

УДК 618.29 + 616. 1. 99. 8. 616. 003

Маслянюк Р.П., д.б.н., професор, **Божик Л.Я.**, к.вет.н., ст. викладач,
Пукало П.Я., к.вет.н., в.о. доцента, **Левківський Д.М.**, к.вет.н., доцент ©
*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького*

СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ ДІАГНОСТИКИ В СИСТЕМІ МАТИ - ПЛАЦЕНТА - ПЛІД

Представлено дані літератури в проблемах і методах (молекулярна діагностика, імунофлуоресцентний аналіз, авторадіографія, нанотехнологія та ін.) досліджень амніотичної рідини (АР), пуповидної крові (ПК), ворсин хоріону (ВХ), біоптату шкіри плода, отриманих трансабдомінально, та материнської крові для виявлення початкових ознак можливої природженої та спадкової патології, інфікування та порушення стану здоров'я плода на різних стадіях гестації. Аналізуються інформативність результатів і ефективність використання для вдосконалення ранньої діагностики.

Ключові слова: лабораторна діагностика, пренатальний період, здоров'я плода.

Турбота про здоров'я, довголіття та продуктивність людини і тварин повинна розпочинатися задовго до їх народження. Міцне здоров'я – це невід'ємна умова високої резистентності організму до різних несприятливих факторів зовнішнього середовища, еталон якості життя та благополуччя кожної людини, а також високоякісної продукції тварини.

За даними численної літератури в усьому світі спостерігається підвищення тенденції народжуваності дітей з вродженими вадами розвитку ВВР і спадковими хворобами (СХ) [6, 8, 11, 13, 15, 16], а тварин з порушенням антенатального розвитку (ПАР) [9,10]. Народження хворої дитини чи тварини завжди пов'язана з важкими моральними та матеріальними збитками для сім'ї та суспільства.

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті в розумінні етіології і патогенезу багатьох захворювань дітей і тварин в ранньому віці, досягнення в лікуванні їх поки що не вражають. Тому на перший план висувається розвиток ранньої пренатальної діагностики, яка представляється невід'ємною частиною допомоги вагітним, як ефективний спосіб запобігання патології новонародженим.

Оскільки мати і плід знаходяться в інтимному взаємозв'язку, то умови внутрішньоутробного розвитку в значній мірі визначають стан здоров'я новонароджених на все їх подальше життя. Для розвитку плода характерним є одночасне співіснування та активне функціонування власного специфічного метаболізму і метаболізму матері, типового для дорослого організму, які не функціонують з однаковою інтенсивністю. Організм матері є навколишнім середовищем, під впливом факторів якого відбувається реалізація генотипу

зиготи у фенотип сформованого організму, що викликає інтерес вивчення плодово-материнських відносин протягом пренатального розвитку.

Інтенсивний розвиток методологічної бази сучасної молекулярної біології, генетики, генної інженерії та імунобіології дозволяють вивести пренатальну клінічну діагностику на якісно вищий рівень у відношенні отриманої інформації. Так, недавно вдалося розробити методичні умови виділення фетальних клітин із проб материнської крові в період гестації [20]. Процедура передбачає фракціонування зразків крові в градієнті Percoll (подвійної щільності) з наступним сортуванням магнітно - активованих клітин з антитілами СД 71.

Точність і чутливість проведених досліджень істотно підвищується при використанні імунофлуоресцентних методів [25] і радіоімунного аналізу, як це було зроблено при виявленні рівнів креатинкінази та міоглобіну [23].

Для ранньої діагностики таких серйозних патологій як молекулярні порушення в колагенах типів I і III, що складають одну третину всіх білків організму, знайшли ізотопні методи [21]. Пряма радіографія електрофоретичних гелів демонструвала синтез колагену *in vivo*, тоді як авторадіофлуорографія дозволяла ідентифікувати колагени синтезовані протягом інкубації *in vitro*.

Заслугове на увагу значний вклад в підвищенні чутливості та інформованості пренатальної діагностики, внесені при застосуванні зворотної транскриптази та ланцюгової полімерази. [22]. Такі технології уможливили як напрацювання КДНК (для аналізу пошкоджень нуклеїнових кислот), так і біосинтез білків по ДНК, виділеної з мікробом ворсин хоріону (ВХ). Такі методи незамінні в ранній діагностиці м'язових дистрофій і інших патологій [14].

Однак незважаючи на безумовні успіхи новітніх методів досліджень, не можна залишити без уваги сформований комплекс традиційних клінічних біохімічних методик. За останній час в ході з'ясування глибинних взаємозв'язків між геномом і протеомом організму проходить переосмислення значення та регуляторних можливостей окремих сполук в загальній системі метаболічних процесів в організмі. Сьогодні найбільш вивчені такі стандартні методи, як наприклад визначення білірубину на глюкози.

