

УДК [618.3-06:618.33]:612.017.1:616-005.1-08-074(045)

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМОВ ИММУНИТЕТА И СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Рогожина И.Е.

*ГОУ ВПО «Саратовский медицинский университет им. В.И. Разумовского», Саратов,
e-mail: kafed-ra@yandex.ru*

Проведен анализ результатов исследования гемограммы: Hb, Ht, вязкости крови; гемостаза: фибриноген, АПТВ, ПИ, кол-во и агрегация тромбоцитов, РКМФ, фибринолиз и Д-димеры; цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, γ-ИНФ, ФНО-α, Fas-L у больных с неразвивающейся беременностью в сочетании с геморрагическим синдромом и без него (основная группа $n = 32$, группа сравнения $n = 29$, контрольная группа $n = 35$). Проведенный анализ исследования параметров гемостазиограммы позволил констатировать развитие ДВС-синдрома у всех женщин с НБ, также констатировано достоверное увеличение сыровоточной концентрации провоспалительных цитокинов и угнетение апоптоза.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, кровотечение, гемостаз, цитокины

SPECIALITIES OF FUNCTIONAL IMMUNITET MECHANISMS AND HEMOSTASIS ON MISCARRIAGE PREGNANCY

Rogozhina I.E.

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: kafed-ra@yandex.ru

The analysis of the results of the research of hemogram: hemoglobin, hematokrit, the viscosity of blood; hemostasis: fibrinogen, APTT, PI, the number and aggregation of platelets, SCFM, fibrinolysis and D-dimers, cytokines IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, γ-interferon and TNF-α, Fas-L in patients with miscarriage pregnancy in combination with hemorrhagic syndrome and without him (the main group of $n = 32$, the comparison group $n = 29$, the control group $n = 35$) was made. The analysis of researches of parameters of hemostaziogram allowed ascertaining the development of the DIC-sindroma in all women with miscarriage pregnancy, also was stated reliable increase serum concentrations of proinflammatory cytokines and inhibition of apoptosis.

Keywords: miscarriage pregnancy, hemorrhage, hemostasis, cytokines

Чрезвычайно актуальна в современном акушерстве, как в клиническом так и в социальном аспектах, проблема неразвивающейся беременности (НБ), так как частота данной патологии в структуре репродуктивных потерь встречается в 10–20%. Задержка погибшего плода в матке отрицательно сказывается на последующей репродуктивной функции женщины, угрожает не только ее здоровью, но и ее жизни за счет нарушений в системе гемостаза, которые проявляются коагулопатией потребления и геморрагическими осложнениями [5–8]. В то же время, ряд исследователей обращают внимание на тот факт, что опасность кровопотери нарастает по мере увеличения длительности внутриутробной задержки плодного яйца [9]. Согласно исследованиям, предполагаемым механизмом возникновения синдрома ДВС при НБ является поступление в кровоток матери в результате несостоятельности маточно-плацентарного барьера тромбопластических субстанций плодного яйца. В результате происходит сдвиг свертывающих свойств крови беременной в сторону гиперкоагуляции (хроническая форма синдрома ДВС), а в случае большого и продолжительного поступления гемокоагуляционных субстанций могут развиваться подострая и острая формы ДВС-синдрома [5–9].

В процессе внутрисосудистого свертывания образуются продукты, обладающие антикоагулянтной и антиагрегантной активностью – растворимые комплексы мономеров фибрина (РКМФ) и продукты деградации фибрина и фибриногена (ПДФФ). Высокое их содержание способно полностью блокировать коагуляцию [6,7]. Кроме того, по данным В.Н. Серова и А.Д. Макацария [6], помимо прямого влияния на свертывание крови, циркуляция повышенной концентраций РКМФ и ПДФФ приводит к ингибированию сократительной деятельности гладкой мускулатуры, что может быть причиной гипотонии матки, рефрактерной к воздействию эндо- и экзогенных окситотических веществ.

