



ЛИТЕРАТУРА

1. Ильина И.Ю. Варикозное расширение вен малого таза у женщин как одно из проявлений дисплазии соединительной ткани // Российский вестник акушера-гинеколога. - №2. - 2009. - С. 39-42
2. Сухих Г.Т., Серов В.Н., Савельева Г.М. и др. Профилактика и терапия массивной кровопотери в акушерстве. Медицинская технология ФСН № 2010/141 от 29.04.2010.
3. Артымук Н.В. Варикозное расширение вен органов малого таза у женщин // Российский вестник акушера-гинеколога. - N 6. - 2007- С.74-77.
4. Клинические рекомендации Акушерство и гинекология. - 4-е изд., перераб. и доп. / под ред. В.Н.Серова, Г. Т. Сухих. - М.: ГОЭТАР-Медиа, 2014. - С. 499-514.
5. Айламазян Э. К., Кулаков В. И., Радзинский В. Е., Савельева Г. М. Акушерство: национальное руководство/ под редакцией Э. К. Айламазяна, В. И. Кулакова, В. Е. Радзинского, Г. М. Савельевой. - М.: ГОЭТАР - Медиа, 2007. - 1200 с.
6. WHO recommendations for prevention and treatment of postpartum hemorrhage, 2012.
7. Акушерство и гинекология. Дифференциальная диагностика от А до Я./ Под редакцией Тони Холлингуорт. - М.: ГОЭТАР - Медиа, 2010. - 400 с.
8. Daliakopoulos S. Gigantic retroperitoneal hematoma as a complication of anticoagulation therapy with heparin in therapeutic doses: a case report. Journal of Medical Case Reports 2008, 2:162
9. Богачев В.Ю. Варикозная болезнь вен малого таза// Consilium medicum. - №1, Т. 1. - 2006. - С. 20—23.
10. Мозес В.Г. Варикозное расширение вен малого таза у женщин в основные возрастно-биологические периоды жизни: Автореф. дис. докт. мед. наук. - Томск, 2006. - 39 с.
11. Бабаджанова Г.С., Хабибуллаева М.Ф. Диагностика и лечение варикозного расширения вен малого таза у беременных // Здоровье женщины. - №4 (40). - 2009. -С. 28-30.

ПОСТУПИЛА 10.10.2013

УДК 616.83-0.53.3-06:618.36-005.4

Т.Г. Плахотя, В.А. Линде, М.А. Левкович, И.И. Крукиер, Д.И. Созаева

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА У БЕРЕМЕННЫХ С ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С УЧЕТОМ ТЯЖЕСТИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии
Россия, 344012 г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43*

Цель. Изучение иммунологических механизмов гипоксически-ишемических церебральных нарушений различной степени тяжести у новорожденных от матерей с плацентарной недостаточностью.

Материалы и методы. Проведено клинико-лабораторное обследование 58 беременных женщин с плацентарной недостаточностью в сроке 38-39 недель беременности. Обследуемые разделены на подгруппы: 1а – перинатальное поражение ЦНС со средней степенью тяжести, клинически выявляемые с рождения (n = 31), 1б - перинатальное поражение ЦНС с легкой степенью тяжести, клинически выявляемые через 1 месяц после рождения (n = 27). Контрольную группу составили пациентки с физиологическим течением беременности и родов (n = 19).

Результаты. Выявлено, что критерием гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных является повышение в крови матери уровня CD16+ NK-клеток, маркеров активации Т-лимфоцитов CD69+, CD25+, маркеров апоптоза CD95+, AnnexinV+, AnnexinV+PI+, смещение цитокинового баланса в сторону продукции провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL -6, IFN- γ), как в сыворотке крови, так и в околоплодных водах.

Выводы. Развитие гипоксически-ишемических церебральных нарушений у новорожденных детей от матерей с плацентарной недостаточностью происходит на фоне нарушения механизмов иммунного ответа.

Ключевые слова: беременность, плацентарная недостаточность, церебральные нарушения.



