**Лейкоцитарный пул кордовой крови в зависимости от экстрагенитальной и акушерско–гинекологической патологии беременности**

О.В. Бондаренко

В.В. Лазуренко

О.В. Кудокоцева

И.А. Бондаренко

И.И. Ломакин

**Вступление**

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) кордовой крови (КК) является эффективным методом лечения различных заболеваний крови, иммунной системы, нарушений обмена веществ и онкологических заболеваний [12, 13]. Во всем мире ежегодно расширяются показания к данному виду терапии, а количество проведенных трансплантаций возрастает.

В Украине в Институте проблем криобиологии и криомедицины (ИПКиК) НАН Украины и ГП «МНЦ криобиологии и криомедицины НАН, АМН и МЗ Украины» разработаны и внедрены в практику методы «поддерживающей» (supporting) терапии, с помощью которой донорские лейкоцитарные клетки КК могут быть использованы не только в гематологической практике, но и в лечении широкого спектра негематологических заболеваний различного генеза [11]. Результаты экспериментальных исследований создают предпосылки для успешного применения лейкоконцентрата КК в лечении целого ряда неврологических, кардиологических, герантологических и других заболеваний [1, 3, 7, 12].

Кордовая кровь вызывает все больший интерес в медицинском сообществе благодаря множеству научных исследований, подтверждающих ее высокую медико-биологическую ценность [12, 13]. Многогранность терапевтического потенциала КК связывают с наличием в ней мультипотентных стволовых клеток, которые способны давать начало не только ГСК, но и эпителиальным, эндотелиальным и нервным клеткам–предшественникам [12].

Актуальность создания государственных банков донорской КК в Украине приобретает особое значение, однако возникает целый ряд проблем, касающихся качества КК. Этот вопрос связан со все чаще встречающейся патологией беременности, с наличием экстрагенитальных и гинекологических заболеваний у женщин, их обострением во время беременности и родов, что оказывает существенное влияние на состояние и развитие как плода, так и новорожденного ребенка. Частота экстрагенитальной и акушерско–гинекологической патологии в Украине среди беременных женщин, несмотря на их молодой возраст, очень высока и составляет 35–50%, а по некоторым данным – 60% и выше, что несомненно является ведущим фактором перинатального риска [4, 8]. В этой связи несомненный интерес представляют исследования влияния экстрагенитальной и акушерско–гинекологической патологии на состояние плода. Известно, что кроветворная система плода к концу гестационного периода является самым чувствительным индикатором, отражающим особенности течения беременности и родов, перенесенные матерью заболевания, а количественный и качественный состав клеточных элементов КК характеризует состояние новорожденного ребенка. Однако пока неясно, может ли КК при патологической берменности рассматриваться в качестве источника пригодных для трансплантации и поддерживающей терапии ГСК.

**Цель исследования**

Характеристика лейкоцитарной фракции кордовой крови новорожденных в зависимости от экстрагенитальной и акушерско-гинекологической патологии матери.

**Материалы и методы**

Объектом исследования была КК человека, которую получали из материнского конца пуповины после ее отделения у рожениц после подписания с ними информированного согласия и отсутствия стандартных противопоказаний. Кровь отбирали в стерильные флаконы с добавлением антикоагулянта CPD (цитрат–фосфат–декстрозный раствор) с соблюдением правил асептики и антисептики. Сбор КК осуществляли в течение 2–10 минут после родов.

Кордовая кровь, полученная при неосложненной беременности и нормальных родах у 20 женщин, была использована в качестве контроля (К).

В исследовании добровольно принимали участие беременные с экстрагенитальной патологией, среди которых была скоррегированная железодефицитная анемия (А), сопровождающаяся снижением уровня гемоглобина до 90 г/л (21 женщина), высокая степень ожирения (О) и преэклампсия (ПЭ), соответственно 18 и 19 женщин. Наиболее распространенными проблемами, которые отмечались у беременных, имеющих экстрагенитальную патологию, были угроза прерывания беременности (УПБ) и плацентарная дисфункция (ПД), в каждой группе было по 20 человек.

Учитывая поставленную задачу по выяснению пригодности КК для долгосрочного хранения лейкоконцентрата в низкотемпературных банках донорской крови, в первую очередь мы обращали внимание на состав лейкоцитарного пула КК, среди клеток которой нас интересовало абсолютное количество ядросодержащих клеток (ЯСК) и процентное содержание лимфоцитов, моноцитов, нормобластов и ГСК (CD34+–клеток).