Остановившись на иммунологических характеристиках беременных с несостоявшимся выкидышем, следует отметить, что по результатам исследований различных авторов в данной группе не обнаруживалось первичных иммунодефицитов [2, 4, 8]. Таким образом, можно предположить, что нарушения иммунного статуса при замершей беременности могут быть обусловлены вторичным иммунодефицитом, спровоцированным различными неблагоприятными факторами, среди которых к наиболее значимым относят бактериальные инфекции,

стресс, неспецифические хронические заболевания, длительный прием лекарственных средств и др. [1, 3, 10].

Цель исследования: изучить состояние систем гемостаза и иммунитета у больных с неразвивающейся беременностью, имеющих клинику кровотечения и без него.

Материалы и методы исследования

Материалами настоящего исследования послужили клинические, лабораторные данные обследования у 96 больных с неразвивающейся беременностью. Все обследуемые пациентки были разделены на три группы. Основную группу составили 32 пациентки с диагнозом: Неразвивающаяся беременность, с выраженным геморрагическим синдромом, которым с целью гемостаза была выполнена селективная эмболизация маточных артерий. Группа сравнения ($n = 29$) состояла из больных с таким же диагнозом, клиникой маточного кровотечения, которым выполнена экстирпация матки и перевязка внутренних подвздошных артерий. Кроме того, в обследование были включены женщины, вошедшие в группу контроля, которая состояла из 35 женщин с аналогичным диагнозом, но без клиники маточного кровотечения.

Исследование системы гемостаза проводили пробирочным методом, а также с помощью планшетных наборов для экспресс-диагностики. Анализ тромбоцитарного звена системы гемостаза проводился при помощи 2-х канального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов «Biola»-LA 230.

Состояние иммунной системы оценивалось по уровню цитокинов в сыворотке крови больных. Исследование проводили методом твердофазного иммуноанализа. Для определения ИЛ-1 β , ИЛ-4, γ -ИНФ, ИЛ-6, ФНО- α использовали наборы реактивов Вектор-БЕСТ г.Новосибирск. Для определения ИЛ-2 использовали набор реактивов фирмы Biosource, USA. Для определения Fas-L использовали набор реактивов фирмы Medsystems, Австрия.

Результаты исследования и их обсуждение

При поступлении уровень гемоглобина (Hb) (табл. 1) в основной и группе сравнения был достоверно ниже в сравнении с контрольным показателем ($109,7 \pm 1,42$ г/л); содержание Hb в основной ($96,2 \pm 1,34$ г/л), группе сравнения ($89,6 \pm 1,23$ г/л) ($P_o-k < 0,05$; $P_c-k < 0,05$).

Таблица 1

Показатели гемоглобина, гематокрита и вязкости крови у больных с НБ

Группы больных Показатель	Основная группа ($n = 32$)	Группа сравнения ($n = 29$)	Контрольная группа ($n = 35$)	P
Гемоглобин, г/л	$96,2 \pm ,34$	$89,6 \pm ,23$	$109,7 \pm 1,42$	$P_o-k < 0,05$ $P_c-k < 0,05$ $P_o-c > 0,05$
Гематокрит, %	$31,31 \pm 1,83$	$30,03 \pm 1,31$	$35,5 \pm 1,14$	$P_o-k < 0,05$ $P_c-k < 0,05$ $P_o-c > 0,05$
Вязкость, МПа	$2,83 \pm 0,03$	$2,91 \pm 0,05$	$2,73 \pm 0,06$	$P_o-k > 0,05$ $P_c-k > 0,05$ $P_o-c > 0,05$

Определение гематокрита (Ht) также показало его снижение у всех пациенток с НБ: до $31,31 \pm 1,83\%$ – в основной группе; $30,0 \pm 1,31\%$ – в группе сравнения и до $35,5 \pm 1,14$ в контрольной группе ($P_o-k < 0,05$; $P_c-k < 0,05$). Изучение вязкости крови в группах обследуемых женщин не показало каких-либо достоверно значимых различий в показателях ($P > 0,05$).

