

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Левкович М.А.¹, Плахотя Т.Г.², Бердичевская Е.М.³, Цатурян Л.Д.⁴

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: xlma@mail.ru;

²Государственное бюджетное учреждение Ростовской области «Областная клиническая больница № 2», Ростов-на-Дону, у-mail: ob2p@mail.ru;

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма», Краснодар, e-mail: emberd@mail.ru;

⁴Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ставрополь, e-mail: physiology@stgmu.ru

Проведено исследование цитокинового статуса у беременных с хронической плацентарной недостаточностью (ХПН). Учитывались сроки клинической манифестации церебральной патологии у их новорожденных: перинатальное поражение ЦНС, клинически выявляемые с рождения; перинатальное поражение ЦНС, клинически выявляемые через 1 месяц после рождения. Установлено, что сроки манифестации перинатального поражения ЦНС у новорожденных от матерей с хронической плацентарной недостаточностью ассоциированы с различными вариантами иммунного реагирования. При ранней манифестации перинатального поражения ЦНС у новорожденных при декомпенсированной хронической плацентарной недостаточности развивается системный воспалительный ответ, который верифицируется повышением в сыворотке крови беременной содержания ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, TNF- α , IFN- γ , неоптерина, что сочетается со снижением ИЛ-4. Выявленные иммунные сдвиги могут быть использованы для диагностики и прогноза церебральных нарушений у новорожденных от матерей с хронической плацентарной недостаточностью с целью раннего назначения адекватной терапии, что снизит частоту инвалидизирующих состояний у данного контингента детей.

Ключевые слова: хроническая плацентарная недостаточность, цитокины, перинатальное поражение ЦНС.

SUMMARY PECULIARITIES OF CYTOKINE REGULATION IN CHRONIC PLACENTAL INSUFFICIENCY

Levkovich M.A.¹, Plahotya T.G.², Berdichevskaya E.M.³, Tsaturyan L.D.⁴

¹Federal State Budgetary Institution "Rostov Scientific-Research Institute of Obstetrics and Pediatrics" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, e-mail: xlma@mail.ru;

²State Budgetary Institution of Rostov Region "Regional Clinical Hospital No. 2", Rostov-on-Don, e-mail: ob2p@mail.ru;

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Kuban State University of Physical Culture, Sports and Tourism", Krasnodar, e-mail: emberd@mail.ru;

⁴State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Stavropol State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Stavropol, e-mail: physiology@stgmu.ru

A study of cytokine status in pregnant women with chronic placental insufficiency. We took into account the timing of clinical manifestations of cerebral pathology in their infants: perinatal CNS disease, clinically detectable at birth; perinatal CNS disease, clinically detectable 1 month after birth. It was found that the terms of the manifestation of perinatal CNS injury in newborns from mothers with chronic placental insufficiency associated with different versions of the immune response. At an early manifestation of perinatal CNS in neonates decompensated chronic placental insufficiency develops systemic inflammatory response, which is verified by an increase in the serum of pregnant content of IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ , neopterin, which is combined with a decrease in IL-4. Identified immune shifts can be used for the diagnosis and prognosis of brain damage in newborns from mothers with chronic placental insufficiency for the early appointment of adequate therapy, which reduces the frequency of impairment in this group of children.

Keywords: chronic placental insufficiency, cytokines, perinatal CNS damage.

Прогресс в современной перинатологии привел к необходимости решения новых проблем, связанных с гестационным процессом и антенатальной охраной плода. Среди них ведущее значение принадлежит хронической плацентарной недостаточности, которая, будучи частым осложнением беременности (от 14 до 22 %), сопровождается гипоксией, задержкой внутриутробного роста плода и является одной из наиболее частых причин перинатальной заболеваемости (до 60 %) и смертности [2, 3,4].

