

УДК 618.33+574.466

## СИСТЕМНАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ И ФАКТОРОВ РОСТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ СИНДРОМА ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА

М. В. Макаренко

Киевский городской родильный дом № 5

## SYSTEMIC PRODUCTION OF CYTOKINES AND GROWTH FACTORS IN VARIOUS FORMS OF SYNDROME OF DELAYED FETAL GROWTH

M. V. Makarenko

Патогенетические механизмы различных форм СЗРП недостаточно изучены. При его формировании в периферической крови матери отмечают признаки нарушения иммунного ответа, что проявляется изменением соотношения различных клеточных популяций, параметров активации апоптоза клеток, продукции цитокинов [1].

Развитие беременности и формирование фетоплацентарного комплекса контролируются материнской иммунной системой на всем протяжении периода гестации [2]. В последнее время в литературе появляются данные, позволяющие предположить, что в основе нарушений функции фетоплацентарной системы при СЗРП лежат изменения механизмов иммунорегуляции [3].

Важной характеристикой состояния иммунной системы является продукция цитокинов, определяющих развитие плода, регулирующих обменные процессы и направленность иммунного ответа [4].

При СЗРП возникают изменения функционирования системы маточно—плацентарного кровообращения, обусловленные нарушениями ангиогенеза [5]. Важную роль в плацентарном ангиогенезе, наряду с провоспалительными и регуляторными цитокинами, играют факторы роста (ФР), при нарушении продукции которых формируются недостаточность плаценты и СЗРП [6].

В литературе отсутствуют данные об изменениях параметров иммунного ответа и характере экспрессии ФР при различных формах

### Реферат

Синдром внутриутробной задержки роста плода (СЗРП) — одно из наиболее распространенных патологических состояний во время беременности, характеризуется нарушением функции фетоплацентарной системы. Его частота составляет от 3 до 8%.

Изучение особенностей системных и местных иммунных нарушений, сопровождающих СЗРП, позволит установить иммунные механизмы его формирования. Выявление нарушений иммунорегуляции на системном и местном уровне даст возможность создать патогенетически обоснованную концепцию участия иммунной системы в формировании асимметричных и симметричных форм СЗРП, разработать новые подходы к прогнозированию и диагностике.

**Ключевые слова:** синдром задержки роста плода; иммунорегуляция; апоптоз; цитокины.

### Abstract

The syndrome of delayed fetal growth (SDFG) is one of the most wide—spread pathological conditions while course of pregnancy; it is characterized by disorder of the fetoplacental system function. Its incidence is from 3 to 8%. The studying of peculiarities of the system and local immune disorders, coinciding with SDFG, would permit to establish the immune mechanisms of its formation. Revealing of immunoregulation disorders on systemic and local levels would promote the creation of a concept, depicting participation of the immune system in formation of asymmetrical and symmetrical forms of SDFG, to elaborate new approaches for prognosis and diagnosis.

**Key words:** syndrome of delayed fetal growth; immunoregulation; apoptosis; cytokines.

СЗРП в динамике процесса гестации. Нами изучена системная продукция цитокинов и ангиогенных ФР в III триместре беременности при симметричной и асимметричной формах СЗРП.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 77 беременных, у 25 из которых диагностирована симметричная, у 52 — асимметричная форма СЗРП. Содержание цитокинов, ФР и эндотелина в крови оценивали с использованием метода ELISA на микроплашкетном ридере Multiscan EX LabSystems (Финляндия).

Статистическая обработка данных проведена по стандартной ме-

тодике с использованием программы Microsoft Excel из комплекта Microsoft Office 2000 и программы STUD BAT из комплекта Statistica. Достоверность различий определяли по *t*—критерию Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для установления роли иммунной системы в патогенезе симметричной и асимметричной форм СЗРП изучена системная продукция цитокинов и ФР в III триместре беременности.

В *табл. 1* представлены данные о содержании провоспалительных цитокинов в периферической крови у женщин при симметричной и асимметричной формах СЗРП.

