

УДК 618.33-005.6:616.831:612.014.464

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ГИПОКСИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ВНУТРИУТРОБНОГО ПЛОДА И НОВОРОЖДЕННОГО ПРИ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ

И.Р. Ижедерова¹, Л.Н. Иванов², Т.Н. Охотина¹,

¹ГОУ «Институт усовершенствования врачей Министерства здравоохранения и социального развития Чувашской Республики»,

²ГОУ ВПО «Чувашский государственный университет», г. Чебоксары

Ижедерова Ирина Руфовна – e-mail: izhederova-irina@rambler.ru

Проведено исследование люминесцентно-гистохимическими методами плацент родильниц с нормально протекающей беременностью и родильниц, беременность которых протекала на фоне антифосфолипидного синдрома. Была выявлена более высокая интенсивность люминесценции гистамина, катехоламинов и серотонина. Особенно выраженные изменения выявлены для гистамина. Выявлена взаимосвязь содержания биогенных аминов в плаценте с гипоксическими повреждениями внутриутробного плода и новорожденного при антифосфолипидном синдроме.

Ключевые слова: плацента, гистамин, катехоламины, серотонин, антифосфолипидный синдром, новорожденный.

Here are the results of studying the levels of histamine, serotonin, and catecholamines of placentas of women with pregnancy normal and pregnancy complications antiphospholipid syndrome (APS). Women with APS have high levels of bioamins. Histamin have the much more high indicators of changes. Revealed that the high concentrations of placentas bioamins concern with hypoxial prenatal traumas of fruits and newborns in APS.

Key words: placenta, histamine, serotonin, catecholamines, antiphospholipid syndrome, newborn.

Введение

Антифосфолипидный синдром (АФС) занимает ведущее место среди важнейших актуальных проблем современного акушерства. Данный синдром является причиной высокой частоты осложнений течения беременности. АФС неблагоприятно влияет не только на течение беременности, но и на состояние внутриутробного плода [1, 2]. При беременности, протекающей на фоне АФС, в кровотоке матери циркулируют антифосфолипидные антитела, свободно проникающие в кровотоки плода через поры трофобласта после 15 недель беременности, оказывают повреждающее действие на ткани плода [1]. Публикации, посвященные ассоциации неонатальных поражений и циркуляции АФА, относительно немногочисленны.

Целью исследования явилось изучение особенностей развития гипоксических повреждений внутриутробного плода и новорожденного при антифосфолипидном синдроме.

Материалы и методы

Исследовали нефиксированные криостатные срезы плаценты двух групп родильниц. В первую группу (основную) вошли 53 женщины, беременность которых протекала на фоне АФС, от 20 до 39 лет, получавшие лечение. Средний возраст женщин основной группы составил 30,4±4,6 года. Во вторую (контрольную) – 55 женщин, беременность которых протекала без АФС, в возрасте от 21 до 43 лет. Средний возраст пациенток составил – 27,9±4,3 года. Все беременные наблюдались в клинко-диагностическом отделении ГУЗ «Президентский перинатальный центр» г. Чебоксары.

Для постановки диагноза: «антифосфолипидный синдром» служили классификационные критерии АФС, принятые на XI Международном конгрессе по АФА (2005 г.).

Для изучения брались кусочки ткани плацент сразу после родов в родильном зале или в операционной и замораживались при -20°C. Затем делались криостатные срезы толщиной 20 мкм, высушивались на воздухе в течение 40 мин. Готовые срезы обрабатывали гистохимическими методами (люминесцентно-гистохимический метод Кросса-Эвена-Роста [3] для дифференцировки гистамина; люминесцентно-гистохимический метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной с соавт. [4] для выявления катехоламинов и серотонина) на кафедре цитологии, эмбриологии и гистологии медицинского факультета Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова. Материал изучался на люминесцентном микроскопе «ЛЮОМ-ИЗ» с набором светофильтров, адекватных режиму флуоресценции биоаминов. Цитоспектрофлуориметрия проводилась при помощи установленной на люминесцентном микроскопе «ЛЮОМ-ИЗ» фотометрической насадки «ФМЭЛ-1А» при выходном напряжении 600В. Для определения интенсивности свечения использованы интерференционные фильтры: № 7 (517 нм) для гистамина, № 8 (525 нм) для определения серотонина и фильтр № 6 (480 нм) для катехоламинов. Интенсивность свечения биоаминов измерялась в условных единицах (у. е.) по шкале цифрового вольтметра. Проводилось по 10 измерений в каждой структуре исследуемых срезов плацент при каждом методе исследования.

