

# Клиническое значение исследования содержания естественных аутоантител в сыворотке крови при преэклампсии

О.В.Макаров, Ю.А.Богатырев, Н.А.Осипова

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. О.В.Макаров)

Целью данной работы было определение клинической значимости исследования ряда естественных аутоантител в сыворотке крови для достоверной диагностики преэклампсии, а также дифференциальной диагностики преэклампсии и хронической артериальной гипертензии. Обследованы 76 пациенток, в числе которых 28 женщин с преэклампсией, 26 — с хронической артериальной гипертензией и 22 здоровых беременных. У всех пациенток определяли содержание аутоантител класса IgG к двуспиральной ДНК, двум антигенам мембран тромбоцитов (TrM-001-15, TrM-015-12), двум антигенам почек (KiM-05-300, KiS-07-120) и антигену митохондрий печени (HMMR), используя иммуноферментный анализ. Предложен алгоритм интерпретации результатов иммуноферментного анализа при диагностике преэклампсии. Доказана высокая диагностическая ценность предлагаемого метода.

*Ключевые слова:* преэклампсия, аутоантитела при преэклампсии, дифференциальный диагноз преэклампсии и хронической артериальной гипертензии, аномальное снижение продукции аутоантител

## Clinical significance of studying natural autoantibodies' content in blood serum at preeclampsia

O.V.Makarov, Yu.A.Bogatyrev, N.A.Osipova

The Russian National Research Medical University named after N.I.Pirogov, Department of Obstetrics and Gynaecology № 1 of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. O.V.Makarov)

The aim of the study was to determine the clinical significance of studying a number of autoantibodies in blood serum to detect preeclampsia as well as to carry out differential preeclampsia and arterial hypertension diagnosis. Among 76 examined women there were 28 patients with detected preeclampsia, 26 with arterial hypertension and 22 healthy pregnant women. In all patients there was determined the content of IgG autoantibodies against double-stranded DNA, two platelet membrane antigens (TrM-001-15, TrM-015-12), two kidney antigens (KiM-05-300, KiS-07-120) and antigen liver mitochondria (HMMR) by enzyme-multiplied immunoassay. The algorithm to interpret enzyme-multiplied immunoassay results for preeclampsia diagnosis was put forward. There was proved the high diagnostic value of the method.

*Key words:* preeclampsia, autoantibodies at preeclampsia, preeclampsia and arterial hypertension differential diagnosis, abnormal depletion of antibodies output

Несмотря на усовершенствование методов диагностики и лечения, преэклампсия по-прежнему остается актуальной проблемой в акушерстве. В нашей стране в структуре материнской смертности преэклампсия занимает 4-е место после экстрагенитальных заболеваний, акушерской эмболии и других причин акушерской смерти и составляет 12,2% [1].

Перинатальная смертность при преэклампсии превышает средние показатели в 5–7 раз [2]. Таким образом, преэклампсия является тяжелым осложнением беременности, существенно повышает младенческую и материнскую заболеваемость и смертность.

Современные подходы к лечению преэклампсии сводятся к стабилизации состояния плода и родоразрешению. Сложность дифференциальной диагностики преэклампсии зачастую приводит к необоснованному назначению терапии, приводящей к нарушению маточно-плацентарного кровотока и синдрому задержки роста плода [3]. Существенным препятствием на пути к разработке эффективных методов заблаговременного прогнозирования этого заболевания является недостаточная изученность его патогенеза.

### Для корреспонденции:

Осипова Наталья Андреевна, ассистент кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117437, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 318-3980, 318-0136  
E-mail: twinmama@yandex.ru

Статья поступила 05.03.2012 г., принята к печати 05.06.2012 г.

В последние годы получили распространение представления об иммунообусловленном патогенезе преэклампсии [4].

