

Слободина А.В., Рудакова Е.Б., Долгих В.Т., Толкач В.П.

Изменение содержания регуляторных аутоантител в сыворотке крови у беременных женщин с различной степенью тяжести гестоза

Кафедра акушерства и гинекологии №2, ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Омск

Slobodina A.V., Rudakova E.B., Dolgih V.T., Tolkach V.P.

The changes of the regulatory autoantibodies in pregnant women with different severity of gestosis

Резюме

В исследовании проведена оценка изменений содержания 12 регуляторных аутоантител из панели ЭЛИ-Р-комплекс-12-теста у 52 здоровых беременных пациенток и 57, 46 и 46 женщин с гестозом легкой, средней и тяжелой степени, соответственно. Проведенный анализ позволил оценить значимость каждого из видов аутоантител для диагностики состояния гестоза и определения степени его тяжести. Полученные результаты позволяют сделать вывод о важной прогностической значимости комплексной оценки показателей ЭЛИ-Р-комплекс-12-теста в повседневной клинической практике.

Ключевые слова: аутоантитела, беременность, гестоз, степень тяжести, прогнозирование

Summary

In this investigation we performed the analysis of the changes of the regulatory auto-antibodies from the panel of ELI-P-complex-12-test in 52 healthy pregnant women and in 57, 46 and 46 pregnant women with gestosis of the mild, intermediaty and severe degree, respectively. The analysis showed the specific value of each antibody type for the diagnosis and severity estimation of the gestosis. According to the results of the investigation it could be stated that complex evaluation of the pregnant woman using ELI-P-complex-12-test could be very important for routine practice.

Key words: autoantibodies, pregnancy, gestosis, severity, prognosis

Введение

Гестоз в настоящее время является одной из самых сложных проблем акушерства [1, 2, 3] и рассматривается как иммунокомплексная патология, морфологическим субстратом которой является острый эндотелиоз, формирующийся первично в бассейне маточно-плацентарного кровотока, а в дальнейшем распространяющийся на всю сосудистую систему [4]. Функциональное состояние иммунной системы играет определяющую роль как при физиологическом течении беременности, так и при различных ее осложнениях [5], поэтому поиск иммунологических маркеров гестоза с клинических позиций является весьма перспективным.

В этой связи особое внимание привлекают аутоантитела, которые в отличие от цитокинов, являются стабильными молекулами, содержащимися в крови в относительно высоких концентрациях. Уровень некоторых материнских эмбриотропных антител является важным, а возможно, и главным фактором, который определяет нормальное или осложненное течение беременности. Ключевую роль в нормальном развитии эмбриона играет спо-

собность организма матери продуцировать и транспортировать к плоду строго определенное количество регуляторных аутоантител. У 95-97% женщин с неблагоприятным исходом беременности содержание регуляторных аутоантител выходит либо за верхнюю, либо за нижнюю границу физиологической нормы [6].

Целью исследования являлось выявить и оценить взаимосвязь между изменением концентрации регуляторных аутоантител и особенностями иммунологической реактивности у практически здоровых беременных и беременных с легкой, средней и тяжелой степенью гестоза.

Материалы и методы

В исследование была включена 201 беременная пациентка, из них контрольную группу составили 52 здоровых женщины, а в группах женщин с гестозом выделены беременные с гестозом легкой (n=57), средней (n=46) и тяжелой (n=46) степени тяжести.

С помощью твердофазного иммуноферментного анализа в III триместре беременности у включенных

в исследование пациенток определялось содержание аутоантител класса IgG из набора коммерчески доступной панели ЭЛИ-П-Комплекс-12-теста в сыворотке крови, взаимодействующих с хорионическим гонадотропином (ХГЧ), двуспиральной ДНК, β 2-гликопротеином (β 2-ГП), Fc-фрагментом иммуноглобулинов (ревматоидный фактор) (Fc), коллагеном (Кл), антигеном сперматозоидов SPR-06, белками S100, антигеном тромбоцитов TrM-03, антигеном эндотелия сосудов ANCA, инсулином (Инс), тиреоглобулином (ТГ) и антигеном почек KiM-05. Значения аутоантител от -20 до +10 считались нормальными; от -30 до -20 и от +10 до +20 характеризовали слабые отклонения от нормы, значения ниже -30 и выше +20 – выраженные отклонения от нормы [6].

