

Клиническое значение цитокинового профиля у беременных с истмико-цервикальной недостаточностью высокого инфекционного риска

Т.Г. Романенко, Е.И. Кротик

Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика МЗ Украины, г. Киев

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о роли цитокинового статуса при оценке состояния местных факторов защиты у беременных с истмико-цервикальной недостаточностью высокого инфекционного риска. Уровень провоспалительного цитокина α -ФНО и противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и γ -ИФН в сыворотке крови и цервикальной слизи можно использовать как прогностические критерии осложнений до возникновения клинических симптомов и особенностей клинического течения беременности. Исследование этих показателей расширяет возможности выбора рациональной, патогенетически обоснованной терапии, тем самым позволяя снизить частоту развития преждевременных родов и внутриутробного инфицирования у этих беременных.

Ключевые слова: преждевременные роды, истмико-цервикальная недостаточность, внутриутробное инфицирование, цитокиновый статус, иммунный гомеостаз.

Проблема невынашивания беременности в акушерской практике длительное время не теряет своей актуальности. Преждевременные роды сопровождаются большими потерями неонатальных ресурсов, однако риск инвалидности у недоношенных детей, рожденных в срок 22–24 нед гестации, составляет 40% и уменьшает до 10% детей, родившихся в 27–28 нед гестации [1, 2]. В связи с этим в 2007 году, после перехода Украины на критерии регистрации новорожденных, рекомендованных ВОЗ, особенно остро встала проблема поиска новых методик диагностики и лечения преждевременного прерывания беременности с 22 нед беременности. Внедрение современных клинических протоколов по акушерской, гинекологической и неонатологической помощи позволило повысить уровень перинатальной помощи благодаря преимущественно пролонгированной тактике ведения преждевременных родов (при отсутствии противопоказаний), проведения профилактики и лечения синдрома дыхательных расстройств, инфекционных осложнений [2, 3].

В настоящее время существует много теорий о причинах преждевременных родов, поэтому терапия невынашивания достигает позитивного эффекта в случае патогенетического обоснования. Цервикальная недостаточность, хроническая урогенитальная инфекция, бактериальный вагиноз, многоплодная беременность – факторы, которые чаще всего обуславливают преждевременное начало родов. Невынашивание по данным причинам легко спрогнозировать и при своевременном лечении – предупредить [4–6].

Созревание шейки матки – это активный биохимический процесс, похожий на воспалительный процесс, который привлекает сложный каскад последовательных реакций, включая деградацию внеклеточных матричных белков и гликопротеидов, разрушение коллагеновых фибрилл и увеличение гидратации, вызванной гиалураном. Хотя медиаторы процесса созревания шейки матки окончательно не выясне-

ны, однако есть исследования, в которых предполагается роль провоспалительных цитокинов, NO-синтаз, продуктов свободнорадикального окисления в ремоделировании шейки матки [7, 8].

Установлено, что одним из механизмов реализации истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН) за счет вагинальных инфекций является активация NO-синтазного пути генерации промоторов воспаления. Выяснено, что инфекционный процесс стимулирует повышение уровня противовоспалительных цитокинов, развитие оксидативного стресса и усиления генерации активных метаболитов азота в цервико-вагинальном содержимом. Кроме того, имеет место активация аргиназного пути обмена L-аргинина, которая приводит к росту предшественников биосинтеза коллагена – аминокислот пролина и оксипролина, что обуславливает изменения коллагенового метаболизма и индукцию преждевременного созревания шейки матки. Во время беременности меняется цитокиновый профиль, что обусловлено функциональными способностями плаценты, продуцирующей большое количество провоспалительных и регуляторных цитокинов. Баланс цитокинов при физиологической беременности подерживается за счет сложных взаимоотношений между клетками фетоплацентарного комплекса. Нарушение этого равновесия в результате действия многочисленных факторов может привести к различным осложнениям беременности, в том числе к ее преждевременному прерыванию [9–11].

Вероятность развития преждевременных анатомических, биофизических и биохимических изменений шейки матки при невынашивании беременности у женщин высокого инфекционного риска высока, поэтому возникает необходимость поиска новых подходов к прогностической оценке и выбору рациональной тактики ведения беременности при преждевременном созревании шейки матки в условиях инфекции, что может обуславливать реализацию ее недостаточности. Одним из вариантов такого подхода может быть определение биохимических маркеров, которые служат промоторами воспалительного процесса при вагинальных инфекциях у беременных с ИЦН [12, 13]. Выяснение роли инфекционного процесса половых путей женщины в развитии ИЦН позволит определить предпосылки развития невынашивания беременности и даст возможность определить эффективные критерии диагностики и прогноза относительно исхода беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 63 беременные высокого инфекционного риска (урогенитальная инфекция в анамнезе, высокий инфекционный индекс) с установленным диагнозом: ИЦН. Всем беременным в сроке от 18 до 22 нед беременности была проведена предварительная санация влагалища и коррекция ИЦН путем постановки акушерского pessaria.