В 1980–90-х гг. были получены экспериментальные подтверждения присутствия в кровотоке здоровых лиц различных по антигенной направленности естественных (физиологических) аутоантител (ААТ) к рецепторам, белкам цитоскелета, многим ферментам, ДНК, компонентам межклеточного матрикса, гистонам, маркерам главного комплекса гистосовместимости и другим эндогенным соединениям [5, 6]. В отличие от цитокинов естественные аутоантитела являются стабильными молекулами и содержатся в крови в относительно высоких концентрациях. Важно, что сывороточное содержание ААТ одной и той же антигенной специфичности примерно одинаково у здоровых лиц, но меняется при развитии множества серьезных болезней, что можно использовать в диагностических и прогностических целях. При этом лабораторным свидетельством наличия патологии служит как патологически высокий, так и низкий уровень аутоантител в сыворотке крови [6–8]. Можно полагать, что анализ изменения уровней ААТ к антигенам клеток, тканей и органов, представляющих различные звенья патогенеза преэклампсии (тромбоцитарные, сосудистые, почечные), позволит получать клинически важную информацию.

Антитела (АТ) к ДНК — это естественные антитела, и их изменение служит универсальным признаком перемен в активности иммунной системы [6, 9]. Они участвуют в клиренсе организма от продуктов естественного отмирания клеток в ходе апоптоза, нормальные уровни их сывороточного содержания поддерживаются в узких диапазонах. Продукция таких АТ значительно возрастает при активации процессов апоптоза, при любых инфекционно-воспалительных процессах и существенно снижается при поликлональной иммуносупрессии. Изменения в сывороточном содержании АТ к антигенам мембран тромбоцитов (Тгм-0,01, Тгм-0,15) способствуют выявлению аутоиммунных тромбоцитопатий (хроническая иммунная тромбоцитопеническая пурпура, системная красная волчанка) [6, 10].

По изменению сывороточного содержания ААТ к ряду растворимых и мембранных антигенов почек (KiM-05-300, KiS-07-120) можно судить о наличии (либо начале) почечных заболеваний и проводить мониторинг их динамики. Изменения в содержании АТ к цитоплазматическому антигену KiS-07-120 свидетельствуют о функциональных изменениях в ткани почек. Напротив, стойкие изменения в содержании АТ к мембранным белкам KiM-05-300 и KiM-05-40 могут служить индикатором деструктивных процессов в почках, таких как пиелонефрит, синдром Гудпасчера, аутоиммунный гломерулонефрит [6, 11].

О деструктивных процессах в печени можно судить по аномальному уровню АТ к мембранным белкам митохондрий НММР (при первичном билиарном циррозе присутствуют в высоком титре) [11].

Соответствующие тесты давно используют в различных областях медицины, в частности, в диагностике заболеваний щитовидной железы и сахарного диабета 1 типа [12], а также для диагностики и прогноза соматических, преимущественно аутоиммунных болезней [8, 10]. Большое количество исследований посвящено роли антифосфолипидных АТ при заболеваниях человека. Эти АТ служат серологическим маркером симптомокомплекса, включающего венозные и/или артериальные тромбозы, различные формы акушерской патологии (в первую очередь привычное невынашивание беременности), тромбоцитопению, а также другие разнообразные неврологические, кожные, сердечно-сосудистые, гематологические нарушения [13]. Более 20 лет исследования сывороточного содержания многих ААТ используют и в акушерстве для прогноза развития беременности [14–16]. В последнее время появились работы, направленные на изучение прогностической ценности изменений содержания ряда ААТ при беременности, осложненной преэклампсией [14]. Тем не менее пока этот вопрос недостаточно изучен и требует дополнительных исследований.

Целью работы было определение клинической значимости исследования ряда естественных аутоантител для достоверной своевременной диагностики преэклампсии, а также дифференциальной диагностики преэклампсии и хронической артериальной гипертензии.

## Пациенты и методы

Были обследованы 76 беременных. Из них основную группу составили 54 пациентки: 18 беременных с преэклампсией (1-я подгруппа) и 36 женщин с хронической артериальной гипертензией (2-я подгруппа). В процессе наблюдения 2-ю подгруппу разделили на две: 2А (26 пациенток) — в течение беременности преэклампсии не отмечено, 2Б (10 пациенток) — осложнение беременности преэклампсией на разных сроках гестации. Итого, за время наблюдения осложнение беременности преэклампсией было у 28 пациенток. Группу контроля составили 22 здоровые беременные. Во всех группах исследование проводили на сроке 22–40 нед.

