

# СОДЕРЖАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ОСНОВНОГО БЕЛКА МИЕЛИНА С АНТИТЕЛАМИ КЛАССА G В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ НОРМАЛЬНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ГЕСТОЗЕ

Левченко В.Г., Мальцева Н.В., Лыкова О.Ф.,  
Конышева Т.В., Зорина В.Н.

ГОУ ДПО Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей Росздрава,  
кафедра акушерства и гинекологии, молекулярно-биологическая научно-исследовательская лаборатория,  
научно-исследовательская лаборатория иммунохимии, г. Новокузнецк

**Резюме.** Изучали содержание связанных с ОБМ антител (иммунокомплексов ОБМ) в сыворотке крови при гестозе различной степени тяжести по сравнению с физиологической беременностью и небеременными женщинами. Концентрацию IgG-антител, связанных с ОБМ, определяли иммуноферментным методом. Установлено, что у небеременных женщин и при физиологической беременности в сыворотке крови находится около 0,05 мкг/мл антител класса IgG, связанных с основным белком миеллина. Развитие легкого гестоза сопровождается повышением их сывороточной концентрации в 2-3 раза. Усугубление тяжести гестоза приводит к ее дальнейшему прогрессирующему подъему, так что максимальная концентрация комплексов (0,8 мкг/мл) определяется при преэклампсии и эклампсии. В постэкламптический период их количество снижается вдвое. Показатель концентрации антител класса IgG, связанных с основным белком миеллина, в сыворотке крови при гестозе может использоваться для оценки степени тяжести гестоза и прогноза риска возникновения эклампсии.

*Ключевые слова:* основной белок миеллина, иммунокомплексы, беременность.

*Levchenko V.G., Maltseva N.V., Lykova O.F., Konysheva T.V., Zorina V.N.*

## CONTENTS OF SERUM MYELIN BASIC PROTEIN-IgG ANTIBODIES COMPLEXES IN NORMAL PREGNANCY AND GESTOSIS

**Abstract.** Serum levels of myelin basic protein (MBP)-bound immune complexes were studied in blood sera from women with gestosis, as compared with those in normal pregnancy and non-pregnant woman. The amounts of IgG-MBP complex in blood serum were determined by enzyme immunoassay using isolated anti-MBP-antibodies. The study has shown that about 0.05 mcg of IgG ml of blood serum are associated with myelin basic protein in unpregnant women or in normal pregnancy. Mild gestosis is accompanied by a 2-3-fold increase in MBP immunocomplex concentrations in blood serum. More severe stages of gestosis are characterized by its further rise, thus achieving maximal values of such MBP immune complexes (0.8 mcg/ml) in patients with pre-eclampsia and eclampsia. Their amounts were reduced twice after the periods of eclampsia. Serum levels of MBP-bound IgGs may be used to determine severity of gestosis and to predict a risk of eclampsia in pregnant women. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 1-2, pp 155-160)

### Адрес для переписки:

Лыкова Ольга Федоровна,  
ГОУ ДПО ГИУВ  
654005, г. Новокузнецк, пр. Строителей, 5.  
Тел.: (3843) 45-56-41.  
E-mail: lykovaof@yandex.ru

*Keywords:* basic myelin protein, immune complexes, pregnancy.

## Введение

В настоящее время не вызывает сомнения, что практически любая острая или хроническая интоксикация организма в той или иной степени сопровождается патологическими изменениями в функционировании нервной системы. При беременности, осложненной гестозом, они проявляются головной болью, расстройством зрения и слуха, развитием судорог или комы [3]. Известно, что судороги возникают в результате чрезмерной активации возбуждения либо угнетения торможения, происходящих из-за нарушения проведения импульсов по нервным волокнам, в частности вследствие деструкции их миелиновой оболочки. Из-за высокой чувствительности миелинизирующих клеток к действию токсикантов миелин часто повреждается при интоксикациях, что приводит к попаданию основного белка миелина (ОБМ) в циркуляцию и выработке анти-ОБМ-аутоантител. В ряде научных работ изучалась возможность использования количественного показателя анти-ОБМ-антител, обнаруженных в сыворотке крови и спинномозговой жидкости, как диагностического и прогностического критерия при неврологических заболеваниях, характеризующихся распадом миелина [8]. Было выявлено два вида таких антител — свободные и связанные с ОБМ. Несмотря на неврологическую симптоматику преэклампсии и эклампсии, каких-либо сведений в литературе, касающихся количественных характеристик антител к ОБМ при гестозе, нами не обнаружено. Поэтому исследование уровня связанных с ОБМ антител (иммунокомплексов ОБМ) в сыворотке крови при гестозе различной степени тяжести по сравнению с физиологической беременностью и небеременными женщинами, а также оценка возможности использования метода определения количества иммунокомплексов ОБМ в диагностике гестоза и прогнозе развития эклампсии явились целью настоящей работы.

