

АНТИ-HSP60 АНТИТІЛА У ВАГІТНИХ ЖІНОК ТА ЇХ НОВОНАРОДЖЕНИХ ІЗ ВРОДЖЕНИМИ ВАДАМИ СЕРЦЯ

Ткаченко Я.В.¹, Сидорик Л.Л.², Воробйова Г.М.¹, Ємець І.М.¹

¹ДУ «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України»

²Інститут молекулярної біології та генетики НАН України (Київ)

Обстежено 47 вагітних, у яких пренатально було діагностовано критичну вроджену ваду серця (ВВС) плода, та їх новонароджених дітей. Рівні анти-Hsp60 антитіл у вагітних (36–40 тижнів вагітності) були зіставними з такими у їх новонароджених дітей. Виявлено обернену кореляцію між об'ємом перелитої аутологічної пуповинної крові та рівнем анти-Hsp60 антитіл у сироватці крові в післяопераційному періоді у новонароджених із ВВС.

Ключові слова: пуповинна кров, анти-Hsp60 антитіла, вроджені вади серця.

Активна матрична функція антигенного складу крові новонародженої дитини найбільш яскраво проявляється ще на етапах раннього онтогенезу. У цей період під впливом материнського імунулукусу (антигенний склад) здійснюється трансплацентарне перенесення ідіотипових та антиідіотипових антитіл (АТ), внаслідок чого відбувається програмування основних рис імунної системи дитини [1]. Даний феномен описаний також Н. Lemke (2008), однак трансформація імунної системи в ранньому онтогенезі відбувається і під впливом сигналів із зовнішнього середовища [2].

Аналіз кількісних змін у змісті специфічних ауто-АТ може слугувати зручним інструментом, що дозволяє судити про початок або вже маніфестування патологічних процесів будь-якої локалізації, що набагато випереджає появу інших ознак органної недостатності [1, 3, 4].

Регуляторами багатьох імунних реакцій є анти-Hsp60 антитіла. Yokota et al. (2000) показали, що анти-Hsp60 антитіла можуть опосередковувати комплемент-залежну цитотоксичність, зумовлювати лізис або апоптоз клітин (ендотелію, макрофагів, кардіоміоцитів), що експресують на своїй поверхні ендогенний Hsp60. Під дією стресу на клітину вона продукує білок у позаклітинний простір, де на нього виробляються власні антитіла. Анти-Hsp60 здатні формувати імунні комплекси з ендогенним Hsp60 і зумовлювати активацію комплементу. На сьогодні невідомо, як продукуються анти-Hsp60 антитіла в організмі жінки з патологією серця плода, їх трансплацентарне передання дитині або утворення власних аутоантитіл в організмі, що розвивається.

Можливо, кількість антитіл, отримана від матері, і є повноцінним балансом для тієї чи іншої дитини, або навпаки, їх велика кількість і довготривала циркуляція створює реактивність організму, і будь-яка інфекція викликає виражені імунні розлади із подальшим розвитком аутоімунних процесів.

Метою роботи було дослідження сироваткових рівнів анти-Hsp60 антитіл у вагітних та їх дітей із критичною ВВС до та після операції в динаміці.

Об'єкт дослідження – вагітні жінки з пренатально діагностованою вагою серця плода та їх новонароджені діти, яким була проведена операція із штучним кровообігом ШК. Для контролю використовували пуповинну кров здорових новонароджених (n=20).

Матеріал та методи. Нами проведено дослідження 47 вагітних із пренатально діагностованою ВВС плода на наявність анти-Hsp60 антитіл у сироватці крові. Після пологів новонародженим від цих матерів та іншим новонародженим із ТМС (всього 80) проводи-

ли хірургічне лікування з використанням апарату штучного кровообігу (АШК). Діти були поділені на 2 групи: 1 група – 32 новонароджених, при хірургічному лікуванні яких застосовували аутологічну пуповинну кров, 2 група – 48 новонароджених, при хірургічному лікуванні яких використовували компоненти донорської крові. Динаміка спостереження становила 2 роки після операції.

Рівень анти-Нсп60 антитіл визначали методом ELISA з модифікаціями [5]. Як антиген використовували рекомбінантний білок GroEl *E.coli* (прокаріотний гомолог Нсп60 людини). Одержання та очистку рекомбінантного білка GroEl *E.coli* проводили за розробленою методикою [6]. Антитілопозитивною до Нсп60 вважали сироватку, оптична густина якої перевищувала середнє значення оптичної густини клінічно здорових донорів на 2 стандартних відхилення ($m+2sd$).

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою пакету програм “Stat Soft STATISTICA 8.0.550 Portable (Eng)” 2008г. Результати представлено у вигляді середніх значень (m) із вказівкою на стандартну девіацію (Standard Dev). Для порівняння середніх значень досліджуваних груп використовували U-критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test).

