%. Частота синдрому затримки розвитку плода (СЗРП), за даними різних авторів, – 12–46%, тромбозів – 5–53,1%, перинатальних втрат – 15–20%, загрози абортів – 46%, передчасних пологів – 42%, гестозу – 46,2%, варикозу – 37,5% [13–15,19,20].

Отже, проблема АФС сьогодні потребує всебічного дослідження та пошуку нових методів діагностики, профілактики та лікування, вивчення етіопатологічних механізмів, тому роль постановки адекватної моделі гестаційний АФС у вирішенні цієї проблеми є достатньо вагомою та своєчасною.

Мета роботи

Виконати аналіз методологічних підходів щодо моделювання гестаційного антифосфоліпідного синдрому за даними сучасної літератури. Така модель, по-перше, повинна мати ті ж етіопатогенетичні ланки, що й АФС у вагітних, по-друге, відповідати критеріям діагностики (клінічним і лабораторним), по-третє, бути легко відтворюваною.

Сучасні погляди на етіопатогенез антифосфоліпідного синдрому. Дотепер відомо багато чинників, що сприяють розвитку гестаційного АФС. По-перше, це – інфекційні агенти, до їхнього числа відносять віруси, які викликають гепатити, цитомегаловірус, а також стафілококи, стрептококи, токсоплазма, кишкова паличка [20]. У своїй зовнішній мембрані ці збудники мають у великій кількості кардіоліпін (КЛ) та інші фосфоліпіди (ФЛ) або звільняють їх із мітохондрій клітин людини. Оскільки в зовнішніх мембранах клітин людини КЛ практично відсутній, то його потрапляння в організм призводить до вироблення аКЛ.

Другим етіологічним чинником розвитку гестаційного АФС є аутоімунні захворювання, що більш характерні для розвитку вторинного гестаційного АФС, який завжди виникає на тлі системного червоного вовчака [7]. Такий механізм виникнення гестаційного АФС пов'язаний із руйнуванням клітин і продукцією перехресних антитіл. По-третє, певна група дослідників розглядає питання генетичної природи гестаційного АФС [11].

Патогенез гестаційного АФС – це дві складові: запалення та порушення гемостазу на тлі аутоімунного процесу. Різноманітність клінічних проявів гестаційного АФС пов'язана з гетерогенністю аФЛ і можливістю

їхньої реакції з різними тканинами. Частіше патогенез гестаційного АФС пов'язують із взаємодією аФЛ із мембранами тромбоцитів та ендотеліальних клітин унаслідок цього відбувається виділення тканинних тромбопластинів, гіперкоагуляція та демаскування антигенів. Крім того, подібні взаємодії призводять до звільнення ряду цитокінів (селектину, ІЛ 1, ІЛ 6, тромбоксану), котрі сприяють активації запальних процесів [4,21,23,28].

Клінічні прояви гестаційного АФС пов'язані з тромбозами в органах різних систем: серцево-судинної, нервової, дихальної, опорно-рухової та, зокрема у шкірі та печінці [4,11,17]. Найбільшу увагу привертає гестаційний АФС, який проявляється синдромом втрати плода, передчасними пологами, синдромом затримки розвитку плода, гестозами, плацентарною дисфункцією (ПД), тромбоемболічними епізодами та часто спостерігається у молодих клінічно здорових жінок [11,13,19].

Сучасні клінічні класифікації дають змогу встановити діагноз гестаційного АФС, коли є один клінічний та один лабораторний критерій [6,17,20]. До клінічних критеріїв відносять судинні тромбози чи патологію вагітності (переривання вагітності за умов морфологічно нормального ембріона чи плода, тільки вроджені аномалії). До лабораторних критеріїв – виявлення у крові хворих на аФЛ, аКЛ, ВА (за винятком інших коагулопатій) [6]. Гестаційний АФС поділяють на первинний, вторинний (на тлі вовчака), катастрофічний, серонегативний, із мікроангіопатичним синдромом [4,6,7].

Особливістю патогенезу гестаційного АФС є взаємодія аФЛ із передімплантаційним ендометрієм та ембріоном, що призводить до порушень імплантації та розвитку. Порушення імплантації, неповноцінності інвазії трофобласту призводить до первинної плацентарної дисфункції та у підсумку – до невиношування вагітності, токсикозів першої половини вагітності, гестозів, синдрому затримки розвитку плода (СЗРП), передчасних пологів [14,15,27]. Крім того, стан хворих обтяжують коагулопатія в лакунах і спіральних артеріях плаценти, активація системи комплементу, розвиток системної запальної реакції.

З патогенезом гестаційного АФС пов'язані принципи специфічної фармакотерапії цього захворювання. Так, для терапії гестаційного АФС застосовують препарати, котрі мають властивості як антикоагулянтів, так і антиагрегантів [6,7,19]. Серед антикоагулянтів використовують аспірин, гепарин, низькомолекулярні гепарини, антагоністи тромбоксанових рецепторів, інгібітори тканинного тромбoplastину. Серед імуносупресорів – преднізолон, інтерлейкін 3, ципрофлоксацин, імуноглобуліни, бромкріптин, анти-антикардіоліпінові антитіла, АТ до CD4, ліномід, донорський кістковий мозок [24–26].