Таблица 1. **Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови женщин при симметричной и асимметричной формах СЗРП в III триместре беременности**

Показатель, пг/мл	Величина показателя при СЗРП формы ( $\bar{x} \pm m$ )	
	симметричной	асимметричной
ИЛ – 1 $\beta$	Nd	Nd
ИЛ – 4	0,95 $\pm$ 0,42	4,23 $\pm$ 1,04*
ИЛ – 6	Nd	Nd
ИЛ – 8	26,22 + 12,13	90,33 + 27,15*
ФНО– $\alpha$	35,66 $\pm$ 2,71	31,83 $\pm$ 5,021
ИФН– $\gamma$	Nd	Nd

*Примечание.* ИЛ – интерлейкин; ФНО – $\alpha$  – фактор некроза опухолей – $\alpha$ ; ИФН– $\gamma$  – интерферон– $\gamma$ ; \* – различия показателей достоверны по сравнению с таковыми при симметричной форме СЗРП ( $p < 0,05$  – 0,001). Nd – содержание меньше предела чувствительности тест – системы. То же в табл. 2 – 5.

Таблица 2. **Содержание регуляторных цитокинов в сыворотке крови женщин при симметричной и асимметричной формах СЗРП**

Показатель, пг/мл	Величина показателя при СЗРП формы ( $\bar{x} \pm m$ )	
	симметричной	асимметричной
ИЛ–2	Nd	Nd
ИЛ–10	145,52 $\pm$ 7,94	198,61 $\pm$ 11,01*
ИЛ–12p70	125,52 $\pm$ 34,31	182,34 + 36,82
TGF $\beta$ 2	1596,08 + 380,51	2046,16 $\pm$ 369,92*

Таблица 3. **Спонтанная продукция цитокинов в 24 – часовых культурах лимфоцитов периферической крови женщин при симметричной и асимметричной формах СЗРП**

Показатель, пг/мл	Величина показателя при СЗРП формы ( $\bar{x} \pm m$ )	
	симметричной	асимметричной
ИЛ–2	11,99 $\pm$ 2,41	7,86 + 1,72
ИЛ–4	Nd	Nd
ИЛ–6	59,52 $\pm$ 9,43	685,61 $\pm$ 57,42*
ИЛ–10	Nd	187,73 $\pm$ 49,31*
ФНО– $\alpha$	47,62 $\pm$ 1,94	41,61 $\pm$ 1,93*
ИФН– $\gamma$	26,14 + 1,08	18,07 + 3,25*
TGF $\beta$ 2	Nd	Nd

В конце периода гестации в периферической крови женщин при асимметричной форме СЗРП отмечали повышение уровня ИЛ – 4 и ИЛ – 8 по сравнению с таковым у беременных при симметричной форме СЗРП ( $p < 0,01$  – 0,001).

Достоверные различия содержания ФНО– $\alpha$  в обеих группах не установлены. Уровень ИЛ–1 $\beta$ , ИЛ–6 и ИФН– $\gamma$  в периферической крови в обеих группах был ниже предела чувствительности тест–систем для ELISA, что не позволило сделать заключение об изменениях содержания этих цитокинов при формировании различных форм СЗРП.

Различия уровня регуляторных цитокинов в периферической крови у женщин при СЗРП в конце периода гестации проявлялись более высоким уровнем ИЛ–10 при асимметричной форме СЗРП (табл. 2). В периферической крови беременных при асимметричной форме СЗРП отмечена выраженная тенденция к повышению уровня TGF $\beta$ 2 по сравнению с таковым при симметричной форме СЗРП ( $p < 0,05$ ). Уровень ИЛ–12 в сыворотке в сравниваемых группах достоверно не различался в конце периода гестации ( $p > 0,05$ ). Содержание ИЛ–2 в обеих группах было меньше предела чув-

ствительности использованной тест–системы (менее 8 пг/мл).

При исследовании регуляторных цитокинов в сыворотке периферической крови женщин установлено, что в III триместре беременности при асимметричной форме СЗРП отмечена тенденция к повышению уровня TGF $\beta$ 2, что, вероятно, отражает активацию иммуносупрессорных реакций, способствующих сдерживанию патологического иммунного ответа.

Суммарное содержание цитокинов в сыворотке крови может определяться их секрецией различными клеточными популяциями в периферической крови. В некоторых ситуациях при эндокринном влиянии цитокинов их уровень может зависеть и от продукции цитокинов в плаценте [7]. Кроме того, высокий уровень клеточных популяций, внутриклеточно продуцирующих те или иные цитокины, не является абсолютным показателем их активности, поскольку определяет лишь потенциальные возможности клеток, без учета роли активационных и ингибирующих сигналов, определяющих интенсивность продукции и секрецию цитокинов [8].

