

КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 576.8.097.2+612.82+616.834

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ЭМБРИОТРОПНЫХ АНТИТЕЛ У ЖЕНЩИН

С.Г. МОРОЗОВ^{1,2}, А.Б. ПОЛЕТАЕВ³, В.Е. РАДЗИНСКИЙ⁴, А.Н. ПРОЦЕНКО^{1,4}
Д.А. КОРЖЕНЕВСКИЙ²

¹ГКБ №29 Комитета здравоохранения г. Москвы, ²НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, ³Фонд Чернобыль-Тест, ⁴Кафедра акушерства и гинекологии РУДН, Москва

Проанализированы образцы сыворотки крови 29 пациенток с первичным сифилисом на содержание сывороточных эмбриотропных антител (э-АТ) к основному белку миелина, белкам S100, АСВР 14/18 и МР65 до и после курса антибиотикотерапии. До начала лечения у 28 пациенток отмечалась характерная гиперпродукция исследуемых э-АТ. После курса антибиотикотерапии (две инъекции ретарпена по 2,5 млн Ед. с интервалом в неделю) наблюдали значительное обратимое снижение продукции э-АТ. При этом спустя еще 1-2 мес наблюдали стабилизацию уровней э-АТ, в результате которой у 21% пациенток уровни э-АТ достигли нормальных значений, 52% пациенток остались гипореактивными, а 27% повторно становились гиперреактивными. Сохранение аномалий продукции э-АТ спустя 1-2 мес после курса лечения свидетельствовало о необходимости проведения диагностического поиска с целью выявления дополнительных причин наблюдаемых изменений и проведения соответствующих лечебно-профилактических мероприятий в ходе прегравидарной подготовки.

Ключевые слова: эмбриотропные антитела, антибиотикотерапия, ИФА

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время накоплено много данных об участии гуморальных и клеточных иммунных механизмов в регуляции развития эмбриона и плода, о дизгенетических последствиях изменений общего иммунного статуса [1-5].

В ряде экспериментальных работ было убедительно продемонстрировано, что патологическая гиперпродукция [6, 7], а также аномально низкий уровень

неидентифицированных материнских антител (АТ) [8] может являться причиной остановок или нарушений эмбрионального развития.

В настоящее время удалось идентифицировать некоторые регуляторные АТ класса IgG, синтезируемые в материнском организме, уровень которых оказывается критически важным для нормального развития эмбриона и плода человека. К таким «эмбриотропным регуляторам» относятся, в частности, АТ к основному белку миелина (ОБМ), белкам S100, ACBP14/18 (эволюционно консервативный белок, относящийся к группе негистоновых анионных белков хроматина, прочно связанных с ядерной ДНК) и MP65 (эволюционно консервативный мембранный белок, участвующий в процессах межклеточной адгезии; представитель суперсемейства иммуноглобулинов). Было установлено, что концентрация этих АТ в нормальных условиях (у клинически здоровых женщин репродуктивного возраста) поддерживается в узких физиологических границах (в диапазоне 150-250 нг/мл в сыворотке крови). В тоже время у женщин, имевших разного рода неблагоприятные исходы беременности, сывороточная концентрация эмбриотропных АТ (э-АТ) выходит за экспериментально установленные границы физиологической нормы [9].

Установлено, что стойкие изменения уровней продукции э-АТ могут вызываться множеством независимых или сочетанных причин. Это очевидно происходит в силу того, что иммунная система организма является системой быстрого реагирования на самые разные неблагоприятные воздействия различных факторов среды, которые, как правило, влияют на активность множества клонов иммунокомпетентных клеток. По-видимому, в их числе нередко оказываются и те, которые отвечают за продукцию э-АТ. Поэтому любые потенциально тератогенные факторы (бактериальные и вирусные инфекции, химические поллютанты, радиоактивные загрязнения, сильные и продолжительные стрессорные воздействия и т.п.) могут влиять на развитие эмбриона и плода за счет накопления в материнском организме и индукции в нем определенных молекулярных изменений, отражающихся затем в нарушении эмбрио/фетогенеза. Таким образом стойкие изменения со стороны иммунной системы могут выступать в качестве интегрального показателя физиологического неблагополучия, вне зависимости от причины его вызвавшего. Измененная функциональная активность клонов лимфоцитов-продуцентов э-АТ нередко может вести к неблагоприятным последствиям для развития будущего ребенка [10].

