

Еснаева Р.Н.

**ЖАҢЫДАН ТӨРӨГӨН АЯЛДАРДЫН ОРТОЧО
ТӨРӨТ ЖАНА АКУШЕРДИК КАН АГУУЛАР МЕЗГИЛИНДЕГИ
ИММУНДУК МАКАМЫНЫН ӨЗГӨЧӨЛҮКТӨРҮ**

Еснаева Р.Н.

**ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА РОДИЛЬНИЦ
В НОРМЕ И ПРИ АКУШЕРСКИХ КРОВОТЕЧЕНИЯХ**

Еснаева Р.Н.

**ЖАҢАДАН БОСАНҒАН ӘЙЕЛДЕРДІҢ ҚАЛЫПТЫ
ТҮРДЕГІ ЖӘНЕ АКУШЕРЛІК ҚАН КЕТУЛЕР КЕЗІНДЕГІ
ИММУНДУҚ ЖАҒДАЙЫНЫҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ**

R.N. Yespaeva

**FEATURES OF IMMUNE STATUS OF PARENTAL WOMEN
IN NORMAL AND OBSTETRIC BLEEDING**

УДК: 618.6/-055.25-005.1

Босанудан кейінгі кезеңнің аяғында және босанудан кейін 5-6 күннен соң қан кетумен асқынған патологиялық босанулар мен қалыпты босанулар кезіндегі, жаңадан босанған әйелдердің иммундық жағдайына зерттеу жүргізілді. Зерттеуге арналған лимфоциттерді перифериялық қаннан алып және ары қарай CD3; CD4; CD8; CD16; CD19; CD25; CD95: HLA-DR деген антигендері FITS белгіленген, сондай-ақ CD-25 және CD95 антигендеріне қатысты PE белгіленген көпарналы антиденелердің коммерциялық жинақтарын қолдана отырып, BO Blosclences (АҚШ) аппаратында ағынды цитометрия тәсілімен зерттеу жүргізілді. Физиологиялық босану түрі бар 45 жаңадан босанған әйелдер бақылау тобына кіріп; консервативті гемостазы бар біркелкі қан кету болған - 43 жаңадан босанған әйелдер салыстыру тобын құрап және гистерэктомиа көлемінде хирургиялық гемостаз жүргізілген, ауқымды қан кету болған 32 жаңадан босанған әйелдер негізгі топты құрады. Гистерэктомиамен жалғасып, ауқымды қан кету болған жаңадан босанған әйелдерде, босанудан кейінгі кезеңнің алғашқы күндерінде жасушалық, сондай-ақ иммунитеттің гуморальдық бөлігінің терең депрессиясы байқалады. Тіпті босанудан кейінгі кезеңнің аяғында, оларда иммунитеттің жасушалық бөлігінің функционалдық белсенділігі мен CD19+CD3- және CD3+HLA-DR+ (құрамында В-лимфоциттерінің маркерлері мен олардың активациясы бар) жасушалар құрамының төмендегендігі байқалып, сондай-ақ апоптоз деңгейін сипаттайтын жасушалар деңгейінің жоғарылағандығы байқалды. Мұнымен қатар, бірқалыпты қан кеткен жаңадан босанған әйелдердің иммундық жағдайы, босанудан кейінгі кезеңнің аяғында қалпына келді.

Түйінді сөздер: алғаш рет босанатын әйелдер, акушерлік қан кетулер, жаңадан босанған әйел, босанудан кейінгі кезең, хирургиялық гемостаз, гистерэктомиа, иммундық жағдай.