В нашей работе мы провели анализ изменений каждого из показателей панели ЭЛИ-П-Комплекс-12-Тест применительно к факту развитию гестоза во время беременности, а также к тяжести этого осложнения.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. Оценка соответствия эмпирического закона распределения количественных переменных теоретическому закону нормального распределения выполнена с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для описания количественных переменных, эмпирический закон распределения которых не противоречил теоретическому закону нормального распределения, использованы среднее арифметическое значение и стандартное отклонение - ; для описания прочих количественных переменных средняя тенденция оценена медианой, а особенности закона распределения уточнялись границами интерквартильного размаха - Me [Q25%; Q75%]. Оценка значимости различий средних значений количественных показателей в независимых выборках выполнена по t-тесту Стьюдента; для сравнения переменных, распределение которых статистически значимо отличалось от закона нормального распределения, использовался U-критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U Test).

Корреляционный анализ проводили с помощью критерия Спирмена (R) и коэффициента Гамма (Gamma, G), непараметрического метода, позволяющего оценивать взаимосвязь двух качественных или качественных и количественных признаков, когда в данных имеется много повторяющихся значений. Использовалась следующая классификация силы корреляции в зависимости от значения коэффициента корреляции: $G(R) \leq 0,25$ – слабая корреляция, $0,25 < G(R) < 0,75$ – умеренная (средняя) корреляция, $G(R) \geq 0,75$ – сильная корреляция. Факторный анализ для оценки значимости факторов, показавших среднюю и сильную выраженность корреляционной связи, проводили с помощью критерия каменистой осыпи и критерия Кайзера.

Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft®, Inc., USA).

Результаты и обсуждение

У женщин с физиологически протекавшей беремен-

ностью, с гестозом легкой, средней и тяжелой степени содержание всех регуляторных аутоантител было в пределах нормальных значений соответственно в 93%, 5%, 2% и 2% случаев.

У беременных с гестозом лёгкой степени наиболее часто встречались патологические уровни 4 аутоантител: к ДНК, β 2-ГП, Кл и KiM-05. У беременных с гестозом средней степени тяжести наиболее часто встречались патологические уровни 8 аутоантител к ДНК, β 2-ГП, Кл, Fc, TrM-03, S100, ANCA и KiM-05; с гестозом тяжелой степени тяжести – 10 аутоантител к ДНК, β 2-ГП, Кл, Fc, TrM-03, ANCA, Инс, ТГ, S100 и KiM-05.

Среди 71 пациентки с дисбалансом аутоантител (разнонаправленные по вектору отклонения в содержании аутоантител) гестоз легкой степени отмечен в 20% случаев, средней степени тяжести - в 59%, тяжелой степени - в 72% случаев. Таким образом, достоверно чаще дисбаланс аутоантител встречается при средней и тяжелой степенях гестоза ($p < 0,05$), что может являться следствием эндокринно-метаболических нарушений любой этиологии и характера и одним из важных прогностических критериев при оценке результатов определения аутоантител.

Уровень аутоантител к ХГЧ при физиологически протекающей беременности был в пределах нормы. При беременности, осложненной гестозом различной степени тяжести, у части пациенток отмечались слабые отклонения от нормы: чаще повышенные значения. На наш взгляд, данный показатель демонстрирует низкие показатели чувствительности в отношении определения тяжести гестоза. На наш взгляд, это связано с тем, что появление аутоантител в ХГЧ чаще всего связано с ограниченными спектром патологических состояний (гормональные нарушения, инфекции, чаще вирусной этиологии).

Уровень аутоантител к ДНК (рис. 1, А) являлся чувствительным показателем тяжести гестоза (значительное число пациенток с гестозом средней ($p < 0,001$) и тяжелой ($p < 0,001$) степени демонстрировали выраженные отклонения), чаще встречались повышенные значения содержания этих антител. При этом была обнаружена умеренная и сильная корреляционная связь патологического содержания аутоантител к ДНК с развитием преэклампсии ($G=0,85$; $p=0,001$), преждевременной отслойкой нормальной расположенной плаценты (ПОНРП) ($G=0,39$; $p=0,28$), нарушением плодово-плацентарного кровотока (ППК) ($G=0,38$; $p=0,01$), патологией почек ($G=0,28$, $p=0,002$), увеличением уровня магния в крови ($r=0,50$; $p=0,002$). Повышенное содержание аутоантител к ДНК, по-видимому, могут говорить о происходящих в организме как матери, так и плода, системных нарушениях, связанных с гибелью и разрушением клеток, которое может усугублять проявления гестоза у матери и нарушать развитие различных систем органов у плода [2, 3]. На наш взгляд, значительные отклонения в содержании этих аутоантител являются очень тревожным знаком, требующим срочного принятия радикальных терапевтических решений.