Целью данной работы явилось изучение возможного влияния сифилитической инфекции на продукцию э-АТ к белкам ОБМ, S100, ACBP 14/18 и MP65, а также возможных изменений со стороны э-АТ в результате массивной антибиотикотерапии, используемой для лечения сифилиса. Есть основания полагать, что изучение подобного влияния необходимо для оптимизации прегравидарной подготовки женщин после антибиотикотерапии различных инфекций.

МЕТОДИКА. Определение э-АТ к белкам ОБМ, S100, ACBP 14/18 и MP65 проводили с помощью стандартных ИФА наборов ЭЛИ-П-Тест (Фонд Чернобыль-Тест, Россия), согласно инструкции изготовителя. На полистироловые планшеты фирмы «Nunc» (Дания) с сорбированными белками-антигенами наносили тестируемые образцы сыворотки, разведенные в 200 раз. После инкубации планшеты отмывали и наносили антивидовые IgG, конъюгированные

с пероксидазой хрена ("Sigma", США). Реакцию проявляли о-фенилендиамин/ H_2O_2 ("Диа-М", Россия) в концентрации 1 мг/мл. Определение оптической плотности проводили при длине волны 490 нм. Иммунореактивность исследуемых АТ определяли в процентах относительно иммунореактивности контрольной сыворотки, выраженной в единицах оптической плотности.

Согласно инструкции к данным наборам, границы «нормальной иммунореактивности» находятся в пределах от -15% до +40% оптической плотности от сыворотки-эталона (классификационная группа К1). Содержание э-АТ в данном диапазоне является оптимальным для нормального развития эмбриона/плода. Чем выраженнее степень отклонения содержания э-АТ как в сторону гиперреактивности, так и гипореактивности, тем больше вероятность неблагоприятного исхода беременности, включая рождение детей с различными отклонениями. Для оценки полученных результатов применяли ранжирование, согласно инструкции к наборам ЭЛИ-П-Тест.

В случае, если интенсивность реакции исследуемой сыворотки с любым из четырех белков-антигенов выходит за пределы групп(ы):

- К1, но составляет не менее -25% и не более +65% по отношению к реакции сыворотки-эталона, данную сыворотку относят к классификационной группе К2 (слабые отклонения);

- К1 и К2, но составляет не менее -45% и не более +100% по отношению к реакции сыворотки-эталона, данную сыворотку относят к классификационной группе К3 (умеренные отклонения);

- К1, К2 и К3, но составляет не менее -65% и не более +150% по отношению к реакции сыворотки-эталона, данную сыворотку относят к классификационной группе К4 (значительные отклонения);

- К1, К2, К3 и К4, но составляет не менее -75% и не более +200% по отношению к реакции сыворотки-эталона, данную сыворотку относят к классификационной группе К5 (резкие отклонения);

- К1, К2, К3, К4 и К5, сыворотку относят к классификационной группе К6 («экзквизитные отклонения», согласно классификации производителя).

Протестированы образцы сыворотки от 29 женщин с первичным сифилисом в возрасте от 24 до 39 лет до- и после антибиотикотерапии (двукратные инъекции ретарпена по 2,4 млн. Ед. с интервалом 7 дней). После проведения курса антибиотикотерапии больные были взяты на динамический клинико-серологический контроль (реакция Вассермана), который впоследствии свидетельствовал о полном излечении от сифилитической инфекции. Тестирование по методу ЭЛИ-П-Тест проводили шестикратно: до начала лечения, после окончания курса антибиотикотерапии (до 3 дней), затем двукратно через каждые 2 нед. и затем еще двукратно через каждый месяц. Контрольную группу составили 14 женщин (возраст от 20 до 34 лет) без венерических заболеваний, которым проводили шестикратную постановку ЭЛИ-П-Тестов в те же временные интервалы. На протяжении этого времени у них не было отмечено каких-либо инфекционных (или обострения хронических) заболеваний. Все полученные образцы сыворотки замораживали и хранили при $-40^{\circ}C$ до проведения анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Анализ сывороточной иммунореактивности э-АТ к белкам ОБМ, S100, АСВР 14/18 и МР65 в период клинического проявления первичного сифилиса у обследовавшихся пациенток выявил односторонние изменения в сторону гиперреактивности разной

степени выраженности, обусловленной гиперпродукцией соответствующих э-АТ. Лишь в одной пробе (из 29 исследованных) уровень иммунореактивности э-АТ был в пределах границ нормы. Большинство же проб сывороток женщин (79%) имели признаки умеренной и значительной гиперпродукции соответствующих э-АТ. Распределение тестируемых сывороток по классификационным группам иммунореактивности представлено в таблице.