Проводилось изучение иммунного статуса родильниц при нормальных и патологических родах, осложненных кровотечением, через 5-6 дней после родов и в конце послеродового периода. Лимфоциты для исследования получали из периферической крови и в дальнейшем изучали методом проточной цитометрии на аппарате BO Blosclences (США) с использованием коммерческих наборов моноклональных антител, меченных FITS, к следующим антигенам: CD3; CD4; CD8; CD16; CD19; CD25; CD95: HLA-DR; а также меченных PE к антигенам CD-25 и CD95. В контрольную группу вошли 45 родильниц с физиологическими родами; в группу сравнения - 43 родильницы, перенесших умеренную кровопотерю с консервативным гемостазом и 32 родильницы с массивным кровотечением составили основную группу, которым был проведен хирургический гемостаз в объёме гистерэктомии. У родильниц, перенесших массивную кровопотерю с последующей гистерэктомией, в первые дни послеродового периода отмечалась глубокая депрессия как клеточного, так и гуморального звена иммунитета. Даже к концу послеродового периода у них отмечалось снижение функциональной активности клеточного звена иммунитета и содержание клеток CD19+CD3- и CD3+HLA-DR+ (содержащих маркеры В-лимфоцитов и их активации), а также повышение уровня клеток, характеризующих уровень апоптоза. В то время как у родильниц с умеренной кровопотерей иммунный статус восстановился к концу послеродового периода.

Ключевые слова: *первородящие женщины, акушерские кровотечения, родильница, послеродовый период, хирургический гемостаз, гистерэктомия, иммунный статус, клеточное и гуморальное звено иммунитета.*

Conducted a study of the immune status of puerpera during normal and pathological labor, complicated by bleeding, 5-6 days after birth and at the end of the postpartum period. Lymphocytes for the study were obtained from peripheral blood and were further studied by flow cytometry using a BO Biosciences apparatus (USA) using commercial FITS-labeled monoclonal antibodies to the following antigens: CD3; CD4; CD8; CD16; CD19; CD25; CD95; HLA-DR; as well as PE-labeled antigens CD-25 and CD95. The control group included 45 puerperas with physiological childbirth; in the comparison group - 43 puerperas who had moderate hemorrhage with conservative hemostasis and 32 puerperas with massive bleeding constituted the main group, who underwent surgical hemostasis in the hysterectomy volume. In puerperal women who suffered massive blood loss with subsequent hysterectomy, in the first days of the postpartum period, there was a deep depression of both cellular and humoral immunity. Even by the end of the postpartum period, they had a decrease in the functional activity of the cellular immunity and the content of CD19 + CD3- and CD3 + HLA-DR + cells (containing B-lymphocyte markers and their activation), as well as an increase in the level of cells that characterize apoptosis. While for puerperal women with moderate blood loss, their immune status was restored by the end of the postpartum period.

Key words: *primiparous women, obstetric hemorrhages, puerperal, postpartum period, surgical hemostasis, hysterectomy, immune status.*

Введение. Послеродовый период, как ключевая стадия гестационного процесса, характеризуется целым рядом особенностей. Значительным изменениям в послеродовом периоде подвергается ряд систем, в т.ч. и иммунный статус родильницы.

Иммунная система является одной из интегративных систем организма, которая вместе с нервной и эндокринной системами обеспечивает поддержание гомеостаза в условиях постоянного изменения характера влияний факторов внешней и внутренней среды. Если нервная система обеспечивает немедленную адаптацию к изменению условий, а ответ эндокринной системы растянут во времени и может длиться месяцы и годы, то иммунная система обеспечивает перманентный контроль за поддержанием антигенного гомеостаза в течение всей жизни человека [1].

Состояние иммунологической реактивности в значительной степени определяет течение и

исход многих заболеваний [2]. Иммунная система является важнейшим фактором, направленным на сохранение гомеостаза организма при различных патологических состояниях, в том числе и при кровотечениях.

Среди различных акушерских осложнений, возникающих в родах и раннем послеродовом периоде, кровотечения продолжают занимать одно из ведущих мест. Частота кровотечений в послеродовом и раннем послеродовом периодах колеблется от 2,5 до 8% [3]. Кровотечения в раннем послеродовом периоде наблюдаются в 2,2% случаев, у первородящих кровотечения развиваются в 0,3% наблюдений, у многорожавших женщин в 4% случаев и более. При послеродовых кровотечениях гистерэктомия производится в 0,1% случаев, в 0,27% - после операции кесарева сечения [3,4].

