

ROLUL ANTICORPILOR ANTIFOSFOLIPIDICI ÎN DEZVOLTAREA INTRAUTERINĂ A SISTEMULUI NERVOS LA FĂȚ

Ion Iliciuc¹, Liliana Ciobanu¹, Svetlana Hadjiu¹, Cornelia Calcii¹, Alexandra Guscova², Diana Luchianciuc²

Curs Neuropediatric USMF „Nicolae Testemitanu”¹, Laboratorul științific de microbiologie și imunologie al IMSP ICSOSMC²

Summary

The study includes researches of several aspects of the immunologic impact, which hinders the maturation process of the nervous system of fetuses and newborns coming from mothers with a history of risk of abortion. We studied the phospholipids level and antiphospholipids in the blood cells of these pregnant women and their newborns. The phospholipids serve as plastic material, producing neuronal and cell membranes (*phosphoglycerols*), and myelin (*swingophospholipids*). Emergence of Ab-antiphospholipids at placental level, leads to alterations through antigenic similarity between the phospholipids from neuronal membranes and myelin, thus perturbing the development and maturation of the nervous system of foetus.

Rezumat

Studiul prevede cercetarea unor aspecte ale impactului imunologic, care are efect de frînare asupra maturatiei sistemului nervos la fetii și nou-nascuții de la mame cu iminenta de întrerupere a sarcinii în anamneza. Am studiat nivelul de fosfolipide și anticorpi antifosfolipidici în singele acestor gestante și nou-nascuților proveniți de la ele. Fosfolipidele servesc drept material plastic, formînd membranele celulare (fosfogliceroli), inclusiv și neuronale, și mielina (sfingofosfolipidele). Apariția Ac-antifosfolipidici la nivel de placenta, duce la alterări prin asemanare antigenică a fosfolipidelor din membranele neuronale și mielina, astfel perturbînd dezvoltarea și maturatia sistemului nervos la fat.

Actualitatea temei

Importanța domeniului abordat reiese din faptul că atât în lume, cât și în Republica Moldova morbiditatea, mortalitatea copiilor, cât și invalidizarea lor neuropsihică este înaltă. În structura morbidității copiilor de vîrstă mică (0-3 ani) în RM patologiei neurologice îi revine 65-70% [14]. Dinamica de creștere a morbidității neurologice la copiii nou-nascuți o putem urmări din datele statistice ale secției psihoneurologice a nou-nascutului a IMSP ICSDOSM și C pentru ultimii 3 ani (2007/2008/2009), care fiind o diviziune de talie republicană, reflectă situația morbidității neurologice neonatale pe republică. Astfel dinamica creșterii frecvenței malformațiilor congenitale ale sistemului nervos este: 2007-148 cazuri(23%)/ 2008-172 cazuri (25,6%)/ 2009 cazuri(32,4%); a encefalopatiilor perinatale asociate cu sindr. neurologice de baza:115(17,9%)/ 185(27,6%)/ 455(70,5%); a hemoragiilor intracraniene:57(8,8%)/ 163(24,3%)/ 123(19,1%); a epilepsiilor simptomatice:33(5,4%)/ 29(4,3%)/ 56(8,7%).

Noi reiesim din postulatul că orice patologie a SN la copii apare în locul slab, iese din „brazda programului genetic” de dezvoltare și maturare sub influența diferitor factori nocivi interni și externi și că întreaga gamă de patologii a SNC la copii apare din pricina tulburărilor de dezvoltare și maturare a sistemului nervos.

Originalitatea investigatiilor realizate consta în faptul ca pentru prima data în conditiile RM, s-au studiat unii markeri imunologici ai imaturatiei SN la fat si nou-nascut, coraportul lor cu factorii de risc ce survin în timpul perioadei intrauterine de dezvoltare a si maturare a sistemului nervos (SN). Aprecierea markerilor de imaturitate ne permit înca din perioada intrauterina propunerea unui tratament profilactic de corectie, care ar sustine accelerarea maturarii intrauterine a SN, adica si pregatirea catre actul de nastere a SN, moment extrem de important în profilaxia patologiilor neurologice ce survin postnatal. Determinarea acestor markeri ar sugera necesitatea unui tratament precoce postnatal de accelerare a maturarii SN, la vârsta mica a copilului, adica în perioada celor mai intense procese de dezvoltare si maturare a SN, când plasticitatea SN e maxima si rezultatele tratamentelor neurologice sunt cele mai promitatoare.

Studiul unor factori autoimuni de periclitare a sarcinii a fost sugerata de faptul ca în anamneza obstetricala a mamelor cu copii afectati neurologic, foarte frecvent se constata antecedente de iminenta a sarcinii, avorturi spontane, sarcini anterioare soldate cu nasteri premature si chiar cu moarte intrauterina sau perinatala a fatului. Studiile contemporane sustin ca pîna la 80% în sarcinile soldate cu avorturi spontane de cauza necunoscuta(fara malformatii-la morfologie, noncromosomiale, nonendocrine etc.) au la origine mecanisme imunologice de tip auto- sau alloimun, care perturbeaza procesul de implantare. La cel putin 25-30% din femeile cu avort spontan si 10% dintre femeile cu pierderi de sarcina recurente idiopatice s-au depistat anticorpi antifosfolipidici[1,2,5]. De asemenea 40% din cazurile de infertilitate cu cauze necunoscute(cu esecuri ale IVF) sunt rezultatele implicarii mecanismelor imune[4]. Se cunoaste, ca una din cauzele autoimune, care pericliteaza sarcina, soldîndu-se cu avorturi spontane (sub 10 saptamîni, fara schimbari morfologice) [6]sau complicatii ale sarcinii în trimestrul II,III(retard de dezvoltare intrauterina (RDIU), insuficienta feto-placentara, preeclampsii, eclampsii, tromboze, nasteri premature, mortinatalitate) sunt anticorpii antifosfolipidici(AAF).