Проведенный анализ исследования параметров гемостазиограммы позволил констатировать развитие ДВС-синдрома у всех женщин с НБ: у 85 (88,5%) – в хронической форме, а у 11 (11,5%) – в подострой форме. При анализе показателей прокоагулянтного звена системы гемостаза (табл. 2) у больных с НБ было обнаружено незначительное колебание концентрации фибриногена от 2,2 до 4,1 г/л, средняя величина этого показателя не отличалась от нормы

($P_k > 0,5$). Исключение составили 8 женщин с давностью внутриутробной гибели эмбриона более 3 недель (3 пациентки основной группы и 5 пациенток группы сравнения), у которых концентрация фибриногена была умеренно снижена и составляла 1,3 г/л. По общим коагуляционным тестам, характеризующим суммарную активность факторов внутреннего прокоагулянтного звена системы гемостаза, таких как активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), существенных различий средней величины этих показателей, в сравниваемых группах, не наблюдалось – $P_o-k < 0,05$, $P_c-k < 0,05$ и $P_o-k > 0,05$ соответственно. Отмечено укорочение показателей АПТВ во всех сравниваемых группах, что указывает на явления гиперкоагуляции и может рассматриваться как фактор риска тромбозов.

Таблица 2

Основные показатели гемостазиограммы у больных с НБ

Группы больных Показатель	Основная группа (n = 32)	Группа сравнения (n = 29)	Контрольная группа (n = 35)	P
Концентрация фибриногена, г/л	2,72 ± 0,25	2,69 ± 0,15	2,91 ± 0,26	Р _{о-к} > 0,05 Р _{с-к} > 0,05 Р _{о-с} > 0,05
Активированное парциальное тромбопластиновое время, с	30,1 ± 0,45	29,46 ± 0,16	33,6 ± 0,46	Р _{о-к} < 0,05 Р _{с-к} < 0,05 Р _{о-с} > 0,05
Протромбиновый индекс, %	103,4 ± 1,20	101,5 ± 1,64	98,8 ± 1,37	Р _{о-к} < 0,05 Р _{с-к} < 0,05 Р _{о-с} > 0,05
Количество тромбоцитов (·10 ⁹ /л)	210,7 ± 3,16	209,5 ± 3,78	211,7 ± 2,95	Р _{о-к} > 0,05 Р _{с-к} > 0,05 Р _{о-с} > 0,05
Агрегация тромбоцитов при стимуляции АДФ 1·10 ⁻³ М Тма, %	36,24 ± 2,05	34,33 ± 1,68	46,6 ± 2,37	Р _{о-к} < 0,05 Р _{с-к} < 0,05 Р _{о-с} > 0,05
Растворимые комплексы мономеров фибрина (РКМФ)·10 ⁻² г/л	14,09 ± 0,22	13,56 ± 0,16	13,63 ± 0,32	Р _{о-к} < 0,05 Р _{с-к} < 0,05 Р _{о-с} > 0,05
Фибринолиз, мин	15,77 ± 0,53	15,27 ± 0,31	14,23 ± 0,38	Р _{о-к} < 0,05 Р _{с-к} < 0,05 Р _{о-с} > 0,05
Д-димер, мкг/мл	0,44 ± 0,01	0,42 ± 0,04	0,44 ± 0,02	Р _{о-к} > 0,05 Р _{с-к} > 0,05 Р _{о-с} > 0,05

Аналогичная ситуация прослежена с изменением протромбинового индекса (ПИ) у пациенток с вышеизложенной патологией. Отмечено увеличение ПИ до 103,4 ± 0,45% у больных основной группы и 101,5 ± 1,64% в группе сравнения соответственно (Р_{о-с} > 0,05), в контрольной группе данный показатель составил 98,8 ± 1,37% (Р_{о-к} < 0,05, Р_{с-к} < 0,05).