Аналогичным образом статистически значимые

($p < 0,01$) выраженные отклонения уровня аутоантител к $\beta 2$ -ГП (рис.1, Б) были свойственны для женщин с гестозом средней и тяжелой степени. Приблизительно в 2/3 всех случаев отклонения были обусловлены повышением уровня этих аутоантител. При этом присутствовала сильная и умеренная корреляционная связь отклонений в уровне антител к $\beta 2$ -ГП с угрозой прерывания беременности ($r=0,29$; $p=0,015$), наличием патологии почек ($G=0,27$; $p=0,003$), развитием преэклампсии ($G=0,85$; $p=0,001$), ожирением 2-3-й степени ($G=0,15$; $p=0,037$), увеличением уровня РФМК ($r=0,26$; $p=0,02$), увеличением уровня магния ($r=0,45$; $p=0,001$). Повышение уровня аутоантител к $\beta 2$ -ГП может являться признаком антифолипидного синдрома, сопровождающегося тромбозом сосудов плаценты, развитием фетоплацентарной недостаточности и эмбриотоксичностью. Почти всегда при этом присутствуют серьезные отклонения параметров коагулограммы (чаще в сторону гиперкоагуляции). Наиболее частой причиной этого состояния является инфекция [6]. По нашим данным, наряду с повышением уровня аутоантител к ДНК этот показатель также требует особого внимания, поскольку является предиктором развития серьезных осложнений в кратчайшие сроки.

Уровень аутоантител к Кл (рис. 1, В) являлся высокоспецифичным для выявления гестоза, однако чувствительность его в плане дифференциации степени тяжести гестоза была крайне мала ($p > 0,05$). Чаще отмечались пониженные уровни этого показателя. Достоверно чаще патологическое содержание регуляторных аутоантител к Кл отмечалось при угрозе прерывания беременности ($r=0,26$; $p=0,028$) и ПОНРП ($G = 0,53$; $p=0,003$).

Уровень аутоантител к Fc (рис. 1, Г) являлся одновременно и гестозо-специфичным и высоко-чувствительным показателем ($p < 0,001$ между группами пациентов с гестозом разных степеней тяжести), позволяющим дифференцировано подходить к определению степени тяжести гестоза. Достоверно чаще патологическое содержание регуляторных аутоантител к Fc выявлялось при наличии артериальной гипертензии ($G=0,29$; $p=0,001$) и отклонений в уровне международного нормализованного отношения ($r=0,46$; $p=0,003$).

Уровни аутоантител к Кл и Fc в нашем исследовании не показывали значительных отклонений на фоне гестоза. На наш взгляд, эти показатели характеризуют состояние, осложняющие течение гестоза и перинатального периода в связи с присутствием хронического воспалительного процесса любой локализации (Fc) или наличием патологических изменений соединительной ткани (Кл), следствием чего могут явиться такие состояния, как слабость родовой деятельности или патология соединительной ткани у плода (дисплазия) [7].

Изменения уровня аутоантител к Инс (рис. 2, А) также характеризовались трендом к более выраженным отклонениям при гестозе средней и тяжелой степени, чаще всего за счет повышения содержания данных антител. Патологическое содержание регуляторных аутоантител к Инс коррелировало с развитием преэклампсии ($G=0,69$; $p=0,001$), с наличием ожирения 3-й степени ($G=0,25$; $p=0,039$), сахарного диабета ($G=0,62$; $p=0,03$) и артериальной гипертензии ($G=0,30$; $p=0,001$). По некоторым данным [3,6], повышение уровня аутоантител к инсулину могут отражать серьезные изменения в паренхиме под-