При всем многообразии патогенетических механизмов осложнений беременности реализация их происходит через нарушение нормального функционирования фетоплацентарного комплекса (ФПК). Его деятельность осуществляется благодаря взаимодействию материнских, плодовых и плацентарных факторов. Плацентарная недостаточность – клинический синдром, состоящий из комплекса нарушений трофической, эндокринной и метаболической функции плаценты, ведущих к развитию неспособности поддерживать адекватный и достаточный обмен между организмом матери и плода [1].

При плацентарной недостаточности происходит нарушение иммунобиологических взаимодействий в системе мать-плацента-плод, инициируется запуск каскада патологических процессов, развитие которых может приводить, с одной стороны, к гибели нервных клеток, а с другой, вызывать различные иммунологические сдвиги.

Иммунные медиаторы играют особую роль в запуске реакций воспаления и нарушений микроциркуляции, повышении проницаемости ГЭБ. Нарушение проницаемости ГЭБ обуславливает возможность выхода нейроспецифических белков, обладающих высокой антигенностью, в интерстициальное пространство, распространение током ликвора и поступление в кровь в повышенной концентрации. При этом возникшие морфологические изменения ведут к высвобождению первичных медиаторов воспаления, что сопровождается рядом клинических симптомов.

Иммунологические процессы в организме беременной определяют физиологическое течение беременности, а нарушение регуляции иммуногенеза в перинатальном периоде может стать ведущей причиной необратимых структурных повреждений мозга и оказать влияние на последующее развитие нервной системы ребенка. На основании современных и высокоинформативных методов доказано взаимовлияние иммунной системы и центральной нервной системы.

Иммунный баланс в функциональной системе мать-плацента-плод формируется под влиянием факторов, среди которых значительную роль играют состояние здоровья женщины до беременности, иммунные генетические различия супругов, местные иммунные реакции на границе раздела мать-фето-плацентарный комплекс. Поскольку нарушение плодово-материнских иммунных взаимоотношений при плацентарной недостаточности является

важным звеном патогенеза, оценка цитокинового статуса должна быть неотъемлемой частью комплексного обследования беременных с этой патологией.

Данные о роли факторов иммунной системы матери в формировании неврологической патологии у их новорожденных, малочисленны, следовательно, изучение иммунной реактивности у беременных с плацентарной недостаточностью откроет новые возможности ранней диагностики перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС и, несомненно, будет способствовать улучшению исходов беременности для новорожденного.

Цель исследования: изучение роли иммунологических факторов беременной с наличием хронической плацентарной недостаточности в формировании церебральных нарушений у их новорожденных.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 80 беременных женщин в сроке 38–39 недель гестации. Из них 61 беременная с декомпенсированной формой плацентарной недостаточности I–II степени (I группа) и 19 пациенток с физиологическим течением беременности и родов (контрольная группа). Разделение на подгруппы проведено с учетом сроков клинической манифестации церебральной патологии у новорожденных: Ia – перинатальное поражение ЦНС, клинически выявляемые с рождения, (n = 35); Ib – перинатальное поражение ЦНС, клинически выявляемые через 1 месяц после рождения, (n = 26). Критериями включения в исследование явились: беременность, осложненная ХПН. Критериями исключения – тяжелая экстрагенитальная патология, активная формы инфекции, пороки развития плода. Диагноз хронической плацентарной недостаточности (ХПН) был установлен на основании данных анамнеза, течения беременности, результатов ультразвуковой диагностики, доплерометрии, гормональных исследований. Разделение беременных на клинические группы проводилось с учетом варианта течения хронической плацентарной недостаточности, основываясь на классификации, приведенной в Национальном руководстве по акушерству.