T.G. Plahotyа, V.A. Linde, M.A. Levkovich, I.I. Krukier, D.I. Sozaeva

ASSESSMENT OF THE STATUS OF THE IMMUNE RESPONSE IN PREGNANT WOMEN WITH PLACENTAL INSUFFICIENCY TAKING INTO ACCOUNT THE SEVERITY OF CEREBRAL PATHOLOGY IN THEIR NEWBORN

*Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics
43, Mechnikova Str., Rostov-on-Don, 344012, Russia.*

Purpose. The study of immunological mechanisms of hypoxic-ischemic brain damage of varying severity in infants born to mothers with placental insufficiency. **Materials and methods.** A clinical and laboratory examination of 58 pregnant women with placental insufficiency in the period 38-39 weeks of pregnancy. The subjects were divided into subgroups: 1a - perinatal CNS lesions with an average degree of severity, clinically detectable at birth (n = 31), 1b - perinatal CNS damage with mild severity, clinically detectable at 1 month after birth (n = 27). The control group consisted of patients with physiological pregnancy and childbirth (n = 19).

Results. It was revealed that the criterion of hypoxic-ischemic central nervous system in newborns is to increase the mother's blood level of CD16 + NK-cell activation markers of T-cell CD69 +, CD25 +, apoptosis markers CD95 +, AnnexinV +, AnnexinV + PI +, shift the cytokine balance in favor of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL -6, IFN- γ), both in serum and amniotic fluid.

Conclusions. The development of hypoxic-ischemic brain damage in newborn infants of mothers with placental insufficiency occurs against violations of the mechanisms of immune response..

Keywords: pregnancy, placental insufficiency, cerebral infringements.

Введение

Перинатальные поражения ЦНС являются наиболее частой причиной гипоксически-ишемических церебральных нарушений в неонатальном периоде и влияют на последующее нервно-психическое развитие ребенка. По данным Комитета экспертов ВОЗ инвалидизация в более старшем возрасте сопровождается высокой частотой психоневрологических расстройств во всех возрастных группах [1, 2]. При этом к одному из ведущих компонентов в числе патогенетических процессов формирования указанной патологии относят симптомокомплекс фетоплацентарной недостаточности с нарушением общей и церебральной гемодинамики и реологических свойств крови у плода и новорожденного, предопределяющие развитие энергетического дефицита, запускающих каскад патологических реакций в условиях оксидантного стресса, фокальной ишемии и эйксатоксичности [3]. Это приводит к развитию неврологического дефицита не только сразу после рождения, но и в отдаленные периоды постнатального онтогенеза, характер и степень выраженности которого определяется локализацией патологического процесса в мозговом веществе [4]. Иммунные медиаторы играют особую роль в запуске реакций воспаления и нарушений микроциркуляции, повышении проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). При ишемии тканей мозга, в связи с гипоксической активацией возникает и апоптоз нейронов. Нарушение проницаемости ГЭБ обуславливает возможность выхода нейроспецифических белков (НСБ), обладающих высокой антигенностью, в интерстициальное пространство, распространение током ликвора и поступление в кровь в повышенной концентрации [5]. Иммуннокомпетентные клетки, не обладающие толерантностью к этим белкам, реагируют синтезом аутоантител различ-

ной нейроспецифичности. Развивается нейроиммунный процесс, вызванный повреждением эндотелия сосудов системы микроциркуляции – острый иммунный эндотелиоз. При этом возникшие морфологические изменения ведут к высвобождению первичных медиаторов воспаления, что сопровождается рядом клинических симптомов [6]. Таким образом, углубленное изучение различных механизмов патогенеза гипоксически-ишемических церебральных нарушений у новорожденных от матерей с плацентарной недостаточностью представляет несомненный интерес.

Цель исследования - изучение иммунологических механизмов гипоксически-ишемических церебральных нарушений различной степени тяжести у новорожденных от матерей с плацентарной недостаточностью.