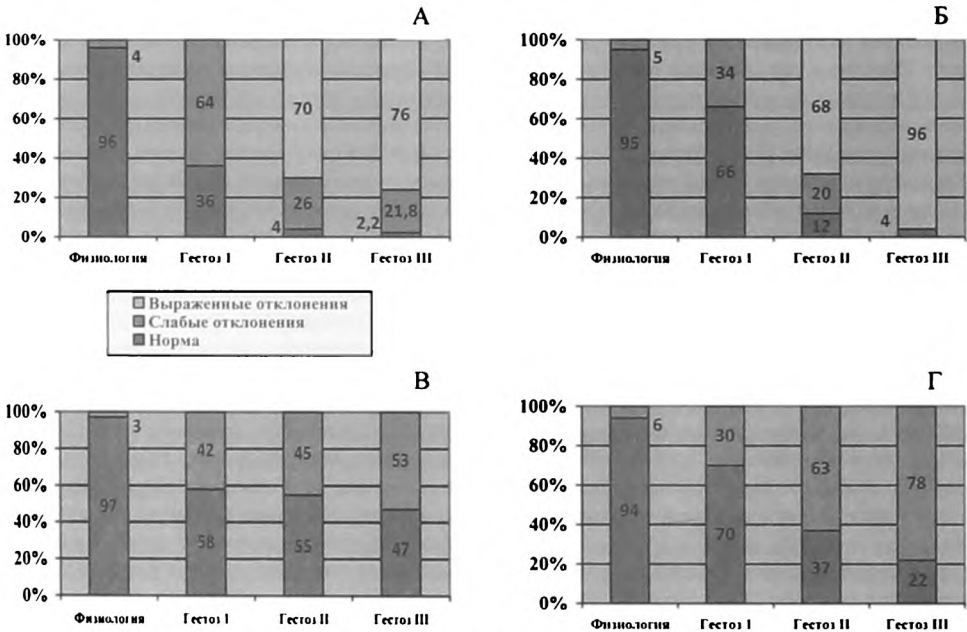


Рис.1. Уровень аутоантител к ДНК (А), $\beta 2$ -ГП (Б), Кл (В) и Fc (Г).

Примечание: Гестоз I – гестоз легкой степени тяжести, гестоз II – гестоз средней степени, гестоз III – гестоз тяжелой степени

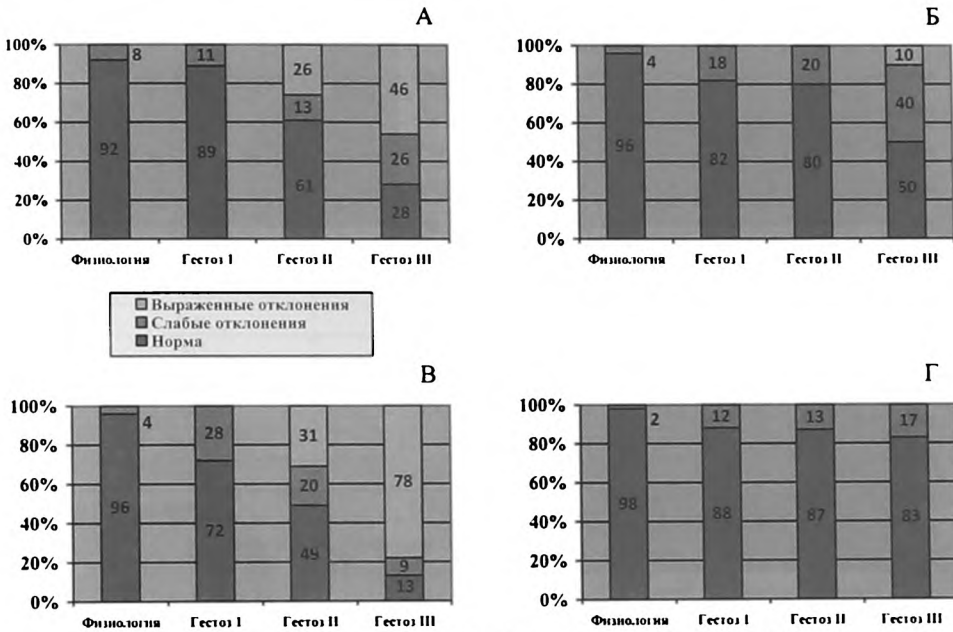


Рис.2. Уровень аутоантител к Инс (А), ТГ (Б), S100 (В) и SPR-06 (Г).

