

Севостьянова О.Ю., Анисимов К.Ю.

Моделирование межсистемного взаимодействия при неосложненной беременности

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет», г. Екатеринбург

Sevostyanova O.Iu., Anisimov K.Iu.

Modeling of intersystem interaction in uncomplicated pregnancy

Резюме

Определены показатели системы гемостаза у 45 женщин в динамике неосложненной беременности. Представлены результаты корреляционного анализа между показателями системы гемостаза, иммунной системы, концентраций плацентарного лактогена по триместрам беременности. На основе корреляционного анализа установлено, что для межсистемных взаимодействий при неосложненной беременности справедлив «принцип перемежающейся активности структур». **Ключевые слова:** физиологическая беременность, гемостаз, иммунитет, взаимодействие

Summary

The parameters of the hemostatic system are determined among 45 women in the dynamics of uncomplicated pregnancy. The results of the correlation analysis between the parameters of the hemostasis system, the immune system, the concentrations of placental lactogen in the trimester of pregnancy are presented. On the basis of correlation analysis it is established that for intersystem interaction during uncomplicated pregnancy 'principle of intermittent activity of structures' is fair.

Key words: physiological pregnancy, hemostasis, immunity, interaction

Введение

Вынашивание плода сопровождается повышенной нагрузкой на материнский организм. Каждая их систем беременной характеризуется динамическими изменениями. У женщин наблюдается физиологическая гемодилуция, ассоциированная с нейтрофилией, гиперкоагуляция беременных, метаболическое равновесие [1, 2]. Со стороны иммунной системы происходят процессы, направленные на контроль поступления плодовых антигенов и адекватного развития плода, которые обеспечиваются усилением функций врожденного компартмента иммунитета, IL-2-зависимой девиацией приобретенного иммунитета, балансом позитивной и негативной активации лимфоцитов, сменой информационного лидера по триместрам беременности [1]. Изменение информативности показателей различных систем в динамике беременности отражают динамический характер равновесия, свойственный для понятия "гомеостаз" и "перемежающаяся активность структур". Концепция Саркисова Д.С. предусматривает универсальность принципа "перемежающейся активности структур" [3]. Согласно этому принципу структурные компоненты органов и систем при предъявлении к ним определенных требований неравномерно распределяют функциональную нагрузку между собой. В работу включается такое количество и качество структурных компонентов, которое адекватно отвечает

конкретным требованиям. В этом случае обычно активна только часть из них. Если функциональные запросы слишком велики, то в работе участвует наибольшее число или все структурные компоненты. Эти закономерности справедливы для межсистемного взаимодействия и могут быть изучены с использованием математического инструмента.

Цель – определить особенности взаимосвязей между показателями системы гемостаза, иммунной системы и плацентарного лактогена в динамике неосложненной беременности на основе корреляционного анализа.

Материалы и методы

Основную группу составили 45 пациенток в динамике неосложненной беременности. Критериями включения были неосложненное течение беременности, родов, рождение здоровых новорожденных и физиологическое течение периода ранней неонатальной адаптации детей в сочетании с физиологической «нормой» основных показателей гомеостаза. Для верификации неосложненного развития беременности проводили динамическое наблюдение за беременными женщинами по триместрам в соответствии с приказом Минздрава РФ от 01.11.2012 №572-н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением вспомогательных репродук-

тивных технологий)». Результаты, полученные в первом, втором и третьем триместрах, сравнивали с показателями женщин-доноров того же возраста.

Возрастная, социальная характеристика и паритет основной и контрольной групп были сопоставимы. Осложнения беременности и экстрагенитальный заболелания у женщин основной группы отсутствовали. У всех пациенток беременность завершилась срочными родами, рождением живых доношенных детей. Роды *per vias naturales* имели 91,11±4,30% пациенток. Средняя продолжительность родов составила 443,91±15,38 минут, безводный промежуток – 361,54±24,20 минут. Быстрый темп имели 13,60±5,73% родов. Средняя величина кровопотери – 230,68±21,90 мл. Частота абдоминального родоразрешения – 8,89±4,30%, планового – 4,44±3,41% в связи с тазовым предлежанием и крупными размерами плода. В родах кесарево сечение выполнено по поводу первичной слабости родовой деятельности (4,44±3,41%). Объем интраоперационной кровопотери не превысил 600 мл. Новорожденные с массой тела – 3523,49±57,38 г и ростом 52,24±0,27 см имели пропорциональный тип физического развития. Оценка по шкале Аргар на 1-ой минуте составила 7,93±0,03, на 5-й – 8,86±0,05 баллов. Дети и роженицы выписаны в удовлетворительном состоянии под наблюдение участковой службы.