Обследовано 108 новорожденных от обследованных матерей, которые также были разделены на 2 группы. Роды протекали в родильном отделении ГУЗ «Президентский перинатальный центр» и МУЗ «Городской перинатальный центр» г. Чебоксары. Новорожденных сразу после родов оценивали по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах жизни, определяли массу и длину тела. Всем новорожденным на 2–3-и сутки жизни проводилось УЗИ-исследование головного мозга и внутренних органов на аппарате «Aloka 1400».

Все полученные цифровые данные статистически обработаны с использованием пакета компьютерных программ прикладного статистического анализа (STAT-GRAPHS v.7.0; Statistica for Windows v.6.0). Для статистической обработки результатов вычислялись следующие показатели: средняя арифметическая, стандартная ошибка средней, критерий Стьюдента. Корреляционный анализ проводился непараметрическим методом Спирмена.

Результаты исследования

При обработке препаратов методом Crossa et al. (1971) гистамин в структурах плаценты выявлялся в двух состояниях – диффузном и сконцентрированном. В плацентах диффузное свечение характерно для стромальных элементов децидуальной ткани, хориальной пластинки и терминальных ворсинок, но наиболее интенсивную, визуально наблюдаемую изумрудно-зеленую люминесценцию имели стенки кровеносных сосудов хориальной пластинки и синцитиотрофобласт. Диффузное свечение, регистрируемое в крупных сосудах, выявлялось во всех слоях сосудистой стенки.

При цитоспектрофлуориметрии плацент, обработанных парами ортофталового альдегида для выявления гистаминпозитивных структур (интерференционный фильтр № 7 с длиной волны 517), нами выявлено, что в контрольной группе более высокое содержание диффузного гистамина в стенках кровеносных сосудов хориальной пластинки, в капиллярах терминальных ворсинок и в синцитиотрофобласте, которое составляет $129,49 \pm 10,71$; $133,55 \pm 11,01$ и $145,54 \pm 7,99$ усл. ед. соответственно. При цитоспектрофлуориметрии плацент женщин, беременность которых проходила на фоне АФС, максимальное содержание диффузного гистамина зарегистрировано в стенках кровеносных сосудов хориальной пластинки, капилляров терминальных ворсинок и в синцитиотрофобласте, составляя при этом $390,84 \pm 29,69$; $330,33 \pm 42,45$ и $324,82 \pm 33,93$ усл. ед. соответственно. Практически во всех люминесцирующих структурах плацент женщин, беременность которых протекала на фоне АФС: децидуальной ткани, хориальной пластинке, сосудах и капиллярах, синцитиотрофобласте, соединительной ткани терминальных ворсин имеет место более высокая интенсивность люминесценции гистамина по сравнению с люминесценцией в плацентах контрольной группы. Эти изменения были статистически достоверны ($p < 0,01$) и превышали контрольные цифры в 2–3 раза.

При микрофлуориметрии плацент методом Falka проведена качественная идентификация и количественная оценка содержания катехоламинов (интерференционный фильтр № 6 с длиной волны 480 нм) и серотонина (фильтр № 8 с длиной волны 525 нм).

В плацентах женщин контрольной группы максимальное содержание катехоламинов выявлено в стенках кровеносных сосудов и в строме децидуальной ткани: $12,5 \pm 0,61$ и $10,68 \pm 0,74$ усл. ед. соответственно. В плацентах женщин, беременность которых протекала на фоне АФС, максимальное содержание катехоламинов было выявлено в строме хориальной пластинки, в стенках кровеносных сосудов хориальной пластинки и в синцитиотрофобласте: $15,46 \pm 0,65$; $15,53 \pm 0,83$ и $17,07 \pm 1,52$ усл. ед. соответственно.

Исследование распределения серотонина показало, что в биоаминсодержащих структурах материнской и плодной частей плацент контрольной группы максимальный уровень люминесценции определен в стенках капилляров терминальных ворсин и в синцитиотрофобласте $59,84 \pm 5,14$ и $58,06 \pm 2,86$ усл. ед. соответственно. В плацентах женщин, беременность которых протекала на фоне АФС, содержание серотонина было выше, чем в контрольной группе.

Новорожденные основной группы имели более низкую массу и длину тела при рождении, достоверно более низкие (на балл) показатели оценки по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах.