Значимых различий в данных соматического анамнеза в 1-й и 2-й подгруппах не выявлено. В гинекологическом анамнезе хронические воспалительные гинекологические заболевания с большей частотой отмечены у пациенток, беременность которых была осложнена преэклампсией. Большинство обследованных были первобеременными первородящими. Среди повторнородящих предыдущая беременность была осложнена преэклампсией у 12 пациенток. У всех повторнородящих предыдущая беременность закончилась рождением живых детей.

Из осложнений данной беременности в 1-й и 2-й подгруппах можно отметить угрозу прерывания беременности, анемию, хроническую плацентарную недо-

Таблица 1. Течение и исходы беременности у пациенток основной группы

Осложнения беременности и исходы	Подгруппы					
	1		2А		2Б	
	(n = 18)		(n = 26)		(n = 10)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Угроза прерывания	5	27,8	8	30,8	1	10
Анемия	6	33,3	3	11,5	3	30
Плацентарная недостаточность, синдром задержки роста плода	8	44,4	1	3,8	5	50
Ранний токсикоз	–	–	2	7,7	–	–
Преэклампсия	18	100	–	–	10	100
Своевременные роды	14	77,8	23	88,5	5	50
Преждевременные роды	4	22,2	3	11,5	5	50
Оперативные роды	8	44,4	3	11,5	5	50

Таблица 2. Показатели коагулограммы у пациенток исследуемых групп

Показатели	Основная группа, абс. (%)			Контрольная группа, абс. (%)
	1-я подгруппа	2Б подгруппа	2А подгруппа	
Фибриноген:				
4,0–5,5 г/л	8 (44,4)	2 (20)	7 (26,9)	22 (100)
>5,5 г/л	10 (55,6)	8 (80)	19 (73,1)	–
Ретракция сгустка:				
2,0–2,4 с	10 (55,6)	6 (60)	–	–
2,5–3,0 с	8 (44,4)	4 (40)	26 (100)	22 (100)
Растворимые фибрин-мономерные комплексы:				
отсутствуют	10 (55,6)	5 (50)	23 (88,5)	22 (100)
выявлены	8 (44,4)	5 (50)	3 (11,5)	–

статочность в сочетании с синдромом задержки роста плода, ранний токсикоз. Данные о течении и исходе беременности представлены в табл. 1.

Процентное соотношение оперативных и естественных родов у пациенток с преэклампсией значительно выше, чем в подгруппе с хронической артериальной гипертензией и в контрольной группе. Также обращает на себя внимание, что у пациенток с преэклампсией (подгруппы 1 и 2Б) чаще отмечены анемия и плацентарная недостаточность, беременность чаще заканчивается преждевременными родами.

Характерно, что в отличие от беременных подгруппы 2А и контрольной группы у пациенток в подгруппах 1 и 2Б были выявлены реологические нарушения — увеличение содержания растворимых фибрин-мономерных комплексов, укорочение времени ретракции сгустка (табл. 2).

Протеинурию наблюдали только у пациенток с преэклампсией. При этом протеинурия до 1,5 г/л отмечена у 72,2% больных в подгруппе 1 и у 70% — в подгруппе 2Б, а выраженная протеинурия (более 1,5 г/л) — у 27,8 и 30% в подгруппах 1 и 2Б соответственно.

Характерно, что у всех беременных контрольной группы результаты лабораторных исследований крови и мочи были в пределах нормы.

У всех женщин беременность закончилась рождением живых детей в сроке гестации от 35 до 41 нед. Оценка по шкале Апгар составила от 5 до 9 баллов. Через естественные родовые пути были родоразре-

шены 10 беременных из подгруппы 1, 28 — из подгруппы 2 и 20 женщин — из контрольной группы. Путем кесарева сечения завершены беременности у 8 женщин из подгруппы 1, у 8 женщин из подгруппы 2 и у 2 пациенток контрольной группы. Показанием к проведению кесарева сечения служили нарастание тяжести преэклампсии, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, наличие рубца на матке, ухудшение состояния плода, тазовое предлежание, заключения специалистов. Все новорожденные были выписаны домой в удовлетворительном состоянии.