Материалы и методы

В исследование включены 58 беременных женщин с плацентарной недостаточностью (субкомпенсированная форма) в сроке 38-39 недель беременности. С учетом сроков клинической манифестации и тяжести церебральной патологии у их новорожденных обследуемые были разделены на подгруппы: 1-а – перинатальное поражение центральной нервной системы со средней степенью тяжести церебральной патологии, клинически выявляемое с рождения (n = 31), 1-б - перинатальное поражение центральной нервной системы с лёгкой степенью тяжести церебральной патологии, клинически выявляемое через 1 месяц после рождения (n = 27). Контрольную группу составили пациентки с физиологическим течением беременности и родов (n = 19).

Определение популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, уровень экспрессии маркеров активации проводили методом фенотипирования, используя реагенты фирмы Immunotex (Франция), Caltag (США): FITC - меченые CD16+ и



PE(фикоэритрин) - меченые CD 95+, CD25+, CD69+. Количество лимфоцитов, вступивших в апоптоз, выявляли с использованием диагностического набора, включающего Annexin-V+, меченый FITC и пропидиум йодид (PI+), (Caltag, США). Результаты учитывали на проточном цитофлюориметре BECKMAN COULTER EPICS XL-II (США), используя стандартные протоколы. Определение в периферической крови и околоплодных водах беременных уровня IL-6, TNF- α , IFN- γ проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов "Цитокин", Санкт-Петербург. Для оценки состояния фетоплацентарного комплекса проводилось ультразвуковое и доплерометрическое исследование. При определении статистической обоснованности различия исследуемых групп применялся критерий Манна-Уитни и Вилкоксона при максимально допустимом уровне ошибки первого рода $p=0,05$.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ факторов риска у пациенток исследуемых групп показал, что в 1а подгруппе по сравнению с контрольной группой и подгруппой 1б достоверно чаще ($p<0,05$) регистрировали гипертоническую болезнь, ожирение, хронический пиелонефрит, нарушение менструальной функции, хронические воспалительные заболевания органов малого таза. Частота угрозы прерывания беременности, хронической внутриутробной гипоксии плода, ОПГ-гестоза, синдрома задержки внутриутробного развития плода в этой группе статистически обоснованно отличалась от показателей контрольной группы ($p<0,01$).

В настоящее время не подлежит сомнению, что иммунная система играет ведущую роль в патогенезе гипоксических заболеваний у новорожденных детей, а механизмы формирования компенсаторно-адаптационных и структурных нарушений в ЦНС обусловлены иммунопатологическими цитокин-индуцированными реакциями. В этой связи было проведено их определение на системном и локальном уровнях. В результате проведенных исследований установлено, что развитие гипоксически-ишемического поражения ЦНС новорожденных от матерей с плацентарной недостаточностью сопровождалось значительными изменениями показателей иммунного статуса.

Известно, что при физиологической беременности отмечается резкое снижение в крови численности CD16+ NK-клеток, т.к. CD16+ является единственным Fc γ -рецептором, ответственным за антителозависимую клеточную цитотоксичность NK- и Т-лимфоцитов [7]. Анализируя показатели содержания натуральных киллеров (CD16+ лимфоцитов) в подгруппе 1а по сравнению с контрольной группой и подгруппой 1б отмечено достоверное увеличение их относительного и абсолютного количества, а также усиление экспрессии маркеров ранней активации CD25+ на их поверхности ($11,8\pm 0,9\%$ против $5,1\pm 0,4\%$ и $6,1\pm 0,3\%$ соответственно ($p<0,05$). При этом выявлена прямая корреляционная зависимость между количеством CD16+ и содержанием в сыворотке крови TNF- α ($rs=0,56$, $p=0,02$) и IFN- γ ($rs=0,60$, $p=0,05$), что можно объяснить усилением цитолитической функции, направленной, в том числе, и на клетки трофобласта.