Контрольную группу составили 30 женщин-доноров во второй фазе менструального цикла. Критерии включения для этих пациенток соответствовали приказу Минздрава РФ от 14.09.2001 №364 «Об утверждении порядка медицинского освидетельствования донора крови и ее компонентов» и были дополнены результатами общего и биохимического анализа крови, гемостазиограммы, обследования на урогенитальные инфекции.

CD-типирование клеток основных популяций и субпопуляций лимфоцитов периферической крови осуществляли при проточной цитофлуориметрии с двойной флуоресценцией на аппарате «FACSCalibur» фирмы «Becton Dickinson» (США) с использованием диагностических наборов «Simultest IMK Lymphocyte». Фенотипические панели объединяли 3 группы маркеров. При помощи 1-ой панели определяли CD3+, CD19+, CD16+/56+ - лимфоциты и Т-клетки: CD4+ и CD8+. Вторая была предназначена для типирования лимфоцитов, экспрессирующих активационные маркеры: CD25+, HLA-DR+, CD95+, CD45RO+, CD45RA+, CD19+CD23+. Третья – для верифицирования клеток с рецепторами к молекулам адгезии: CD11b+, CD11c+.

Определение концентрации интерлейкина-2, интерлейкина-4 и фактора некроза опухоли α проводили иммуноферментным методом с использованием тест-наборов ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). Исследование концентрации иммуноглобулинов, комплементарной активности по 50% гемолизу, содержание циркулирующих иммунных комплексов сыворотки осуществляли стандартными методами. Функциональное состояние нейтрофилов изучали в спонтанном НСТ-тесте и НСТ-тесте, стимулированном инертными частицами латекса.

Количество тромбоцитов периферической крови определяли унифицированным методом. Каолиновое время и активированное парциальное (частичное) тромбластиновое время исследовали коагулометрическим вариантом, тромбиновое время – унифицированным методом, содержание фибриногена – хронометрическим методом по Клаусу. Плазменные факторы определяли на коагулометре «Behnk Elektronik» (Германия). Фибринолитическую активность исследовали в условиях искусственной блокады эпсилонаминокапроновой кислотой по методу В.А.Суханова и по ХПА-зависимому зуглобиновому лизису – по З.С.Баркагану, А.П.Момоту. Коэффициент тромбозластографической активности рассчитывали по показателям тромбозластографии, гемокоагулограф ГКГМ4-02. Тесты паракоагуляции (этаноловый тест, РФМК) определяли унифицированным методом.

Плацентарный лактоген сыворотки исследовали иммуноферментным методом с использованием тест-наборов фирмы «DRG Biomedical» (Германия).

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием программного пакета прикладных программ «Statgraphics», версия 2.1. Полученные результаты были обработаны с вычислением средних величин (M), среднего квадратичного отклонения (δ) и ошибки средней (m). Статистически значимыми считали показатели и корреляционные связи при $p < 0,05$. Для сопоставления результатов при выборках с числом менее 10 применяли непараметрический критерий χ^2 .