Dupa cum s-a mai mentionat AAF sunt nespecifici de organ. Fiind sintetizate la nivel de placenta AAF trec în sînge si circula prin tot organismul, afectînd fosfolipidele la orice nivel. SN este organul cel mai bogat în fosfolipide. Neuronul are în componenta sa biochimica 70% fosfolipide, mielina - pîna la 85% de fosfolipide. Astfel, prin asemanare antigenica, SN devine tinta pentru AAF sintetizati în placenta. Impactul imunologic declansat la nivel de SN, duce, ca urmare la perturbari ale proceselor de sinteza si maturare a structurilor nervoase.

Obiectivele lucrării

De a studia coraportul dintre factorii de risc, ce pot declansa în timpul sarcinii o dereglare a proceselor fiziologice de dezvoltare si maturare a SN si marcherii imaturatiei (clinici, paraclinici, biochimici, imunologici-si anume AAF). A aprecia rolul inhibitor al AAF în procesul dezvoltarii si maturarii sistemului nervos la fatul provenit de la mame cu iminenta de întrerupere a sarcinii în anamneza.

Material și metode

Au fost selectate si supuse studiului 140 femei însarcinate (95 de femei au constituit lotul de studiu, 45-lotul martor). Gestantele din lotul de studiu au fost selectate conform urmatoarelor criterii:

1. *termenul de gestație* ce varia între saptîmanile 30-42. Acest interval al termenului de gestatie a fost ales reiesind din mai multe rationamente metodologice si tehnice -este termenul cel mai apropiat de momentul nasterii, ceea ce ne permite colectarea cît mai grabita a sîngelui ombelical de la nou-nascut (material necesar pentru realizarea acelorasi investigatii biochimice si imunologice propuse, rezultatele carora ne servesc drept markeri de maturatie sau imaturatie a creierului); exista pericolul pierderii legaturii cu gestanta(conduita ulterioara a sarcinii si nasterii la locul de trai-dupa tratament în sectiile de patologie a gravidei) si imposibilitatii colectarii ulterioare a sîngelui ombelical de la nou-nascut, absolut necesar pentru respectarea principiului continuitatii studiului propus; colectarea serurilor perechi(mama-nou-nascut) trebuie sa decurga

întermini reali, pentru a acumula cantitatea de probe corespunzătoare numărului de reactive în set, care poate fi deschis doar unimomentan.

2. *anamneză obstetricală complicată* prin: sarcini anterioare soldate cu avort spontan, naștere prematură, moarte antenatală a fătului, naștere de copii cu malformații ale creierului.

3. *anamneza actualei sarcini*:

-scurgeri hemoragice la diferiți termeni de gestație (preponderent în I trimestru al sarcinii, care ne poate vorbi despre inducerea unui proces de rejet imunologic al embrionului, de declanșare a sindromului antifosfolipidic, care, dacă nu se soldează cu avort spontan, atunci în forma sa mai ușoară afectează prin rectii Ag-Ac fosfolipidele, cantitatea de bază a cărora se concentrează la nivelul biomembranelor neuronale, ceea ce nu permite realizarea unui proces fiziologic normal de formare și dezvoltare ulterioară a țesutului nervos;

-întârzierea primei mișcări fetale;

-depășirea termenului de gestație de 40-41 săptămâni, fapt, care ar putea să ne sugereze ideea că creierul nu este maturat, pregătit anatomo-fiziologic către actul de naștere. În această rubrică s-a apreciat și întârzierea I mișcări fetale; diminuarea indicilor clinici de dezvoltare corespunzător vârstei de gestație a fătului (adaosul la masa corporală a gestantei, înălțimea fundului uterin, perimetrul abdominal).

E de menționat că în studiul anamnezei s-au luat în vedere și factorii care ar putea favoriza frînarea maturatiei SN la fat așa ca: *alimentație dezechilibrată* (saracă în glicofosfolipide și acizi grași esențiali, care servesc drept material plastic pentru formarea creierului, precum și aminoacizi (proteine), vitamine, macro- și microelemente, care ar servi ca coenzime în procesul de sinteză a SN); *stări patologice* ce survin pe parcursul sarcinii (-*anemii* de diferit grad (care ne vorbesc de o stare de hipoxie cronică în care s-a format și/sau dezvoltat fatul și care duce la depresia metabolismului fosfo-și glicolipidic, metabolism ce asigură formarea materialului de construcție a creierului); *viroze* (inclusiv și formele ușoare, care induc o stare toxi-hipoxică generală în organismul mamei și prin bariera feto-placentară destul de labilă și a fătului, iar hipoxia și toxinele frânează metabolismul glico-fosfo-lipidelor, ultimile chiar și procesul de mielinizare, care și fiziologic încă e nefinisat la naștere); stări acute sau cronice de *stres* psiho-emotional în perioada de gestație, care declanșează o stare de hipercateholemie, urmată de activarea fosfolipazei, deci și a peroxidării lipidice, ce duce la afectarea componentului fosfolipidic din membrana celulară (predominant celulei nervoase). Hipercateholemia determină și o vasoconstricție, urmată de stare de hipoxie a fătului, cu consecințele ei, plus dereglările de circulație la nivel feto-placentar dereglează aportul de materie primă necesară pentru dezvoltarea fătului, inclusiv și SN în proces de sinteză și maturare); patologii *extragenitale* asociate (pielonefrite cronice, diabet zaharat, hipotiroidie, patologii cronice ale cordului), care agravează evoluția sarcinii și provoacă dereglări metabolice ce afectează în mod indirect procesul de sinteză și maturare a creierului.