Примечание: Гестоз I – гестоз легкой степени тяжести, гестоз II – гестоз средней степени, гестоз III – гестоз тяжелой степени

желудочной железы с поражением островкового аппарата, что, по-видимому, вносит существенный вклад в развитие таких серьезных осложнений, как преэклампсия, с учетом корреляционного анализа, проведенного в нашем исследовании.

Статистически значимые различия ($p \leq 0,001$) в содержании аутоантител к ТГ (рис. 2, Б) появлялись по мере нарастания степени тяжести гестоза, демонстрируя корреляцию с развитием состояния преэклампсии ($G=0,38$; $p=0,001$), ПОНРП ($G=0,39$; $p=0,03$) и наличием сахарного диабета ($G=0,76$; $p=0,008$). Как правило, это свидетельствовало об утяжелении состояния женщины, поскольку являлось проявлением выраженного системного эндотелиоза, в результате которого нарушался внутренний барьер щитовидной железы.

Уровень аутоантител к S100 (рис. 2, В) являлся высокоспецифичным и высокочувствительным индикатором ($p \leq 0,001$) развития гестоза, отклонения его становятся более выраженными по мере увеличения тяжести этого осложнения беременности. Если при гестозе легкой степени чаще всего отклонения возникали за счет снижения уровня антител, то при гестозе средней и тяжелой степени это происходило за счет повышения данного показателя. Достоверно чаще патологическое содержание регуляторных аутоантител к S100 наблюдалось при развитии преэклампсии ($G=0,92$; $p=0,001$), при раннем начале гестоза ($G=0,25$; $p=0,006$), угрозе прерывания ($r=0,25$; $p=0,04$), нарушении ППК ($G=0,26$; $p=0,029$), повышении уровня амилазы ($r=0,27$; $p=0,03$) и магния ($r=0,27$; $p=0,02$). Семейство белков S100 является пулом важных регуляторных белков, которые отвечают за процес-

сы апоптоза, регуляцию созревания нервной и иммунной системы плода, участвуют в воспалительном каскаде, могут выступать в качестве противомикробных субстанций и обладают большим набором других функций [3,4]. Значительное повышение содержания антител к данному семейству белков в нашем исследовании являлось точным предиктором серьезных нарушений гомеостаза в организме матери и системного патологического процесса, коррелируя с тяжелыми осложнениями беременности.

Содержание аутоантител к SPR-06 (рис. 2, Г) демонстрировало статистически значимые различия ($p \leq 0,001$) с контрольной группой на фоне гестоза (без выраженных отличий между группами пациенток с разной степенью данного осложнения). Достоверно чаще патологическое содержание регуляторных аутоантител к SPR-06 наблюдалось при гибели плода ($G=0,85$; $p=0,002$). Вероятнее всего, антитела, вырабатываемые в организме матери к сперматозоидам и компонентам семенной жидкости, в последующем могут перекрестно взаимодействовать с клетками плода, вызывая в них необратимые изменения, однако, это предположение требует подтверждения в дальнейших исследованиях.

Отклонения в содержание аутоантител к ТгМ-03 (рис. 3, А) также являлось чувствительным и специфичным маркером гестоза и его тяжести ($p < 0,001$), поскольку отражало присутствие состояния тромбоцитопатии, играющей важную роль в развитии данного осложнения беременности. Выраженные отклонения в содержании этих антител (преимущественно за счет снижения их содержания) присутствовали у пациенток с гестозом средней и, в особенности, тяжелой степени. Достовер-