Таблица 1

Уровень цитокинов в сыворотке крови до и после лечения у обследуемых беременных (M±m)

Цитокин (пг/мл)	I группа (n=31)		II группа (n=32)		КГ (n=20)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
ФНО-α	42,1±7,6*	12,8±3,2 [^] *	44,3±6,8*	25,4±4,1 [^] **	0,61±0,05
ИФН-γ	36,2±4,5*	59,4±8,1 [^]	32,8±4,1*	37,9±6,7*	52,9±12,4
ИЛ-4	221,7±56,1*	86,4±18,3 [^]	209,4±48,1*	227,4±48,1**	98,7±14,9

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с КГ; [^] – p<0,05 в сравнении с показателем до лечения; * – p<0,05 в сравнении с I группой.

Таблица 2

Уровень цитокинов в цервикальной слизи до и после лечения у обследуемых беременных (M±m)

Цитокин (пг/мл)	I группа (n=31)		II группа (n=32)		КГ (n=20)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
ФНО-α	20,1±6,4*	34,5±8,9*	23,7±6,1*	20,5±7,4*	0,65±0,06
ИФН-γ	19,7±5,2*	21,8±7,7*	24,1±6,5*	22,3±5,6*	2,34±0,2
ИЛ-4	50,4±8,9*	27,3±6,5* [^]	43,2±8,7*	68,2±8,6* [^] *	2,9±0,2

Примечание: * – p<0,05 в сравнении с КГ; [^] – p<0,05 в сравнении до лечения; * – p<0,05 в сравнении с I группой.

I (основная) группа состояла из 31 беременной с угрозой прерывания беременности и ИЦН, лечение которым проводили по разработанной нами методике.

Во II группу (сравнения) вошли 32 беременные с угрозой прерывания беременности и ИЦН, коррекцию которой проводили традиционным методом.

Контрольная группа – 20 беременных без ИЦН.

Алгоритм лечебно-профилактических мероприятий, разработанный авторами включал: постановку акушерского пессария в сроки от 18 до 22 нед гестации; с целью профилактики внутриутробного инфицирования назначение препарата интерферона (ИФН) *per vaginum* в дозе 250 000 МЕ 2 раза в сутки в течение 10 дней с момента постановки пессария, с последующим переходом на поддерживающую терапию: по 1 суппозиторию в дозе 250 000 МЕ по ИФН 1 раз в сутки на ночь через день в течение 3 нед. Курс лечения ИФН быть повторен. Интервал между курсами – 1 мес.

Сложность системы регуляции иммунного гомеостаза у беременных ограничивает использование иммуностимулирующей терапии. Однако наличие риска внутриутробного инфицирования является весомым аргументом в пользу включения иммунокорректирующих препаратов в комплекс лечебных мероприятий [14, 15]. В связи с этим необходимы новые лекарственные средства, при назначении которых беременным возможно прогнозируемое влияние на развитие и функционирование иммунной системы плода и новорожденного.

Под воздействием ИФН-α в организме усиливается активность естественных киллеров, Т-хелперов, фагоцитов. Активация лейкоцитов, содержащихся во всех слоях слизистой оболочки, обеспечивает их активное участие в ликвидации первичных патологических очагов и восстановление продукции секреторного IgA. Таурин, входящий в состав свечей, повышает биологический эффект ИФН-α за счет своих антиоксидантных и мембраностабилизирующих свойств, а также значительно ускоряет эпителизацию поврежденных тканей вследствие выраженного репаративного эффекта. Анестезин препятствует возникновению болевых импульсов, блокируя их проведение по нервным волокнам – уменьшаются субъективные проявления заболевания (боль, зуд, жжение в области влагалища). Анестезин практически не всасывается при его местном применении и в используемой в препарате дозе совершенно безопасен для здоровья матери и плода. Таким образом, наличие таурина и анестезина в комбинации с ИФН можно рассматривать как его существенное дополнительное преимущество в сравнении с другими препаратами ИФН-α, которые применяют у беременных.