Для запобігання фармакологічній агресії на вагітну та плід, а також для профілактики вищевказаних ускладнень може значно впливати прегравідарна підготовка, що передбачає застосування сироватки кордової крові, котра має імунотропні властивості [8,12].

Незважаючи на наявні численні клінічні та експериментальні дані та методи терапії гестаційного АФС, нині рішення проблем пошуку нових та удосконалення відомих методів профілактики, лікування цього захворювання залишається незадовільним та у високому відсоткові випадків не запобігає втраті плода [7,17]. Відповідно до цього є гостра потреба створення адекватної експериментальної моделі саме гестаційного АФС.

Експериментальні моделі антифосфоліпідного синдрому. Враховуючи актуальність проблеми, дотепер розроблено ряд експериментальних моделей АФС. Відомі моделі АФС на тваринах аутоімунних і звичайних ліній, пасивної та активної імунізації лабораторних тварин, моделі АФС на мишах, щурах, кролях [9,12,22,24–26]. Для імунізації тварин використовують сполуки різних хімічних класів.

Експериментальні тварини аутоімунних ліній з АФС.

Доведено, що ряд лабораторних ліній мишей мають прояви АФС без окремого моделювання, що дає можливість застосовувати їх в експерименті [25,26].

Миші лінії MRL/lpr хворіють на вовчак, для них описані наявність аКЛ, аФЛ, тромботичних оклюзій судин нервової тканини, неврологічні порушення, тромбоцитопенія, патологія вагітності. Ця лінія є оптимальною для дослідження вторинного АФС і патології нервової системи.

Лінія мишей (W/B) F1 утворюється при схрещуванні самців DXSB і самоць NZW. У цих тварин знайдені аКЛ, аФЛ та антитіла до β 2GPI. Для лінії характерні коронарні тромбози, інфаркти міокарду, тромбоцитопенія. Лінія застосовується для вивчення кардіальної патології, що пов'язана з АФС.

NZB (New Zealand Black) – лінія мишей, у яких знайдені аФЛ і наявна гемолітична анемія.

Лінія мишей NOD (Non-obese diabetic) характеризується наявністю аКЛ, але порушення гемостазу для неї не описані.

Усі перераховані лінії лабораторних тварин не відповідають моделі гестаційного АФС, бо не мають усіх патогенетичних чинників, що характерні для цього захворювання.

Експериментальні моделі АФС із пасивною імунізацією тварин.

Пасивна імунізація проводиться введенням лабораторним тваринам моноклональних чи поліклональних антитіл – аКЛ, аФЛ, чи антитіл до β 2GPI. Зазвичай використовують комерційні антитіла або одержані з гібридомних клітинних ліній. Деякі дослідники як чинник пасивної імунізації застосовують сироватку крові хворих на АФС або системний червоний вовчак. Іноді застосовують введення ад'юванта Фрейнда [25].

Інший метод пасивної імунізації – трансплантація кісткового мозку від хворих тварин до інтактних тварин (лінія BALB/c) і викликання реакції «трансплантат проти хазяїна» [26].

Найчастіше ці методи імунізації застосовуються для відтворення акушерської патології (лінія BALB/c) або тромбозів (лінія CD-1).

Експериментальні моделі АФС з активною імунізацією тварин.

Моделі активної імунізації тварин є більш поширеними. Для їх створення тваринам вводять КЛ, ФЛ, β 2GPI, аКЛ, аФЛ. Найчастіше застосовують мишей лінії BALB/c, кролів NZW [22,24].

Імунізація КЛ – найбільш поширена. Кардіоліпін представлений як окремо, так і в формі готового кардіоліпінного антигена для реакції мікропреципітації (РМП) (Біолек, Україна). Через малу молекулярну масу кардіоліпіном (як і більшістю ФЛ) важко ефективно імунізувати тварин за загальноприйнятими методами [1]. Для імунізації можна застосовувати як КЛ хімічно зв'язаний із білком бичачий альбумін в ад'юванті Фрейнда або аКЛ (КЛ, лецитин, холестерин у співвідношенні 3:30:90). Доза КЛ на одну мишу становить майже 30 мкг на 1 ін'єкцію. Доза для кролів – 6–10 мг КЛ на 10 ін'єкцій через добу [9,12,24].

Застосовуючи КЛ у формі антигена або зв'язаного з білком, вводять внутрішньовенно 4 рази 1 раз у 2 тижні. Модель, як правило, формують через 2 тижні після останньої ін'єкції. Антиген придатний для застосування кілька годин після приготування (готується згідно з інструкцією як реактив для реакції мікропреципітації, ретельно перемішують, дозують 0,1 мл на мишу). При застосуванні на наступну добу та пізніше тварини можуть гинути від емболії агрегатами ліпідів. При використанні ад'юванта Фрейнда 30 мкг КЛ емульгують у 75 мкл повного ад'юванта та вводять внутрішньом'язово. Наступні ін'єкції 1 раз на 2 тижні виконують із неповним ад'ювантом. Модель АФС формують через 2 тижні після останньої ін'єкції.