Определение в периферической крови и околоплодных водах беременных уровня TNF- α проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием диагностических наборов «Цитокин», Санкт-Петербург, IL-1, IL-6, IL-4, IL-8, IFN- γ , IL-12, TGF с использованием тест-систем Bender Medsystems (Австрия), неоптерина – с использованием тест-системы IBL (Германия). Для оценки состояния фетоплацентарного комплекса проводилось ультразвуковое и доплерометрическое исследование. При определении статистической обоснованности различия исследуемых групп применялся критерий Манна – Уитни и Вилкоксона при максимально допустимом уровне ошибки первого рода $p=0,05$.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ факторов риска у пациенток исследуемых групп показал, что в I группе по сравнению с контрольной группой достоверно чаще встречались гипертоническая болезнь, ожирение, хронический пиелонефрит, нарушение менструальной функции, хронические воспалительные заболевания органов малого таза ($p < 0,05$). Частота угрозы прерывания беременности, нарушение маточно-плацентарной гемодинамики в этой группе также статистически обоснованно отличались от показателей контрольной группы ($p < 0,01$).

Многочисленные исследования показывают, что формирование плода и здоровья новорожденного во многом определяется состоянием иммунного гомеостаза в системе мать-плацента-плод.

Цитокиновая регуляция иммунного ответа является сложным многокомпонентным процессом, обеспечивающим поддержание баланса между стимуляторами и ингибиторами как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Особый интерес представляет изучение системы цитокинов как регуляторов воспалительных реакций.

Известно, что цитокины и состояние сосудистого тонуса во многом определяют состояние гемостаза и степень гемодинамических нарушений у беременных с фетоплацентарной недостаточностью и являются связующим звеном между гемостазом, иммунитетом, гемопоэзом, ангиогенезом, неспецифической резистентностью и другими процессами в организме. В настоящее время не подлежит сомнению, что иммунная система играет ведущую роль в патогенезе, клиническом течении и исходе гипоксических и инфекционных заболеваний у новорождённых детей, а механизмы формирования компенсаторно-адаптационных и структурных нарушений в ЦНС обусловлены иммунопатологическими цитокин-индуцированными реакциями.

В фетоплацентарном комплексе цитокины обладают ростостимулирующим и ростингибирующим действием, участвуют в регуляции сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, свертывания крови и фибринолиза, контролируют эндокринную систему матери. Наиболее благоприятным для успешной беременности является преобладание цитокинов Т-хелперов-2 типа (Th2). Th1 и Th2-клеток представляют собой две главные субпопуляции CD4+ Т-хелперов; они имеют разные особенности цитокинового профиля и, соответственно, разные роли в иммунной реакции. Th1-лимфоциты секретируют провоспалительные цитокины IL-2, IFN γ , TNF- α , которые активируют макрофаги и клеточно-опосредованные реакции, относящиеся к цитотоксическим. Th2-клетки продуцируют IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, которые вызывают сдвиг в сторону гуморального иммунного ответа.

TNF- α является одним из основных медиаторов воспалительной реакции врожденной

иммунной системы, повышает проницаемость сосудов, индуцирует синтез хемокинов и экспрессию молекул адгезии на сосудистой эндотелии, подавляет рост трофобласта, может приводить к плацентарному тромбозу, сужению сосудов плаценты. Вызывая апоптоз клеток трофобласта, может приводить к плацентарной дисфункции, неадекватному развитию спиральных артерий и к маточно-сосудистой недостаточности [7]. Согласно современным исследованиям, TNF- α усиливает постишемическое повреждение мозга, оказывая провоспалительное и прокоагулянтное действие на эндотелий, что ведет к нарушению микроциркуляции.

У женщин в подгруппах Ia и Ib по сравнению с контрольной группой отмечается достоверное повышение содержания TNF- α в сыворотке крови ($234,4 \pm 50,4$ пг/мл, $117,7 \pm 42,2$ пг/мл против $35,2 \pm 10,3$ пг/мл, ($p < 0,05$), при этом наибольший его уровень зарегистрирован в Ia подгруппе ($234,4 \pm 50,4$ пг/мл), что превышало показатели в контрольной группе в 6,7 раза. Наши результаты согласуются с мнением [5] о роли TNF- α в развитии воспалительных реакций в плаценте, приводящих к ишемии ее участков (таблица).