Результати дослідження. Новонароджені з критичними ВВС потребують невідкладної операції з використанням донорської крові під час ШК, яка має відмінний антигенний склад порівняно із кров’ю новонародженого. В ДУ НПМЦДКК запропоновано метод лікування новонароджених із транспозицією магістральних судин із використанням аутологічної пуповинної крові під час операції з ШК.

При дослідженні сироваток крові вагітних із ВВС плода на наявність анти-Нсп60 антитіл було встановлено, що 69% жінок мали низькі титри анти- Нсп60 антитіл у сироватці крові, в подальшому після пологів їх новонароджені діти також мали низькі титри досліджуваних аутоантитіл. Однак 31% вагітних жінок мали високі рівні анти-Нсп60 антитіл у сироватці крові, у їх дітей також спостерігались ті ж самі титри досліджуваних антитіл. Тобто дитячий склад аутоантитіл до білку Нсп60 має пряму залежність від материнського. Частоту виявлення рівнів анти-Нсп60 антитіл у новонароджених із ТМС до та після операції наведено в табл. 1.

Згідно з табл. 1, у 1-й групі на доопераційному етапі 20,6% ($n=6$) новонароджених мали підвищену кількість анти-Нсп60 антитіл у сироватці крові (табл. 1.), отриманих від матері. Після проведеної операції з використанням аутологічної пуповинної крові на 1-у, 3-ю, 7-у добу в цій групі відбувалося зменшення кількості пацієнтів із високими сироватковими рівнями досліджуваних аутоантитіл. На 3-ю добу після операції відзначалася від’ємна кореляція між кількістю перелитої власної пуповинної крові та рівнями аутоантитіл у сироватці $r=-0,39$, також між кількістю перелитої пуповинної крові на 1 кг маси тіла дитини та вмістом анти-Нсп60 антитіл у сироватці крові $r=-0,42$. У жодного пацієнта цієї групи не спостерігалася кількісного зростання досліджуваних антитіл після операції. Такий показник кореляційного аналізу свідчить про те, що під час операції із ШК із аутологічною пуповинною кров’ю рівень анти- Нсп60 антитіл у сироватці крові знижується, навіть пацієнти з підвищеним рівнем аутоантитіл у крові після операції мали значне їх зниження, що вказує на їх руйнування частково під впливом самого хірургічного процесу та контуру АШК, а також під впливом власної пуповинної крові.

Новонароджені 2-ї групи за період спостереження на 1-у, 3-ю, 7-у добу після проведеної операції мали іншу тенденцію у рівнях досліджуваних аутоантитіл. На доопераційному етапі у пацієнтів 2-ї групи в сироватці крові визначалися високі титри анти-Нсп60 антитіл, після операції їх титри не змінювалися або, навпаки, зростали залежно від кількості

отриманої трансфузії донорської крові. Серед новонароджених 2-ї групи спостерігався значний відсоток пацієнтів із високим сироватковим вмістом досліджуваних антитіл, який визначався навіть через 2 роки.

Таблиця 1

Частота виявлення (%) новонароджених із ТМС із підвищеним рівнем анти-Нсп60 антитіл у сироватці крові (період спостереження – 2 роки)

Період спостереження	Кількість антитілопозитивних сироваток крові у новонароджених із ТМС, яким була перелита			
	аутологічна пуповинна кров (1 група)		донорська кров (2 група)	
	n=32	%	n=48	%
До операції	6	20,6	14	28,2
1 доба після операції	1	4,1*	12	22,9*
3 доба після операції	4	14,8*	12	23,4*
7 доба після операції	2	8*	9	21,4*
3 місяці після операції		0		0
6 місяців після операції		0		0
1 рік після операції		0	1 (n=8)	12,5
2 роки після операції		0	1(n=4)	12

*Різниця між досліджуваними групами статистично достовірна $p < 0,05$

При проведенні кореляційного аналізу між кількістю перелитої чужорідної плазми новонародженим 2-ї групи та кількістю анти-Нсп60 антитіл у сироватці їх крові на 1-у та 3-ю добу після операції нами виявлено позитивну кореляцію $r=0,37$ (на 1-у добу), $r=0,4$ (на 3-ю добу). Отже, чим більшу кількість донорської плазми переливали дитині, тим вищими були рівні анти-Нсп60 антитіл у сироватці крові новонароджених. У новонароджених із перелитою чужорідною кров'ю підвищені досліджувані аутоантитіла спостерігалися протягом 2 років. На нашу думку, донорська кров є потенційним джерелом анти-Нсп60 антитіл, які зберігаються і виявляються у віддаленому періоді після операції з гемотрансфузією.