Таблица. Содержание э-АТ у обследовавшихся женщин до- и в различные периоды после курса антибиотикотерапии

Классификационная группа по ЭЛИ-П-Тесту		Количество женщин в различные периоды тестирования в зависимости от содержания э-АТ					
		I	II	III	IV	V	VI
K1		1	0	0	4	6	6
K2	+	4	0	1	3	3	4
	-	0	7	9	8	8	9
K3	+	13	0	0	1	2	2
	-	0	15	14	9	5	4
K4	+	10	0	0	1	2	1
	-	0	6	4	3	2	2
K5	+	2	0	0	0	1	1
	-	0	1	1	0	0	0
K6	+	1	0	0	0	0	0
	-	0	0	0	0	0	0

K1 - группа нормы, K2 - слабые отклонения, K3 - умеренные отклонения, K4 - значительные отклонения, K5 - резкие отклонения, K6 - эксквизитные отклонения; + гиперпродукция э-АТ; - гипопродукция э-АТ;

Периоды тестирования: I - до курса антибиотикотерапии; II - после курса антибиотикотерапии (до 3 дней); III - через 2 нед., IV - через 1 мес., V - через 2 мес., VI - через 3 мес. после курса антибиотикотерапии

Двукратное введение пациенткам ретарпена оказывало существенное ингибирующее влияние на иммунореактивность/содержание соответствующих э-АТ. Непосредственно после окончания курса антибиотикотерапии во всех случаях отмечалось значительное снижение иммунореактивности э-АТ, что согласуется с представлениями о том, что иммунная система генерализованно реагирует на разного рода экзогенные токсические воздействия. При этом образцы сыворотки относились к классификационным группам умеренно или выражено сниженной специфической иммунореактивности, соответствуя, в основном уровням K2-K4 (в одном случае отмечалось резкое снижение иммунореактивности до уровня K5). Последующее динамическое наблюдение выявило тенденцию к нормализации уровней э-АТ, которые у большинства пациенток через 1 месяц после окончания антибиотикотерапии достигали константных значений. Таким образом, антибиотикотерапия высокими дозами ретарпена вызывала длительное ингибирование синтеза э-АТ. После стабилизации уровней э-АТ (спустя 1-2 мес. после отмены антибиотика) у 21 % пациенток показатели сывороточного содержания э-АТ достигли нормальных значений, а у остальных - оставались стабильными, однако сниженными (в 52 % случаев) или повышенными (в 27 %

случаев) относительно граничных значений нормы.

Следует отметить, что изменения содержания разных по антигенной специфичности э-АТ (реагирующих с тем или другим из 4 белков-мишеней тест-системы) носили однонаправленный характер как при развитии болезни, так и сразу после антибиотикотерапии. Наибольшая рассогласованность между уровнями сывороточных э-АТ у различных пациентов наблюдалась спустя 1-2 мес. после окончания применения антибиотика.

На рисунке приведены 3 примера динамики изменений сывороточной иммунореактивности к белку ОБМ. В соответствии с данными примерами всех обследуемых можно условно подразделить на 3 группы в зависимости от иммунореактивности сывороточных э-АТ через 1-2 мес. после окончания курса антибиотикотерапии: нормореактивные, гипореактивные и гиперреактивные.