Острая массивная кровопотеря в родах развивается на рубеже важной иммунологической перестройки в организме беременной женщины: перехода от иммунодепрессии к иммуностимуляции. В свою очередь острая кровопотеря и ее лечение способны воздействовать на иммунологическую систему [5,6].

Оценка фенотипического профиля иммунокомпетентных клеток в циркуляции, процессы их активации, динамика исследования позволяют глубже раскрыть возможные нарушения иммунного статуса, что даст возможность объективизации применения соответствующих методов коррекции [7].

Цель исследования. Оценка иммунного статуса соматически здоровых первородящих женщин в послеродовом периоде в условиях перенесенной кровопотери разной степени тяжести.

Материал и методы исследования. Для решения этой задачи были выделены три группы родильниц: В первую группу вошли 45 родильниц с физиологической кровопотерей (контрольная группа), во-вторую группу вошло 43 женщины, перенесших в родах умеренную кровопотерю, которым проводился консервативный гемостаз. Тогда как в третью группу было включено 32 родильницы, у которых роды осложнились массивным кровотечением, по поводу чего им была проведена гистерэктомия. Исследование иммунного статуса проводили на 5-6 день после

родов и в конце послеродового периода – через 6-8 недель.

Лимфоциты для исследования получали из периферической крови и в дальнейшем изучали методом проточной цитометрии на аппарате BO Bioscences (США) с использованием коммерческих наборов моноклональных антител, меченных FITS, к следующим антигенам: CD3; CD4; CD8; CD16; CD19; CD25; CD95; HLA-DR; а также меченных PE к антигенам CD-25 и CD95 [8,9,10]. Полученные в ходе исследования иммунологические данные сравнивались с референтными значениями уровня маркеров субпопуляций лимфоцитов здоровых родильниц [7,10].

Результаты исследования. Проведенное исследование показало, что на 5-6 день после родов у родильниц выделенных групп изменения со стороны иммунной системы имели разнонаправленный характер (таблица 1). Так, у женщин первой группы достоверные изменения были обнаружены только в относительном содержании клеток с дифференцированными маркерами Т-хелперов и В-лимфоцитов, количество которых достоверно увеличилось. У родильниц второй группы достоверных отличий в содержании

этих субпопуляций выявлено не было, а у женщин третьей группы их содержание, наоборот, достоверно снизилось (соответственно до $30,0 \pm 1,2\%$ и $4,2 \pm 0,07\%$). В относительном содержании активационных маркеров лимфоцитов (ЛФ) женщин первых двух групп достоверные изменения не обнаруживались. Так, в первой группе уровень CD25, CD95, CD3+HLA-DR+ и CD19 HLA-DR+ ЛФ составил соответственно $7,9 \pm 1,9\%$, $7,0 \pm 0,6\%$; $10,5 \pm 1,3\%$ и $11,6 \pm 2,0\%$, что не имело достоверных отличий от референтных значений ($p > 0,05$). Во второй группе содержание этих субпопуляций составило соответственно $10,0 \pm 1,7\%$; $7,1 \pm 0,8\%$; $12,2 \pm 2,8\%$ и $13,8 \pm 2,9\%$, что также не имело достоверных отличий от референтных значений. Как видно из данных, представленных в таблице 1, достоверное снижение относительного содержания ЛФ как с активационными, так и с дифференцировочными маркерами на этом этапе исследования было зафиксировано только у родильниц третьей группы, перенесших не только массивное кровотечение, но и гистерэктомию.