4. *rezultatele investigațiilor paraclinice*: determinarea USG-ca al prezentei retardului de dezvoltare intrauterină (RDIU), anomaliilor de dezvoltare a SN la fat; determinarea prin Dopplerografie a insuficienței circulației feto-placentare de diferit grad (I-III).

5. *rezultatele analizelor de laborator*: semne de anemie în analiza generală de sânge, care ne vorbește despre aceeași stare de hipoxie cronică în care se dezvoltă fatul. Hiperglicemia provoacă tulburări metabolice, inclusiv și hipoxice, care perturbă procesul fiziologic de sinteză și maturare a creierului. Hipocalcemia- poate induce atât la o stare de retard de dezvoltare intrauterină (RDIU), prin dereglări de dezvoltare a scheletului, cât și a SN, deoarece ionii de Ca au un rol important în procesul de neurotransmisie, de funcționare a pompelor ionice membranare.

Lotul martor a fost selectat din gestante fără patologii extragenitale cu sarcini fiziologice, de obicei sarcina I, nașterea I (80%) sau sarcina II nașterea II (20%), ambele cu evoluție și distanță în timp între ele fiziologice, internate pentru pregătire pentru naștere.

La toate gestantele și nou-născuții de la ele care au fost supuși studiului s-a cercetat prezenta următorilor markeri ai imaturității dezvoltării intrauterine a creierului, cum ar fi:

1. marcherii clinici:

- a) diminuarea indicilor clinici de dezvoltare corespunzator vârstei de gestație a fatului (adaosul la masa corporală a gestantei, înălțimea fundului uterin, perimetrul abdominal) care ne pot indica o stare de insuficiență fetoplacentară (care induce o stare de hipoxie cronică a fatului cu urmarile ei) și chiar un RDIU a fatului (care are impact și asupra dezvoltării intrauterine a creierului);
- b) întârzierea I miscari fetale (care ne poate vorbi despre o stare de hipoxie a fatului sau de afectare neurologică asociată cu o hipotonie musculară congenitală),
- c) depășirea termenului de 40-41 săptămâni de gestație.
- d) semne patologice în statutul neurologic al nou-născutului după naștere și la externarea din maternitate (modificări ale tonusului muscular, ale reflexelor neonatale și osteo-tendinoase, alterări de diferit grad ale cunoștinței, sindrom bulbar, sindrom epileptic, fontanelomegalie etc.)

2. marcheri paraclinici:

- a) imagistici: USG-fici-semne imagistice ale RDIU, patologii ale sistemului nervos central (SNC)-mai frecvent ventriculomegalie; Echo-Dopplerografici: insuficiență circulației fetoplacentare de diferit grad (I-III), NSG-fici, la nou-născuți, pentru aprecierea patologiei cerebrale.

3. *marcheri biochimici:* Modificarea nivelului de fosfolipide generale în sângele mamei cu iminență de avort sau de naștere prematură și nou-născutului de la așa mama.

4. marcheri imunologici

- a) Aprecierea nivelului generat de AAF (Ac-antiglicolipinici, Ac-anticardiolipinici și Ac-antisfîngomielina) la gestante cu anamneză obstetricală complicată (sarcini anterioare, care au decurs cu iminență de avort spontan sau de naștere prematură, soldate cu avort spontan, moarte antenatală, hemoragii în anamneză) și la nou-născutul de la așa mama.

- b) ?-fetoproteina în sângele gestantelor și nou născuților proveniți de la aceste mame.

De la gestantele ce au participat în studiu, cu acordul lor scris, după explicarea tehnicii inofensive și scopului studiului realizat de noi, s-a colectat sânge venos, unimomentan cu colectarea sîngelui pentru probele de laborator prescrise la nivel de secție în care se aflau internate. De la nou-născuții acestor mame s-au colectat sânge din cordonul ombelical, imediat după naștere (deoarece prezintă un sânge dens cu tendință de coagulare și hemolizare). Materialul biologic prelevat s-a colectat în eprubete cu vîrf conic în volum de 3ml. Se colectau zilnic a cîte 1-5 probe de sânge de la gestante și 0-2 probe de sânge din cordonul ombelical al nou-născutului. Materialul prelevat se transporta imediat la Laboratorul științific de imunologie al IMSP ICSOSMC. Aici se centrifuga, se selecta (în caz de hemoliza), iar serul calitativ, obținut prin centrifugare se criocongeala la temperatura de -70°C , pentru perioada de colectare integrală a materialului necesar studiului. După colectarea volumului de ser preconizat, fiecare probă va fi separată în 5 porții necesare pentru determinarea următorilor indici biochimici și imunoenzimatici preconizați în studiu.