Общее количество лейкоцитов в КК определяли стандартным методом в камере Горяева. Для точной морфологической характеристики клеток использовали мазки КК, окрашенные по методу Паппенгейма–Крюкова (комбинированная окраска фиксатором–красителем Мая–Грюнвальда и краской Романовского). Количество лимфоцитов, моноцитов и нормобластов определяли при подсчете лейкоцитарной формулы.

Количество ГСК (CD34+–клетки) определяли с помощью проточного цитофлуо-риметра («FACS Calibur», «Becton Dickinson», США) с использованием реагентов «Becton Dickinson» [2].

Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью стандартных статистических и прикладных программ различными методами параметрической статистики (вычисление среднего арифметического (М), стандартной ошибки (m), достоверности различий средних величин по t–критерию Стьюдента, F– критерию Фишера). Различия считали достоверными при p<0,05.

**Результаты и их обсуждение**

Клеточный состав КК доношенного новорожденного, являясь следствием стресс-индуцированной мобилизации клеток, в том числе и CD34+–клеток, из костного мозга в периферический кровоток, отражает не только течение периода родов, но и является следствием многих процессов, протекавших во время беременности [4, 9]. Как видно из табл. 1, скоррегированная адекватной терапией железодефицитная анемия (А), преэклампсия беременных(ПЭ) и угроза выкидыша (УПБ) не влияют на клеточный состав КК.

Материнское ожирение (О) в настоящее время является одним из наиболее часто встречающихся факторов риска в акушерско–гинекологической практике. Наиболее распространенным нарушением обмена веществ во время беременности является гестационный сахарный диабет, который значительно чаще выявляется у матерей с ожирением. В проведенном нами исследовании выявлено, что высокая степень ожирения у беременной значимо отражается на клеточном составе крови новорожденного: возрастают показатели количества

ЯСК в лейкоцитарном пуле КК, процентное содержание в крови моноцитов и ГСК (р<0,05).

Очевидно, увеличение доли CD34+–клеток в КК при материнском ожирении может быть связано с измененной мобилизацией СК плода при беременности [6], однако эти результаты следует интерпретировать только как предварительные из–за небольших размеров выборки.Хроническая плацентарная недостаточность (ПД) приводит к увеличению количества нормобластов, причем на количество нормобластов влияет только состояние хронической гипоксии плода, так как при острой гипоксии (ОДП) система кроветворения, возможно, не успевает ответить пролиферацией эритроидных предшественников [6]. Гипоксия является мощным стрессовым фактором и должна приводить не только к повышению количества эритроцитов с компенсаторной целью, но и к повышению количества других клеток крови как следствие цитокиновой мобилизации в ответ на стресс [10].

Нами выявлено увеличение количества лейкоцитов как при хронической внутриутробной гипоксии плода, обусловленной плацентарной дисфункцией, так и при острой гипоксии в родах, что согласуется с данными литературы [5, 6, 10]. Интересно, что при остром дистрессе плода количество СD34+–клеток значительно выше контрольных показателей, полученных при неосложненной беременности и родах (р<0,05), а количество нормобластов значимо не изменяется. Хроническая внутриутробная гипоксия приводит к увеличению количества нормобластов до 11,43±1,08% по сравнению с 5,45±0,04% в контрольной группе, но при этом количество СD34+ клеток значительно снижается до 0,54±0,05% против 0,85±0,02% в контроле.

Таким образом, происходят значимые изменения баланса между дифференцировкой и самообновлением стволовых клеток: число CD34+–клеток увеличивается при ОДП и снижается при плацентарной дисфункции, которая, в отличие от ОДП, приводит к достоверному увеличению числа нормобластов в КК (р<0,05). Таким образом, учитывая полученные результаты исследования, можно прийти к следующим заключениям:

– скоррегированная адекватной терапией железодефицитная анемия, преэклампсия беременных и угроза прерывания беременности не отражаются на составе лейкоцитарного пула кордовой крови новорожденных и не являются противопоказаниями для заготовки аллогенных ГСК КК;

– материнское ожирение, плацентарная дисфункция и острый дистресс плода достоверно изменяют клеточный состав КК, увеличивая абсолютное количество ЯСК в крови новорожденных;

– при высокой степени ожирения беременной, помимо повышения количества ЯСК в КК, значительно возрастает и процентное содержание норобластов и ГСК;

– хроническая внутриутробная и острая гипоксия плода по–разному отражаются на содержании ГСК: при ХВГП количество CD34+–клеток значимо снижается, но при этом более, чем в 2 раза, возрастает доля нормобластов; при ОГП количество ГСК в КК достоверно возрастает.