В ряді досліджень [18,19, 24] показано, що вміст білірубину збільшується в амніотичній рідині (АР) при гемолітичній хворобі плода, що виникла в результаті резусконфлікту.

В дослідженнях, проведених різними авторами [18, 19, 24] виявлено, що вміст глюкози в АР є об'єктивним маркером внутрішньоутробної інфекції (ВІ) і може бути використаний як швидкого та недорогого індикатора розвитку інфекційної патології, зокрема, при цитомегалії.

Потрібно зазначити, що для стану здоров'я плода загрозливим може бути як високий вміст глюкози в АР, наприклад при діабетичній фетопатії, стресах вагітних [1, 11, 19], так і зниження її, що було відзначено при гіпоксії, затриманні розвитку плода та фетоплацентарної недостатності [3, 4, 7].

Розширюється спектр досліджень гормонів, цитокінів, рилізінг-факторів, які визначаються під час пренатальної діагностики. Застосування

сучасних медичних підходів (імунофлюоресцентний аналіз, авторадіографія, нанотехнології) дозволено підвищити її чутливість, точність та інформативність. Так, використання імунофлюоресцентного методу визначення епідермального фактору росту дозволило знайти чутливий маркер розвитку діабету у плода [19]. Використання моноклональних антитіл при визначенні тироїд – стимулюючого гормону дозволило підвищити точність діагностики порушень йодного обміну на ранніх стадіях розвитку дитини [15].

За допомогою імуноферментного аналізу визначення в АР, фактора некрозу пухлин (ФНП) дозволило підвищити точність діагностики ВВР плода і патології плаценти, починаючи з 15-го тижня вагітності [12]. Відомо, що ФНП бере активну участь у формуванні тканин плода і одним із пускових механізмів проти запальної реакції. Дослідження його вмісту може визначити наявність будь - яких відхилень у розвитку плода в системі мати - плацента - плід. ФНП розглядається не тільки як первинний месенджер імунної відповіді, але й як показник активності процесів нормального функціонування тканин і органів у ембріогенезі.

Основними факторами, що впливають на експресію генів плода є гормони, які утворюються в організмі матері за впливу внутрішніх і зовнішніх стимулів. Дослідженнями багатьох авторів підтверджується зв'язок високого рівня стресу матері з затримкою розвитку плода (ЗРП), порушенням статевої диференціації мозку, передчасними родами, народження дітей - гіпотрофіків [1, 8, 11, 25]. У таких дітей частіше зустрічаються: серцево-судинні захворювання, цукровий діабет, психічні розлади в дорослому стані [11, 20].

Основною причиною порушення розвитку плода при стресі є активізація гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи та стійке зростання вмісту глюкокортикоїдів [1, 11]. Відомо, що вагітність є періодом фізіологічного гіперкортицизму, що забезпечує зростаючі метаболічні потреби материнського організму, шляхом стимуляції глюконеогенезу та ліполізу. У той же час, маючи здатність проникати через гематоплацентарний бар'єр і будучи антагоністами СТП, глюкокортикоїди можуть пригнічувати ріст і розвиток плода [1, 8, 11, 15].

Вміст у крові некон'югованих з кислотами форм естрогенів комплексно відбиває функціональний стан фето - плацентарного бар'єра (ФПБ). Зниження вмісту естрогенів у плазмі крові більше, ніж на 35% вказує на гостру недостатність функціонування ФПБ і є сигналом загрози для плода , підвищення відзначено при багатоплідній вагітності, крупному плоді [8, 20].

В ряді досліджень виявлено зміни продукції гормонів, синтезу ферментів і метаболізму вуглеводів, амінокислот і ліпідів. Зокрема, встановлено три типи змін (підвищення, зниження та варіант норми) активності лужної фосфатази (ЛФ) в АР, що свідчить про дисфункцію плаценти і порушення становлення метаболічних шляхів в єдиній системі мати - плацента - плід, і в свою чергу може бути преморбідним фоном розвитку патології в функціональних системах плода. Отже, за даними [2, 4] зміни активності ЛФ у співставленні з іншими розробленими діагностичними критеріями можна розцінювати як об'єктивні достовірні маркери ФПН, перспективні для виявлення цієї патології на доклінічному рівні.