Rezultate obținute

Studiind marcherii clinici, care ar sugera prezența imaturității SN am obținut următoarele rezultate prezentate mai jos (*tab.1*).

Din rezultatele obținute în urma examenului clinic al gestantelor am determinat că diminuarea indicilor vârstei de gestație (adaosului ponderal, ÎFU, perimetru abdominal) este prezentă la 28,4% din toate gestantele lotului de studiu comparativ cu lotul martor unde astfel de fenomene nu au fost. Deși acest indice nu s-a dovedit a fi caracteristic pentru toate gestantele cu probleme de păstrare a sarcinii acest marcher clinic e valoros și trebuie constatat pentru că prezența acestor schimbări patologice ne sugerează ideea apariției imaturității SN la fat, deoarece vorbește despre un retard de dezvoltare intrauterină, care nu poate să nu afecteze SN în formare și dezvoltare.

Datele comparative ale marcherilor clinici

Marcheri clinici ai imaturației SN la făt/ nou-născut	Gestante/nou-născuți			
	Lot de studiu n-95		Lot martor n-45	
	Nr.	%	Nr.	%
Diminuarea indicilor vârsteide gestatie (adaosului ponderal, ÎFU, perimetru abdominal)	27	28,4	0	0,0
Întârzierea I miscari fetale	18	18,9	0	0,0
Depasirea termenului de 40-41 saptamîni de gestatie(din 35gestante cu NPVN)	25	71,4	1	2,2
Semne patologice în statutul neurologic al nou- nascutului imediat dupa nastere	74	77,8	5	11,1
Semne patologice în statutul neurologic al nou-nascutului la externare(3-5 zi de viata)	72	75,8	3	6,7

Întârzierea I miscari fetale, de asemenea pare a fi un marker relativ, atît pentru ca îl depistam dor la 18,9% din gestantele lotului de studiu, cît si pentru ca acest moment se apreciaza în mod subiectiv de gestanta. Dar daca acest moment este attentionat atît de mama, cît si de obstetricianul care urmareste gestanta, aceasta induce ideia întîrzierii procesului de mielinizare a fibrelor nervoase (care începe în perioada fetala precoce) , care este un semn de imaturatie a SN[14].

Apresiasi suprapurtarii fatului se poate face doar în subgrupa gestantelor ce au nascut per vias naturalis(din lotul nostru de studiu-doar 35 gestante), deoarece fiind din lotul de studiu, adica cu probleme de sanatate, la gestante au survenit situatii patologice, care au argumentat alegerea planica sau de urgenta a operatiei cezariene. În asa mod la cele 35 gestante din lotul de studiu, care au nascut per vias naturalis termenul de gestatie a depasit 40 saptamîni într-o rata foarte înalta-71,4%, ceea ce demonstreaza ca suprapurtarea sarcinii este un marker elocvent al imaturitatii SN la fat, care nu este pregatit pentru actul de nastere.

Un marker important al imaturitatii SN este aprecierea modificarilor patologice a statutului neurologic al nou-nascutului(modificari ale tonusului muscular, ale reflexelor osteo-tendinoase, alterari de diferit grad ale cunostintei, abolirea reflexelor neonatale, sindrom bulbar, sindrom epileptic, fontanelomegalia,etc.), pe care l-am efectuat la nastere si la externare din maternitate(la 3-5 zi de viata). Aici putem mentiona ca modificari patologice a statutului neurologic s-au constatat într-o frecventa destul de înalta-77,8 % la I zi de viata si 75,8% la 3-5 zi, adica, le înfilnim practic la fiecare nou-nascut examinat, comparativ cu lotul de studiu-11,1% si 6,7%. În acelasi timp în lotul de studiu nu am constatat o dinamica pozitiva esentiala a statutului neurologic în timp, ceea ce vorbeste despre faptul ca SN la acesti nou-nascuti nu are plasticitate exprimata, caracteristica acestei vârste si nu poate reveni usor din stresul ischemico-traumatic al nasterii. Acesta reiese din faptul ca imaturatia intrauterina a structurilor cerebrale nu a pregatii SN al fatului pentru nastere si l-a predispus spre situatia patologica, care s-a dezvoltat dupa nastere.

Analiza rezultatelor examenului imagistic USG-fic si Echo-Dopplerografic si marcherilor imaturitatii determinati prin aceste examene(tab.2), au aratat ca doar o treime de gestantele cu probleme de sanatate prezinta retard de dezvoltare a fatului, dar este o cifra mare comparativ cu lotul martor-2,2%. RDIU(retard de dezvoltare intrauterina) a fatului este unul general, afecteaza întreg organismul si nu poate sa nu implice SN.

Rezultatele comparative ale marcherilor imagistici ai imaturației

	gestante			
	Lot studiu=95		Lot martor n=45	
	Nr.	%	Nr.	%
RDIU	29	30,5	1	2,2
Anomalii de dezvoltare a SN la făt	1	1,05	0	0,0
Insuficiență fetoplacentară	23	24,2	1	2,2

Macroanomalii de dezvoltare a creierului la fat se constata într-o rata mica- de 1,05 % si a fost prezentata de hidrocefalie interna. Posibilitatile examenului imagistic nu permite, însa, vizualizarea microanomaliilor, care deasemenea sunt semne a imaturatiei SN.

Insuficienta fetoplacentara se constata în 24,2%, comparativ cu 2,2% în lotul martor si demonstreaza faptul ca au intervenit situatii patologice care au perturbat dezvoltarea normala a sistemului placentar..