У всех беременных с помощью тест-наборов (ЭЛИ-Тесты производства МИЦ «Иммункулус», Москва) определяли сывороточное содержание ААТ класса IgG к двуспиральной ДНК (дс-ДНК), двум антигенам мембран тромбоцитов (ТгМ-001-15, ТгМ-015-12), двум антигенам почек (КiМ-05-300, КiS-07-120) и антигену митохондрий печени (НММР), используя иммуноферментный анализ (ИФА) [6].

Определение уровня аутоантител в биопробе проводили спектрофотометрически в единицах оптической плотности и сопоставляли в процентах с реакцией контрольной сыворотки. Реакция контрольной сыворотки (КС) — показатель нормальной иммунореактивности. Реакция КС (в единицах оптической плотности) представляет собой среднее значение диапазона нормы (ДН) — уровня аутоантител, характерного для здорового человека. Абсолютные количе-

ственные значения КС в единицах оптической плотности могут отличаться для разных классов исследуемых аутоантител. Однако относительные процентные соотношения содержания аутоантител в исследуемой и в контрольной сыворотках в норме представлены в ДН 80–120% реакции КС [6]. Регистрацию результатов цветных реакций ИФА проводили с помощью фотометра вертикального сканирования (ИФА-ридера), интенсивность реакции была прямо пропорциональна количеству специфических антител в биопробе.

Обработку полученных данных проводили с помощью критерия Стьюдента–Фишера для небольшого числа наблюдений. Расчеты выполняли с использованием пакета программ «Microsoft Office» и «Statistica v. 7.0».

## Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования выявлено, что у 71,6% обследованных беременных подгруппы 1 и у 69,4% пациенток подгруппы 2Б отмечено существенное снижение сывороточного содержания всех определяемых ААТ, тогда как у 73% беременных контрольной группы и 55% пациенток группы 2А содержание ААТ было в пределах нормальных значений. Результаты представлены в табл. 3.

Таким образом, отмечена достоверная разница в количественном сывороточном содержании ААТ в подгруппах 1 и 2Б по сравнению с подгруппой 2А и контролем. Наиболее показательным исследованием ААТ к дс-ДНК, Trm-0,01, Kis-07-120.

Во всех случаях с преэклампсией прослежена следующая закономерность. Сывороточное содержание ААТ составило 55% и менее реакции КС по меньшей мере для трех из исследованных видов аутоантител, один из которых относился к ААТ почечной ткани, а другой — к двуспиральной ДНК. После определения содержания аутоантител класса IgG к двуспиральной ДНК, антигенам мембран тромбоцитов (TrM-001-15, TrM-015-12), антигенам почечной ткани (KiM-05-300, KiS-07-120) и антигену митохондрий печени (HMMP) для каждого вида исследованных антител в проведенном исследовании вычисляли показатель К по формуле  $K = N/N_K$ , где N — содержание аутоантител

в опытной сыворотке;  $N_K$  — содержание аутоантител в контрольной сыворотке, соответствующее нормальной иммунореактивности. При показателе К меньшем или равном 0,55 по меньшей мере для трех видов аутоантител, один из которых относится к антителам к почечной ткани, а другой — к двуспиральной ДНК, диагностируют преэклампсию у беременной.

Обращает на себя внимание дисбаланс в содержании ААТ в подгруппах 2А и 2Б. В то время как для 1-й подгруппы характерно равномерное снижение содержания всех исследуемых ААТ, при сочетанных формах преэклампсии и в подгруппе 2А отмечена тенденция к повышению уровня тромбоцитарных аутоантител (см. табл. 3). Заслуживает внимания и тот факт, что выраженное снижение ААТ к HMMP отмечено только у пациенток с тяжелыми формами преэклампсии. Кроме того, при сравнении подгрупп 2А и 2Б выявлено снижение маркеров почечной патологии (55% и менее) у всех пациенток подгруппы 2Б.