Таблица 1

Субпопуляционный профиль лимфоцитов родильниц на 5-6 день после родов

Профиль лимфоцитов	Первая группа N=45 %	Вторая группа N=43 %	Третья группа N=32 %	Референтные значения %
CD3+CD19-	64,6±5,5	75,7±2,2	47,8±2,1*	60-80
CD4+CD8-	59,0±3,2*	30,9±1,3*	29,0±1,2*	40-50
CD8+CD4-	28,2±1,3	26,6±2,6	13,7±2,7*	26-28
CD16+CD3+	10,7±0,4	11,5±0,8	7,6±0,2*	10-12
CD56+CD3+	3,7±0,4	4,4±1,9	2,7±0,4*	3-5
CD19+CD3-	16,09±1,4*	12,12±0,9*	4,2±0,07*	8-13
CD25+CD3+	7,9±1,9	10,0±1,7	5,1±0,8*	8-9
CD95+CD3+	7,0±0,6	7,1±0,8	3,9±0,2*	5-7
CD3+HLA-DR+	10,5±1,3	12,2±2,8	8,9±0,6*	10-12
CD19 HLA-DR+	11,6±2,0	13,8±2,9	6,9±0,7*	8-13
ИРИ	1,74±0,01	1,76±0,03	2,19±0,05*	1,75-1,79
Индекс апоптоза	0,89±0,02	0,79±0,06	0,76±0,01*	0,63-0,78

Примечание: * достоверность $p < 0,05$ по сравнению с референтными значениями.

Рисунки 1 и 2 хорошо иллюстрируют выявленные различия в субпопуляционном составе лимфоидных клеток периферической крови в раннем послеродовом периоде у женщин выделенных групп.

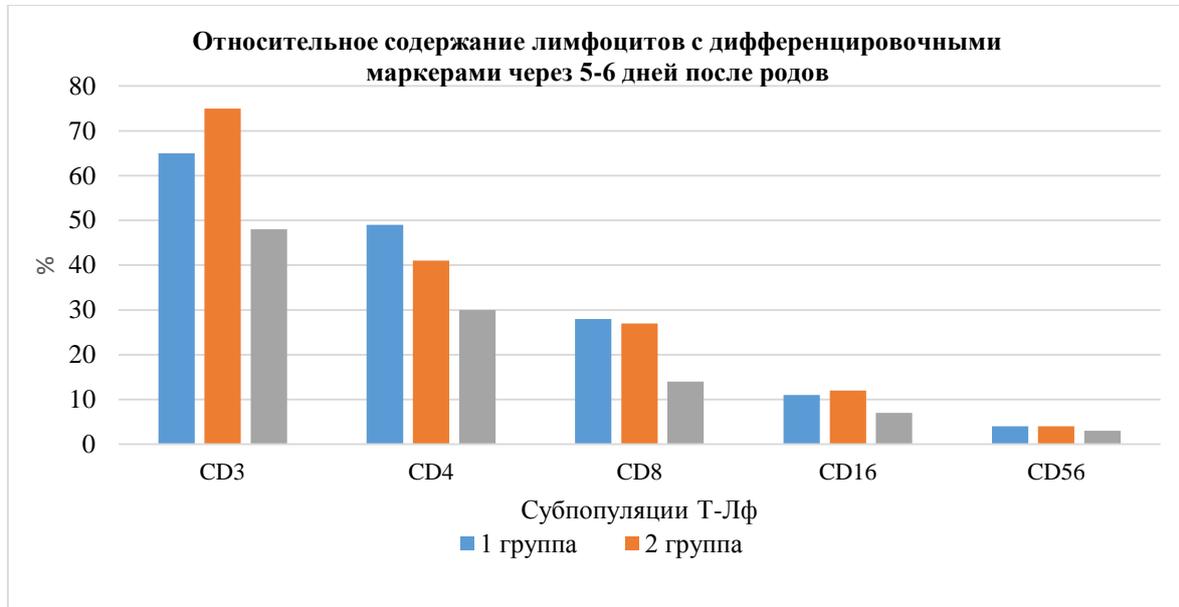


Рисунок 1.

Выявленные изменения в относительном содержании субпопуляций Т-ЛФ привели к достоверному увеличению величины индекса ИРИ у рожениц третьей группы до $2,19 \pm 0,03$ ($p < 0,05$) за счет более значительного уменьшения содержания клеток с фенотипом CD8+,

чем CD4+. Индекс апоптоза при этом остался в пределах референтных значений за счет равномерного снижения количества субпопуляций клеток как с фенотипом CD95+, так и с фенотипом CD25+.