Результаты и обсуждение

Одним из объективных критериев здоровья беременной является состояние системы гемостаза (таблица 1). Результаты гемостазиологического исследования при неосложненном развитии беременности показывали, что число тромбоцитов на единицу объема крови при беременности имело тенденцию к снижению, достигающую достоверности в первом и третьем триместрах. Такая динамика отчасти отражает процессы гемодилюции, характерные для беременности. Установлена «норма беременности», которая характеризовалась типичным увеличением коагуляционного потенциала в третьем триместре: ростом концентрации фибриногена, укорочением хронометрических параметров, отражающих мобилизацию внутреннего и наружного механизмов активации свертывания крови. Данный процесс был сопряжен с активностью фибринолитической системы, обеспечивающей сохранение оптимальной текучести крови и отсутствие микроциркуляторных нарушений ($r = -0,36$ при $p < 0,05$). Описанный тип гемостазиограммы при беременности рассматривается большинством исследователей как адаптационная реакция, «Физиологическая гиперкоагуляция» отражает готовность организма реагировать адекватным гемостазом на возможную кровопотерю в родах.

Состояние фетоплацентарной системы оценивали по результатам клинико-инструментального мониторинга. В третьем триместре высота дна матки равнялась 33,77±0,30 см

Таблица 1. Показатели системы гемостаза при неосложненной беременности, М±m

Показатели	Доноры n=30	Беременные в 1-ом триместре n=35	Беременные во 2-ом триместре n=45	Беременные в 3-ем триместре n=45	p1-2	p1-3	p2-3
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	245,00±5,01	227,75±3,50**	235,64±5,23	231,67±3,71*	>0,05	>0,05	>0,05
Коэффициент вариации тромбоцитов, 10 ¹⁵ /л	9,92±0,38	9,95±0,28	9,99±0,27	10,56±0,31	>0,05	>0,05	<0,05
Фибриноген, г/л	3,75±0,11	3,89±0,07 n=35	4,38±0,08***	4,83±0,10***	<0,001	<0,001	>0,05
Фибринолитическая активность, мин.	7,10±0,92	18,26±2,40*** n=15	15,34±1,80*** n=30	12,95±1,80*** n=20	>0,05	>0,05	>0,05
Фибринолитическая активность, %	4,50±0,08	5,15±0,37 n=20	5,01±0,30 n=30	5,38±0,35* n=35	>0,05	>0,05	>0,05
Тромбиновое время, сек	7,80±1,00	10,36±0,52** n=25	11,47±0,42** n=30	10,97±0,17** n=40	>0,05	>0,05	>0,05
Каолиновое время, сек	44,00±1,00	45,10±0,57 n=30	43,61±0,48 n=40	40,12±0,83** n=30	>0,05	<0,001	<0,001
АЧТВ, сек	39,10±1,08	38,27±0,74 n=30	36,38±0,69** n=40	33,74±0,80*** n=40	>0,05	<0,01	<0,05
Протромбиновый индекс, %	85,50±3,40	105,02±0,97*** n=30	103,87±0,88*** n=45	104,46±0,81*** n=45	>0,05	>0,05	>0,05
Этнологический тест:							
положительный (+)	0	0	0	0			
отрицательный (-)	30	30 n=30	40 n=40	45 n=45			

p2-3 - достоверность различий между 2-ым и 3-им триместром; *** - уровень достоверности различий в сравнении с контрольной группой при p<0,001; ** - при p<0,01; * - при p<0,05; n - число.

на сроке беременности 33,77±0,43 недели. Данные фетометрических характеристик: БПР, ДБ и ОЖ - соответствовали физиологической норме. Величина S/Da, была равна 2,23±0,03 и объединяла значения индекса, соответствующие гестационной норме во всех наблюдениях. Функцию плаценты исследовали по концентрации плацентарного лактогена сыворотки (ПЛ) в первом триместре - 1,85±0,36 пг/мл; во втором - 5,90±1,80 пг/мл; в третьем - 8,18±0,54 пг/мл. Показатели второго и третьего триместров имели достоверные различия по сравнению с первым (p<0,05; 0,001). Полученные результаты отражали адекватное развитие внутриутробного плода с учетом соответствия темпов роста и функции плаценты общепринятым нормальным значениям.

Определены корреляционные связи между показателями системы гемостаза и плацентарным лактогеном - основным соматотропным гормоном плодово-плацентарного комплекса. Во втором триместре уровень ПЛ коррелировал с численностью тромбоцитов (r=0,62 при p<0,02), в третьем - с уровнем фибринолитической активности (r=0,65 при p<0,05).