## Материалы и методы

В работе использовали 181 образец сыворотки крови, взятый у женщин на различных этапах беременности: 6-19, 20-27, 28-32, 33-37, 38-41 недели и у 15 небеременных женщин репродуктивного возраста. Исследование женщин велось с их добровольного согласия, что соответствует этическим нормам Хельсинской декларации

2000 г. В динамике беременности обследовали 18 женщин с неосложненной беременностью, 10 — с легким гестозом, 10 — с гестозом средней степени тяжести, 11 — с тяжелым гестозом, 9 — с преэклампсией и 5 — с эклампсией. Остальные женщины были обследованы от 1 до 4 раз в течение беременности. Оценка степени тяжести гестоза осуществлялась по оценочной шкале Г.М. Савельевой [5]. Небеременные женщины репродуктивного возраста были выделены из сплошной группы на основе проведения диспансеризации.

Определение уровня иммунного комплекса основного белка миелина с IgG в сыворотке крови осуществлялось с помощью разработанного нами варианта иммуноферментного метода, адаптированного для выявления аутоантител [2]. ОБМ выделяли из кадаверного мозга посредством кислотной экстракции и комплекса хроматографических методов [1]. Очищенный антиген использовали для иммунизации кроликов и получения антисыворотки. Аффинно-очищенные антитела к ОБМ выделяли из антисыворотки посредством позитивной аффинной хроматографии на колонке сорбента с иммобилизованным на нем ОБМ. Антитела использовали в качестве «якорных» белков на полистироловых планшетах при постановке иммуноферментного метода. В лунки планшетов вносили тестируемые образцы сыворотки, в которых обнаруживали аутоантитела, связанные с ОБМ, при помощи конъюгата аффинно-очищенных антител к Fc-фрагментам IgG с пероксидазой хрена [2]. Результаты обрабатывали с помощью программы PC Microplate Manager (Bio-Rad, США). Статистическую обработку полученных данных проводили, используя программу InStat 2 (Sigma, США). Стандартная обработка включала подсчет средних арифметических величин и их ошибок (SEM). Сравнение массивов данных осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни.

Чувствительность используемого метода определялась как вероятность положительного результата диагностического теста при наличии болезни (гестоза), доля истинно положительных результатов теста. Специфичность определялась как вероятность отрицательного результата диагностического теста в отсутствие болезни (гестоза), доля истинно отрицательных результатов теста [7].

ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ АНТИ-ОБМ-IgG В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ И ОСЛОЖНЕННОЙ ГЕСТОЗОМ БЕРЕМЕННОСТИ (мкг/мл)