De asemenea studiul propus a inclus aprecierea unor markeri ai examenelor de laborator-biochimici si imunologici(*tab.3*).

Rezultatele comparative ale marcherilor biochimici și imunologici ai imaturației

	Lot de studiu n-95				Lot martor n-45			
	gestante		nou-născut		gestante		nou-născut	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Cresterea fosfolipidelor generale(FLG)	85	89,5	70	73,7	18	40,0	19	42,2
Ac-antiglicolipinici Ig G	18	19,0	25	26,3	3	6,7	8	7,8
Ac-anticardiolipinici Ig G	23	24,2	25	26,3	3	6,7	6	13,3
Ac antisfingomielina	27	28,4	35	36,8	0	0,0	6	13,3
? - fetoproteina	14	14,7	94	98,9	1	2,2	45	100.0

Nivelul fosfolipidelor generale în serul gestantelor din lotul de studiu, precum si la nou-nascutii proveniti de la ele s-au dovedit a fi aproximativ de 2 ori mai mare (la 89,5% -gestante, 73,7% la nou-nascuti) fata de lotul martor(40 %- la gestante, 42,2%-lanou-nascuti).

Trebuie de mentionat ca, mecanismul de productie si semnificatia clinica a imunoglobulinelor AAF variaza. AAF din clasa IgG [18] pot sa apara prin mecanism primar(în afara patologieilor extragenitale ce decurg cu elevarea nivelelor de AAF în sânge-boli reumatismale etc.), care se manifesta prin tromboze arteriale si venoase recurente si pierderi fetale recurente. AAF din clasa IgM (fara semnificatie patogena) sunt detectati in procentaj mic la sanatosi(în jurul la 4%) si la pacientii care sufera de infectii (de ex., infectia cu HIV sau sifilis) [12] sau cei care iau anumite medicamente (fenotiazina, valproat, procainamida etc).

Aprecierea AAF de asemenea au relevat prevalarea nivelelor superioare fata de lotul martor în toate 3 fractii cercetate. Nivelul Ac-anticardiolipinici Ig G a fost ridicat la 24,2% din

gestantele si 26,3 % din nou-nascutii lotului de studiu, în lotul martor avînd frecventa de 6,7% la gestante si 13,3 % la nou-nascuti. Nivelul majorat de Ac-antiglicoplinici Ig G s-a întîlnit la 19,0 % din gestantele si 26,3 % din nou-nascutii lotului de studiu, în lotul martor avînd frecventa de 6,7% la gestante si 7,8 % la nou-nascuti. Valori sporite de Ac antisfingomieline Ig G s-a detectat la 28,4% din gestantele si 36,8% din nou-nascutii lotului de studiu, în lotul martor avînd frecventa de 0,0% la gestante si 13,3 % la nou-nascuti.

?- fetoproteina, la fel se constata a fi cu valori ridicate în lotul de studiu(se depisteaza la 14,7% din gestante, 98,9 % nou-nascuti), fata de lotul martor, unde doar la 2,2% din gestante s-a înregistrat valori ridicate.

Discuții

Fosfolipidele sunt molecule organice care fac parte din clasa de lipide hidrolisabile, cu rol energetic si structural, de baza fiind cel din urma. Functia structurala a fosfolipidelor e argumentata de participarea lor la constructia tuturor membranelor celulare, inclusiv si neuronale, avînd rol determinant si în neurotransmisie. Exista 7 fosfolipide cu rol deosebit de important in functia membranei celulare, si anume: Cardioplipina, Etanolamina, Fosfatidilglicerol, Fosfatidilinozitol, Acidul fosfatidic, Fosfatidilcolina si Fosfatidil serina [21,27]. Dintre cele 7 fosfolipide doua au un rol important in placentogeneza, Fosfatidilserina si Etanolamina, actionand ca un "lipici" organic si asigurand atasarea placentei de peretii uterini. In anumite conditii patologice, care tin de o alterare de novo a tesuturilor (avorturi spontane repetate, endometrioza, boli cu activare imunologica etc.), pot sa apara anticorpi impotriva fosfolipidelor- anticorpii antifosfolipidici, nespecifici de organ, care sunt un grup heterogen de imunoglobuline, directionate impotriva fosfolipidelor incarcate negativ (anionice), complexelor protein-fosfolipidice sau glicoproteinelor plasmaticice ca (b2-GPI) [10,29].

În ceea ce priveste structura chimica, fosfolipide pot fi împartite în doua categorii: fosfogliceroli (sau fosfogliceride) si sfingofosfolipide. I categorie-fosfoglicerolii participa mai mult la structurarea membranelor celulare, iar sfingofosfolipidele si anume sfingomieline formeaza mielina, o substanta care „izoleaza” axonii neuronali. Ffiind cu rezistenta electrica înalta, învelisul de mielina a fibrelor nervoase permite transmiterea unimomentana rapida(conducere saltatorie)a unui numar mare de impulsuri nervoase[25], ceea ce face posibila realizarea concomitenta a mai multor activitati- motorii, senzoriale, vegetative. Din rezultatele obtinute (tab.3) în urma cercetarilor de laborator am constatat ca valorile fosfolipidelor generale este crescut esential atît la gestante-89,5 %, cît si la nou-nascutii proveniti de la ele-73,7%. Cresterea vadita a fosfolipidelor generale în sîngele gestantelor si nou-nascutilor proveniti de la ele ne demonstreaza faptul ca în conditii patologice, de stres, cum ar fi pregatirea catre actul de nastare are loc o activare a fosfolipazelor, ce duc la scindarea fosfolipidelor din membranelor celulare. Cresterea fosfolipidelor poate fi considerata ca una relativa si din cauza ca, fiind procesul de sinteza si maturatie a creierului perturbat nu are loc asimilarea satisfacatoare a fosfolipidelor pentru includerea lor în membranele neuronale si în procesul de mielinizare.