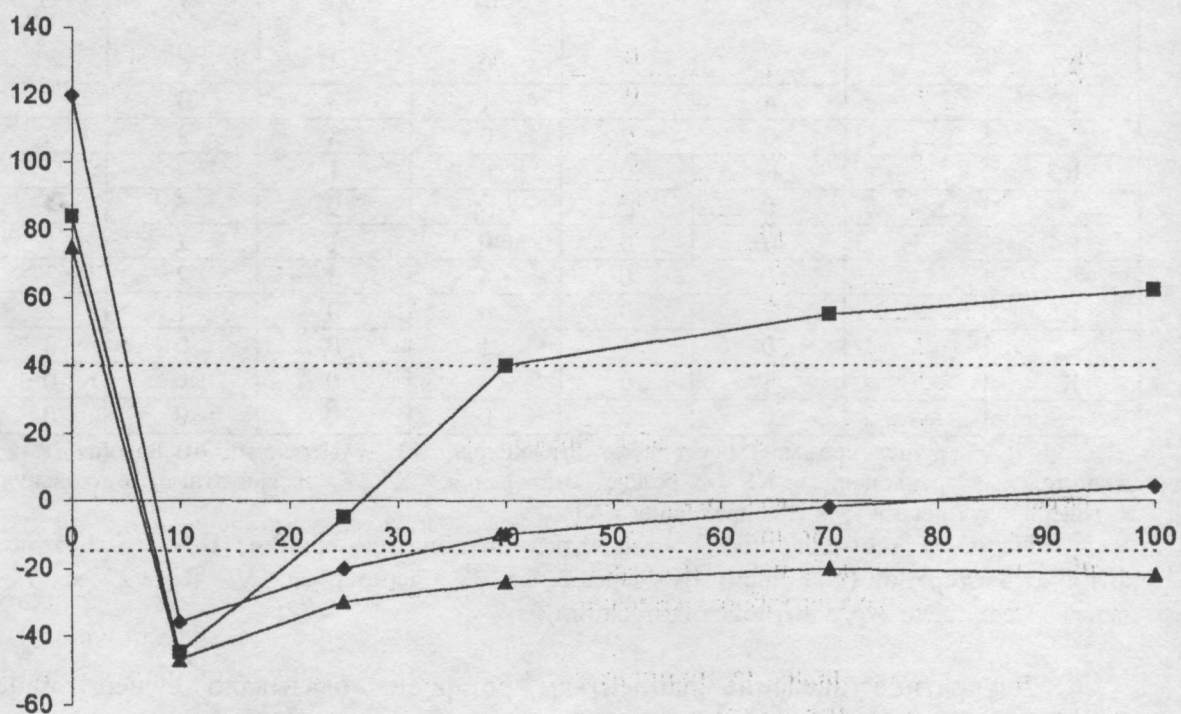


Рисунок 1.

Примеры динамики изменений сывороточной иммунореактивности к белку ОБМ.

Женщин контрольной группы тоже можно разделить на аналогичные три группы. Однако динамическое наблюдение за уровнями их э-АТ не выявило их амплитуды колебаний более чем на 17 % от исходного значения ($p < 0,05$). Причем эти колебания не носили какого-либо однонаправленного характера.

Клинический опыт, накопленный по применению диагностической системы ЭЛИ-П-Тест в акушерско-гинекологической практике свидетельствует о том, что если женщина не относится к группе нормы по содержанию э-АТ, практически всегда имеется какая-то причина, которая обуславливает аномалии в продукции э-АТ. К таким причинам относятся вирусные и бактериальные инфекции (в том числе, в латентной форме), обострение каких-либо хронических воспалительных заболеваний, эндокринные нарушения и т.д. Полученные данные также свидетельствуют, что по характеру изменений показателей ЭЛИ-П-Теста

можно с высокой вероятностью судить о причинах, вызвавших данные изменения. Так, например, снижение показателей ЭЛИ-П-Теста ниже границ нормы в 70-80% случаев свидетельствует о наличии активной вирусной или вирусоподобной инфекции. Умеренно выраженное повышение всех или части показателей ЭЛИ-П-Теста обычно сопровождается периодическую активацию (обострение) хронического инфекционно-воспалительного процесса и т.д. [10].

Важно отметить, что независимо от конкретной причины, вызвавшей нарушения в продукции э-АТ, чем более выражены оказываются наблюдаемые нарушения, тем больше оказывается вероятность неблагоприятного исхода беременности. Так, например, анализ исходов беременности у 26 женщин, имевших в 1 триместре стабильные показатели группы К6, показал, что ни одна из них не родила здорового ребенка. В то же время при анализе исходов беременности 522 женщин, у которых во время 1 триместра наблюдались стабильно нормальные показатели содержания э-АТ (групп К1), было показано, что в 92,4% случаев беременность завершилась рождением здорового ребенка; у женщин этой группы не наблюдалось ни одного случая рождения ребенка с серьезными пороками развития. Принципиально важным является то, что своевременное устранение причины, вызвавшей изменения в продукции э-АТ на этапе прегравидарной подготовки, позволяет заблаговременно провести необходимое лечение и добиться нормализации их сывороточного содержания (что является одним из важнейших условий нормального развития эмбриона/плода при наступлении беременности) [11].

Полученные в ходе настоящего исследования данные позволяют предложить оптимизированный алгоритм прегравидарной подготовки женщин после лечения сифилитической инфекции.

