

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ИММУННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ У БЕРЕМЕННЫХ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

Сидорова И.С., Унанян А.Л., Никитина Н.А., Рзаева А.А., Кинякин В.В.

ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздравсоцразвития России, Москва

Резюме: проведено проспективное обследование 21 беременной с хронической артериальной гипертензией, 84 беременных с преэклампсией разной степени тяжести, а также 25 здоровых беременных с физиологически протекающей беременностью. Проведена сравнительная оценка уровней нейроспецифических белков NSE и GFAP в сыворотке крови пациенток указанных групп, а также иммуноморфологическое исследование ткани плаценты у женщин с преэклампсией и хронической артериальной гипертензией. При хронической артериальной гипертензии, в отличие от преэклампсии, в сыворотке крови беременных и ткани плаценты нейроспецифические белки не были обнаружены ни в одном наблюдении; пролонгирование беременности на фоне адекватной гипотензивной терапии и хорошего контроля АД возможно. Развитие преэклампсии характеризуется резким повышением уровней нейроспецифических белков, тяжелым иммунным повреждением эндотелия сосудов; остановить прогрессирующее данное процесс может только родоразрешение, которое показано при эклампсии, тяжелой форме преэклампсии и неэффективности терапии умеренной ее формы.

Ключевые слова: преэклампсия, артериальная гипертензия, эндотелиоз, нейроспецифические белки.

Критерием артериальной гипертензии у беременных, согласно общепринятому определению, является повышение систолического артериального давления >140 мм рт. ст. и/или диастолического >90 мм рт. ст., подтвержденное, как минимум, дважды с интервалом не менее четырех часов.

Артериальная гипертензия в настоящее время является одной из наиболее распространенных форм патологии у беременных [1,9,10], причем на протяжении последних десятилетий отмечается устойчивая

тенденция к увеличению ее частоты. Артериальная гипертензия диагностируется у 10-30% беременных [5,7,12], ее осложнения являются одной из основных причин материнской смертности (доля гипертензивного синдрома в структуре материнской смертности составляет 20-30%) [1,5,7,12].

На фоне артериальной гипертензии часто развиваются плацентарная недостаточность и синдром задержки роста плода, значительно увеличивается риск отслойки плаценты, отслойки сетчатки, эклампсии, внутримозговых кровоизлияний, массивных коагулопатических кровотечений. В последующие годы жизни женщины, у которых беременность протекала с гипертензионным синдромом, чаще страдают сердечно-сосудистыми и эндокринными заболеваниями, у их детей повышен риск различных метаболических и гормональных нарушений, а также сердечно-сосудистой патологии [11,13,14].

Все формы гипертензивных нарушений у беременных (хроническая и гестационная артериальная гипертензия, преэклампсия/эклампсия и преэклампсия/эклампсия на фоне хронической артериальной гипертензии) характеризуются эндотелиальной дисфункцией, развитием окислительного стресса и «преувеличенного» провоспалительного ответа [5], однако морфологическая основа хронической артериальной гипертензии и преэклампсии разительно отличаются, что важно понимать для выбора оптимальной тактики ведения и терапии.

По данным морфологов, диагностика хронической артериальной гипертензии у погибших беременных проводится при обнаружении концентрической гипертрофии левого желудочка, гипертрофии мышечной стенки артериол, артериолосклероза. В матках умерших женщин также имеет место выраженный эндосклероз, сужение просвета маточно-плацентарных артерий, что может приводить к недостаточности инвазии цитотрофобласта, нарушению гестационной перестройки маточно-плацентарных артерий и редукции маточно-плацентарного кровотока, характерных для преэклампсии [1].

При преэклампсии морфологи находят системное поражение материнского и плодового эндотелия сосудов (эндотелиоз), клиническим эквивалентом которого являются признаки дисфункции эндотелия [1]. Плацента в данном случае чаще всего маленькая, с преобладанием хаотичных склерозированных и незрелых ворсин. Первопричиной считается дефицит инвазионной активности цитотрофобласта, недостаточная гестационная перестройка спиральных артерий матки с редукцией маточно-плацентарного кровотока.