При исследовании тромбоцитарного звена системы гемостаза количество тромбоцитов у больных исследуемых групп было несколько пониженным и в среднем соответствовало: в основной группе – 210,7 ± 3,16·10⁹/л, группе сравнения – 209,5 ± 3,78·10⁹/л и контрольной группе – 211,7 ± 2,95·10⁹/л (Р_{о-к} > 0,05; Р_{с-к} > 0,05). Вместе с тем отмечено повышение агрегационной способности тромбоцитов при стимуляции АДФ 1·10⁻³ М до 36,24 ± 2,05% – в основной группе; 34,33 ± 1,68% – в группе сравнения и 46,6 ± 2,37% в контрольной группе (Р_{о-к} < 0,05; Р_{с-к} < 0,05). Снижение уровня тромбоцитов при сниженных показателях гематокрита способствовало сохранению текучести крови.

Во всех случаях клинического наблюдения констатировано ослабление фибринолиза в сравнении с показателем в контрольной группе. Кроме того, у всех больных с

НБ зафиксировано значительное повышение (более, чем в 4–4,5 раза) содержания в крови растворимых комплексов мономеров фибрина (РКМФ): в основной группе – до 14,09 ± 0,22·10⁻² г/л, в группе сравнения – до 13,56 ± 0,16·10⁻² г/л, в контрольной группе – до 13,63 ± 0,32·10⁻² г/л, при нормальных цифрах этого показателя – 3,09 ± 0,04·10⁻² г/л (Р_{о-к} < 0,05; Р_{с-к} < 0,05).

При изучении одного из специфических маркеров хронического ДВС-синдрома – D-димера нами не было обнаружено достоверных различий его усредненных значений в группах обследуемых женщин (Р_к > 0,05). Низкие концентрации D-димера – 0,44 ± 0,01 мкг/мл (не превышающие нормативные показатели), по нашему мнению связаны со снижением фибринолитической активности у больных с НБ.

В регуляции иммунного ответа важную роль играют цитокины – молекулы, продуцируемые иммунокомпетентными клетками. Нами проведено изучение цитокинового профиля у больных с НБ. При нормальном течении беременности концентрация интерлейнина – 4 (ИЛ-4) составляет 14,6 ± 0,5 пг/мл [2, 3], при НБ – в основной группе – 4,11 ± 0,21 пг/мл, группе сравнения – 3,11 ± 0,21 пг/мл и в контрольной группе этот показатель составил – 5,24 ± 0,51 пг/мл

(табл. 3). Таким образом, изучение содержания противовоспалительного цитокина ИЛ-4 показало снижение его концентрации

у больных с НБ в 2,5–4,7 раза по сравнению с показателем нормально протекающей беременности.

Таблица 3

Показатели цитокинового профиля у больных с неразвивающейся беременностью

Группы больных Показатель, пг/мл	Основная группа (n = 32)	Группа сравнения (n = 29)	Группа контроля (n = 35)	P
ИЛ-1 β	5,21 \pm 0,45	5,09 \pm 0,63	5,67 \pm 0,41	Рo-c > 0,05 Рo-к > 0,05 Рc-к > 0,05
ИЛ-2	74,53 \pm 3,07	72,49 \pm 3,35	76,62 \pm 4,22	Рo-c > 0,05 Рo-к > 0,05 Рc-к > 0,05
ИЛ-4	4,11 \pm 0,21	3,11 \pm 0,21	5,24 \pm 0,51	Рo-c > 0,05 Рo-к > 0,05 Рc-к > 0,05
ИЛ-6	11,53 \pm 0,62	10,57 \pm 0,33	12,47 \pm 0,53	Рo-c > 0,05 Рo-к > 0,05 Рc-к > 0,05
ФНО- α	12,33 \pm 1,12	11,21 \pm 1,31	10,31 \pm 1,14	Рo-c > 0,05 Рo-к < 0,05 Рc-к < 0,05
γ -ИНФ	12,32 \pm 1,12	13,21 \pm 1,31	10,31 \pm 1,14	Рo-c > 0,05 Рo-к < 0,05 Рc-к < 0,05
Fas-L	0,23 \pm 0,04	0,21 \pm 0,04	0,27 \pm 0,05	Рo-c > 0,05 Рo-к > 0,05 Рc-к > 0,05