Ці обидві моделі випробували, одержали аналогічні результати [9,12].

Імунізацію тварин ФЛ виконують за аналогічною методикою, що й у випадку застосування КЛ. Автори Shanmugan V. et al (2007) запропонували здійснювати імунізацію тварин модифікаціями фосфатидилінозитулу, фосфатидилетаноламіну, циклоспорину А [24].

Імунізацію тварин білком β 2GPI виконують у дозі 25 мкг в 75 мкл ад'юванта Фрейнда 1 раз на тиждень 4 рази внутрішньом'язово. Можливе внутрішньовенне введення β 2GPI у тих самих дозах і по тій самій схемі.

Імунізація аКЛ, аФЛ, а β 2GPI пов'язана з виробленням АТ до аутоантитіл (ауто-аутоантитіл). Дози цих речовин аналогічні дозам при пасивній імунізації, але модель формують тільки через 2 місяці після 4–10 введень [25,26].

Імунізацію інфекційними агентами застосовують для підтвердження гіпотези інфекційної етіології виникнення АФС. Зокрема, піддослідним тваринам інтраперитонеально вводили по 200 мкг стафілококового антигена, який одержували шляхом інактивації ультразвуком (15 хв 40 Вт/см²) культури *St. aureus*, виділеної від жінки з АФС, на 0,25 мл повного ад'юванта Фрейнда сім разів із тижневою перервою. Після імунізації таким методом АТ виявляють в асцитичній рідині [5].

Лабораторні тварини. Для моделювання АФС переважно застосовують мишей як стандартний об'єкт для імунологічних досліджень. У деяких моделях дослідники використовують кролів.

Миші досягають статевої зрілості на третій місяць життя. Тривалість естрального циклу миші становить 3–5 днів, вагітність триває 19–22 днів. Вагітність констатують за методом вагінальних пробок чи за мазками з піхви. Візуально можна підтвердити вагітність у мишей тільки з 15–18 днів за ознаками розширення живота та візуалізації соскових ліній. Кількість плодів у посліді – 6–10 і масою майже 1 г. Плацента миші має дископодібну форму, масу – близько 0,2 г, належить до гемохоріального типу, але на відміну від людської плаценти системі ворсин відповідає лабіринт, яким циркулює кров [3,9,16].

Для дозування лікарських речовин найбільш прийнятним є метод Ю. Р. Рибалова зі співавторами [10], який базується на коефіцієнтах для кожної тварини та застосування формули, або метод О.В. Стефанова [2], за яким доза для миші масою 20 г – в 387,9 разів нижча, ніж доза для людини масою 70 кг, щура – в 14,2, собаки – в 3,1 рази.

Для миші максимально допустимий об'єм при внутрішньому введенні – 0,5 мл, при підшкірному – 1 мл, при внутрішньовенному (хвостова вена) – 0,5 мл, при внутрішньочеревному – 2 мл, при оральному – 0,5 мл. Максимальна доза одержання крові (при надрізі хвостової вени) – 0,2–0,5 мл. Для кроля допустимий об'єм при внутрішньому введенні – 8–12 мл, при підшкірному – 30 мл, при внутрішньовенному (вухна вена) – 20 мл, при внутрішньочеревному – 30 мл. Максимальна доза одержання крові – 10 мл [3].

Найбільш близькою до клінічного перебігу АФС і легко відтворюваною, на наш погляд, є модель активної імунізації мишей кардіоліпіновим антигеном, яку й застосовували у своїх дослідженнях.

Методи оцінювання патологічних змін. Для верифікації експериментальної моделі АФС та ефективності лікування важливо застосовувати ті самі критерії, що й у клінічній практиці (наявність клінічних, лабораторних критеріїв). Обов'язковими є дослідження системи коагуляції, імунітету, репродуктивної системи, морфологічне дослідження тромбозів і репродуктивних показників. Інформативним критерієм діагностики АФС є визначення швидкості згортання крові.

Одним із методів оцінювання швидкості згортання крові є метод Моровіця. Швидкість згортання крові здорової миші, за нашими даними, становить 8–10 хвилин, у мишей з АФС – 2–5 хвилин. За 2–3 дні до пологів час згортання крові різко скорочується. Кількість тромбоцитів підраховували в камері Горяєва (гемоцитометрі) або на 1000 еритроцитів, що підраховані перед цим. Норма для миші – 150–300 тис./мл, при АФС – менше ніж 100 тис./мл [9,12].

Вовчаковий антикоагулянт виявляють за допомогою тест-системи, наприклад, «Люпус-тест» («Технология-стандарт», м. Барнаул, РФ). У нормі у крові миші ВА відсутній [5].

Реакція мікропреципітації (РМП) із кардіоліпіновим антигеном виконують за допомогою тест-системи, наприклад, «Антиген кардіоліпіновий для РМП» («Біолек», Харків, Україна). Нормальний показник – негативна реакція. Можливі варіанти при АФС – «+», «++», «+++», «++++» [12].