Как показали наши собственные исследования, повреждение эндотелия сосудов при преэклампсии носит иммунокомплексный характер. В качестве антигенного компонента в составе иммунных комплексов были обнаружены нейроспецифические антигены NSE (нейроспецифическая енолаза – наиболее специфичный маркер повреждения зрелых дифференцированных нейронов) и GFAP (глиофибрилярно-кислый протеин, маркер повреждения астроцитов). В конечном итоге при преэклампсии развиваются патологические реакции, определяемые как иммунологическое воспаление и некроз [2,3,6].

В соответствии с вышеизложенным, **целью настоящего исследования** явилась сравнительная оценка уровней нейроспецифических белков NSE и GFAP в сыворотке крови здоровых беременных, беременных с преэклампсией и хронической артериальной гипертензией без преэклампсии, а также иммуноморфологическое исследование ткани плацент у женщин с преэклампсией и хронической артериальной гипертензией без преэклампсии.

Основные задачи исследования следующие:

1. Определить уровни NSE и GFAP у здоровых женщин с физиологически протекающей беременностью;
2. Изучить концентрацию NSE и GFAP в сыворотке крови беременных с преэклампсией и хронической артериальной гипертензией без преэклампсии;
3. Доказать специфичность иммунного повреждения сосудов при преэклампсии на основании сравнительного иммуноморфологического исследования ткани плацент у женщин с преэклампсией и хронической артериальной гипертензией.

Материалы и методы исследования

В соответствии с целями и задачами проведено проспективное обследование 21 беременной с хронической артериальной гипертензией (ХАГ) (средний возраст $27,9 \pm 5,8$ лет) и 84 беременных с преэклампсией разной степени тяжести: 1-ю подгруппу составили 25 пациенток с легкой преэклампсией (средний возраст $27,8 \pm 5,3$ года); 2-ю – 31 пациентка с преэклампсией средней степени тяжести (средний возраст $28,3 \pm 6,3$ года); 3-ю – 28 пациенток с тяжелой преэклампсией (средний возраст – $27,2 \pm 6,7$ лет). В конт-

рольную группу вошли 25 здоровых беременных с физиологически протекающей беременностью (средний возраст – $28,5 \pm 6,1$ лет).

Критерии включения беременных в контрольную группу: срок беременности 12 недель и более, физиологическое течение беременности, отсутствие нейроинфекций, черепно-мозговых травм, нейродегенеративных заболеваний, опухолей головного мозга.

Критерии включения пациенток в группу беременных с хронической артериальной гипертензией: повышение АД до беременности или до 20 недель (диагноз установлен терапевтом и подтвержден инструментально), а также отсутствие нейроинфекций, черепно-мозговых травм, нейродегенеративных заболеваний, опухолей головного мозга.

Срок беременности пациенток с хронической артериальной гипертензией при проведении исследования варьировал от 34 до 38 недель (в среднем $35,6 \pm 0,7$ недель); в группе с преэклампсией в 1-й подгруппе – от 35 до 38 недель (в среднем $36,5 \pm 0,9$ недель); во 2-й подгруппе – от 32 до 36 недель (в среднем $34 \pm 1,3$ недели); в 3-й подгруппе – от 26 до 40 недель (в среднем $31,2 \pm 3,8$ недели).

Иммунохимическое исследование проводилось в лаборатории нейрехимии отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии, ФГБУ «Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского» Минздравсоцразвития России (руководитель лаборатории – д.м.н. О.И. Гурина). Исследование включало определение концентрации NSE и GFAP в сыворотке крови пациенток методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) («сэндвич»-вариант).