AAF sunt anticorpii orientati împotriva fosfolipidelor si reprezinta o familie ce cuprinde aproximativ 21 de membri. S-a emis ipoteza ca acesti anticorpi ar actiona direct asupra tesutului trofoblastic [23,26], impiedicand implantarea normala si determinînd esecul unei atasari ferme a placentei cu desprinderea ulterioara a acesteia de peretii uterului. Pe lînga aceasta AAF influenteaza negativ functia anumitor celule dintre care si trombocitele sunt cele mai sensibile, provocînd o stare de hipercoagulabilitate cu aparitia de tromboze. Trombozele situate la nivelul vaselor placentare, prin care embrionul sau fatul se hraneste, intrerup circulatia sanguina si schimbul de nutrienti si oxigen dintre mama si fat, astfel ca in scurt timp sarcina este compromisa si poate sa se declanseze o insuficienta feto-placentara cu consecintele ei(RDIU, Suferinta hipoxica cronica a fatului), iar în cel mai rau caz chiar întrerupere de sarcina. Insuficienta feto-placentara se constata în 24,2% din gestantele lotului de studiu, comparativ cu 2,2% în lotul martor si dovedette faptul ca au intervenit situatii patologice care au perturbat dezvoltarea normala a sistemului placentar, cum ar fi reactiile autoimune determinate de AAF,

care afectand prin reactii Ag-Ac fosfolipidele membranare trombocitare si endoteliale ale vaselor placentei în dezvoltare, provoca o reactie de hipercoagulare cu microtromboze [1,2,29] la nivelul vaselor placentei(iar placenta este un organ vascular), ceea ce perturbeaza circulatia sanguina normala în placenta si astfel perturbeaza alimentarea normala a fatului, ceea ce duce la depresia metabolismului fosfo-si glicolipidic, metabolism ce asigura formarea materialului plastic al creierului. Toate aceste favorizeaza imaturatia intrauterina a creierului. În plus conflictul imunologic antifosfolipidic afecteaza cele doua fosfolipide, ce au un rol important in placentogeneza, Fosfatidilserina si Etanolamina, ce asigura atasarea placentei de peretii uterini. Alterarea acestui mecanism conduce la esecul unei atasari ferme a placentei cu potentiala desprinderea ulterioara a acesteia de peretii uterului [8]. Aceste momente pot compromite sarcina, supunând-o riscului de avort spontan sau nastere prematura. Gestantele din lotul de studiu, dupa cum s-a mentionat au în anamneza atât avorturi spontane, nasteri premature, moarte intrauterina a fatului, eminente de avort în sarcina actuala, deaceea putem presupune si vrem sa demonstram prin cercetarile imunologice ulterioare ca conflictul imunologic antifosfolipidic este prezent si el duce la alterari prin asemanare antigenica si a fosfolipidilor din membranele neuronale si mielina, care genereaza ca consecinta o stare de imaturatie a SN înca din perioada intrauterina.

Titri crescute a acestor AAF pot fi depistati secundar unor boli autoimune precum Lupusul Eritematos Sistemic, Artrita reumatoida, Diabetul zaharat insulino-dependent imun, Dermatomiozita, Sclerodermia, Boala Chron, Psoriasisul, Tiroidita autoimuna Hashimoto, etc.; stari infectioase, ca sifilis (de ex., teste serologice fals-pozitive pentru sifilis), infectia cu HIV[12] sau cu CMV[11,28], infectii bacteriene si chiar infestatii parazitare (malaria, leishmaniaza si tripanosomiaza).

Conform teoriilor existente, mecanismele sintezei AAF sunt variate. Rezultatele unor studii recente sugereaza ca AAF nu sunt legate direct de esecul implantarii, mai curînd pot fi folositi pentru identificarea populatiei cu risc si ca de fapt celulele "Natural Killer" (NK) activate[19,22], prin eliberarea accentuata de "embriotoxine", sunt principalele vinovate. Exista o clasa speciala de celule NK, si anume celulele NK(CD16-, CD56+), care ajuta implantarea oului si contribuie la supravietuirea sarcinii. Exista insa si un alt grup de celule NK, si anume celulele NK (CD16+, CD56+), care daca devin active secreta anumite toxine ce distrug celulele trofoblastice si pot provoca pierderea sarcinii. Cresterea activitatii citotoxice a celulelor NK in sangele periferic este inregistrata atat la femeile cu avorturi, cat si la cele cu esec al fertilizarii in vitro. Dupa ovulatie si la inceputul sarcinii, celulele NK reprezinta mai mult de 70% din populatia de celule sangvine albe (leucocite) de la nivelul mucoasei uterine. Acestea produc o varietate de hormoni locali, unii cunoscuti ca citokine Th1 [20]. Eliberarea excesiva de citokine Th1 este foarte toxica pentru trofoblast si celulele endometriale, conducand la moartea lor programata (apoptoza) si, în consecinta, la insuccesul implantarii. Celulele NK secreta si factorul de necroza tumoral (TNF), care are si el efect distructiv asupra trofoblastului. Celulele NK activate pot trece din mucoasa uterina in sangele periferic, unde toxicitatea lor poate fi masurata

Rezultatele altor cercetari recente arata ca au fost detectate niveluri crescute ale AAF in cadrul familial, precum si asocierea cu anumite tipuri de HLA DR4, DR7, DQw7 si DQw53. Aproximativ 4% din populatia normala prezinta anticorpi anticardiolipinici la niveluri crescute.