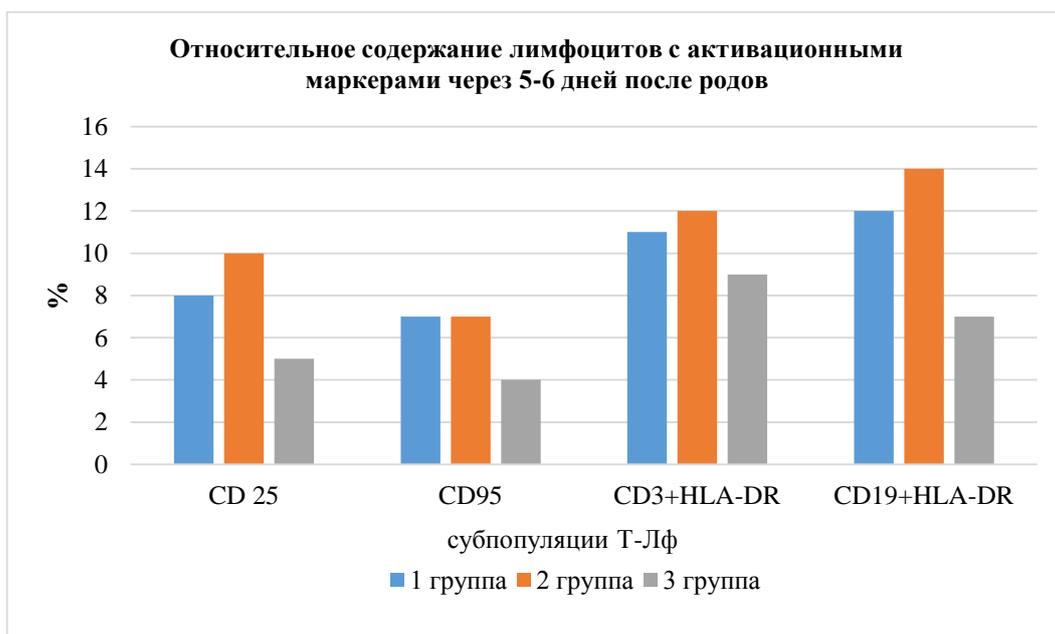


Рисунок 2.

Таким образом, на 5-6 день послеродового периода у здоровых женщин, перенесших роды без патологии, изменения иммунного статуса ограничивались достоверным увеличением относительного содержания ЛФ с такими дифференцированными маркерами как CD4+ и CD19+. В случае, если роды осложнились небольшим кровотечением, такого повышения клеток с указанным фенотипом выявить не удалось, а обнаруженные изменения имели недостоверный характер ($p > 0,05$). В третьей группе, в которую входили родильницы, перенесшие в родах массивное акушерское кровотечение и последовавшую за ним гистерэктомию, наблюдалось достоверное снижение клеток с этими фенотипами. Так как известно, что клетки с этими маркерами являются активаторами В-лимфоцитов и стимулируют антителообразование, можно предположить, что повышение их у здоровых родильниц было связано со становлением лактации и поступлением в грудное молоко иммуноглобулинов различных классов [7]. Отсутствие их достоверного повышения у женщин второй группы показывает, что даже небольшое кровотечение в ходе родов может изменить иммунный статус родильниц, отменяя стимулирующий эффект на отдельные субпопуляции ЛФ. Тяжелая кровопотеря еще более усугубляла изменения иммунного статуса, приводя к выраженному угнетению иммунного ответа за счет достоверного снижения содержания всех видов изученных субпопуляций ЛФ как

с дифференцированными, так и с активационными маркерами.

В конце послеродового периода, который приходился на 6-8 неделю после рождения ребенка, были выявлены иные закономерности в субпопуляционном составе ЛФ периферической крови. Так, наибольшие изменения в этот период наблюдения выявлялись у родильниц 3 группы. Как видно из данных, представленных в таблице 2, в это время у женщин, перенесших массивное кровотечение, иммунный ответ оставался подавленным за счет сохраняющегося снижения относительного содержания всех изученных субпопуляций ЛФ. Рассчитанный по соотношению CD4+ и CD8+ клеток индекс ИРИ демонстрировал субпопуляционный сдвиг в сторону преобладания клеток с супрессорной активностью, что объясняло низкий иммунный ответ.