Многообразие изученных свойств IFN- γ свидетельствует о его регуляторном влиянии на все основные клетки иммунной системы. IFN- γ причастен к регуляции развития плода, вносит значительный вклад в развитие децидуальной ткани и сосудов матки.

При плацентарной недостаточности может иметь место гиперфункция Th-1 клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины, в том числе и IFN- γ , что может приводить к избыточно выраженным воспалительным реакциям. Кроме того, IFN γ является цитотоксичным цитокином, вызывающим апоптоз клеток плаценты. У женщин в подгруппе Ia (с декомпенсированной ХПН, родивших детей с ранней манифестацией перинатального поражения ЦНС) содержание IFN γ в сыворотке крови было в 2,4 раза выше, чем в контрольной группе ($68,1 \pm 11,9$ пг/мл против $28,3 \pm 7,8$ пг/мл, ($p < 0,05$), (таблица).

Известно, что IL-1 β является центральным медиатором локальных и системных воспалительных реакций. Связывание IL-1 β с рецепторами в материнском организме является необходимым для имплантации, стимулирует пролиферацию клеток, образующих плацентарный барьер, избирательно активизирует процессы синтеза и секреции стероидных гормонов, уровень которых оказывает влияние на течение беременности. С другой стороны, для IL-1 β характерна способность стимулировать продукцию простагландинов, тем самым запуская механизмы преждевременного отторжения плода. В нашем исследовании у женщин в подгруппе Ia по сравнению с контрольной группой и подгруппой Ib отмечается достоверное повышение содержания IL-1 β в сыворотке крови ($56,4 \pm 12,1$ пг/мл против $30 \pm 11,1$ пг/мл и $38,9 \pm 8$ пг/мл, соответственно, ($p < 0,05$). Уровень IL-1 β в подгруппе Ia в 1,9 раз превышал показатели контрольной группы (таблица).

По данным литературы, IL-6 наряду с другими цитокинами способствует успешной имплантации, способен секретироваться трофобластом. Активируя супрессорное звено лимфоцитов, IL-6 может затруднять реализацию эффекторных реакций иммунной системы матери по отношению к плоду. С другой стороны, IL-6 активирует коагуляционные реакции, может привести к формированию плацентарной недостаточности. Анализируя результаты исследования содержания IL-6, нам удалось установить следующие факты: в подгруппах I а, Ib по сравнению с контрольной группой достоверное повышение IL-6 в сыворотке крови ($72,6 \pm 16,3$ пг/мл, $46,7 \pm 7,7$ пг/мл против $7,6 \pm 2,8$ пг/мл, соответственно, ($p < 0,05$). При сравнении показателей в подгруппах отмечено, что показатели IL-6 в подгруппе Ia превышали таковые в подгруппе Ib в 1,6 раз ($72,6 \pm 16,3$ пг/мл против $46,7 \pm 7,7$ пг/мл), ($p < 0,05$), (таблица).

Из данных литературы следует, что IL-6 в сочетании с другими факторами усиливает пролиферацию и дифференцировку цитотоксических Т- лимфоцитов, повышает активирующее действие IFN- γ на NK-клетки и образование ЛАК-клеток. С учетом выявленных фактов, можно полагать, что под воздействием гипоксии IL-6 стимулирует нейтрофилы, макрофаги к местной выработке провоспалительных цитокинов.

Интерлейкин 8(IL-8) — один из основных провоспалительных цитокинов, образуемый макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками. Играет важную роль в системе врождённого иммунитета, выступая в качестве хемоаттрактанта для нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов, является ключевым индуктором острой воспалительной реакции. Местное действие IL-8 приводит к повышению проникновения активированных макрофагов, что может способствовать плацентарной дисфункции [6]. У женщин в подгруппе Ia (с декомпенсированной ХПН, родивших детей с ранней манифестацией перинатального поражения ЦНС) содержание IL-8 в сыворотке крови было в 1,7 раз выше по сравнению с контрольной группой ($62,8 \pm 8,8$ пг/мл против $37 \pm 11,9$ пг/мл, ($p < 0,05$), что согласуется с данными [8].