Забор периферической венозной крови в группе с преэклампсией и хронической артериальной гипертензией осуществляли при поступлении в стационар натошак до начала терапии, в контрольной группе – с 12 недель беременности 1 раз в месяц до родоразрешения. Венозную кровь в объеме 5 мл забирали в сухую пробирку без активатора и стабилизаторов. Образцы крови отстаивали до образования плотного сгустка и центрифугировали при 1000 g в течение 10 минут.

Иммуноморфологическое исследование ткани плацент выполнено у 30 пациенток: 10 из них с артериальной гипертензией без преэклампсии, 20 – с преэклампсией. Применялись иммунопероксидазный и иммунофлуоресцентный методы. В качестве первичных антител использовали моноклональные антитела к IgA, IgM, IgG и NSE (Novocastra, Великобритания). Полученные препараты при проведении иммунопероксидазного метода изучали в световом микроскопе, при иммунофлуоресцентном методе – в люминисцентном микроскопе. Исследование проведено на базе Московского городского центра патологоанатомических исследований при ГКБ №33 (руководитель – главный патологоанатом Департамента здравоохранения г. Москвы д.м.н. проф. О.В. Зайратьянц)

Статистическую обработку полученных данных производили по общепринятому методу вариационной статистики, с вычислением средней арифметической величины (M), ошибки средней арифметической (m), стандартного отклонения (SD). Для определения достоверности разности средних величин использовался критерий Стьюдента (t) для выборок разного объема (n).

Результаты исследования

В контрольной группе концентрация NSE и GFAP в течение беременности достоверно не изменялась, что свидетельствует об отсутствии значительного влияния физиологических изменений при беременности на проницаемость ГЭБ, состояние нейронов и астроцитов головного мозга. Средние уровни исследуемых белков у здоровых беременных женщин с физиологически протекающей беременностью: GFAP $3,72 \pm 0,14$ нг/мл, NSE $12,14 \pm 0,12$ нг/мл.

При исследовании сыворотки крови беременных с преэклампсией выявлено статистически достоверное повышение концентраций GFAP и NSE по сравнению с таковыми у здоровых беременных и беременных с хронической артериальной гипертензией ($p < 0,05$). При этом обнаружена прямая зависимость между тяжестью преэклампсии и уровнем исследуемых белков: при легкой преэклампсии концентрация GFAP составила в среднем $4,5 \pm 0,11$ нг/мл, NSE – $13,2 \pm 0,1$ нг/мл, при преэклампсии средней тяжести – $6,52 \pm 0,2$ нг/мл и $15,1 \pm 0,2$ нг/мл, при тяжелой преэклампсии $10,8 \pm 0,69$ нг/мл и $19,6 \pm 0,52$ нг/мл соответственно.

У беременных с хронической артериальной гипертензией уровни нейроспецифических белков достоверно не отличались от контрольной группы: концентрация GFAP в среднем составила $3,89 \pm 0,17$ нг/мл, NSE – $12,1 \pm 0,12$ нг/мл. Однако эта закономерность была обнаружена лишь у тех пациенток, у которых в дальнейшем не было присоединения симптомов преэклампсии.

Обнаруженные морфологические изменения в ткани плацент у пациенток с преэклампсией и хронической артериальной гипертензией во многом сходны: массивное отложение фибриноида в межворсинчатом пространстве, патологическая незрелость ворсин, расстройство микроциркуляции, склероз, облитерация, сужение просвета, атероматоз артерий. Однако сравнительное иммуноморфологическое исследование ткани плацент с антителами к NSE классов IgA, IgG, IgM показало отложение NSE только при преэклампсии: в ворсинах плаценты, в массах фибриноида, а также по ходу маточно-плацентарных артерий (как миометриального, так и эндометриального сегментов).

В тех наблюдениях, где беременность протекала на фоне хронической артериальной гипертензии без клинических симптомов преэклампсии, NSE в ткани плаценты не выявлена ни в одном микропрепарате.