Дисбаланс в функционировании цитокиновой системы, возникающий по разным причинам, рассматривается в настоящее время как один из основных факторов в патогенезе развития болезни. Соответственно, основной задачей применения того или иного цитокина, в том числе и ИФН-α, является способствование восстановлению нарушенного баланса в первую очередь путем своевременной доставки необходимого цитокина в очаг поражения [10, 13]. Таким образом, наш выбор с использованием ИФН-α в форме ректальных суппозитория является патогенетически обоснованным.

Следует отметить, что у обследованных пациенток не наблюдалось осложнений, местных и общих аллергических реакций.

Всем беременным проводили комплексное клинико-лабораторное обследование согласно приказов № 417 от 15.07.2011 и № 624 от 03.11.2011 МЗ Украины. Характер патологии устанавливали по результатам клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования (анамнез, специальное гинекологическое исследование, ультразвуковое исследование – УЗИ, бактериоскопическое и бактериологическое исследование микрофлоры цервика-влагалищного содержимого).

Для оценки факторов, которые могут отражать характер воспалительных реакций у беременных с реализацией ИЦН в условиях вагинальных инфекций, изучали состояние цитокинового баланса. Для более глубокого понимания межклеточной кооперации в процессе формирования хронического инфекционного процесса изучали содержание ряда цитокинов (интерлейкинов – ИЛ-4, ФНО-α, ИФН-γ) в сыворотке крови и цервикальной слизи. Титры цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа на анализаторе «Stat Fax 303 Plus» (США) с помощью наборов реагентов «ProCon IL-1/3» (ООО «Протеиновый контур» Россия), «Accucyte Human IL-8» (Cytimmune Sciences Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После постановки акушерского пессария все беременные находились под врачебным наблюдением. Пациентки I группы получали терапию по разработанному авторами алгоритму, II группы – общепринятую терапию, беременные контрольной группы (КГ) без ИЦН и соответственно им не проводили никакой терапии.

После окончания лечения было проведено исследование в динамике беременности цитокинового профиля в сыворотке крови и цервикальном содержимом (табл. 1 и 2).

Как показали результаты нашего исследования (см. табл. 1), получены статистически значимые различия между группами после лечения в сыворотке крови: ФНО- α , ИФН- γ и ИЛ-4. Уровень ИФН- γ в цервикальной слизи был на 18% выше у женщин I группы по сравнению с беременными II группы ($p < 0,05$). В сыворотке крови этот показатель находился на том же уровне. В I группе во всех случаях отмечено снижение уровня ФНО- α , который в сыворотке крови имел статистическую разницу с показателем до лечения и уровнем в КГ, а в цервикальной слизи оставался в 1,5 раза выше. Содержание ФНО- α в сыворотке крови беременных I группы в среднем снизилось в 3,1 раза, во II группе – в 1,4 раза и составил $25,4 \pm 4,1$ пг/мл ($p < 0,05$). Отмечено снижение показателей ФНО- α после лечения в обеих группах, однако у женщин II группы нормализация показателя наблюдалась только у 19 беременных (59%), а в цервикальной слизи – только у 4 беременных (12,5%) и отличалась от показателей в КГ, оставаясь значительно выше. Во время анализа индивидуальных данных у большинства пациенток КГ (70%) ИЛ-4 в сыворотке крови не определялись. У беременных, получавших стандартное лечение, мы не наблюдали изменений уровня ИЛ-4 в сыворотке крови, показатели остались в таких же пределах, что и первоначально $209,4 \pm 48,1$ пг/мл против $227,4 \pm 48,1$ пг/мл ($p > 0,05$). Концентрация ИФН- γ повысилась в сыворотке после лечения в I группе и достигала контрольных значений, превышая в 1,4 раза аналогичный показатель во II группе ($p < 0,05$). ИФН- γ незначительно повысился и во II группе, но не имел статистически значимых различий с результатами КГ. Разница в показателях ИФН- γ между исследуемыми группами после лечения в сыворотке крови составила 34%. Данный факт свидетельствует о более быстром восстановлении интерферонотенеза на фоне применяемого лечения в I группе, что косвенно подтверждает современные наблюдения, касающиеся первичности реагирования системы ИФН при антигенной нагрузке на организм человека. Интересно было проанализировать отношение ИФН- γ к ИЛ-4 в сыворотке крови и цервикальной слизи. Мы не установили преимуществ продукции ИФН- γ над ИЛ-4 у обследованных пациенток. Однако преимущество ИЛ-4 над ИФН- γ в сыворотке крови после лечения было значительным – в 5,8 раза во II группе и практически не изменилось по сравнению с параметрами до лечения. Подобные исследования о соотношении Th1/Th2 представлены в работах других авторов, в которых преимущество в сыворотке крови Th1-типа характерно для небеременных и для беременных с клинической картиной самопроизвольного аборта, аборта в ходу [2, 3]. Мы не нашли в литературе данных, касающихся соотношения этих цитокинов при ИЦН. Уровень ИЛ-4 в сыворотке крови во II группе остался в пределах первоначальных значений, в цервикальной слизи после лечения вырос на 38% и составил $68,2 \pm 8,6$ пг/мл. В I группе после лечения содержание в сыворотке крови снизилось в 2,4 раза, а в цервикальной слизи – в 1,6 раза (на 45%). Различия между показателями как в сыворотке, так и в цервикальной слизи, были статистически достоверны ($p < 0,05$). У беременных I группы после лечения отмечено увеличение ИЛ-4 в 1,3 раза в цервикальной слизи. Эти показатели в 36 раз превышали таковые в КГ и в 1,5 раза начальные наблюдения.