Підвищені рівні анти-Нсп60 антитіл у сироватці крові у новонароджених 2-ї групи мали певний вплив на клінічні показники. При проведенні кореляційних досліджень між кількістю перелитої донорської крові у пацієнтів 2-ї групи та перебуванням їх у стаціонарі встановлено кореляцію, де $r=0,54$, $p < 0,05$. Чим більше перелито чужорідної крові, тим довше пацієнти перебували у стаціонарі. Виявлена достовірна різниця між групами в періоді перебування в стаціонарі (1 група – 14 діб, 2 група – 18 діб). У новонароджених 2-ї групи в післяопераційному періоді відзначалися довготривала гіпертермія та ускладнення з боку дихальної системи. Найвищий відсоток гіпертермії спостерігався саме у тих пацієнтів 2-ї групи, у яких у післяопераційному періоді визначалися високі титри анти-Нсп60 антитіл у сироватці крові. Ці новонароджені отримували більш тривалу антибіотикотерапію. Застосування аутологічної пуповинної крові під час операції, як альтернативи донорській, зберігає імунну рівновагу організму новонародженого, фізіологію розвитку імунної відповіді на операцію без виникнення додаткових ускладнень. Високий вміст

гемотрансфузійно отриманих анти-Hsp60 антитіл призводить до порушень цієї відповіді і, відповідно, виникнення ускладнень.

Висновки

1. Встановлено, що 69% вагітних жінок та їх новонароджених дітей із ВВС у сироватці крові мали низькі рівні анти-Hsp60 антитіл, 31% – підвищені рівні. Як вагітні жінки, так і їх діти мали практично однаковий кількісний склад анти-Hsp60 антитіл у сироватці крові.
2. Встановлено кореляцію між високими рівнями анти-Hsp60 антитіл у сироватці крові новонароджених 2-ї групи та клінічними ускладненнями.
3. Власна пуповинна кров не змінює фізіологічний баланс аутоімунного ресурсу новонародженої дитини із ВВС.

Література

1. Полетаев А.Б. Иммунофизиология и иммунопатология. – М.: МИА. – 2008. – С. 208.
2. Lemke H., Tanasa I. Benefits and burden of the maternally-mediated immunological imprinting // *Autoimmunity Reviews*. – 2009. – Vol. 8. – P. 394–399.
3. Мальцев С.В. Диагностическое и прогностическое значение определения аутоантител к почечным антигенам в развитии пиелонефрита у детей // С.В. Мальцев, Г.Ш. Мансурова, А.Б. Полетаев // *Педиатрия*. – 2007. – Т. 86. – № 6. – С. 60–64.
4. Notkins A.L. New predictors of disease // *Scientific American*. – 2007. – Vol. 296. – N 3. – P. 72–80.
5. Dieude M., Senecal J.-L., Raymond Y. Induction of endothelial cell apoptosis by heat-shock protein 60-reactive antibodies from anti-endothelial cell autoantibody-positive systemic lupus erythematosus patients // *Arthr. and Rheum.* – 2004. – 50, N 10. – P. 3221–3231.
6. Капустян Л.Н., Киямова Р.Г., Гришкова В.С., Терентьев А.Г., Филоненко В.В., Сидорик Л.Л. Получение рекомбинантного GroEL и его иммунологическая кросс-реактивность с Hsp60 // *Биополимеры та клітина*. – 2006. – Т. 22, № 2. – С. 117–120.

АНТИ-HSP60 АНТИТЕЛА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ИХ НОВОРОЖДЕННЫХ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Ткаченко Я.В., Сидорик Л.Л., Воробьева А.М., Емец И.Н.

Обследовано 47 беременных, у которых пренатально диагностирован критический врожденный порок сердца (ВПС) плода, и их новорожденных детей. Уровни анти-Hsp60 антител у беременных (36–40 недель беременности) были сопоставимы с таковыми у их новорожденных детей. Выявлена обратная корреляция между объемом перелитой аутологичной пуповинной крови и уровнем анти-Hsp60 антител в сыворотке крови в послеоперационном периоде у новорожденных с ВПС.

Ключевые слова: *пуповинная кровь, анти-Hsp60 антитела, врожденные пороки сердца.*

DETECTION ANTI-HSP60 ANTIBODIES IN PREGNANT WOMEN AND THEIR NEWBORNS WITH CONGENITAL HEART DISEASE

Tkachenko Y.V., Sidoryk L.L., Vorobyova G.M., Yemets I.M.

47 pregnant women who were diagnosed prenatally critical congenital heart defect fetus and their newborns have been investigated. Levels of anti-Hsp60 antibodies in pregnant women (36–40 weeks of gestation) were comparable to those of their infants. An inverse correlation between the volume of transfused autologous cord blood and the level of anti-Hsp60 antibodies in serum in the postoperative period in infants with critical congenital heart defect was found.

Key words: *cord blood, anti-Hsp60 antibody, congenital heart disease.*