Антитіла до КЛ, ФЛ та білка $\beta 2GPI$ виявляють за допомогою комерційних стандартизованих тест-систем або методом імуноферментного аналізу (ІФА) зі застосуванням самостійно виготовлених тест-систем із використанням імунологічних планшетів. Наносять на них КЛ чи ФЛ і за допомогою мічених вторинних АТ на ІФА аналізаторі визначають рівень АТ в одиницях оптичної щільності. При цьому важливо отримати показник від здорових тварин як контрольне значення [24].

З імунологічних показників доволі інформативними для діагностики АФС є рівень комплекменту, який, за нашими даними, знижується при АФС на 20%, та реакція бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ), що підвищується на 50–70% [11].

Гістологічне дослідження виконують за стандартною методикою з забарвленням препаратів, що одержали, гематоксиліном та еозином. При проведенні морфологічних досліджень у тварин з АФС спостерігають тромбози, оклюзії судин, інфаркти міокарду, інсульты, дистрофічні явища в різних органах і системах [12,24,28,29]. У репродуктивних органах спостерігають деяку атрофію матки (зменшення товщини), гістологічно-атрофічні явища, зменшення функціонального шару, кількості залоз, мікротромбози, стази крові, десквамацію ендометрію (рис. 1, а). Під час гістологічного дослідження яєчників спостерігають зменшення кількості функціонуючих фолікулів (рис. 1, с), при дослідженні тимусу – розростання сполучної тканини, збільшення кількості тілець Гасала, зменшення кількості лімфоцитів. Типовими ураженнями плаценти є тромбози, інфаркти, геморагії, атрофічні зміни (рис. 1, е).

Вивчаючи перебіг вагітності, оцінюють середню кількість плодів, кількість тварин із резорбцією плодів і тварин із мертвими плодами, середню вагу плода і плаценти, показники передімплантаційної, постімплантаційної, загальної ембріональної смертності [2,3]. Для цього здійснюють розтин тварин на 18–19 день вагітності, підраховують кількість плодів окремо у правому та лівому розі матки, кількість жовтих тіл у правому та лівому яєчнику (із застосуванням біокулярної лупи), кількість живих плодів (рухаються), мертвих плодів (не рухаються, лізовані), місць імплантації (біле дископодібне потовщення стінки матки), резорбцій (кулеподібне потовщення матки до 3–4 мм у діаметрі). Передімплантаційну смертність (ПрС) розраховують за формулою: $ПрС = (\text{кількість місць імплантації} - \text{кількість жовтих тіл}) \times 100\% / \text{кількість місць імплантації}$. Постімплантаційну смертність (ПсС) розраховують за формулою: $ПсС = (\text{кількість місць імплантації} - \text{кількість живих плодів}) \times 100\% / \text{кількість живих плодів}$. Загальну ембріональну смертність підраховують як суму передімплантаційної та постімплантаційної смертності.