Следующим этапом явилось исследование корреляционных зависимостей показателей иммунитета периферической крови с параметрами системы гемостаза, концентрацией плацентарного лактогена (рисунок 1-3). При анализе учитывали общее число достоверных корреляционных связей и их качественные характеристики: структуру связей, появление новых или отрицательных связей, а также тенденции в изменении силы связей.

В первом триместре неосложненной беременности определена зависимость ПЛ с содержанием TNF-α, численностью натуральных киллеров периферической крови и цитотоксической фракцией клеток памяти, что подтверждает роль этих компонентов в контроле за функцией хориона и плаценты [4]. В третьем триместре нарастающий уровень ПЛ сопровождался снижением резервных возможностей нейтрофилов в индуцированном НСТ-тесте (r= -0,60 при p<0,01).

При сравнении корреляционной зависимости показателей системы гемостаза и иммунитета отмечено нарастание интенсивности межсистемных связей от первого

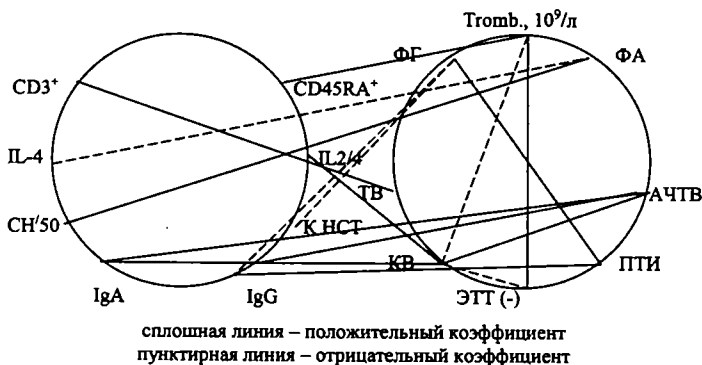


Рисунок 1. Результаты корреляционного анализа между показателями иммунитета и системы гемостаза в первом триместре неосложненной беременности

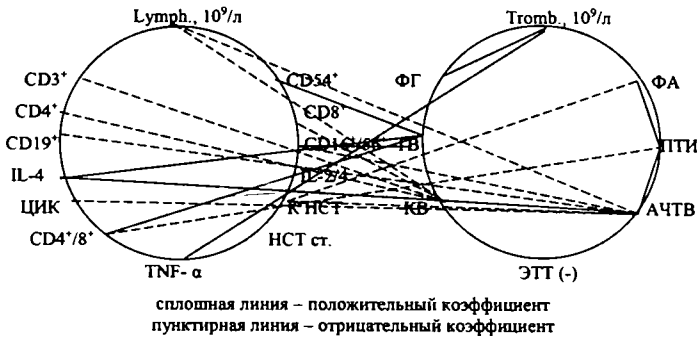


Рисунок 2. Результаты корреляционного анализа между показателями иммунитета и системы гемостаза во втором триместре неосложненной беременности

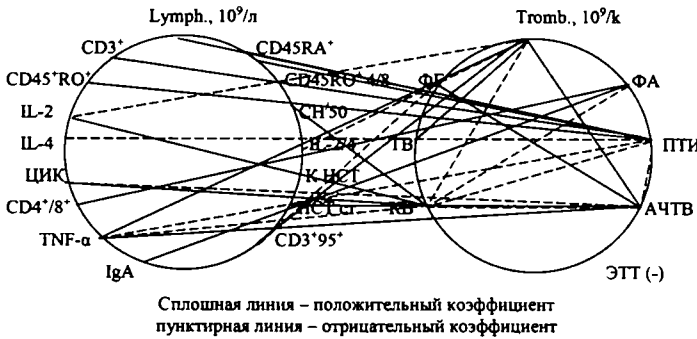


Рисунок 3. Результаты корреляционного анализа между показателями иммунитета и системы гемостаза в третьем триместре неосложненной беременности