Анализ функционального состояния клеток иммунной системы показал, что в подгруппе 1а по сравнению с контрольной группой и подгруппой 1б достоверно повыша-

лось содержание лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности маркеры ранней активации CD69+ ($3,7\pm 0,7\%$ против $1,4\pm 0,2\%$ и $1,7\pm 0,1$, соответственно, ($p<0,05$) и CD25+ ($3,7\pm 0,6\%$ против $1,0\pm 0,4\%$ и $1,6\pm 0,2\%$ соответственно, $p<0,05$). При этом выявлена прямая корреляционная зависимость между количеством лимфоцитов, экспрессирующих CD69+ и содержанием IL-6 в околоплодных водах ($rs=0,83$, $p<0,05$). Увеличение количества лимфоцитов, несущих маркер CD25+, отражает их готовность к пролиферации, может свидетельствовать об активации Th1-типа иммунного ответа. Повышение указанных показателей может способствовать нарушению нормального течения беременности за счёт изменения динамического иммунологического баланса в системе мать-плацента-плод.

Значительную роль в механизмах сохранения клеточного баланса, регулируемой клеточной гибели играет апоптоз. С помощью механизма апоптоза удаляются аутоспецифичные клоны и клетки, реализуется клеточно-опосредованный цитолиз [8]. Учитывая важное значение процессов апоптоза в поддержании гомеостаза, было проанализировано содержание лимфоцитов, экспрессирующих Fas рецептор CD95+, как маркер поздней активации, характеризующий готовность к апоптозу. Оказалось, что в подгруппах 1а и 1б по сравнению с контрольной группой отмечалось достоверное повышение CD95+ ($11,9\pm 0,2\%$ и $10,4\pm 0,2\%$ против $5,2\pm 0,1$ соответственно, $p<0,05$), а также ранних (AnnexinV+) и поздних (AnnexinV+ PI+) маркеров апоптоза, наиболее выраженные отличия отмечены в подгруппе 1а ($13,2\pm 2,2\%$ против $5,8\pm 0,5\%$, $p<0,05$).

TNF- α усиливает постишемическое повреждение мозга, оказывая провоспалительное и прокоагулянтное действие на эндотелий, что ведет к нарушению микроциркуляции [9]. В 1а и 1б подгруппах по сравнению с контрольной обнаружены статистически значимые различия содержания TNF- α как в периферической крови ($68,2\pm 8,2$ пг/мл и $53,2\pm 7,7$ пг/мл против $18,6\pm 7,8$ пг/мл соответственно), так и в околоплодных водах ($89,2\pm 5,7$ пг/мл и $70,2\pm 12,7$ пг/мл против $28,2\pm 7,8$ пг/мл соответственно, $p<0,01$). Биологический эффект данного цитокина выражается в прогрессировании гипоксии, стимулировании синтеза других цитокинов и проникновении лейкоцитов в очаг ишемии.

IL-6 является главным медиатором белков острой фазы, активирует коагуляционные реакции. Достоверное повышение его уровня отмечено в подгруппе 1а по сравнению с контрольной группой и подгруппой 1б ($140,4\pm 38,3$ пг/мл против $17,7\pm 4,1$ пг/мл и $31,6\pm 11,2$ пг/мл соответственно, $p<0,01$). Многообразие изученных свойств IFN- γ свидетельствует о его регуляторном влиянии на все основные клетки иммунной системы. IFN- γ причастен к регуляции развития плода, вносит значительный вклад в развитие децидуальной ткани и сосудов матки. В то же время IFN- γ может быть вовлечен в патогенез осложненной беременности. При плацентарной недостаточности может иметь место гиперфункция Th-1 клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины в том числе и IFN- γ , что может приводить к избыточно выраженным воспалительным реакциям. IFN- γ - основной цитокин, связанный с развитием демиелинизирующих процессов. Оверэкспрессия IFN- γ в белом веществе мозга ведет к полному отсутствию миелина, кроме того усиливает процессы апоптоза и некроза. Исследование содержания IFN- γ выявило достоверные однонаправленные отличия



его содержания в подгруппе Ia по сравнению с контрольной группой и подгруппой 1b как в сыворотке крови, так и в околоплодных водах ($77,4 \pm 12,4$ пг/мл против $24 \pm 3,1$ пг/мл и $35 \pm 5,2$ пг/мл соответственно, $p < 0,05$, и $78,4 \pm 12,1$ пг/мл против $15 \pm 3,1$ пг/мл и $19 \pm 7,1$ пг/мл соответственно, $p < 0,05$).