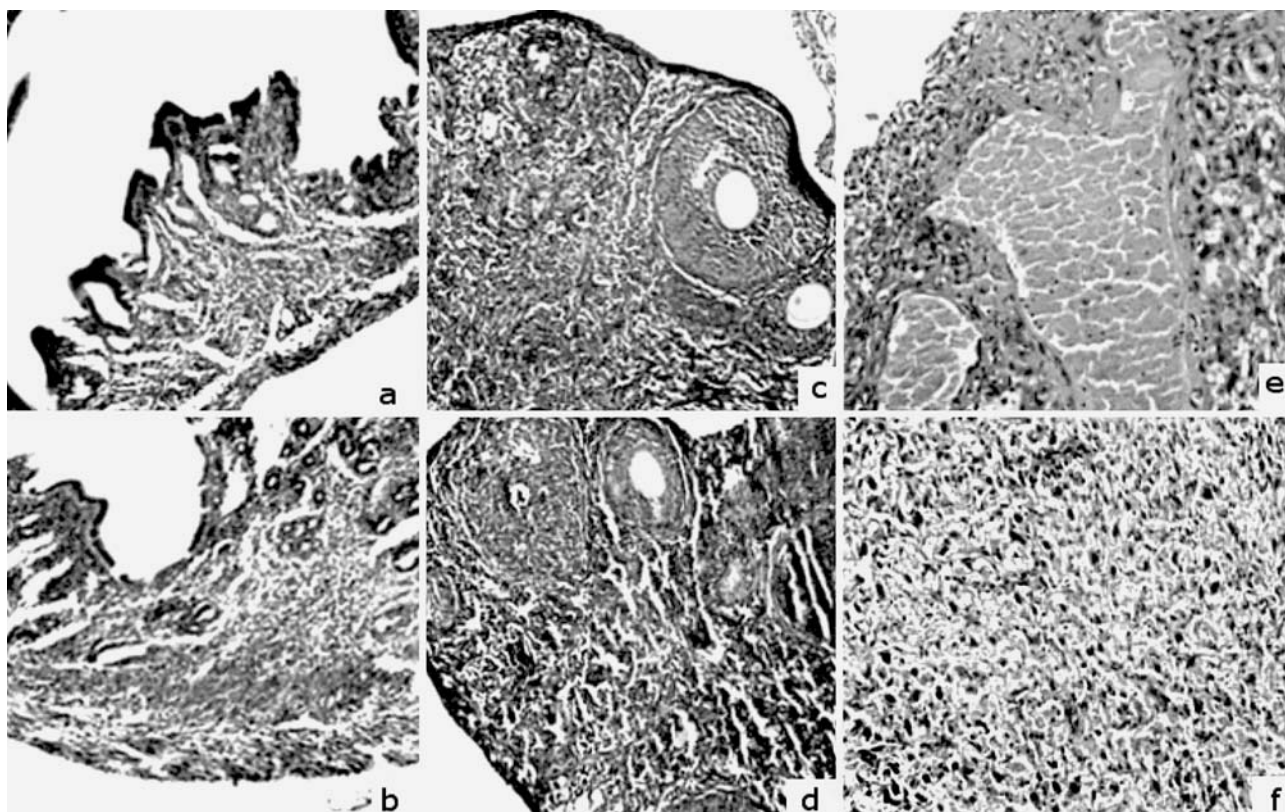


Рис. 1. Препарати тканин матки (а), яєчників (с) і плаценти (е) мишей із моделлю АФС після імунізації кардіоліпіновим антигеном. Відповідні органи інтактних тварин (b, d, f). Забарвлення гематоксилином та еозином, а, b, c, d – $\times 100$, e, f – $\times 200$.

При АФС спостерігають зменшення маси плодів, їх кількості та синдром утрати плода (табл. 1).

Таблиця 1

Показники репродуктивної функції у мишей із моделлю АФС після імунізації кардіоліпіновим антигеном (M \pm m)

	Миші з АФС	Інтактні миші
Кількість плодів	5,0 \pm 0,7*	8,0 \pm 0,9
Тварини з резорбцією, %	75	0
Тварини з мертвими плодами, %	20	0
Середня вага плода, г	0,7 \pm 0,05*	1,08 \pm 0,07
Середня вага плаценти, г	0,17 \pm 0,02	0,2 \pm 0,04

Примітки: * – відмінність від контролю; для оцінювання значущості розбіжностей між вибірками застосовували непараметричний критерій Манна-Уїтні, значущим вважали розбіжності при $p < 0,05$.

Висновки

Для експериментального моделювання гестаційного антифосфоліпідного синдрому, вважаємо, найбільш прийнятною є модель активної імунізації мишей шляхом внутрішньовенного введення кардіоліпінового антигена. Модель реалізується внаслідок вироблення твариною

власних антикардіоліпінових антитіл і патогенетично відповідає захворюванню. Відтворення моделі підтверджується критеріями відповідно до діючих акушерських протоколів: клінічними критеріями є репродуктивні втрати, лабораторними – коагулопатія (підвищення згортання крові, тромбоцитопенія), зміни в імунній системі (аКЛ, аутоімунні АТ, РБТЛ, активність комплементу). Специфічність моделі може підтверджуватися реакцією мікропреципітації з тим самим кардіоліпіновим антигеном або імуноферментним аналізом.

Перспективи подальших досліджень. Антифосфоліпідний синдром є однією з поширених патологій в акушерській практиці. Вивчення його патогенезу залишається актуальним. Важливим є його виявлення до настання вагітності.

Експериментальні моделі на лабораторних тваринах допоможуть більш детально дослідити механізми розвитку цієї патології та виконати доклінічні дослідження сучасних схем лікування з метою профілактики.

Автори статті висловлюють подяку доктору медичних наук, професору кафедри клінічної фармакології Національного фармацевтичного університету Г.В. Зайченко за консультативну допомогу.

Список літератури

1. Антитела. Методы / под ред. Д. Кэти. – М. : Мир, 1991. – 287 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / під ред. О.В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
3. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Разведение содержание и использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – К. : Вища школа, 1974. – 304 с.
4. Макацария А.Д. Антифосфолипидный синдром в акушерской практике / А.Д. Макацария. – М. : Руссо, 2001. – 344 с.