триместра (n=11) к третьему (n=18). В первом триместре корреляционные пары формировали численность тромбоцитов, представители внешнего и внутреннего пути активации (рисунок 1), что отражает взаимосвязь тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза. Логически понятной является зависимость между фибринолитической и комплементарной активностью, так как они имеют один источник синтеза – печеночную клетку. Данная связь подчеркивает физиологический уровень метаболических процессов, происходящих в печени. Заслуживает внимания отрицательная зависимость между содержанием фибриногена и коэффициентом стимуляции фагоцитов, которая позволяет полагать об участии последних в метаболизме и утилизации продуктов деградации фибриногена. Отмечена зависимость между клетками «наивного» фенотипа и тромбоцитами. Полученные результаты подтверждают общность механизмов контроля ранних этапов лимфо- и тромбоцитогенеза.

Во втором триместре общее число корреляционных пар составило 15 и характеризовалось изменением качественного состава связей со стороны показателей клеточного иммунитета (рисунок 2). Это утверждение справедливо для Т-клеток и их субпопуляций, В-клеток и натуральных киллеров. TNF-α имел зависимость с числом тромбоцитов. Отличительной особенностью системы гемостаза явилось значительное увеличение числа связей и изменение направленности. Наибольшее внимание заслуживают пары, составляющие показатели

коагуляционного времени и АЧТВ, что отражает готовность системы гемостаза к формированию «физиологической гиперкоагуляции».

Третий триместр – кульминация межсистемных взаимодействий. Особенностью иммунологических показателей была замена численности субпопуляций Т-клеток на их функциональные характеристики (IL-2, IL-4), а также связь количества тромбоцитов с числом CD3+-клеток, экспрессирующих маркеры готовности к апоптозу (рисунок 3). Со стороны системы гемостаза наибольшей «активностью» характеризовался протромбиновый индекс, который имел положительные связи с численностью лимфоцитов, Т-лимфоцитов, клеток «наивного» фенотипа и хелперной фракцией клеток памяти. Характеристика иммуносупрессивного потенциала и макрофагов была ассоциирована с численностью тромбоцитов периферической крови.

Во всех триместрах беременности прослеживалось участие интерлейкина-4 в межсистемных взаимодействиях: в первом триместре - с фибринолитической активностью, во втором - с представителем внутреннего пути активации (АЧТВ), в третьем - внешнего (ПТИ).

Выводы

1. При неосложненной беременности установлены корреляционные зависимости между показателями системы иммунитета, гемостаза и содержанием плацентарного лактогена сыворотки крови.

2. Увеличение общего числа корреляционных связей между показателями различных систем: иммунитета, гемостаза и плацентарной, во втором и, особенно, в третьем триместре является иллюстрацией сопряженности этих систем в условиях роста метаболической и антигенной нагрузки. Их наибольшее число в третьем триместре является признаком максимальной и оптимальной напряженности гомеостаза женщины по сравнению с более ранними периодами беременности.

3. Полученные результаты исследования позволяют сделать вывод о справедливости принципа «перемежающей активности структур» для интерпретации межсистемных взаимодействий при неосложненной беременности.■

Севостьянова О.Ю., д.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», г. Екатеринбург; Анисимов К. Ю., кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку: Севостьянова О.Ю., д.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», Адрес: 620075, г. Екатеринбург, ул. Тургенева, д. 19, тел.: +79222117916, sou@e-zdrav.ru

Литература:

1. Севостьянова О.Ю. Механизмы формирования и пути оптимизации аллостаза при гестозе [диссертация]. М; 292с.
2. Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В., Зайцева О.О., Худяков А.Н., Соломина О.Н., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Попова В.С. Роль нейтрофилов при физиологическом течении беременности, родов и ряде акушерских осложнений. Вестник уральской академической науки 2015; 4: 75-86.
3. Саркисов Д.С. Очерки истории общей патологии.-М.: Медицина;1988.
4. Fuyiwara H., Araki Y., Itakowa K., Saito S. Dual Positive Regulation of Embryo Implantation by Endocrine and Immune Systems Step-by-Step Maternal Recognition of Developing Embryo// Am J Reprod Immunol. 2016; V75 (3): 281-9.