Обсуждение

Терапия гипертензивных нарушений у беременных в настоящее время носит симптоматический характер, ее целью является предупреждение тяжелых осложнений, обусловленных высоким уровнем артериального давления и сохранение физиологического течения беременности.

Данные морфологов в последние годы свидетельствуют о выраженном патоморфозе преэклампсии и эклампсии в условиях современной комплексной терапии и реанимации: чаще стали встречаться субарахноидальные кровоизлияния и мелкие ишемические инфаркты головного мозга, более тяжелые формы поражения почек и надпочечников, в то же время типичная «экламптическая печень» в настоящее время встречается в три раза реже, чем в 70-е годы [1].

Согласно результатам проведенного нами исследования при хронической артериальной гипертензии у беременных в сыворотке крови и ткани плаценты не были обнаружены нейроспецифические белки, обладающие высокой иммуногенной активностью и способные привести к развитию иммунопатологического процесса [4]. Это свидетельствует о том, что эндотелиальная дисфункция при ХАГ не связана с тяжелым иммунным повреждением эндотелия сосудов макро- и микроциркуляции. Пролонгирование беременности на фоне адекватной гипотензивной терапии и эффективно контролируемого артериального давления при отсутствии признаков страдания плода возможно.

Иная ситуация наблюдается при развитии преэклампсии. До тех пор, пока прогрессирует беременность и жив плод, происходит постоянное поступление нейроантигенов в кровь матери, следовательно, иммунное повреждение эндотелия носит только прогрессирующий характер. Остановить данный процесс может только родоразрешение, которое показано при эклампсии, тяжелой форме преэклампсии и неэффективности терапии умеренной ее формы.

Еще одной отличительной особенностью патогенеза преэклампсии является тяжелая коагулопатия, которая отличается крайней нестабильностью и зависит от тяжести иммунного повреждения эндотелия сосудов микроциркуляции. Недостаточная коррекция гемостазиологических нарушений приводит к описанному выше патоморфозу в почках, надпочечниках, печени, головном мозге, легких и плаценте.

Отсутствие эффекта от проводимой терапии преэклампсии также можно объяснить глубокими морфологическими изменениями эндотелия кровеносных сосудов: набухание эндотелиоцитов, активация пролиферации, разрыхление и слущивание большого количества клеток. При этом в кровотоке обнаруживаются циркулирующие эндотелиальные клетки, потерявшие связь с базальной мембраной. Остальные эндотелиоциты, по сути, находятся в

состоянии преапоптоза [15]. Такой эндотелий, естественно, не может адекватно реагировать на вводимые препараты, и реакция пациентки иногда оказывается непредсказуема.

Таким образом, проведенное исследование позволяет сделать ряд выводов:

- эндотелиальная дисфункция при преэклампсии и ХАГ имеет совершенно различную морфологическую и патогенетическую основу;
- для преэклампсии характерны более тяжелые повреждения эндотелия сосудов в виде набуха-

ния, пролиферации, разрыхления и отрыв эндотелиоцитов от базальной мембраны. Возможная причина описанных изменений – попадание в кровотоки беременной нейроспецифических антигенов (NSE, GFAP), образование иммунных комплексов, активация компонентов комплемента и иммунное повреждение сосудистого эндотелия всех органов-мишеней;

- медикаментозная коррекция эндотелиальной дисфункции при ХАГ возможна, при преэклампсии – малоэффективна.

Литература:

1. Анализ причин материнской смертности. Руководство для врачей. Под редакцией проф. А.П. Милованова. М. 2008; 228 с.
2. Габелова К.А., Арутюнян А.В., Зубжицкая Л.Б., Опарина Т.И., Парусов В.Н. Фиксированные иммунные комплексы и NO-синтетазная активность плаценты при гестозе. Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. 2000; 1: 22-24.
3. Зубжицкая Л.Б., Кошелева Н.Г., Семенов В.В. Иммуноморфологическое состояние плаценты при акушерской патологии. Санкт-Петербург. 2005.
4. Чехонин В.П., Дмитриева Т.Б., Жирков Ю.А. Иммунохимический анализ нейроспецифических антигенов. М. 2000; 416 с.
5. Fabry I.G., Richart T., Cheng X., Van Bortel L.M., Staessen J.A. Diagnosis and treatment of hypertensive disorders during pregnancy. Acta Clin. Belg. 2010 Jul-Aug; 65 (4): 229-36.
6. Feinberg B.B. Preeclampsia: the death of Golliath. Am. J. Reprod. Immunol. 2006 Feb; 55 (2): 84-98.
7. Hutcheon J.A., Lisonkova S., Joseph K.S. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2011 Aug; 25 (4): 391-403.
8. Hypertension in Pregnancy: The Management of Hypertensive Disorders During Pregnancy. NICE Clinical Guidelines, No. 107. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). London: RCOG Press; August 2010.
9. Jim B., Sharma S., Kebede T., Acharya A. Hypertension in pregnancy: a comprehensive update. Cardiol. Rev. 2010 Jul-Aug; 18 (4): 178-89.
10. Karthikeyan V.J., Lip G.Y. Endothelial damage/dysfunction and hypertension in pregnancy. Front. Biosci. (Elite Ed). 2011 Jun 1; 3: 1100-8.
11. Lazdam M., Davis E.F., Lewandowski A.J., Worton S.A. et al. Prevention of Vascular Dysfunction after Preeclampsia: A Potential Long-Term Outcome Measure and an Emerging Goal for Treatment. Journal of Pregnancy. 2012, Article ID 704146, 8 p.
12. Thiele V., Schlitt A. Hypertensive diseases in pregnancy. Internist (Berl.). 2008 Jul; 49 (7): 811-6.
13. Uzan J., Carbonnel M., Piconne O., Asmar R., Ayoubi J.-M. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis and management. Vascular Health and Risk Management 2011; 7: 467-474.
14. Ycesoy G., Ozkan S., Bodur H., Tan T., Caliskan E., Vural B., Corakci A. Maternal and perinatal outcome in pregnancies complicated with hypertensive disorder of pregnancy: a seven year experience of a tertiary care center. Arch Gynecol. Obstet. 2005 Nov.; 273 (1): 43-9.
15. Yulug E., Yenilmez E., Unsal M.A., Aydin S., Tekelioglu Y., Arvas H. Apoptotic and morphological features of the umbilical artery endothelium in mild and severe pre-eclampsia. Acta Obstetrica et Gynecologica. 2006; 85: 1038-1045.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF MOLECULAR AND IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF IMMUNE ENDOTHELIAL DAMAGE IN PREGNANTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION AND PREECLAMPSIA

Sidorova I.S., Unanayan A.L., Nikitina N.A., Rzaeva A.A., Kinyakin V.V.

GBOU VPO «First MSMU named after I.M. Sechenov» Ministry of Health and Social Development of Russia, Moscow

Abstract: prospective examination of 21 pregnant women with chronic arterial hypertension, 81 pregnant women with preeclampsia of various degree of severity and 25 healthy pregnant women was conducted. Comparative assessment of neurospecific proteins NSE and GFAP in blood serum and also immunomorphologic investigation of placenta tissue in women with hypertension and preeclampsia was demonstrated. Compared to blood serum and placenta tissue taken from women with preeclampsia, in women with arterial hypertension neurospecific proteins with high immunogenic activity that may lead to development of severe immunopathologic process were not discovered. Pregnancy prolongation with adequate hypotensive therapy and good blood pressure control is possible. Development of preeclampsia is associated with sudden increase in neurospecific protein levels, severe immune endothelial damage of macro- and microcirculation vessels; To stop the progression of this process is possible only with delivery, that is indicated in case of eclampsia, severe preeclampsia and in its moderate forms ineffective treatment.

Key words: preeclampsia, arterial hypertension, endotheliosis, neurospecific proteins.