**Вывод**

Характеристика лейкоцитарной фракции кордовой крови новорожденных в значительной степени зависит от экстрагенитальной и акушерско–гинекологической патологии матери, что необходимо учитывать при ее заготовке.

Перспективой для дальнейшей работы является определение влияния изучаемых патологий беременных на криоустойчивость ЯСК и ГСК КК новорожденных.

**Литература**

1. Айдарова В.Ю. Возможности использования клеток кордовой крови в неврологии / В.Ю. Айдарова, О.В. Кудокоцева, И.И. Ломакин, Г.А. Бабийчук // Проблемы криобиологии и криомедицины. –

2016. – Том 26 (2). – С. 1–13.

2. Бабийчук Л.А. Кордовая кровь – альтернативный источник стволовых клеток для регенеративной медицины: новые подходы к проблеме криоконсервирования / Л.А. Бабийчук, П.М. Зубов, В.В.

Рязанцев // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13(4). – С. 23–26.

3. Гольцев К.А. Коррекция препаратом кордовой крови "Криоцелл–Гемокорд" метаболических нарушений при остром гнойном перетоните / К.А. Гольцев, С.Е. Овсянников, О.Ю. Кожина // Пробл.

криобиологии – 2011. – Т. 21(1). – С. 96–103.

4. Громова А.М. Зависимость течения беременности, родов и состояния новорожденных, нуждавшихся в интенсивной терапии / А.М. Громова, Т.Ю. Ляховская, Е.А. Тарановская // Неонатологія,

хірургія та перинатальна медицина. – 2012. – №2(4). – С. 51–56.

5. Зимина Н.Н. Влияние острой и хронической внутриутробной гипоксии плода на формирование

клеточного состава пуповинной крови доношенных новорожденных / Н.Н. Зимина, С.А. Румянцев,

О.А. Майорова // Детская больница. – 2010. – №2(40). – С. 48–57.

6. Зимина Н.Н. Особенности клеточного состава пуповинной крови доношенных новорожденных

при различных вариантах острой и хронической гипоксии плода / Н.Н. Зимина, С.А. Румянцев, О.А.

Майорова // Вопросы практической педиатрии. – 2010. – №5(3). – С. 16–20.

7. Ломакін І.І. Застосування препарату Гемокорд у терапії хронічного гепатиту / І.І. Ломакін, В.Г.

Бабійчук, О.В. Гайовий, О.В. Сідоренко // Трансплантологія. – 2004. – №7(3). – С. 311–315.

8. Насадюк К.М. Состояние и перспективы криохранения и клинического применения пуповинной

крови в Украине / К.М. Насадюк // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. –

№4(1). – С. 98–104.

9. Румянцев А.Г. Пуповинная кровь, как источник информации о состоянии плода / А.Г. Румянцев,

С.А. Румянцев // Педиатрия. – 2012. – Т. 91(3). – С. 43–52.

10. Тюмина О.В. Гематологические аспекты заготовки пуповинной крови (10–летний опыт работы

самарского банка крови) / О.В. Тюмина, С.Е. Волчков, Л.М. Трусова, Д.Ю. Ключников // Гематология и трансфузиология. – 2013. – Т. 58(3). – С. 8–13.

11. Цуцаева А.А. Кордовая кровь как компонент поддерживающей терапии / А.А. Цуцаева, О.В.

Кудокоцева, А.В. Щеглов // Проблемы криобиологии. – 2001. – №3. – С. 93.

12. Ярыгин В.Н. Регенеративная биология и медицина. Книга II. Клеточные технологии в терапии

болезней нервной системы Екатеринбург; Москва; Омск; Томск; Ханты–Мансийск: Омская областная типография;– 2015. –360 с.

13. Ballen K.K. Umbilical cord blood transplantation: the first 25 years and beyond / K.K. Ballen, E.

Gluckman, H.E. Broxmeyer // Blood. – 2013. – Vol. 122. – P. 491–498.

14. Hadarits O. Increased proportion of hematopoietic stem and progenitor cell population in cord blood

of neonates born to mothers with gestational diabetes mellitus / O. Hadarits, A. Zoka, G. Barna // Stem Cells

Devtlopment. – 2016. – Vol. 25(1). – P. 13–17.