Таким образом, через 6-8 недель после родов, иммунный статус женщин первой группы, как и ранее, не имел достоверных отличий от референтных значений. У родильниц второй группы в это время можно было говорить о восстановлении иммунного статуса. Это подтверждалось нормализацией относительного содержания ЛФ как с дифференцированными, так и с активационными маркерами, количество которых в этот срок исследования не имело достоверных отличий от референтных значений (табл. 2).

Таблица 2

Субпопуляционный профиль лимфоцитов родильниц через 6-8 недель после родов

Профиль лимфоцитов	Первая группа N=45 %	Вторая группа N=43 %	Третья группа N=32 %	Референтные значения %
CD3+CD19-	69,5±3,8	63,7±1,9	41,4±2,9*	60-80
CD4+CD8-	68,2±2,8 *	65,9±1,9	32,6±1,9*	40-50
CD8+CD4-	27,8±2,4	26,7±2,8	16,3±1,5*	26-28
CD16+CD3+	12,0±2,1	10,9±1,3	14,0±1,1*	10-12
CD56+CD3+	3,1±0,5	5,0±0,3	7,2±0,7*	3-5
CD19+CD3-	16,9±3,0 *	17,6±1,3 *	6,1±0,5*	8-13
CD25+CD3+	6,6±0,5	8,4±1,2	5,9±1,0*	8-9
CD95+CD3+	5,8±0,9	5,7±1,0	10,6±2,4*	5-7
CD3+HLA-DR+	12,1±3,0	10,9±1,7	7,5±1,2*	10-12
CD19 HLA-DR+	13,2±3,1	9,5±1,4	5,7±0,7*	8-13
ИРИ	1,63±0,01	1,32±0,01	2,0±0,03	1,75-1,79
Индекс апоптоза	0,79±0,03	0,698±0,03	0,62±0,01	0,63-0,78

Примечание: * достоверность $p < 0,05$ по сравнению с референтными значениями.

У женщин третьей группы была отмечена иная динамика в содержании субпопуляций Т-ЛФ. Так, в позднем послеродовом периоде у них продолжали выявляться достоверные изменения в относительном содержании Т-клеток с различ-

ными маркерами. В частности, оставался достоверно более низким процент содержания ЛФ с маркером ранней активации (CD25+CD3+), а также отмечалось снижение содержания субпопуляций хелперов (рис. 3).