При ультразвуковом исследовании сердца и головного мозга у 5 новорожденных (10%), рожденных от женщин с АФС, выявлены внутричерепные кровоизлияния, у 7 (14%) – псевдокисты мозга, у 6 (12%) – открытое овальное окно. В реанимационное отделение переведены 6 новорожденных (12%) по поводу синдрома дыхательных расстройств. В группе новорожденных, беременность матерей которых протекала без АФС, обнаружено: открытое овальное окно у 1 ребенка (3%); псевдокисты мозга у 4 новорожденных (8%).

Внутриутробная гипотрофия установлена как в основной, так и в контрольной группе у 12 (25%) и 8 новорожденных (14%) соответственно. При ультразвуковом исследовании плода в III триместре ЗВУР выявлено в 6 раз чаще в основной группе.

Среди детей, матери которых вынашивали беременность на фоне АФС, в 2,7 раза чаще встречались перинатальные гипоксически-ишемические поражения ЦНС – 48%, в контрольной группе – 21%. Видимо, поэтому количество детей, переведенных на второй этап выхаживания (в ОПН или ОНН), в основной группе было больше – 34 ребенка (70%), тогда как в контрольной – 8 детей (17%). В первые сутки 11% детей, матери которых вынашивали беременность на фоне АФС, переведены в реанимационное отделение по поводу синдрома дыхательных расстройств, где новорожденным проводилась искусственная вентиляция легких. Дети контрольной группы не нуждались в реанимационной помощи.

При исследовании ассоциативных связей состояния новорожденных и содержания биологически активных веществ в

плаценте выявлена достоверная умеренная отрицательная связь оценки новорожденного по Апгар на 1-й минуте жизни с содержанием гистамина, серотонина и катехоламинов в хориальной пластинке, гистамина в структурах децидуальной ткани и стенках кровеносных сосудов, катехоламинов в строме терминальной ворсинки (таблица 1); достоверная слабая положительная связь синдрома дыхательных расстройств новорожденных и содержания тканевого гистамина и серотонина в децидуальной ткани, гистамина и катехоламинов в кровеносных капиллярах и строме терминальных ворсинок (таблица 2).

ТАБЛИЦА 1.

Ассоциации состояния новорожденных и содержания биологически активных веществ в плаценте

Оценка по Апгар на 1-й минуте	N	R	T(N-2)	p-level
Гистамин (децидуальная ткань)	89	-0,36	-3,63	<0,001
Гистамин (хориальная пластинка)	96	-0,29	-2,99	<0,005
Гистамин (стенка кровеносных сосудов)	90	-0,31	-3,06	<0,005
Серотонин (хориальная пластинка)	95	-0,26	-2,66	<0,01
Катехоламины (хориальная пластинка)	93	-0,35	-3,66	<0,001
Катехоламины (терминальная ворсинка)	95	-0,28	-2,91	<0,005

ТАБЛИЦА 2.

Ассоциации синдрома дыхательных расстройств новорожденных и содержания биологически активных веществ в плаценте

Синдром дыхательных расстройств новорожденных	N	R	T(N-2)	p-level
Гистамин (децидуальная ткань)	89	0,23	2,15	<0,05
Гистамин (кровеносные капилляры)	86	0,21	2,01	<0,05
Серотонин (децидуальная ткань)	84	0,23	2,19	<0,05
Катехоламины (кровеносные капилляры)	86	0,23	2,21	<0,05
Катехоламины (терминальная ворсинка)	84	0,23	2,16	<0,05

Внутричерепные кровоизлияния у новорожденных имели умеренную положительную связь с содержанием гистамина в кровеносных капиллярах ($R=0,25$; $p<0,05$) и строме терминальных ворсинок ($R=0,21$; $p=0,05$), содержанием катехоламинов в фибриноиде ($R=0,32$; $p<0,01$) (таблица 3).

ТАБЛИЦА 3.

Ассоциации внутричерепных кровоизлияний у новорожденных и содержания биологически активных веществ в плаценте

Внутричерепные кровоизлияния	N	R	T(N-2)	p-level
Гистамин (кровеносные капилляры)	78	0,25	2,25	<0,05
Гистамин (терминальная ворсинка)	77	0,21	1,93	0,05
Катехоламины (фибриноид)	86	0,32	2,78	<0,01

ТАБЛИЦА 4.