Таким образом, наиболее характерной особенностью беременных с преэклампсией является выраженное снижение сывороточного содержания всех исследованных ААТ, то есть поликлональная иммуносупрессия, причем особенно низким было содержание ААТ к ДНК, белкам Trm-0,01 и Kis-07-120. Достоверной разницы в полученных результатах при сравнении подгруппы 2А с контрольной группой не отмечено (см. табл. 3).

Достоверным лабораторным признаком при диагностике преэклампсии можно считать снижение сывороточного содержания ААТ до 55% и менее (коэффициент К равен 0,55 и менее) по меньшей мере для трех видов аутоантител, один из которых относится к антителам к почечной ткани, а другой — к двуспиральной ДНК.

Для преэклампсии без отягощенного преморбидного фона характерно равномерное снижение содержания всех исследуемых ААТ. При сочетанных формах преэклампсии и у пациенток с хронической артериальной гипертензией напротив отмечен некоторый дисбаланс отдельных показателей (уровень тромбоцитарных антител может быть в норме, близок к норме или повышен). Возможно, это объясняется тем, что в условиях

Таблица 3. Содержание аутоантител в сыворотке крови у пациенток исследуемых групп

Содержание аутоантител, %	Основная группа			Контрольная группа
	1-я подгруппа	2Б подгруппа	2А подгруппа	
дс-ДНК	44,4 ± 2,1*	51,98 ± 2,1*	74,0 ± 3,6	75,73 ± 4,2
Trm-0,01	71,2 ± 3,1*	78,24 ± 3,1*	91,8 ± 3,6	97,18 ± 4,2
Trm-0,15	79,4 ± 7,0	91,25 ± 4,3	103,0 ± 3,6	99,95 ± 5,5
Kim-05-300	73,8 ± 10,1	62,89 ± 4,5	86,1 ± 5,3	82,93 ± 3,7
Kis-07-120	60,6 ± 3,9*	63,01 ± 3,8*	76,7 ± 3,1	76,45 ± 3,9
HMMP	78,0 ± 6,3	74,52 ± 6,4	86,5 ± 4,2	96,12 ± 5,7

\* —  $p < 0,05$  при сравнении с показателями подгруппы 2А и контрольной группы

наличия хронической сосудистой патологии иммунная система изначально (до наступления беременности) вырабатывает соответствующие ААТ в повышенном титре. Таким образом, даже в случае иммуносупрессии сывороточное содержание тромбоцитарных ААТ остается выше уровня других исследованных ААТ.

При сравнении подгрупп с хронической артериальной гипертензией выявлено снижение маркеров почечной патологии (55% и менее) у всех пациенток с сочетанной преэклампсией, что можно использовать в целях дифференциальной диагностики.

Результаты клинико-иммунологического анализа позволяют предположить, что одним из непосредственных патогенетических факторов развития преэклампсии может служить аномальное снижение продукции многих ААТ, участвующих в механизмах клиренса, вследствие чего происходит избыточное накопление продуктов распада клеток и медленно прогрессирует хроническая интоксикация [5–7, 17]. Снижение продукции ААТ сопровождается нарушением утилизации фрагментов клеток, отмирающих в ходе физиологического апоптоза, и снижение эффективности клиренса организма от других продуктов катаболизма. Эти нарушения в свою очередь запускают каскад событий, приводящих к усилению микротромбообразования, нарушениям микроциркуляции с последующим развитием эндотелиальной дисфункции, поражением паренхиматозных органов и формированием типичной синдромальной картины преэклампсии.

Таким образом, полученные нами результаты, как и более ранние данные [14], свидетельствуют, что не только патологическое повышение продукции тех или иных аутоантител, но и их аномальное снижение может быть причиной иммунообусловленных нарушений в организме. В частности, выявление комплексного снижения многих аутоантител, в первую очередь антител к ДНК, Trm-0,01, Kis-07-120, дает возможность с высокой вероятностью диагностировать развитие преэклампсии. В свою очередь, своевременная диагностика позволяет вовремя начать профилактику внутриутробного страдания плода, снизить процент реанимационной помощи новорожденным при необходимости досрочного родоразрешения, снизить показатели перинатальной заболеваемости и смертности.