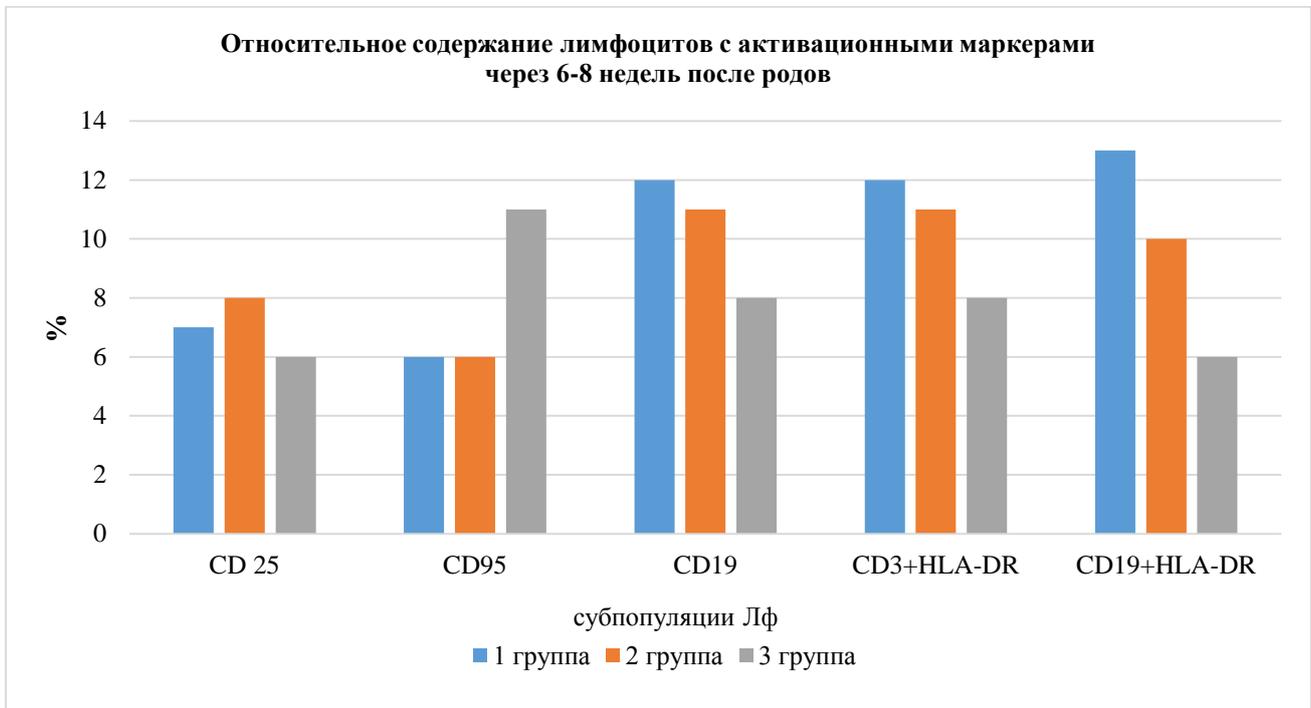


Рисунок 3.

Достоверно повышенным было только содержание клеток с маркером CD95+, выполняющих супрессорную функцию и усиливающих апоптоз. Зато относительное содержание лимфоцитов с маркерами киллерных клеток в это время увеличилось как по сравнению с предыдущим сроком исследования (CD16+ клеток с $7,6 \pm 0,2\%$ до $14,0 \pm 1,1\%$ и CD56+ клеток с $2,7 \pm 0,4\%$ до

$7,2 \pm 0,7\%$), так и по сравнению с референтными значениями (рис 3). Индекс апоптоза в это время был в пределах референтных значений благодаря отсутствию значительного дисбаланса между субпопуляциями CD95+ и CD25+ клеток. Описанные взаимоотношения между изученными субпопуляциями ЛФ представлены на рисунках 3 и 4.

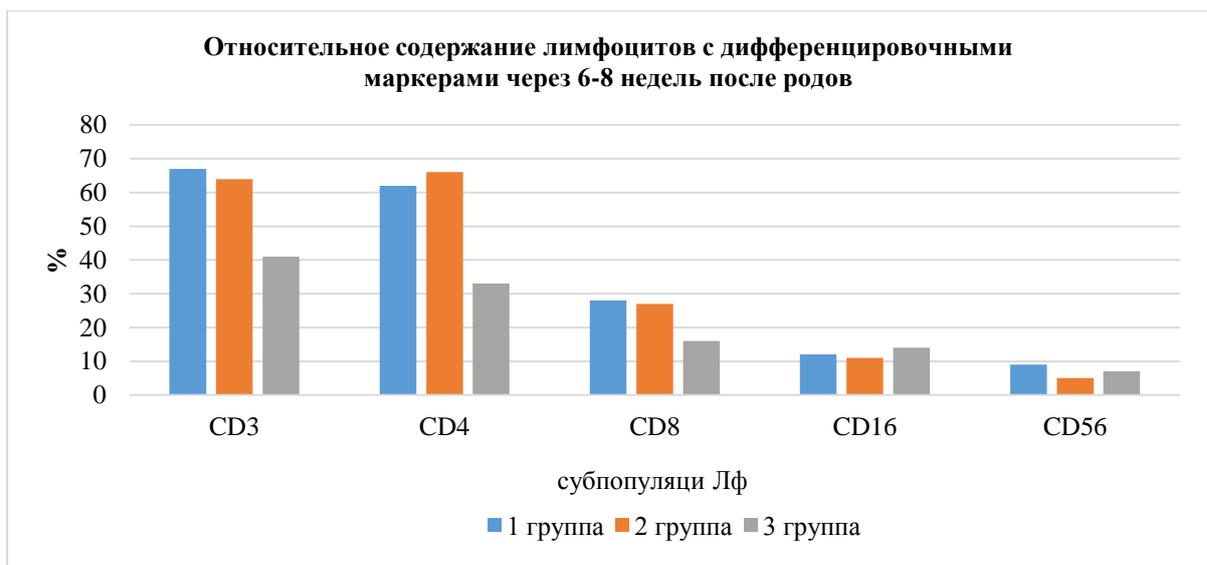


Рисунок 4.