В інших дослідженнях материнської крові, з використанням ELISA - методів проводилося визначення рівнів зв'язаних з вагітністю білка - альфа - фетопротеїну (АФП) [16]. Як з'ясувалося низький рівень АФП плазми крові матері, вже в першому триместрі вагітності чітко корелював із синдромом Дауна в плоді [16]. Масовий скринінг вагітних показує, що найбільш інформативним маркером синдрому Дауна й інших трисомій є підвищення вмісту ХГЛ, в той час, як АФП може бути знижений порівняно з нормою, особливо якщо його визначити до 17 тижнів вагітності [1,8].

Результати багатьох досліджень показують, що особлива увага повинна бути приділена виявленню і визначенню тимчасових (щотижневих, або об'єднаних у цикли/ періоди щомісячних) закономірностей змін біохімічних показників в нормі і при патології [3, 5]. Статистична обробка отриманих даних дозволить вже на ранніх стадіях виявити не тільки відхилення у розвитку плода, алей завчасно розпочати їх корекцію з метою мінімізації негативних наслідків для плода [12, 13, 16, 17]. Глибокий аналіз результатів дозволяє розробити нові діагностичні критерії для характеристики стану здоров'я плода, а також визначити тимчасові (щотижневі/ щомісячні) закономірності змін показників в пренатальному онтогенезі.

Таким чином, проблема діагностики та забезпечення здоров'я плода вже на ранніх термінах розвитку передбачає розробку системи своєчасного виявлення самих початкових ознак патології для запобігання розвитку хвороб різного походження та народження неповноцінного потомства.

За останні роки отримано нові дані на основі застосування порівняно простих і доступних стандартних методів дослідження біологічного матеріалу: АР, ПК, отриманих трансабдомінально, а також крові матері. Результати проведених досліджень свідчать про те, що біохімічні аналізи можуть бути рекомендовані як діагностичні тести в лабораторний паспорт при моніторингу стану здоров'я плода, як при нормальному розвитку, так і при ускладненій вагітності. Правильний вибір обсягу лабораторно - діагностичних методів і поглиблена наукова інтерпретація результатів у кожному конкретному дослідженні допоможе підтвердити або скасувати припущення щодо діагнозу, визначити тактику лікаря, призначити відповідну корегуючу терапію, провести контроль за ефективністю лікування, уникнути ускладнень, попередити розвиток хвороби, а також буде сприяти готовності постнатальних служб надати спеціалізовану допомогу новонародженим пацієнтам.

Тому широке використання стандартних біохімічних методів можна розглядати як перспективну ланку загального ланцюга пренатальної лабораторної діагностики. В цьому зв'язку розвиток нових методів і технологій (молекулярна діагностика, імуноферментні та радіологічні методи, високоефективна хронографія, нанотехнології) забезпечить розширення спектра об'єктивних показників по кожній нозологічній формі патології плода, підвищить чутливість, точність та інформативність досліджень, а в цілому буде сприяти проведенню своєчасної фетальної корегуючої терапії і подальшому вдосконаленню пренатальної діагностики.

Література

1. Гайдай Г.Л. Дослідження клінічних біохімічних показників амніотичної рідини та пуповидної крові плода в різні терміни гестації у вагітних груп високого ризику / Г.А. Гайдай // Дис....канд. біол. наук. – К., 1996. – 186 с.
2. Гайдай Г.Л. Активність аспарат - і аленінтрансамінази, лужної фосфатази в амніотичній рідині, пуповинній крові та материнській крові в процесі фізіологічного розвитку плода при необтяженій вагітності / Г.Л. Гайдай // Лаб. діагностика, 2002. - №3. – С. 49-55.
3. Гайдай Г.Л. Особливості біохімічного дослідження амніотичної рідини у вагітних жінок при гіпоксії та синдромі затримки розвитку плода / Г.Л. Гайдай // Лаб. діагностика. – 2003. - № 1. – С. 31 – 38.
4. Гайдай Г.Л. Активність лужної фосфатази амніотичної рідини вагітних за фета - плацентарної недостатності / Г.Л. Гайдай // Лаб. діагностика. – 2003. - № 4. – С. 50 - 55.
5. Гайдай Г.Л. Комплексний моніторинг биохимических показателей пуповинной крови и амниотической жидкости // Лаб. диагностика, 2005. - № 1. – С. 25 - 31.
6. Гайдай Г.Л. Ефективність застосування біохімічних методів як критеріїв порушення стану здоров'я плода / Г.Л. Гайдай // Мат. ІХ Україн. біохім. з'їзду. – Харків, 2006. – Т. 2. – С. 38-39.
7. Гайдай Г.Л. Сучасні методи пренатальної діагностики / Г.Л. Гайдай // Лаб. діагностика, 2007. - № 3. – С. 65 - 71.
8. Гордиенко И.О. Пренатальная диагностика и лечебно - профилактические мероприятия у беременных группы высокого риска / И.О. Гордиенко // Дисс... д-ра мед. наук. – К., 1992. – 320 с.
9. Маслянюк Р.П. Імунологічні відносини мати - плід у тварин / Р.П. Маслянюк, О.В. Михалюк, О. П. Сухорецька // Наук. вісн. ЛНУВМ та БТ – 2010. – Т.2 (46). – С.142 - 146.
10. Маслянюк Р.П. Захисні та біологічно - активні речовини плаценти / Р. П. Маслянюк, Р.Б. Флюнт // Наук. вісник ЛНУВМ, 2005. – Т. 7. – С. 63 - 68.
11. Резников А Г Половые гормоны и дифференциация мозга / А.Г. Резников // К.: Наук., 1992. - 252 с.
12. Фактор некрозу пухлин та розчинні рецептори до нього в амніотичній рідині жінок при вроджених вадах розвитку плода і плаценти / Н.І. Собко // Перинатол. та педіатрія // 2000. - № 3. – С. 11-13.
13. Vick D.P. Prenatal diagnosis of smith Lertli Syndrome in a pregnancy with low maternal serum aestrol and a six reversed fetus | D.P. BicK // Prenat. Diagnos. – 1999, V.19. – P.68.
14. Bieber F. R. Buchenne and Becer muscular dystrophies: genetics, prenatal diagnosis and future perspects | F. R. Bieber // Clin Peryriatol., 1999. – V. 17. – P. 845 - 855.
15. Capeland D.I. Comparison of neonatal thyrsid - stimulating hormone levels and indicators of iedine deficiency in school children | D.I. Capeland // Pablic Health Nutr., 2002. – V.5 – P. 81-87.