Alti autori au demonstrat ca, la pacientii cu AAF prezenti, exista o asociere stransa între peroxidarea lipidica si AAF [13, 15]. Aceasta ipoteza reiese din datele recente, care arata ca pacientii cu LES cu AAF au peroxidarea lipidica crescuta in vivo, demonstrata prin excretia urinara crescuta de isoprostani, care se coreleaza strans cu titrul anticorpi anticardiolipinici. Aceasta sugestie ca AAF prezenti sunt în legatura cu peroxidarea lipidica este sustinuta de rezultatele studiilor curente, care arata ca excretia urinara de isoprostani este, de asemenea, crescuta la pacientii cu sindrom antifosfolipidic primar[7].

Tendinta de crestere a AAF, înclusiv si Ac-antisfingomielinici în lotul de studiu comparativ cu cel de control indica existenta unei blocari a proceselor de sinteza a fosfolipidelor, care este

materialul plastic pentru membranele neuronale si pentru procesul de mielinizare, ceea ce altereaza procesele de maturatie a SN;

Aprecierea nivelului crescut al ?- fetoproteinei la gestante indica perturbarea procesului de maturatie a creierului (microanomalii, prezenta proceselor de distructie în creier cu declansarea ulterioara a proceselor reparative si proliferative). De asemenea confirma existenta unui conflict autoimun, declansat de sindromul antifosfolipidic, deoarece ?- fetoproteina are rol imunomodulator, de protectie împotriva reactiilor Ag-Ac, orientat în cazul nostru catre fosfolipidele membranare si urmate de scindarea lor , respectiv-alterând membranele neuronale si lizând celulelor nervoase. Determinarea unor valori înalte a fetoproteinei la nou-nascuti vorbeste despre prezenta celulelor embrionale si postnatal, care de asemenea este un indice a imaturatiei, inclusiv si a SN.

Dupa cum s-a mai mentionat AAF sunt nespecifici pentru vreun tesut sau organ si pot sa afecteze majoritatea sistemelor [3, 24]. Fiind sintetizate la nivel de placenta AAF trec în sânge si circula prin tot organismul, afectând fosfolipidele la orice nivel. Astfel cele mai afectate sunt trombocitele si celulele endoteliale. Dar, SN este organul cel mai bogat în fosfolipide. Neuronul (reiesind din particularitatile lui de structura-dublu starat(tip sandwich) fosfolipidic în membrana) are în componenta sa biochimica 70% fosfolipide. Mielina fiind mai putin hidrofila ca neuronul contine pîna la 85% de fosfolipide. Astfel, prin asemanare antigenica, SN devine tinta pentru AAF sintetizati în placenta. Impactul imunologic declansat la nivel de SN, duce, ca urmare la perturbari ale proceselor de sinteza si maturare a structurilor nervoase.

Concluzii

În rezultatul studiilor de laborator realizate pe baza proiectului am stabilit urmatoarele concluzii:

1. Tendinta de crestere a AAF(anticorpilor antifosfolipidici), inclusiv si a Ac împotriva fractiilor fosfolipidelor prezente în membranele neuronale si mielina (licitina, sfingomielina), vorbeste despre o blocare a proceselor de sinteza a fosfolipidelor, care au o importanta directa asupra maturitatii SN, deoarece fosfolipidele reprezinta materialul plastic pentru „constructia” tesutului nervos;

2. Concentratia crescuta a fosfolipidelor generale atît în serul de la mame cu probleme de sanatate, cît si la nou-nascutii proveniti de la asa mame ne vorbeste despre un proces de distructii si de blocare a sintezei fosfolipidelor la nivel de membrane celulare, inclusiv si a sistemului nervos.

3. Cresterea vadita a concentratiei ?-fetoproteinei la gestantele cu probleme de sanatate si la nou- nascutii proveniti de la ele, dar care nu prezentau anomalii prin defecte ale tubului neural, presupune o retentie în dezvoltarea intrauterina, inclusiv si a SN .

4. Markerii clinici, biochimici si imunologici de imaturatie a SN la fat ne sugereaza ideea de a cauta noi procese de accelerare a maturatiei SN prin stimularea sintezei fosfolipidelor neuronale si protectia lor de mai departe.

5. În cazul diagnosticarii conflictului imunologic la gestantele cu iminenta de avort, caracterizat prin majorarea nivelului de AAF, cresterea compensatorie a fosfolipidelor generale vorbeste indirect despre imaturatia sistemului nervos al nou-nascutului provenit de la asa mame. Aceasta explica incidenta înalta a patologiei neurologice la nou-nascutii proveniti da la aceste gestante.

Bibliografie

1. Angles-Cano E, Guillin MC - Antiphospholipid antibodies and the coagulation cascade Clin North Am, 2001; 27(3): 573-586.