В связи с этим изучено содержание цитокинов, спонтанно продуцируемых лимфоцитами и моноцитами периферической крови, у женщин при симметричной и асимметричной формах СЗРП в 24–часовых клеточных культурах (табл. 3).

При сравнительном анализе установлено, что в конце периода гестации лимфоциты периферической крови женщин при асимметричной форме СЗРП значительно интенсивнее секретировали в культуральную среду ИЛ–6 и ИЛ–10 ( $p < 0,001$ ), однако меньше, чем лимфоциты у женщин при симметричной форме СЗРП, продуцировали ФНО– $\alpha$  и ИФН– $\gamma$  ( $p < 0,05$ ). Секреция ИЛ–2 лимфоцитами в обеих группах достоверно не различалась по данным культуральных исследований ( $p > 0,05$ ). Содержание TGF $\beta$ 2 в супернатантах спонтанных культур лимфоцитов в III триместре беременности в группах было меньше пределов чувствительности тест–системы

Таблица 4. Показатели спонтанной продукции цитокинов в 24-часовых культурах моноцитов периферической крови женщин при симметричной и асимметричной формах СЗРП

Показатель, пг/мл	Величина показателя при СЗРП формы ( $\bar{x} \pm m$ )	
	симметричной	асимметричной
ИЛ-1 $\beta$	372,92 $\pm$ 8,55	115,31 $\pm$ 6,72*
ИЛ-6	54,27 $\pm$ 1,86	395,91 $\pm$ 21,95*
ИЛ-8	115,01 $\pm$ 59,01	158,62 $\pm$ 15,37
ИЛ-10	351,57 $\pm$ 8,64	243,61 $\pm$ 7,32*
ИЛ-12	Nd	Nd
ФНО- $\alpha$	79,46 $\pm$ 26,75	72,01 $\pm$ 19,64

Таблица 5. Содержание ФР и эндотелина в сыворотке периферической крови женщин при различных формах СЗРП

Показатель, пг/мл	Величина показателя при СЗРП формы ( $\bar{x} \pm m$ )	
	симметричной	асимметричной
ФРП, пг/мл	322,5 $\pm$ 66,2	206,2 $\pm$ 25,1*
СЭФР, пг/мл	142,9 $\pm$ 15,4	118,9 $\pm$ 16,1
СЭФР-Р1, нг/мл	3,6 $\pm$ 0,4	1,61 $\pm$ 0,2*
ИФР-1, нг/мл	344,1 $\pm$ 1,2	199,3 $\pm$ 0,7*
Эндотелин, фмоль/мл	0,87 $\pm$ 0,25	1,45 $\pm$ 0,42*

Примечание. ФРП – ФР плаценты; СЭФР – сосудисто-эндотелиальный ФР; ИФР – инсулиноподобный ФР.

(менее 10 пг/мл), а ИЛ-4 — не определялись.

Поскольку моноциты, как и лимфоидные клетки, вносят свой вклад в суммарное содержание цитокинов в периферической крови, нами изучены показатели спонтанной продукции цитокинов в 24-часовых культурах моноцитов у женщин при симметричной и асимметричной формах СЗРП (табл. 4).

По результатам исследования, при асимметричной форме СЗРП наблюдали достоверное уменьшение секреции в культуральную среду ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10 ( $p < 0,001$ ), однако уровень ИЛ-6 был достоверно выше ( $p < 0,001$ ) такового при симметричной форме СЗРП. Содержание ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  достоверно не различалось в сравниваемых группах ( $p > 0,05$ ), а ИЛ-12 — было меньше предела чувствительности тест-системы (менее 3 пг/мл).

Результаты исследования содержания в периферической крови ос-

новных ФР, регулирующих морфо- и ангиогенез плаценты, представлены в табл. 5.

В периферической крови женщин при асимметричной форме СЗРП в конце периода гестации уровень ФРП был достоверно ниже, чем при симметричной форме СЗРП ( $p < 0,01$ ).