5. Медведєв М.В. Прогнозування та профілактика плацентарної недостатності у вагітних з антифосфоліпідним синдромом, пов'язаним з урогенітальною інфекцією : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня к.мед.н. : 14.00.01 спец. «Акушерство та гінекологія» / М.В. Медведєв. – К., 2006. – 20 с.
6. Наказ МОЗ України «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим з імунними захворюваннями» від 08.10.2007 р. №626 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=8760>.
7. Насонов Е.Л. Антифосфоліпідний синдром / Е.Л. Насонов. – М. : Литтерра, 2004. – 440 с.
8. Патент №62029. Україна. G09B. Спосіб моделювання акушерського антифосфоліпідного синдрому / В.Ю. Прокопюк, О.С. Прокопюк, В.Ю. Трифонов та ін.; заявл. 12.01.2011; опубл. 10.08.2011 // Бюл. №15.
9. Прокопюк В.Ю. Экспериментальная оценка эффективности прегравидарной подготовки и лечения антифосфоліпідного синдрома / В.Ю. Прокопюк // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т.10. – №2(36). – Ч. 1. – С. 79–82.
10. Рыбалов Ю.Р. Дозирование веществ для вскармливающих по контролю биологической активности / Ю.Р. Рыбалов, Р.С. Рыбалов // АДАН СССР. – 1979. – Т. 247. – №6. – С. 1513–1516.
11. Трифонов В.Ю. Современные представления об акушерском антифосфоліпідном синдроме / В.Ю. Трифонов, В.Ю. Прокопюк // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2010. – №2. – С. 50–55.
12. Экспериментальное обоснование возможности прегравидарной профилактики антифосфоліпідного синдрома / В.Ю. Трифонов, В.Ю. Прокопюк, О.С. Прокопюк и др. // Таврический медико-биологический вестник. – 2010. – Т. 13. – №4 (52). – С. 188–192.
13. Pregnancy complications in women with recurrent miscarriage associated with antiphospholipid antibodies treated with low dose aspirin and heparin / M. Backos, R. Rai, N. Baxter et al. // Br J Obstet Gynaecol. – 1999. – Vol. 106. – P. 102–107.
14. Antiphospholipid antibodies affect human endometrial angiogenesis / N. Di Simone, F. Di Nicuolo, S. D'Ippolito et al. // Biol Reprod – 2010. – Vol. 83. – №2. – P. 212–219.
15. Impaired expression of endometrial differentiation markers and complement regulatory proteins in patients with recurrent pregnancy loss associated with antiphospholipid syndrome / J. Francis, R. Rai, N.J. Sebire et al. // Hum Reprod. – 2006. – №7. – P. 435–42.
16. A Comparison of the Histological Structure of the Placenta in Experimental Animals / S. Furukawa, Y. Kuroda, A. Sugiyama // J Toxicol Pathol. – 2014. – Vol. 27. – P. 11–18.
17. Lim W. Antiphospholipid syndrome / W. Lim // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. – 2013. – Vol. 2013. – P. 675–680.
18. Lockshin M.D. Anticoagulation in management of antiphospholipid antibody syndrome in pregnancy / M.D. Lockshin // Clin Lab Med. – 2013. – Vol. 33(2). – P. 367–376.
19. Lockshin M.D. Pregnancy and antiphospholipid syndrome / M.D. Lockshin // Am J Reprod Immunol. – 2013. – Vol. 69. – №6. – P. 585–758.
20. Marchetti T. Obstetrical antiphospholipid syndrome: from the pathogenesis to the clinical and therapeutic implications / T. Marchetti, M. Cohen, P. de Moerloose // Clin Dev Immunol. – 2013. – Vol. 2013. – 9 p.
21. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanisms / S.S. Pierangeli, P.P. Chen, E. Raschi et al. // Semin Thromb Hemost. – 2008. – Vol. 34. – №3. – P. 236–250.
22. Animal models of the antiphospholipid syndrome / E.L. Radway-Bright, M. Inanc, D.A. Isenberg // Rheumatology. – 1999. – Vol. 38. – №7. – P. 591–601.
23. Salmon J.E. Antiphospholipid antibodies and pregnancy loss: a disorder of inflammation / J.E. Salmon, G. Girardi // J. Reprod Immunol. – 2008. – Vol. 77. – №1. – P. 51–56.
24. Shanmugan V. Placental Thrombosis in Experimental Anticardiolipin Antibodies-Mediated Intrauterine Fetal Death / V. Shanmugan, A. Govindaraju, B. Kumbalingam // American Journal of Reproductive Immunology. – 2007. – Vol. 57. – №4. – P. 270–276.
25. Shoenfeld Y. Lessons from experimental APS models / Y. Shoenfeld, L. Ziporen // Lupus. – 1998. – №7. – Suppl. 2. – P. 158–161.
26. Animal models of antiphospholipid syndrome / A. Tincani, L. Spalota, M. Cinquini et al. // Rev. Rheum. Engl. Ed. – 1998. – Vol. 65. – №11. – P. 614–618.
27. Tong M. Antiphospholipid antibodies and the placenta: a systematic review of their in vitro effects and modulation by treatment / M. Tong, C.A. Viall, L.W. Chamley // Hum Reprod Update. – 2015. – Vol. 21(1). – P. 97–118.
28. Vega-Ostertag M.E. Mechanisms of aPL-mediated thrombosis: effects of aPL on endothelium and platelets / M.E. Vega-Ostertag, S.S. Pierangeli // Curr Rheumatol Rep. – 2007. – Vol. 3. – №9. – P. 190–197.
29. Viall C.A. Histopathology in the placentae of women with antiphospholipid antibodies: A systematic review of the literature / C.A. Viall, L.W. Chamley // Autoimmun Rev. – 2015. – [Epub ahead of print].