Таким образом, в конце послеродового периода, снижение иммунного ответа, обусловленное субпопуляционным дисбалансом ЛФ периферической крови, определялось только у рожениц третьей группы. Очевидно, что перенесённые женщинами этой группы стрессовые воздействия были настолько сильными, что вызвали длительное снижение активности иммунной системы. Отмеченное при этом повышение количества и активности клеток-киллеров могло иметь определенное физиологическое значение в заживлении операционной травмы и восстановлении после массивного кровотечения.

Заключение. У рожениц, перенесших массивную кровопотерю с последующей гистерэктомией, в первые дни послеродового периода отмечалась глубокая депрессия как клеточного, так и гуморального звена иммунитета. Даже к концу послеродового периода у них отмечалось снижение функциональной активности клеточного звена иммунитета и содержание клеток CD19+CD3- и CD3+HLA-DR+ (содержащих маркеры В-лимфоцитов и их активации), а также повышение уровня клеток, характеризующих уровень апоптоза. В то время как у рожениц с умеренной кровопотерей иммунный статус восстановился к концу послеродового периода.

Литература:

1. Полевщиков А.В. Иммунная система: Молекулы, клетки и основные кооперативные взаимодействия. - М.: 2002. - С. 124.
2. Сарбасова Ж.О. Показатели иммунологического статуса после лечения. / Республиканский научно-теоретический журнал «Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана», №3. - Бишкек, 2012. - С. 104-108.
3. Чернуха Е.А., Пучко Т.К., Комисарова Л.М. Профилактика и лечение массивных акушерских кровотечений, как фактор снижения материнской смертности // Материалы форума «Мать и Дитя». - 2007. - С. 294-295.
4. Самигуллина А.Э., Выборных В.А. Кесарево сечение: Прогнозирование и пути снижения. / Республиканский научно-теоретический журнал «Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана», №1. - Бишкек, 2018. - С. 54-58.
5. Новикова Р.И., Кабанько Т.П., Черный В.И., Шовтута В.И. Исследование иммунологической реактивности при острой кровопотере в родах. // Анестезиология и реаниматология. - 1983. - №3. - С.20-22.
6. Хонина Н.А., Дробинская А.Н., Тихонова М.А., Пасман Н.М., Останин А.А., Черных Е.Р. Ронколейкин в комплексном лечении реанимационных больных акушерского профиля // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2005. - №7. - С. 23-25.
7. Соколов Д.И., Селютин А.В., Лесничая Б.В., Аржанова О.Н., Сельков С.А. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови беременных женщин с гестозом. // Журнал акушерства и женских болезней. - Т. LVI. - Выпуск 4/ - 2007. - С. 17-23.
8. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тоголян А.А. Стандартизированная технология исследования субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточной цитофлюорометров-анализаторов. // Медицинская иммунология, 2012. - Т.14. - №3. - С. 255-268.
9. Кудрявцев И.В., Бортсов А.Г., Кробицец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К. Определение основных субпопуляций цитотоксических лимфоцитов методом многоцветной проточной цитометрии. / Медицинская иммунология, 2015. - Т.17. - №6. - С. 525-538.
10. Московчук О.Б., Московчук К.М., Демченко В.Ф., Евстафьева Е.В. Корреляционные взаимосвязи показателей иммунного статуса рожениц с содержанием хлороорганических пестицидов в крови. // Таврический медико-биологический вестник. - 2012. - №3. - Т.15. - Ч.2(59).

Рецензент: д.м.н., профессор Байназарова А.А.