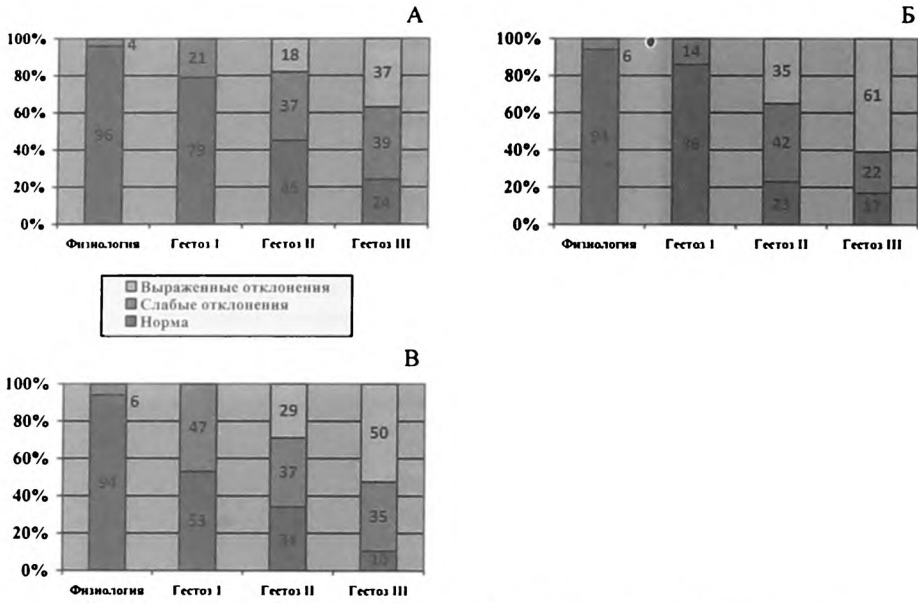


Рис.3. Уровень аутоантител к TrM-03 (А), ANCA (Б), KiM-05 (В). Примечание: Гестоз I – гестоз легкой степени тяжести, гестоз II – гестоз средней степени, гестоз III – гестоз тяжелой степени

но чаще патологическое содержание регуляторных аутоантител к TrM-03 наблюдалось при развитии преэклампсии ($G=0,47; p=0,004$), в начале гестоза ($G=0,27; p=0,001$), при нарушении ППК ($G=0,47; p=0,001$), патологии почек ($G=0,27; p=0,003$), гибели плода ($G=0,87; p=0,002$), при наличии артериальной гипертензии ($G=0,27; p=0,003$).

Содержание аутоантител к ANCA (рис. 3, Б) также имело четкую, статистически достоверную ($p < 0,001$) тенденцию к изменению (чаще всего в негативном векторе) на фоне гестоза и по мере увеличения его тяжести. Достоверно чаще патологическое содержание регуляторных аутоантител к ANCA наблюдалось при развитии преэклампсии ($G=0,32; p=0,015$), ПОНРП ($G=0,41; p=0,02$), раннем начале гестоза ($G=0,46; p=0,001$), гибели плода ($G=0,90; p=0,001$), послеродовом кровотечении ($G=0,48; p=0,002$) и патологии сердечно-сосудистой системы ($G=0,29; p=0,001$). Отклонения в содержании аутоантител к ANCA отражают присутствие системного воспалительного процесса эндотелия сосудов (системного васкулита), который является ключевым патологическим звеном гестоза и, соответственно, является предиктором развития тяжелых осложнений беременности.

Аналогичным образом (рис. 3, В) отклонения в содержании аутоантител к KiM-05 (преимущественно снижение их содержания) характеризовали состояние гестоза и степень его тяжести ($p < 0,001$), демонстрируя корреляцию с наличием состояния преэклампсии ($G=0,79; p=0,001$), ПОНРП ($G=0,40; p=0,02$), патологии почек ($G=0,25; p=0,005$), плацентарной недостаточности ($G=0,36; p=0,001$), гибелью плода ($G=0,86; p=0,001$), снижением уровня амилазы ($r=-0,25; p=0,047$) и магния

($r=-0,36; p=0,003$), увеличением уровня МНО ($r=0,32; p=0,047$), снижением содержания общего фибриногена ($r=-0,25; p=0,01$), увеличением АЧТВ ($r=0,28; p=0,022$) и выраженности XII-а зависимого фибринолиза ($r=0,77; p=0,04$). Как видно из корреляционного анализа, значительные изменения в содержании аутоантител к KiM-05 может быть следствием серьезных нарушений в паренхиме почек (воспалительный процесс, васкулиты, тромбоз сосудов, деструкция нефронов, снижение экскреторной функции почек).

По результатам проведенного нами анализа из 12 показателей в панели ЭЛИ-П-теста наиболее значимыми предикторами развития преэклампсии и эклампсии являлись аутоантитела к ДНК, β2-ГП, Инс, ТГ, S100, TrM-03, ANCA и KiM-05 (табл.1), которые в комплексе позволяют диагностировать эти опасные осложнения беременности у большинства пациенток.