References

1. Kathy, D. (Ed.) (1991). *Antitela. Metody [Antibodies. Methods]*. Moscow: Mir. [in Russian].
2. Stefanov, O. V. (Ed.) (2001) *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv [Preclinical studies of drugs]*. Kyiv: Avicena. [in Ukrainian].
3. Zapadnyuk, I. P., Zapadnyuk, V. I., Zakhariya, E. A. (1974) *Laboratornye zhivotnye. Razvedenie sodержanie i ispol'zovanie v e'ksperimente [Laboratory animals. Breeding content and use in the experiment]*. Kyiv: Vyscha shkola. [in Ukrainian].
4. Makacariya, A. D. (2001) *Antifosfolipidnyj sindrom v akusherskoj praktike [Antiphospholipid syndrome in obstetric practice]*. Moscow: Russo. [in Russian].
5. Medvedev, M. V. (2006) *Prohnozuvannia ta profilaktyka platsentarnoi nedostatnosti u vahitnykh z antyfosfolipidnym syndromom, pov'iazanyim z urohenitalnoi infektsiieiu* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Prediction and prevention of placental insufficiency in pregnant women with antiphospholipid syndrome, associated with urogenital infections]. (Extended abstract of candidate's thesis). Kyiv [in Ukrainian].
6. *Nakaz Ministerstva okhorony zdorovia Ukrainy Pro zatverdzhennia klinichnykh protokoliv nadannia medychnoi dopomohy khvorym z imunnymy zakhvoriuvanniamy 8 zhonntia 2007 roku № 626 [Order of the Ministry of Health of Ukraine On approval of clinical protocols of care for patients with immune diseases from October 8 2007 №626]* Retrieved from <http://moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=8760>. [in Ukrainian].
7. Nasonov, E. L. (2004) *Antifosfolipidnyj sindrom [Antiphospholipid syndrome]*. Moscow: Litterra. [in Russian].
8. Prokopiuk, V. Yu., Prokopiuk, O. S., Trifonov, V. Yu., et al. (patentee) (2011) Patent Ukrainy №62029. Ukraina. G09B. Sposib modeliuvannia akusherskoho antyfosfolipidnoho syndroma [Ukrainian. MPK G09B. Method simulation obstetric antiphospholipid syndrome]. *Biuletен*, 15. [in Ukrainian].
9. Prokopiuk, V. Yu. (2011) *E'ksperymental'naya oцenka e'ffektivnosti pregravidarnoj podgotovki i lecheniya antifosfolipidnogo sindroma [Experimental evaluation of the effectiveness of training and pregravidal treatment of antiphospholipid syndrome]*. *Klinichna ta eksperymentalna patolohiia*, 2(36), 79–82. [in Ukrainian].