Известно, что IL-12 активирует дифференцировку Т-лимфоцитов, повышает их цитотоксическую активность, усиливает пролиферацию NK –клеток и Т-лимфоцитов и продукцию IFN- γ . У женщин в подгруппе Ia содержания IL-12 в сыворотке крови превышало показатели контрольной группы в 1,3 раза ($73,8 \pm 8,8$ пг/мл против $56,2 \pm 11,8$ пг/мл, ($p < 0,05$), что свидетельствует о преобладании Th1 типа иммунного ответа, неблагоприятного для течения беременности (таблица).

Содержание про-и противовоспалительных цитокинов и неоптерина в сыворотке крови у пациенток исследуемых групп

пг/мл	Клинические группы		
	Ia(n=35)	Ib(n=26)	Контроль (n=19)
IL-8	62,8±8,8*	46,6±9,2	37±11,9
IL-6	72,6±16,3*▲	46,7±7,7*	7,6±2,8
TNF-α	234,4±50,4*	117,7±42,2*	35,2±10,3
IL-1β	56,4±12,1*▲	38,9±8	30±11,1
Неоптерин (нг/мл)	16,6±3,3*▲	8,4±2*	2,1±0,4
IL-4	22,9±9,5*	35±12,4	46±8,2
IFN-γ	68,1±11,9*	48,5±7,7	28,5±7,8
IL-12	73,8±8,8*	63,3±10,2	56,2±11,8
TGF -β	646,7±228,7	920,9±114,1	777,8±114,1

* <0,05 по сравнению с контролем, ▲<0,05 между Ia и Ib подгруппой

Неоптерин является ранним чувствительным индикатором активации клеточного иммунитета. Продукцию неоптерина в макрофагах, эндотелиоцитах, фибробластах стимулирует IFN -γ. Увеличение его концентрации связано с интенсивностью воспалительного процесса. Неоптерин является маркером активации клеточного иммунитета. Совместное действие TNF-α и неоптерина усиливает апоптоз клеток плаценты за счет действия активного кислорода. Неоптерин играет значительную роль в механизмах цитотоксического действия активированных макрофагов.

Анализируя результаты исследования содержания неоптерина, нам удалось установить следующие факты: в подгруппах Ia, Ib по сравнению с контрольной группой отмечалось достоверное повышение неоптерина в сыворотке крови (16,6±3,3 пг/мл, 8,4±2 пг/мл против 2,1±0,4 пг/мл, соответственно, (p<0,05). Самый высокий уровень неоптерина был зафиксирован у женщин при декомпенсированной ХПН, родивших детей с ранней манифестацией перинатального поражения ЦНС, превышающий показатели контрольной группы в 7,9 раз. При сравнении показателей в подгруппах отмечено, что уровень неоптерина в подгруппе Ia превышал показатели в подгруппе Ib в 1,9 раз(16,6±3,3 пг/мл, против 8,4±2 пг/мл) ,(p<0,05), (таблица).

IL-4- противовоспалительный цитокин, регулирует продукцию цитокинов Th1 типа. В полученных нами результатах содержание IL-4 было снижено в сыворотке крови в подгруппе беременных с декомпенсированной ХПН, родивших детей с ранней манифестацией перинатального поражения ЦНС (Ia) по сравнению с контрольной группой в 2

раза ($22,9 \pm 9,5$ против $46 \pm 8,2$ пг/мл, ($p < 0,05$). При снижении концентрации IL-4 не происходит ингибирования провоспалительной функции моноцитов и макрофагов и не блокируется спонтанная продукция TNF- α и IFN γ . Нами не обнаружено достоверных различий содержания TGF- β в сыворотке крови беременных с плацентарной недостаточностью и контрольной группой (таблица).