| Группа                       | Срок беременности в неделях |  |   |   |  |
|------------------------------|-----------------------------|--|---|---|--|
|                              | 6-19                        | 20-27                                      | 28-32   | 33-37   | 38-41  |
|                              | 1                           | 2  | 3   | 4   | 5  |
| Физиологическая беременность | 0,016±0,009 (7)             | 0,041±0,004 (6)<br>p <sub>1</sub> = 0,0357 | 0,056±0,008 (8)<br>p <sub>1</sub> = 0,0054                              | 0,052±0,007 (15)<br>p <sub>1</sub> = 0,007  | 0,076±0,008 (37)<br>p <sub>1</sub> = 0,0029  |
| Легкий гестоз                | –                           | 0,074± 0(2)                                | 0,142±0,02 (7)<br>p <sub>ФБ</sub> = 0,0012                              | 0,155±0,039 (10)<br>p <sub>ФБ</sub> = 0,0019  | 0,147±0,18 (22)<br>p <sub>ФБ</sub> = 0,0002  |
| Средний гестоз               | –                           | 0,13± 0 (2)                                | 0,151±0,035 (2)<br>p <sub>ФБ</sub> = 0,0444                             | 0,287±0,032 (10)<br>p <sub>3</sub> = 0,0303<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> = 0,0089 | 0,353±0,029 (7)<br>p <sub>4</sub> = 0,0431<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> = 0,0001                             |
| Тяжелый гестоз               | –                           | –  | –   | 0,6370,198 (5)<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> = 0,0080                              | 0,771±0,103 (8)<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> < 0,0001<br>p <sub>СГ</sub> = 0,0006                            |
| Преэклампсия                 | –                           | –  | 0,248±0,026 (4)<br>p <sub>ФБ</sub> = 0,0040<br>p <sub>ЛГ</sub> = 0,0242 | 0,694±0,179 (9)<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> = 0,0030                             | 0,891±0,231 (4)<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> = 0,0016  |
| Эклампсия                    | –                           | –  | –   | –   | 0,836±0,152 (5)<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> < 0,0001<br>p <sub>СГ</sub> = 0,0051                            |
| После эклампсии              | –                           | –  | –   | –   | 0,328±0,032 (5)<br>p <sub>ФБ</sub> < 0,0001<br>p <sub>ЛГ</sub> = 0,0072<br>p <sub>ПЭ</sub> = 0,0298<br>p <sub>Э</sub> = 0,0113 |
| Небеременные женщины         | 0,050±0,012 (15)            |  |   |   |  |

**Примечание.** p – показатель статистической значимости различий: p<sub>ФБ</sub>, p<sub>ЛГ</sub>, p<sub>СГ</sub>, p<sub>ЛГ</sub>, p<sub>ПЭ</sub>, p<sub>Э</sub> – по сравнению с соответствующим сроком физиологической беременности, гестозом легкой, средней и тяжелой степеней тяжести, преэклампсией и эклампсией соответственно; p<sub>1</sub>, p<sub>3</sub>, p<sub>4</sub> – между данными в различные сроки беременности. В круглых скобках – количество обследованных женщин.

## Результаты

Антитела класса IgG, связанные с ОБМ (ОБМ-IgG-комплексы), были найдены в сыворотке крови 66,7% небеременных женщин в количестве от 0,028 до 0,122 мкг/мл. Среднее значение данного показателя с учетом женщин, у которых комплексы не были обнаружены (6 человек), представлено в таблице 1.

У четырех из 7 обследованных женщин (57%) в ранние сроки беременности (6-19 недель) ОБМ-IgG не были обнаружены. У остальных трех тестируемые показатели составили 0,013, 0,05 и 0,05 мкг/мл. С развитием гестации наблюдалось прогрессивное увеличение числа женщин с выявляемыми иммунокомплексами. Так, в сроке беременности 20-27 недель только у одной из 6 обследованных (16%) они не определялись. В последующие сроки ОБМ-IgG-комплексы были выявлены у всех обследованных. Их содержание в среднем не изменялось на протяжении гестации, за исключением несколько сниженного результата в начале беременности по сравнению с последующими сроками. При этом индивидуальная концентрация антител варьировала от 0,036 мкг/мл до 0,07 во втором триместре; от 0,036 до 0,1 мкг/мл в начале, от 0,014 до 0,098 мкг/мл в середине и от 0,014 до 0,185 мкг/мл в конце третьего триместра.

Гестоз вызвал повышение уровня связанных с ОБМ антител в крови. Так, на протяжении третьего триместра беременности, отягощенной легким гестозом, в сыворотке крови обнаруживали повышенную относительно аналогичных сроков нормальной беременности в 2-3 раза концентрацию антител (табл. 1). Индивидуальные показатели варьировали от 0,04 до 0,38 мкг/мл на протяжении беременности.

При гестозе средней степени тяжести подъем уровня ОБМ-IgG на протяжении третьего триместра беременности был более значимым. В среднем количество иммунокомплексов увеличилось в 4,6 раза и в 2,4 раза по сравнению с неосложненной беременностью и легким гестозом соответственно. Максимальное количество антител, равное 0,5 мкг/мл, было обнаружено у двух женщин, обследованных в середине и конце третьего триместра.