Уровень СЭФР в сыворотке крови женщин при асимметричной форме СЗРП имел тенденцию к снижению по сравнению с таковым при его симметричной форме ( $p > 0,05$ ); уровень СЭФР-Р1 и ИФР-1 — достоверно выше при симметричной форме СЗРП ( $p < 0,01$  —  $0,001$ ).

Уровень эндотелина в периферической крови женщин при асимметричной форме СЗРП имел достоверную тенденцию к повышению по сравнению с таковым при его симметричной форме ( $p < 0,05$ ). Увеличение концентрации эндотелина в сыворотке крови при асимметричной форме СЗРП, возможно,

способствует активации клеток эндотелия сосудов и повышению уровня фибриноида в сосудистой системе плаценты.

Таким образом, уровень циркулирующих в периферической крови цитокинов у женщин при асимметричной форме СЗРП в III триместре беременности достоверно отличался от такового при его симметричной форме, что проявлялось повышением уровня ИЛ-4, ИЛ-8 и ИЛ-10. Спонтанная продукция цитокинов лимфоцитами периферической крови при асимметричной форме СЗРП отличалась от таковой при несложном развитии плода, о чем свидетельствовало увеличение секреции ИЛ-6 и ИЛ-10, но уменьшение продукции ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ . При асимметричной форме СЗРП характерно уменьшение спонтанной продукции ИЛ-10 в 24-часовых культурах моноцитов периферической крови.

Содержание СЭФР в сыворотке крови при асимметричной форме СЗРП имело тенденцию к снижению по сравнению с таковым при его симметричной форме ( $p > 0,05$ ), а СЭФР-Р1 и ИФР-1 — было достоверно больше, чем при симметричной форме СЗРП.

Полученные данные свидетельствуют, что при асимметричной форме СЗРП в периферической крови уменьшаются синтез и секреция многих провоспалительных и регуляторных цитокинов, а также ФР по сравнению с таковыми при его симметричной форме. Ингибирующее воздействие на продукцию цитокинов макрофагами оказывают также гормоны, уровень которых при СЗРП значительно изменяется.

Результаты исследования свидетельствуют о различных патогенетических механизмах формирования СЗРП, при которых его асимметричная форма сопровождается нарушением иммунного ответа материнских мононуклеарных клеток и ангиогенных ФР на системном уровне процесса гестации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Система цитокинов, комплемента и современные методы иммунного анализа / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, М. В. Хорева, Е. В. Соколова. — М.: РГМУ, 2001. — 158 с.
2. Сидорова И. С. Фетоплацентарная недостаточность. Клинико-диагностические аспекты / И. С. Сидорова, И. О. Макаров. — М.: Знание—М, 2000. — 127 с.

3. Сотникова Н. Ю. Иммуные аспекты беременности / Н. Ю. Сотникова // Рос. журн. иммунологии. — 2005. — Т. 9, № 2. — С. 79 — 64.
4. Сотникова Н. Ю. Характеристика цитокинового каскада в динамике гестационного процесса / Н. Ю. Сотникова // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т.1, № 2. — С. 154 — 155.
5. Медведев М. В. Задержка внутриутробного развития плода / М. В. Медведев, Е. В. Юдина. — М.: РАВУЗДПГ, 2008. — 208 с.
6. Гагаева Ю. В. Роль изменений активации клеток моноцитарно— макрофагального ряда, содержания плацентарного фактора роста и эндотелина в формировании синдрома задержки развития плода: автореф. дис. ... канд.мед.наук / Ю. В. Гагаева. — Иваново, 2005. — 25 с.
7. Localisation of the Th2 cytokines IL— 3, IL— 4, IL— 10 at the murine feto maternal interface during pregnancy / G. Chaouat, V. Cayol, V. Mairovitz, S. Dubanchet // Reproduct. Immunol. — New Delhi: Narosa Publ. House, 2009. — P. 61 — 70.
8. Berger S. Immune complex— induced interleukin— 6, interleukin— 10 and prostaglandin secretion by human monocytes: a network of pro— and anti— inflammatory cytokines dependent on the antigen: antibody ratio / S. Berger, H. Ballo, H J. Stutte // Eur. J. Immunol. — 2006. — Vol. 26. — P. 1297 — 1301.