1. Так как после отмены антибиотика (ретарпена) его негативное влияние на продукцию э-АТ может продолжаться от нескольких недель до 1-2 месяцев, то обследование на содержание э-АТ следует проводить не ранее 2 месяцев после завершения терапии.
2. Обследование женщин с помощью метода ЭЛИ-П-Тест на фоне приема ретарпена, а, возможно, и других фармакопрепаратов, может являться причиной ложных результатов, не отражающих реальное состояние иммунных механизмов регуляции развития эмбриона и плода.
3. Если по истечении 2 месяцев после окончания антибиотикотерапии женщина имеет измененные показатели ЭЛИ-П-Теста, это позволяет предположить наличие дополнительной, ранее неучтенной причины, вызывающей соответствующие изменения. Последнее является показанием для выполнения уточняющих дополнительных специальных исследований, позволяющих определить конкретные особенности изменений гормонального статуса, наличие у нее определенных ассоциатов условно-патогенной флоры и т.п.
4. После установления конкретной дополнительной причины, приводящей к нарушениям продукции э-АТ и проведения соответствующих лечебных мероприятий по ее устранению, повторное тестирование женщины по методу ЭЛИ-П-ТЕСТ позволяет оценить эффективность и достаточность проведенного дополнительного лечения и, соответственно, дать обоснованное заключение о желательности или нежелательности гестационного процесса после проведенных мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абрамов В.В.* (1988) Взаимодействие нервной и иммунной систем. Наука, Новосибирск.
2. *Донцов В.И.* (1989) Иммунология, **8**, 94-96.
3. *Radosevic-Stasic B.* (1980) *Period. Biologorum*, **82**, 83-87.
4. *Green D. R., Wegmann T. G.* (1986) *Progr. Immunol.*, **6**, 1100-1112.
5. *Агеев А.И.* (1994) Лицо рака, Медицина, М.
6. *Dennenberg V.* (1991) В сб.: Условный рефлекс в системе нейронаук, Ленинград, с. 37-38.
7. *Dennenberg V., Sherman G.F., Morrison L., Schrott L.M., Waters N.S., Rosen G.D., Behan P.O., Galaburda A.M.* (1992) *Brain Res.*, **571**(2), 323-329.
8. *Takeuchi S.* (1990) *Amer. J. Reprod. Immunol.*, **24**(4), 108-119.
9. *Поletaев А.Б., Вабищевич Н.К., Морозов С.Г.* (1998) Способ скринингового обследования женщин детородного возраста с помощью тест-системы ELI-P для прогноза развития эмбриона и плода и рождения здорового либо аномального ребенка. Российский патент № 2107913 от 27 марта 1998.
10. Метод ЭЛИ-П-Тест в оценке состояния репродуктивного здоровья женщин фертильного возраста. Информационное письмо Министерства здравоохранения РФ, Москва, 2001.
11. *Поletaев А.Б., Вабищевич Н.К.* (1997) *Вестн. Росс. ассоц. акуш.-гинеко.*, **4**, 21-24

Поступила 10.01.2000

THE EFFECT OF ANTIBIOTIC THERAPY ON EMBRYOTROPIC ANTIBODIES IN WOMEN

S.G. MOROZOV^{1,2}, A.B. POLETAEV³, V.E. RADZINSKY⁴, A.N. PROTSENKO⁴
D.A. KORGENEVSKII²

¹Municipal hospital №29 Committee for health, Moscow; ²Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry RAMS; ³Fund Chernobyl-Test; ⁴Department of obstetrics and gynecology, Peoples Friendship University, Moscow

Embryotropic antibodies (e-Ab) serum contents were analysed in 29 serum samples obtained from women suffering with primary lues. Before treatment the content of e-Ab against MBP, S100, ACBP14/18, and MP65 were markedly elevated in 28 samples. Two injections of Retarpen (2,5 mln Units with one week interval) were enough for effective treatment of lues. At the same time treatment caused deep and reversible inhibition of e-Ab production. One or two months later the levels of e-Ab returned to normal values in 21% of women, in 52% patients the hypoproduction, and in 27% the hyperproduction of e-Ab were noted. Deviations of e-Ab production after effective retarpen treatment suggest the existence of additional reasons which may influence e-Ab production, and necessity of additional diagnostic and curative measures for such women during pregravidal period.

Key words: embryotropic antibodies, antibiotic therapy, ELISA