Анализ полученных результатов исследования позволяет уточнить особенности цитокиновой регуляции в поздние сроки физиологической беременности и при ее осложнении ХПН. При этом выявлены отличительные особенности при различных исходах беременности для плода. Выявленные профили функционирования цитокинов позволяет уточнить их патогенетическую значимость и установить диагностически значимые маркеры, что имеет практическое значение в рамках оптимизации диагностики осложнений беременности.

Для пациенток с декомпенсированной ХПН, родивших детей с ранней манифестацией перинатального поражения ЦНС, характерно наличие выраженных системных нарушений иммунного статуса в виде повышения в сыворотке крови уровней IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , IFN- γ , неоптерина, что сочетается со снижением IL-4. Для пациенток с декомпенсированной ХПН, родивших детей с отсроченной манифестацией перинатального поражения ЦНС, характерно повышение в сыворотке крови уровня TNF- α , IL-6, неоптерина.

По нашему мнению, повышение уровня провоспалительных цитокинов, обусловленное их участием в иммунной реакции организма под воздействием гипоксии, приводит к развитию воспалительных реакций, что инициируют процессы, приводящие к гибели нейронов и глиальных клеток.

Выводы

Таким образом, при хронической плацентарной недостаточности выявлено нарушение цитокинового баланса с тенденцией направленности по Th1-типу, усилением процессов межклеточного взаимодействия, нарушении эффекторной функции иммунокомпетентных клеток, что способствует формированию воспалительного режима иммунорегуляции. Изучение характера иммунного ответа у беременных с ХПН на системном уровне позволит разработать прогностические критерии развития перинатального поражения ЦНС у их новорожденных и будет способствовать повышению эффективности терапевтических мероприятий и снижению детской инвалидизации.

Список литературы

1. Клементе Апумайта Х.М. Показатели иммунного статуса у беременных с хронической

плацентарной недостаточностью (компенсированная форма) под воздействием озонотерапии и ГБО / Х.М. Клементе Апумайта, А.В. Мурашко, И.С. Сидорова, С.В. Пак, Г.О. Гречканев, С.А. Дворянский, Э.М. Путинский // Актуальные проблемы управления здоровьем населения: сборник научных трудов с международным участием. – Н.Новгород, 2010. – С. 41-43.

2. Краснопольский В.И. Система оценки степени тяжести фетоплацентарной недостаточности у беременных и рожениц / В.И. Краснопольский, Л.С. Логутова, В.А. Петрухин // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 5. – С. 87-95.

3. Липатов И.С. Прогнозирование и диагностика плацентарной недостаточности на основе маркеров эндотелиальной дисфункции, децидуализации, апоптоза и клеточной пролиферации / И.С. Липатов, Ю.В. Тезиков // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – Т.7, № 1. – С. 52-59.

4. Филиппов О.С. Плацентарная недостаточность / О.С. Филиппов. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 160 с.

5. Brennan L.J. Vascular Dysfunction in Preeclampsia / L.J. Brennan, J.S. Morton, S.T. Davidge // Microcirculation. – 2014. – Vol. 21. – №2. – P. 4–14.

6. Li M. Innate immunity, coagulation and placenta-related adverse pregnancy outcomes / M. Li, S.J. Huang // Thrombosis Research. – 2009. – Vol. 124, № 6. – P. 656–662.

7. Scifres C.M. Intrauterine growth restriction, human placental development and trophoblast cell death / C.M. Scifres, D.M. Nelson // J. Physiology. – 2009. – Vol. 587, №14. – P. 3453–3458.

8. Tosun M. Maternal and umbilical serum levels of interleukin-6, interleukin-8, and tumor necrosis factor- α in normal pregnancies and in pregnancies complicated by preeclampsia / M. Tosun, H. Celik, B. Avci // J. Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. – 2010. – Vol. 23, № 8. – P. 880–886.