Ассоциации синдрома угнетения ЦНС у новорожденных и содержания биологически активных веществ в плаценте

Синдром угнетения ЦНС у новорожденного	N	R	T(N-2)	p-level
Серотонин (децидуальная ткань)	76	0,3	2,79	<0,01
Серотонин (синцитиотрофобласт)	67	0,28	2,37	<0,05
Катехоламины (хориальная пластинка)	75	0,31	2,84	<0,01

Уровень серотонина в децидуальной ткани, синцитиотрофобласте, катехоламинов в терминальной пластинке ассоци-

ирован с синдромом угнетения ЦНС новорожденного: $R=0,30$, $p<0,01$; $R=0,28$, $p<0,05$; $R=0,31$, $p<0,05$ (таблица 4).

Исследование ассоциации между содержанием биогенных аминов в структурах плаценты с конъюгационной желтухой и гипербилирубинемией у новорожденных не зафиксировало такой связи.

Обсуждение результатов

По результатам исследования установлено, что при АФС интенсивность люминесценции гистамина статистически достоверно выше по сравнению с контролем. Мы считаем, что повышенное содержание гистамина в этой ситуации является результатом аутоиммунной патологии. Отсутствие в плаценте какой бы то ни было иннервации неоспоримо доказывает важную роль биологически активных веществ в механизме реализации патологического действия АФА на клеточные мембраны (гуморальный способ регуляции) [5,6]. В плацентарном кровотоке происходит активация системы комплемента под действием АФА. Это способствует привлечению моноцитов, нейтрофилов, тучных клеток, из которых высвобождается большое количество биологически активных веществ. При этом гистамин оказывает свое отрицательное действие на плацентарную ткань, вызывая повышение проницаемости сосудов, сокращение гладкой мускулатуры, приводит к развитию плацентарной недостаточности. По результатам исследования катехоламинов, их интенсивность люминесценции при АФС выше, чем при нормально протекающей беременности. В работе Любовцевой Л.А. [7] показано стимулирующее влияние гистамина на высвобождение серотонина и норадреналина. Это может служить одной из причин более высокого содержания катехоламинов и серотонина в плацентах женщин, беременность которых протекала на фоне АФС. Основным источником серотонина в плаценте являются эндотелий кровеносных сосудов и тромбоциты. Компоненты комплемента могут активировать эндотелий как непосредственно, так и опосредованно, за счет активации тромбоцитов и фагоцитов. Агрегация тромбоцитов, в свою очередь, сопровождается реакцией освобождения из них биологически активных веществ, которые сами по себе вызывают дальнейшую активацию тромбоцитов с гипоагрегацией и вазоконстрикцией.

Повреждения эндотелия при циркуляции АФА достоверно подтверждаются у взрослых. Логично предположить, что подобные изменения могут возникнуть и у плода, вызывая более выраженные микротромботические, воспалительные и гипоксические повреждения в незрелых и, следовательно, менее защищенных тканях плода.

Таким образом, более высокое содержание биогенных аминов в структурах плаценты связано с тяжестью асфиксии при рождении и более неблагоприятным течением периода адаптации новорожденного.

Наибольшее повышение при АФС характерно для гистамина, что может быть использовано в качестве дополнительного диагностического критерия нарушения функции

плаценты для выявления группы новорожденных высокого риска развития патологии в неонатальный период и период новорожденности.



ЛИТЕРАТУРА

1. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Баймурадова С.М., Долгушина Н.В., Юдаева Л.С., Хизроева Д.Х., Акиншина С.В. Антифосфолипидный синдром – иммунная тромбофилия в акушерстве и гинекологии. М., «Триада-Х», 2007. 456 с.
2. Bick R.L. The Antiphospholipid Thrombosis Syndromes: A common multidisciplinary Medical problem. //Clin. Appl. Thromb.Hemost. 1997. № 3 (4). P. 270–283.

3. Cross S.A., Ewen S.W., Rost F.W. A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthaldehyde or acetaldehyde. //Histochem. J. 1971. V. 3. № 6. P. 471–476.

4. Крохина Е.М., Александров П.Н. Симпатический (адренергический) компонент эффективной иннервации сердечной мышцы. //Кардиология. 1969. № 3. С. 97–104.

5. Цирельников Н.И. Гистофизиология плаценты человека. //Новосибирск. 1980. 184 с.

6. Самойлова А.В. Акупунктура в профилактике преждевременных родов и ее влияние на биоаминное обеспечение плаценты. //Авторреф. дис.... к. м. н. Чебоксары. 1993. 23 с.

7. Любовцева Л.А. Люминесцентно-гистохимическое исследование амин-содержащих структур костного мозга, тимуса и крови при действии нейромедиаторов и антигенов. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1993. 100 с.