Хорошо известно, что γ -ИНФ относится к классу Th1 цитокинов, активирующих клеточный иммунитет и способствующих невынашиванию беременности. Проведенные исследования показали, что во всех случаях невынашивания беременности наблюдалось повышение данного показателя. Так, при нормальном течении беременности концентрация γ -ИНФ составляет 8,1 \pm 1,9 пг/мл [2, 3], в основной группе этот показатель составил 12,32 \pm 1,12 пг/мл, в группе сравнения – 13,21 \pm 1,31 пг/мл и в контрольной группе – 10,31 \pm 1,14 пг/мл.

Аналогичные результаты с изменением γ -ИНФ обнаруживались со стороны ФНО- α (фактора некроза опухоли), относящегося к классу Th1 цитокинов. Если при нормальном течении беременности величина этого показателя составляет 3,1 \pm 0,2 пг/мл [2, 3], то при задержке плода в матке этот показатель возрастал в основной группе до 12,33 \pm 1,12 пг/мл, в группе сравнения – до 11,21 \pm 1,31 пг/мл и в группе контроля – до 10,31 \pm 1,14 пг/мл. Как следует из представленных данных, во всех случаях нарушения беременности показатель ФНО- α статистически значим ($P < 0,05$). Останавливаясь на механизме неблагоприятного влияния повышенных значений ФНО- α на течение беременности, следует отметить, что этот

фактор, наряду с ИЛ-1, γ -ИНФ, активирует свертывание крови, которой снабжается развивающийся эмбрион, что и может привести к его гибели.

При исследовании провоспалительного цитокина ИЛ-1 β отмечено достоверное снижение его концентрации в группах у больных с НБ относительно показателя при нормальном течении беременности, который составляет 7,63 \pm 0,41 пг/мл [2, 3], в основной группе – 5,21 \pm 0,45 пг/мл, группе сравнения – 5,09 \pm 0,63 пг/мл и контрольной группе – 5,67 \pm 0,41 пг/мл. Таким образом, показатель ИЛ-1 β в сравниваемых группах снижен в 1,3–1,5 раза.

Аналогичные данные были получены при изучении ИЛ-2 в группах обследуемых женщин. При НБ констатировано снижение данного показателя в 1,1–1,2 раза по сравнению с показателем здоровых беременных ($N = 85,83 \pm 0,41$ пг/мл) [2, 3]. У пациенток с НБ показатели в группах сравнения существенно не отличались друг от друга: 74,53 \pm 3,07 пг/мл – в основной группе; 72,49 \pm 3,35 пг/мл – в группе сравнения; 76,62 \pm 4,22 пг/мл – в группе контроля ($P > 0,05$).

При анализе следующего провоспалительного цитокина – ИЛ-6 выявлено снижение его концентрации у больных НБ в

группах исследования в 1,5–1,7 раза по сравнению с показателями здоровых беременных женщин ($N = 18,34 \pm 0,45$ пг/мл) [2, 3]. Отмечено достоверное уменьшение уровня ИЛ-6 в основной группе до $11,53 \pm 0,62$ пг/мл, в группе сравнения – до $10,57 \pm 0,33$ пг/мл, в контрольной группе – до $12,47 \pm 0,53$ пг/мл. Достоверных межгрупповых различий у больных с НБ не выявлено ($P > 0,05$).