2. Arnout J, Carreras L - The antiphospholipid syndrome. In: Verstracte M, et al, editors. Cardiovascular thrombosis, thrombocardiology and thromboneurology, 2nd ed. Philadelphia-New York: Lippincott-Raven, 1998. P. 739-778..

3. Asherson RA - Antiphospholipid antibodies, malignancies and paraproteinemias. *J Autoimmun*, special issue, 2000; 15(2): 117-122.
4. Backos M., Rai R., Regan L. Antiphospholipid antibodies and infertility. *Hum. Fertil.* 2002; 5:35-6.
5. Bank M, George J si colab. - Oral tolerance to low dose beta 2-glycoprotein I: immunomodulation of experimental aPL syndrome. *J. Immunol*, 1998; 161: 5303-12.
6. Brey RL - Differential diagnosis of central nervous system manifestations of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun*, 2000; 15(2) 133-138
7. Ceeiello A, Bortolotti N si colab. - Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care*, 1997; 20: 1589.
8. Di Simone N., Castellani R., Caliandro D., Caruso A. Antiphospholipid antibodies regulate the expression of trophoblast cell adhesion molecules. *Fertil Steril* 2002; 77:805-11.
9. Farquharson R.G., Quenby S., Greaves M. Antiphospholipid syndrome in pregnancy: a randomized, controlled trial of treatment. *Obstet Gynecol* 2002; 100:408-13.
10. Galli M, Ruggeri L, Barui T - Differential effects of anti-beta2 glycoprotein I and antiprothrombin antibodies on the anticoagulant activity of activated protein C. *Blood*, 1998; 91(6):1999-2004.
11. Gharavi AE, Pierangeli SS, Harris N - New developments in viral peptides and aPL induction. *J Autoimmunity*, Special issue. 2000; 15(2): 227-230
12. Gonzales C, Leston A, Garcia-Berrocal B si colab. - Antiphosphatidylserine antibodies in patients with autoimmune diseases and HIV-infected patients: effects of Tween 20 and relationship with antibodies to beta2-Glycoprotein I. *J clin Lab Anal*, 1999 ; 13: 59-64.
13. Harkko S, Miller E si colab. - The epitopes for some aPL are adducts of oxidized phospholipid and b2-glycoprotein I (and other proteins). *Proc Natl Acad Sci, USA* 1997; 94: 10356.
14. Iliciuc I., *Neuropediatric, Manual, Centrul Editorial -Poligrafic Medicina al USMF "N.Testemitanu", Chisinau, 2007, p.16-18;*
15. Iuliano L, Pratico D si colab. - Enhanced lipid peroxidation in patients positive for aPL. *Blood*, 1997; 90: 3931.
16. J. Autoimmunity Special Issue: papers and abstracts from the 9th international symposium on antiphospholipid antibodies. 2000; 15(2): A5 A95 (OC9, PD18, P34, P36, P71, P72, P73, P74, P76).
17. Komberg A, Renaudineau Y si colab. - Anti-beta2-glycoprotein I antibodies and anti-endothelial cell antibodies induce tissue factor in endothelial cells. *IMAJ*, 2000; 2: 27-31
18. Marai I., Carp H., Shai S. et al. Autoantibody panel screening in recurrent miscarriages. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2004,51(3);235-40.
19. Matsubayashi H., Hosaka T., Sugiyama Y., Suzuki T., Arai T., Kondo A. et al. Increased natural killer-cell activity is associated with infertile women. *Am J Reprod Immunol* 2001; 46:318-22.
20. Makhseed M., Raghupathy R., Azizieh F., Omu A., Al Shamali E., Ashkanani L. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. *Hum Reprod* 2001; 16:2219-26.
21. McIntyre JA, Wagenknecht DR - Anti-phosphatidylethanolamine (aPE) antibodies *J Autoimmun*, 2000; 15(2) 185-193.
22. Ntrivalas E.I., Kwak-Kim J.Y., Gilman-Sachs A., Chung-Bang H., Ng S.C., Beaman K.D. et al. Status of peripheral blood natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortions and infertility of unknown aetiology. *Hum Reprod* 2001; 16:855-61.
23. Olivares E.G., Munoz R., Tyerizo G. et al. Decidual lymphocytes of human spontaneous abortions induce apoptosis but not necrosis in SEG-3 extravillous trophoblast cells. *Biol. Reprod.* 2002; 67(4):1.211-7.

24. Ordi-Ros J, Villarreal J si colab. - Anticardiolipin antibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: characterization in relation to antiphospholipid syndrome. *Clin Diag Lab Immunol*, 2000; 7(2): 241-244.
25. Popescu Valeriu. *Neurologie pediatria*. Bucuresti, 2001, vol. I-II, 20-2
26. Sebire N.J., Fox H., Backos M., Rai R., Paterson C., Regan L. Defective endovascular trophoblast invasion in primary antiphospholipid antibody syndrome- associated early pregnancy failure. *Hum Reprod* 2002;17:1.067-71
27. Tincani A, Balestrieri G si colab. - Overview on anticardiolipin ELISA standardization. *J Autoimmun*, 2000; 15(2): 195-197.
28. Uthman I, Tabbarah Z, Gharavi AE - Hughes Syndrome associated with cytomegalovirus infection. *Lupus*, 1999; 8: 775-777.
29. Wiechens B, Schroder JO si colab. - Primary antiphospholipid antibody syndrome and retinal occlusive vasculopathy. *Am J Ophthalmol*, 1997; 123: 848-850.