Факторный анализ позволил выделить компоненты ЭЛИ-П-теста, играющие наибольшую роль в развитии гестоза и определяющие его степень. В первую группу факторов вошли уровень ДНК, β2-ГП, S100 и KiM-05. Их вклад составляет 35,7%. Меньшую роль играют TrM-03 и ANCA (15,1%).

Выводы

Как показывают результаты нашего исследования, у женщин при нормальном течении беременности в 96% случаев содержание регуляторных аутоантител находится в нормальных пределах нормы, тогда как при наличии гестоза большинство показателей панели ЭЛИ-П-теста демонстрируют статистически значимые отклонения, которые позволяют при комплексной оценке подтвердить

Таблица 1. Сравнение показателей ЭЛИ-П-теста у здоровых беременных и беременных с преэклампсией и эклампсией

Показатель	Здоровые беременные ¹	Беременные с преэклампсией и эклампсией ¹	Уровень значимости различия, р ²
ХГЧ	4 (-4; 7)	4,5 (4; 7)	0,67
ДНК	-9 (-22; 11)	28 (23; 31)	0,001
β ₂ -ГП	-4 (-16; 10)	24 (19; 28)	0,001
Кл	-9 (-15; 2)	-13 (-23; 2)	0,33
Fc	-7 (-19; 1)	-22,5 (-28; 6)	0,18
Инс	4 (-7; 8)	19,5 (13; 26)	0,001
ТГ	0 (-9; 6)	16 (-33; 32)	0,018
S100	-5 (-12; 7)	28 (26; 36)	0,001
SPR-06	-3 (-9; 6)	-7,5 (-12; 6)	0,22
TgM-03	-10 (-17; -3)	-25,5 (-33; -12)	0,004
ANCA	-14 (-19; -5)	-23,5 (-31; -12)	0,048
KiM-05	-9 (-22; 4)	-33 (-37; -29)	0,001

Примечание. 1 – описание с использованием Me (Q25%; Q75%);
2 использован U-тест Манна-Уитни

наличие этого осложнения, определить степень его тяжести и, что является наиболее важным, прогнозировать дальнейшее течение беременности в аспекте возможной прогрессии гестоза. Изменения в содержании определенных антител могут отражать состояние отдельных органов и систем, предопределяя лечебную тактику.

Разумеется, каждый показатель в отдельности не обладает стопроцентной специфичностью и чувствительностью, вероятность ложноотрицательного результата даже для наиболее специфичных показателей может достигать 28%, однако интегральная оценка всех 12 показателей в большинстве случаев позволяет точно диагностировать гестоз и оценить степень его тяжести, и предо-

ставляет необходимую информацию для принятия важных клинических решений.■

Слободина А.В., профессор Рудакова Е.Б., профессор Долгих В.Т., Толкач В.П., кафедра акушерства и гинекологии №2, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Россия, г. Омск; Автор, ответственный за переписку - Слободина Анна Владимировна, 644010, г. Омск, ул. Масленникова 72-34, телефон: 8-913-976-14-09. E-mail: anna-slobodina@rambler.ru

Литература:

- Кулаков В.И., Прилепская В.Н., Радзинский В.Е., редакторы. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007.
- Сидорова И.С., Юдина Е.В., Боровкова Е.И., Мартынова И.В., Солоницын А.Н. Значение нарушений микроциркуляции в патогенезе гестоза. *Вопр. гин., акуш. и перинатол.* 2006; 5(4): 97-100.
- Sibai B., Dekker G., Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005; 365 (9461): 785-99.
- Goswami D., Tannetta D. S., Vagee L. A. et al. Excess syncytiotrophoblast microparticle shedding is a feature of early-onset preeclampsia, but not normotensive intrauterine growth restriction. *Placenta* 2006; 27(1): 56-61.
- Шмагель К.В. Черешнев В.А. Роль иммунной системы в адаптации женского организма к беременности. *Russ. J. Immunol.* 2005; 9 (Suppl 2): 136-48.
- Полетаев А.Б. Иммунофизиология и иммунопатология (избранные главы). М.: ООО «Медицинское информационное агенство»; 2008.
- Полетаев А.Б. Инновационные подходы к раннему выявлению патологических изменений в организме человека. М.: Мед. исслед. центр «Иммункулус»; 2008.