16. Fialowa I. PAPP - A in the first trimester of pregnancy | I. Fialowa, L. Mikuliowa || Caska Gynecol., 2006. – V.66. – P. 280 - 285.
17. Halbrook K. A. Prenatal diagnosis of genetic skin disease using fetal skin biopsy | K.A. Halbrook, I.T. Smith || Arch. Dermatol., 2003. – V. 129. - P. 1417 - 1434/
18. Kitz R.J. Amniotic fluid glucose concentration as a marker for intra - amniotic infection) | R. J. Kitz, M. Barke || Obstet. Gynecol. - 1991. - V. 78. - P. 619 - 622.
19. Kirshon B. Amniotic fluid glucose and intra - amniotic infection | B. Kirshon, G. Ueri | Am. J. Obstet. Gynecol., 1991 - V.164. – P. 818 - 820.
20. Leukovaara M. Diabetic pregnancy associated with increased epidermal growth factor in cord serum | M. Leukovaara, P. Leinonen || Obstet. Gynecol. - 2004 - V 10 - P 240 - 244.
21. Nagy G.R. First attempts of detecting fetal cells in the maternal circulation | G. R. Nagy, Z. Ron || Orv. Heill. - 2004. - V. 145. - P. 2331 - 2336.
22. Raghunath M. Prenatal diagnosis of collagen disorders by direct biochemical analysis of chorionic villus biopsies | M. Raghunath || Pediatr. Diagn. - 2005. V. 25. - P. 1173 - 1181.
23. Rantadi T. Prenatal diagnosis of Marfan Syndrome | T. Rantadi || 1995/ V 15. 1116-1121.
24. Reby P.V. Association of elevated umbilical cord blood creatinine and Pzemat Diagn. Renase and myoglobin levels with the presence of cocaine metabolites in maternal urine | P. V. Reby || An. J. Perinatol. - 1996. - V.13. - P. 453 - 455.
25. Romero R. Amniotic fluid glucose levels: a rapid and simple method for the detection of intraamniotic infection | R. Romero, A. K. Lahda || An. J. Obstet Gynecol. – 1990. – V 16. – P. 968 - 974.
26. Word J. S. Thyroid stimulation hormone levels in cord blood are not influenced by non - thyroidal mothers diseases | J. S. Word, I. S. Kuiu || Sar. Paulo Med. J. 2000. – V. 118. – P. 144- 147.

Summary

The review summarizes scientific publication on the modern methods (molecular diagnostics, immune fluorescence analysis, autoradiography, nanotechnologies etc.) of investigation the amniotic fluid (AF), cord blood (CB), chorionic villi, fetal serum, transabdominally, as well as mother peripheral blood for marking primary signs of hereditary and infectious pathologies, disturbances of fetal health status in different terms of gestation. The methods self-descriptiveness and effectiveness for further prenatal diagnostics improving have been analyzed.

Рецензент – д.вет.н., профессор Стефаник В.Ю.