Доказана высокая диагностическая ценность предлагаемого метода. Определение содержания естественных аутоантител в сыворотке крови позволяет выделить группу риска по досрочному родоразрешению. В зависимости от уровней аутоантител можно провести дифференциальный диагноз преэклампсии и хронических гипертензивных состояний, что определяет тактику терапевтических мероприятий и прогноз в отношении дальнейшего ведения беременности.

*Исследование выполнено в рамках приоритетного направления развития «Профилактика, диагности-*

*ка и лечение заболеваний, связанных с нарушением кровообращения и гипоксией» Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова.*

## Литература

1. Широкова В.И., Филиппов О.С., Гусева Е.В. О материнской смертности в Российской Федерации в 2009 году. Методическое письмо. М.: Минздравсоцразвития России, 2011. 40 с.
2. Серов В.Н., Маркин С.А. Критические состояния в акушерстве. М.: Медиздат, 2003. 704 с.
3. Макаров О.В., Николаев Н.Н., Волкова Е.В. Артериальная гипертензия у беременных. Только ли гестоз? Руководство для врачей. М: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 176 с.
4. Макаров О.В., Васильева З.В., Тягунова А.В. Пиелонефрит и беременность // Современные методы диагностики и лечения в акушерстве и гинекологии: V Поволжская науч.-практ. конф. Сб. науч. тр. Саратов, 1999. С.100–102.
5. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Патохимия (эндокринно-метаболические нарушения): Учеб. для студ. мед. вузов. 3-е изд. СПб.: Элби-СПб, 2007. 768 с.
6. Полетаев А.Б. Иммунофизиология и иммунопатология. М.: МИА, 2008. 198 с.
7. Полетаев А.Б., Кузьменко Л.Г. Иммуномолекулярная диагностика. М., 2008. 198 с.
8. Notkins A.L. New predictors of disease // Sci. Am. 2007. V.296(3). P.54–62.
9. Apoptosis and autoimmunity / Ed. by M.Herrmann, J.R.Kalden. Weinheim: Wiley-WCH, 2003. 387 p.
10. Полетаев А.Б., Морозов С.Г. Применение антидиотипических антител для коррекции аутоиммунных реакций к белку мозга S-100 // Бюл. экспер. биол. и мед. 1996. T.122. №11. С.508 – 511.
11. Мальцев С.В., Полетаев А.Б., Мансурова Г.Ш. Диагностическое и прогностическое определение естественных аутоантител к почечным антигенам в развитии пиелонефрита у детей // Педиатрия. 2007. Т.86. №6. С.60–64.
12. Полетаев А.Б., Будыкина Т.С., Морозов С.Г. Аутоантитела к инсулину, инсулинзависимый сахарный диабет и диабетическая фетопатия // Сах. диабет. 2000. №4. С.23–28.
13. Насонов Е.Л. Антифосфолипидный синдром. М., 2004. 440 с.
14. Замалева Р.С., Мальцева Л.И., Черепанова Н.А. и др. Клиническое значение определения уровня регуляторных аутоантител для оценки риска развития гестоза // Практ. мед. 2009. №2. С.68–71.
15. Мальцева Л.И., Замалева Р.С., Полетаев А.Б. и др. Клиническое значение регуляторных аутоантител в развитии плацентарной недостаточности у женщин с отягощенным акушерским анамнезом // Гинекология. 2005. T.11. №5. С.86–88.
16. Хонина Н.А., Дударева А.В., Тихонова М.А. и др. Нарушение механизмов активной иммуносупрессии при беременности, осложненной гестозом // Бюл. СО РАМН. 2003. №3. С.73–76.
17. Poletaev A.B., Stepanyuk V.L., Gershwin M.E. Integrating immunity: The immunoculus and self-reactivity // J. Autoimmun. 2008. №30. P.68–73.

## Информация об авторах:

Макаров Олег Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117303, Москва, ул. Азовская, 22  
Телефон: (495) 318-3980

Богатырев Юрий Анатольевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117303, Москва, ул. Азовская, 22  
Телефон: (495) 318-3980  
E-Mail: jabog@yandex.ru