Как показывают наши результаты, тяжелый гестоз приводит к еще большему накоплению связанных с ОБМ антител в крови беременных. Их больше в два с лишним раза по сравнению с гестозом средней степени тяжести в третьем триместре беременности. Максимальные показатели превышали 0,5 мкг/мл у 10 женщин из 13 об-

следованных в середине и конце третьего триместра, в том числе у пяти женщин (38%) они были выше 1 мкг/мл.

При преэклампсии разброс индивидуальных значений был шире — 0,19-0,31 мкг/мл в начале третьего триместра, 0,21-1,59 мкг/мл в середине и 0,2-1,2 мкг/мл в его конце. В сроке 28-32 недели искомые показатели были выявлены в количестве 0,185, 0,240, 0,255 и 0,310 мкг/мл у четырех обследованных женщин. В середине триместра у 4 женщин из 9 обследованных количество антител равнялось или превышало 1 мкг/мл (44%), а у остальных было меньше — 0,2-0,3 мкг/мл. В конце триместра у 3 женщин из 4 обследованных (75%) данный показатель был больше 1 мкг/мл. Максимальное значение, равное 1,59 мкг/мл, обнаружено в середине триместра. Вследствие широкого разброса индивидуальных показателей, несмотря на то что количество женщин с высоким уровнем иммунных комплексов (> 1 мкг/мл) увеличивалось в течение наблюдаемого третьего триместра, нами не выявлено изменений средней концентрации связанных с ОБМ антител на протяжении триместра. Однако в этот период она была выше в 4-13 раз, чем при неосложненной беременности, и в 1,7-4,5-6 раз, чем при легком гестозе.

Эклампсия наблюдалась у 5 женщин в конце третьего триместра беременности. У двух из них количество анти-ОБМ-IgG составило 0,5 мкг/мл, у других двух оно составило 0,94 мкг/мл, и у одной — 1,3 мкг/мл. После приступа эклампсии наблюдалось резкое снижение тестируемого показателя. Он уменьшился более чем в 2 раза по сравнению с тяжелым гестозом, преэклампсией и эклампсией, но все еще превышал средний показатель для физиологической беременности (более чем в 4 раза).

Таким образом, нами не выявлено существенных различий в содержании иммунных комплексов ОБМ-IgG в сыворотке крови небеременных и практически здоровых беременных женщин. По нашим данным, формирование гестоза стимулирует накопление комплексов в крови соответственно степени тяжести гестоза, с максимальным уровнем при преэклампсии и эклампсии. В пост-экламптический период их количество снижается.

Диагностическая чувствительность используемого в работе теста увеличивается пропорционально тяжести гестоза. Так, при легком гестозе она составляет 37,9%, при среднем — 50%, при тяжелом — 87,4%, а при преэклампсии и эклампсии — 100%. Диагностическая специфичность теста во всех случаях составила не менее 98%.

## Обсуждение

Известно, что степень повреждения ткани головного мозга коррелирует с концентрацией в сыворотке крови анти-ОБМ-антител [8]. Неврологические синдромы, формирующиеся при гестозе, тесно связаны со степенью его тяжести [10]. Этим была мотивирована наша работа по оценке уровня связанных с ОБМ антител (иммунокомплексов ОБМ) при гестозе различной степени тяжести по сравнению с нормальной беременностью и небеременными женщинами.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что в среднем у небеременных женщин в сыворотке крови находится около 0,05 мкг/мл связанных с ОБМ молекул IgG. Их присутствие в норме объясняется циркуляцией небольшого количества ОБМ как аутоантигена, стимулирующего продукцию специфических антител, которое, по различным данным, составляет в сыворотке крови в норме 1,4 нг/мл или 600 пкг/мл [8, 11]. Формирование и развитие физиологической беременности, по нашим результатам, практически не влияет на циркулирующий пул иммунокомплексов ОБМ с IgG. Несколько сниженный их уровень в начале беременности по сравнению с последующими сроками может быть связан с запускаемыми беременностью иммуносупрессорными механизмами. Так, в работе S. Evron и соавт. [12] экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЕАЕ), индуцируемый у кроликов энцефалитогенным гомогенатом бычьего мозга, не развивался при беременности, и уровень антител к ОБМ как аутоантигену ЕАЕ был ниже у беременных животных по сравнению с небеременными. Супрессивный эффект беременности на индукцию и развитие аутоиммунных заболеваний давно известен. Он трактуется как результат функционирования ингибирующих иммунитет беременных ассоциированных с беременностью факторов материнской плазмы.