Выводы

1) Критерием риска развития перинатального поражения ЦНС у новорожденных от матерей с плацентарной недостаточностью является повышение в крови матери уровня CD16+ NK-клеток, маркеров активации CD69+, CD25+ Т-лимфоцитов, маркеров апоптоза CD95+,

AnnexinV+, AnnexinV+PI+, смещение цитокинового баланса в сторону продукции провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL -6, IFN- γ), как в сыворотке крови, так и в околоплодных водах, что свидетельствует о существенной роли иммунологических изменений на системном и локальном уровне.

2) Выявление характера иммунного ответа у беременных с плацентарной недостаточностью позволит разработать прогностические критерии степени тяжести и сроков реализации гипоксически-ишемического поражения ЦНС у их новорожденных, что будет способствовать повышению эффективности терапевтических мероприятий и снижению детской инвалидизации путем раннего назначения патогенетической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барашнев Ю.И., Розанов А.В., Панов В.О., Волобуев А.И. Роль гипоксически-травматических повреждений головного мозга в формировании инвалидности с детства // Рос. вестник перинат. и педиатрии. — 2006. — № 4. — С. 41-46.
2. Холичев Д. А., Боженов Ю. А. Особенности течения воспалительной реакции у новорожденных детей с церебральной ишемией различной степени тяжести // Дальневосточный медицинский журнал. - 2008. - №1. - С. 44-46.
3. Сидорова И.С., Макаров И.О. Клинико-диагностические аспекты фетоплацентарной недостаточности.- М.: Медицинское информационное агентство, 2005.-296с.
4. Рогалева Т.Е., Белокрицкая Т.Е., Короленко Т.Г. Патогенетические механизмы развития перинатальных поражений центральной нервной системы у новорожденных от матерей с гестозами // Забайкальский мед. вестник.-2008.-№ 1.- С. 12-14.
5. Neerhof M.G., Thaete L.G. The fetal response to chronic placental insufficiency. // Semin. Perinatol.-2008.- Vol. 32.- P.201-205.
6. Филькина О.М., Чаша Т.В., Самсонова Т.В. и др. Перинатальные поражения нервной системы и их последствия у детей: клиника, прогнозирование, диагностика, профилактика и коррекция, соматическое здоровье. – Иваново: ОАО «Издательство «Иваново», -2007. -240 с.
7. Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов А.В. Иммунология и аллергология. – М.: Практическая медицина, 2006. – С. 77-79.
8. Сотникова Н.Ю. Андиферова Ю.С., Кудряшова А.В. Иммунологическая загадка беременности.- Иваново, 2005. – С. 130-132.
9. Крукиер И.И. Динамика цитокинов в разные сроки развития плаценты при физиологической и осложненной беременности //Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.-2005.- № 1.-С.18-21.

ПОСТУПИЛА 10.10.2013

УДК 618.2+618.36+618.3-06+577.1

Т.Н. Погорелова, В.О. Гунько, В.А. Линде

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЙ СИНЦИТИОТРОФОБЛАСТА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии,
отдел медико-биологических проблем в акушерстве, гинекологии и педиатрии
Россия, 344012, г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43. E-mail: rniiar@yandex.ru*

Purpose: identify changes in the composition of cytoplasmic and membrane proteins of syncytiotrophoblast during placental insufficiency (PI).

Materials and methods: we examined 64 women, the study group consisted of 34 patients with PI, a control group of 30 women with physiological pregnancy. Analysis of proteins was performed using a one-dimensional electrophoresis and gel-chromatography.