10. Rybalov, Yu. R., & Rybalov, R. S. (1979) Dozirovanie veschestv dlya mlekopitayuschikh po kontrolyu biologicheskoy aktivnosti [Dosing substances for mammals to control biological activity]. *ADANSSSR*, 247(6), 1513–1516. [in Russian].
11. Trifonov, V. Yu., & Prokopiuk, V. Yu. (2010) Sovremennye predstavleniya ob akusherskom antifosfolipidnom sindrome [Current concepts of obstetric antiphospholipid syndrome]. *Ekspyrymentalna i klinichna medytsyna*, 2, 50–55. [in Ukrainian].
12. Trifonov, V. Yu., Prokopyuk, V. Yu., Prokopyuk, O. S., Lipina, O. V., Volina, V. V., Zub, L. I., et al. (2010) E'ksperimental'noe obosnovanie vozmozhnosti pregravidarnoy profilaktiki antifosfolipidnogo sindroma [Experimental study the possibility of preventing pregravidal antiphospholipid syndrome]. *Tavrcheskij mediko-biologicheskij vestnik*, 4(52), 188–192. [in Ukrainian].
13. Backos, M., Rai, R., Baxter, N., Chilcott, I. T., Cohen, H., & Regan, L. (1999) Pregnancy complications in women with recurrent miscarriage associated with antiphospholipid antibodies treated with low dose aspirin and heparin. *Br J Obstet Gynaecol*, 106(2), 102–107.
14. Di Simone, N., Di Nicuolo, F., D'Ippolito, S., Castellani, R., Tersigni, C., Caruso, A., et al. (2010) Antiphospholipid antibodies affect human endometrial angiogenesis. *Biol Reprod*, 83(2), 212–219. doi: 10.1095/biolreprod.110.083410.
15. Francis, J., Rai, R., Sebire, N. J., El-Gaddal, S., Fernandes, M. S., Jindal, P., et al. (2006) Impaired expression of endometrial differentiation markers and complement regulatory proteins in patients with recurrent pregnancy loss associated with antiphospholipid syndrome. *Hum Reprod*, 12(7), 435–442. doi: 10.1093/molehr/gal048.
16. Furukawa S., Kuroda Y., & Sugiyama A. A (2014) Comparison of the Histological Structure of the Placenta in Experimental Animals. *J Toxicol Pathol*, 27(1), 11–18. doi: 10.1293/tox.2013-0060.
17. Lim, W. (2013) Antiphospholipid syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2013, 675–680.
18. Lockshin, M. D. (2013) Anticoagulation in management of antiphospholipid antibody syndrome in pregnancy. *Clin Lab Med*, 33(2), 367–376. doi: 10.1016/j.cll.2013.01.001.
19. Lockshin, M. D. (2013) Pregnancy and antiphospholipid syndrome. *Am J Reprod Immunol*, 69(6), 585–758.
20. Marchetti, T., Cohen, M., & de Moerloose, P. (2013) Obstetrical antiphospholipid syndrome: from the pathogenesis to the clinical and therapeutic implications. *Clin Dev Immunol*, 2013, 1–9. doi.org/10.1155/2013/159124.
21. Pierangeli, S. S., Chen, P. P., Raschi, E., Scurati, S., Grossi, C., Borghi, M.O., et al. (2008) Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanisms. *Semin Thromb Hemost*, 34(3), 236–250. doi: 10.1055/s-0028-1082267.
22. Radway-Bright, E. L., Inanc, M., & Isenberg, D. A. (1999) Animal models of the antiphospholipid syndrome. *Reumatology (Oxford)*, 38(7), 591–601.
23. Salmon, J. E., & Girardi, G. (2008) Antiphospholipid antibodies and pregnancy loss: a disorder of inflammation. *J Reprod Immunol*, 77(1), 51–56. doi:10.1016/j.jri.2007.02.007.
24. Shanmugan, V., Govindaraju, A., & Kumbalingam, B. (2007) Placental Thrombosis in Experimental Anticardiolipin Antibodies-Mediated Intrauterine Fetal Death. *American Journal of Reproductive Immunology*, 57(4), 270–276. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00474.x
25. Shoenfeld, Y., & Ziporen, L. (1998) Lessons from experimental APS models. *Lupus*, 7, 158–161.
26. Tincani, A., Spalota, L., Cinquini, M., Meroni, P., Balestrieri, G., & Shoenfeld, Y. (1998) Animal models of antiphospholipid syndrome. *Rheum. Engl. Ed*, 65(11), 614–618.
27. Tong, M., Viall, C. A., & Chamley, L. W. (2015) Antiphospholipid antibodies and the placenta: a systematic review of their in vitro effects and modulation by treatment. *Hum. Reprod. Update*, 21(1), 97–118. doi: 10.1093/humupd/dmu049.
28. Vega-Ostertag, M. E., & Pierangeli, S. S. (2007) Mechanisms of aPL-mediated thrombosis: effects of aPL on endothelium and platelets. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 9(3), 190–197.
29. Viall, C. A., & Chamley, L. W. (2015) Histopathology in the placentae of women with antiphospholipid antibodies: A systematic review of the literature. *Autoimmun. Rev.*, [Epub ahead of print].

Відомості про авторів:

Прокопюк В.Ю., к. мед. н., с.н.с., Інститут проблем криобіології та кріомедицини НАН України.

Фалько О.В., к. біол. н., м.н.с., Інститут проблем криобіології та кріомедицини НАН України, E-mail: i_falko@mail.ru.

Прокопюк О.С., д. мед. н., с.н.с., зав. відділу «Низькотемпературний банк біологічних об'єктів», Інститут проблем криобіології та кріомедицини НАН України.

Волина В.В., к. біол. н., с.н.с., Інститут проблем криобіології та кріомедицини НАН України.

Трифонов В.Ю., к. мен. н., лікар акушер-гінеколог, Черкаська філія міжвідомчого наукового центру криобіології та кріомедицини НАН, АМН і МОЗ України.

Сведения об авторах:

Прокопюк В.Ю., к. мед. н., с.н.с., Институт проблем криобиологии и кримиомедицины НАН Украины.

Фалько О.В., к. биол. н., м.н.с., Институт проблем криобиологии и кримиомедицины НАН Украины, E-mail: i_falko@mail.ru.

Прокопюк О.С., д. мед. н., с.н.с., зав. отделом «Низкотемпературный банк биологических объектов», Институт проблем криобиологии и кримиомедицины НАН Украины.

Волина В.В., к. биол. н., с.н.с., Институт проблем криобиологии и кримиомедицины НАН Украины.

Трифонов В.Ю., к. мед. н., врач акушер-гинеколог, Черкасский филиал межведомственного научного центра криобиологии и кримиомедицины НАН, АМН и МЗ Украины.

Information about authors:

Prokopiuk V.Y., PhD, Senior Researcher, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS Ukraine.

Falko O.V., PhD, Senior Researcher, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS Ukraine, E-mail: i_falko@mail.ru.

Prokopiuk O.S., M.D., Senior Researcher, Head of Department of Low Temperature Bank of biological objects of the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS Ukraine.

Volina V.V., PhD, Senior Researcher, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS Ukraine.

Trifonov V.Y., PhD, doctor obstetrician-gynecologist Cherkassky office Interdepartmental Scientific Center for Cryobiology and Cryomedicine.

Надійшла в редакцію 07.05.2015 р.