Средние значения ИФН- γ в образцах цервикальной слизи (см. табл. 2) после лечения в группах оставались выше, чем в КГ, и не менялись по сравнению с исходным содержанием ИФН- γ . То есть, у всех беременных с ИЦН высокого инфекционного риска, независимо от выбранного способа лечения, показатели ИФН- γ в образцах цервикальной слизи находились в одних пределах. При исследовании

соотношения ИФН- γ /ИЛ-4 в цервикальной слизи у пациенток исследуемых групп после лечения наблюдалась аналогичная тенденция: средние данные у женщин I группы составили $0,77 \pm 0,1$ и были в 2,8 раза выше, чем у пациенток II группы, чьи средние данные составили $0,28 \pm 0,05$ ($p < 0,05$). У пациенток КГ исследуемый показатель равнялся $0,8 \pm 0,09$. Таким образом, можно предположить, что соотношение ИФН- γ /ИЛ-4 не является маркером неблагоприятия, так как, по нашим данным, это соотношение оставалось наиболее высоким в I группе и КГ. При этом соотношение ИЛ-4/ИФН- γ в цервикальной слизи у беременных с ИЦН высокого инфекционного риска, оставалось более значимым во II группе и составило 3,1.

В результате проведенных исследований нами установлено, что наиболее выраженные изменения выявлены в I группе, где наблюдалось достоверное снижение на системном уровне содержания ФНО- α и ИЛ-4, а также увеличение ИФН- γ после лечения. На локальном уровне отмечено достоверное снижение ИЛ-4 в I группе и существенное увеличение во II группе. Полученные данные позволяют сделать вывод о более существенном влиянии примененного алгоритма лечения по сравнению со стандартным курсом на цитокиновый профиль у беременных с ИЦН высокого инфекционного риска. В результате снижается микробная стимуляция цитокинового звена иммунитета и происходит возврат данного медиаторного статуса к норме с улучшением защитных иммунологических реакций и метаболизма у этих беременных, что является залогом профилактики ранних преждевременных родов и внутриутробного инфицирования.

Таким образом, динамика изменений уровня ИЛ-4 как в сыворотке, так и в цервикальной слизи наблюдаемых групп, зависела от метода терапии у беременных с ИЦН. В случаях стандартной терапии не отмечено статистических различий между результатами до и после лечения, в то время как при новом подходе констатировано достоверное снижение ИЛ-4. Высокие показатели противовоспалительного цитокина ИЛ-4 после стандартной терапии, вероятно, обусловлены выраженной напряженностью воспалительного цитокинового профиля и неэффективностью проводимой терапии, что необходимо учитывать при определении прогноза реинфекции.

ВЫВОДЫ

Таким образом, определение уровня про- и противовоспалительных цитокинов в крови матери и цервикальном содержимом позволяет независимо от возбудителя определить активное течение инфекционного процесса и выяснить риск развития преждевременных родов и реализации инфекции для новорожденного. Полученные нами данные свидетельствуют о необходимости своевременного подключения иммунокорректирующей терапии при ведении беременных с ИЦН высокого инфекционного риска.

Изменения показателей цитокинового статуса у беременных группы высокого инфекционного риска является прогностически значимыми. Уровни провоспалительных цитокинов ФНО- α , противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и γ -ИФН в сыворотке крови и цервикальном содержимом можно использовать как прогностические критерии осложнений еще до возникновения клинических проявлений, особенностей клинического течения беременности. Исследование этих показателей расширяют возможности выбора рациональной, патогенетически обоснованной терапии. Использование препаратов ИФН в комплексе лечения у беременных с ИЦН высокого инфекционного риска снижает риск развития преждевременных родов и внутриутробного инфицирования.