Таким образом, при НБ важную роль играет фактор иммунодепрессии и неспособность клеток организма подвергаться апоптозу, что ведет к задержке внутриутробного плодного яйца в матке. К маркерам апоптоза в клеточной популяции относят FasL. При изучении данного показателя в группах обследуемых женщин мы констатировали уменьшение уровня FasL с $0,42 \pm 0,05$ пг/мл (N для здоровых беременных) [2, 3]) до $0,23 \pm 0,04$ пг/мл в основной группе ($P > 0,05$), в группе сравнения концентрация FasL была ниже контрольных показателей в 2,0 раза и составила соответственно $0,21 \pm 0,04$ и $0,27 \pm 0,05$ пг/мл в группе контроля ($P > 0,05$).

Таким образом, комплексное изучение системы гемостаза показало развитие гиперкоагуляции, с одновременным угнетением фибринолиза и повышением продуктов паракоагуляции у всех больных с НБ. Несмотря на выявленные изменения гемостазиограммы, состояние системы гемостаза было расценено, как компенсированное и дополнительной терапии, направленной на коррекцию гемостазиологических нарушений, не проводилось.

Одним из возможных механизмов развития неразвивающейся беременности и задержки плодного яйца в матке является недостаточность полимодальной активности моноклеарно-фагоцитирующей системы клеток, обеспечивающей не только продукцию цитокинов, но и элиминацию за счёт фагоцитоза элементов плодного яйца из матки. Полученные результаты исследования цитокинового профиля у больных с НБ свидетельствуют о выраженных нарушениях иммунного статуса, редукции функции

Th1- и Th2-лимфоцитов и, как следствие, значительном угнетении апоптоза при данной патологии, что способствует и гибели внутриутробного плодного яйца, и задержке его в матке.

Список литературы

1. Бережная Н.М. Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы // Цитокины и воспаление. – 2007. – № 2. – 35 с.
2. Доброхотова Ю.Э., Сухих Г.Т., Озерова Р.И. Неразвивающаяся беременность: аспекты этиологии. Возможность цитокинотерапии в программе реабилитации в раннем послеродовом периоде // Росс. вестн. акуш.-гинеко. – 2006. – № 2. – С. 13–18.
3. Участие интерлейкина-1 в развитии Th1- и Th2-зависимых вариантов хронической реакции «трансплантат против хозяина» / В.А. Козлов, И.В. Сафронов, О.Т. Кудяева, О.П. Колесникова // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – Т. 132, №8. – С. 185–187.
4. Колесникова И.К. Состояние иммунитета на системном уровне и в эндометрии у женщин с невынашиванием беременности ранних сроков инфекционного и гормонального генеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иваново, 2004. – 24 с.
5. Омаров С.-М.А., Магомедов Ю.И. Профилактика кровотечений при неразвивающейся беременности // Акуш. и гин. – 1991. – № 3. – С. 43–46.
6. Серов В.Н., Макацария А.Д. Тромботические и геморрагические осложнения в акушерстве. – М., 1987. – 288 с.
7. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of subcutaneous heparin during early third trimester of pregnancy / L.R. Brancazio, K.A. Roperti, R. Stierer et al. // Amer. J. Obstet. Gynecol. – 1995. – Vol. 173, №6. – P. 1240–1245.
8. Cohen M., Bischof P. Factors regulating trophoblast invasion // Gynecol. Obstet. Invest. – 2007. – Vol. 64, № 3. – P. 126–130.
9. Morales W., Talley Th. Premature rupture of membranes at 25 weeks. A. Management dilemma // Amer. J. Obstet. Gynecol. – 1993. – Vol. 168, №2. – P. 503–507.
10. Mosmann T.R. Functions of CD8 T-cell subsets secreting different cytokine patterns / T.R. Mosmann, L. Li, S. Sad // Semin. Immunol. – 1997. – Vol. 9, №2. – P. 87–92.

Рецензенты:

Архангельский С.М., д.м.н., профессор, главный врач ГУЗ «Перинатальный центр», г. Саратов;

Хрипунова Г.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 29.07.2011.