Увеличенное количество анализируемых комплексов в сыворотке крови беременных женщин при гестозе, обнаруженное нами, находится в соответствии с одной из теорий патогенеза гестоза, по которой в его основе лежат иммунные нарушения, связанные с недостаточностью иммуносупрессорных механизмов [3]. Поэтому прогрессирующее накопление ОБМ-IgG с развитием и утяжелением гестоза до максимума при преэклампсии и эклампсии может свидетельствовать не только об обострении не-

врологической патологии, но и об усилении иммунного конфликта.

Серьезность прогноза и неожиданность судорожных припадков при эклампсии обуславливают актуальность изучения патогенеза тяжелых форм гестоза и поиска новых прогностических критериев эклампсии. Наши результаты показали, что чувствительность и специфичность используемого нами метода существенно превосходят возможности иных методических подходов, применяемых для оценки степени тяжести гестозов [4, 6, 9, 13]. Это дает основания рекомендовать его для внедрения в клиническую практику с целью диагностики степени тяжести, прогноза течения беременности, осложненной гестозом, и риска возникновения эклампсии. Установление же факта развития демиелинизирующих процессов и усугубления их с утяжелением гестоза открывает новые перспективы для расширения представлений о механизмах патогенеза этого опасного осложнения беременности.

## Список литературы

1. Гюнтер И. Иммунологические методы. — М.: Мир, 1979. — С. 254-355.
2. Зорина В.Н., Зорина Р.М., Левченко В.Г., Воронина Е.А., Зорин Н.А. Концентрация комплексов 2-макроглобулин-IgG как возможный критерий для прогнозирования гестоза и оценки степени его тяжести // Клиническая и лабораторная диагностика. — 2001. — № 8. — С. 48-49.
3. Кустаров В.Н., Линде В.А. Гестоз. — СПб.: Гиппократ, 2000. — 159 с.
4. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. — М., 2001. — 704 с.
5. Савельева Г.М. Современные подходы к диагностике, профилактике и лечению гестоза: Методические указания № 99/80 МЗ РФ. — М., 1989.
6. Серов В.Н., Маркин С.А., Лубнин А.Ю. Эклампсия: Руководство для врачей. — М.: Медицинское информационное агентство, 2002. — 462 с.
7. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. — М.: Медиа-Сфера, 1998. — 352 с.
8. Чехонин В.П., Гурина О.И., Дмитриева Т.Б., Семенова А.В., Савченко Е.А., Григорьев М.Э. Основной белок миелина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний // Вопросы медицинской химии. — 2000. — № 6. — С. 549-563.

9. Шифман Е.М. Преэклампсия, эклампсия, HELLP-синдром. – Петрозаводск: ИнтелТек, 2003. – 432 с.

10. Ailamazian E.K., Palinka G.K., Poliakova L.A. Clinico-neurological and encephalographic aspects of toxicosis in late pregnancy // Akush. Ginekol. (Mosk.). – 1991. – № 6. – P. 17-20.

11. Delassalle A., Jacque C., Drouet J., Raoul M., Legrand J.C., Cesselin F. Radioimmunoassay of the myelin basic protein in biological fluids, conditions improving sensitivity and specificity // Biochimie. – 1980. – Vol. 62, N 2-3. – P. 159-165.

12. Evron S., Brenner T., Abramsky O. Suppressive effect of pregnancy on the development of experimental allergic encephalo-myelitis in rabbits // Am. J. Reprod. Immunol. – 1984. – Vol. 5, N 3. – P. 109-113.

13. Ramin K.D. The prevention and management of eclampsia // Obstet. Gynec. Clinics. – 1999. – Vol. 26, N 3. – P. 489-503.

*поступила в редакцию 11.08.2009*

*принята к печати 06.11.2009*