Клінічне значення цитокинового профілю у вагітних з істміко-цервікальною недостатністю високого інфекційного ризику
Т.Г. Романенко, О.І. Кротік

Clinical significance cytokine profile of pregnant women with isthmic cervical insufficiency of high infectious risk
T.G. Romanenko, E.I. Krotik

Результати проведених досліджень свідчать про істотну роль цитокинового статусу при оцінюванні стану місцевих факторів захисту у вагітних з істміко-цервікальною недостатністю високого інфекційного ризику. Рівень прозапального цитокину α -ФНП та протизапальних цитокинів ІЛ-4 та γ -ІФН в сироватці крові та в цервікальному вмісті можливо використовувати як прогностичні критерії ускладнень ще до виникнення їхніх клінічних проявів, особливостей клінічного перебігу вагітності. Дослідження цих показників розширює можливості вибору раціональної, патогенетично обґрунтованої терапії, тим самим дозволяє знизити частоту розвитку передчасних пологів та внутрішньоутробного інфікування у цих вагітних.

The research results suggest an important role of cytokine status when assessing local protective factors in pregnant women with Cervical incompetence. Cytokines proinflammatory levels IL-1, IL-2, TNF- α and anti-inflammatory cytokines IL-4, IL-10 and also IFN- γ in blood serum and vaginal contents, can be used as prognostic criteria for complications before the clinical symptoms and clinical features of pregnancy. Investigation of these parameters enhances proper choice of pathogenetically substantiated therapy therefore helping to lower frequency of preterm birth development and intrauterine fetal infection in these pregnant women.

Ключові слова: *передчасні пологи, істміко-цервікальна недостатність, внутрішньоутробне інфікування, цитокиновий статус, імунний гомеостаз.*

Key words: *premature[preterm] birth, Cervical incompetence, intrauterine infection, cytokine status, immune homeostasis.*

Сведения об авторах

Романенко Тамара Григорьевна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: romanenko.tamara@yandex.ru

Кротик Елена Игоревна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Венцківський Б.М. Особливості патогенезу невиношування вагітності в терміни 22–28 тижнів / Б.М. Венцківський // Вісник наукових досліджень. – 2006. – № 2. – С. 41–45.
2. Кулаков В.И. Преждевременные роды /В.И. Кулаков, Л.Е. Мурашко. – М.: Медицина, 2002. – 172 с.
3. Бурудули Г.М. Репродуктивные потери /Г.М. Бурудули, О.Г. Фролова. – М.: «Триада-Х», 2007. – С. 19.
4. Голяновский О.В. Истмико-цервикальная недостаточность: современные методы коррекции /О.В. Голяновский, В.В. Мехедко, И.Д. Галич //Жіночий лікар. – 2012, № 2. – С. 39.
5. Васеленко В.А. Истмико-цервикальная недостаточность: все ещё клинико-диагностическая проблема? /В.А. Васеленко, И.Ю. Гордієнко //Ультразвуковая перинатальная диагностика. – 2005. – Т. 18. – С. 21–30.
6. Ледина А.В. Истмико-цервикальная недостаточность. Заболевания шейки матки (клинические лекции) /А.В. Ледина, И.Ю. Абуд. – М.: Изд-во «Медиа Сфера». – 2007. – С. 81–85.
7. Болотських В.М. Прогностичне значення визначення інтерлейкінів-6, -8 та фактора некроза пухлини – А у сироватці крові і навколоплідних водах у пацієнок з передчасним вилиттям навколоплідних вод /В.М. Болотських, А.В. Селютин, С.А. Сельков //Акушерство та гінекологія. – 2012. – № 3. – С. 32–36.
8. Белокриницька Т.Е. Цитокіни в системі «мати-плід» при синдромі затримки розвитку плода /Т.Е. Белокриницька, Ю.А. Витковський //Акушерство та гінекологія. – 1999. – № 5. – С. 15–17.
9. Кетлинський С.А. Цитокіни /С.А. Кетлинський, А.С. Симбірцев. – Зб.: Фоліант, 2008. – 221 с.
10. Сотникова Н.Ю. Характеристика цитокинового каскада в динаміке гестаційного процесу // Цитокини и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 154–155.
11. Левкович М.А. Сучасні уявлення про роль цитокинів у генезі фізіологічного й патологічного перебігу вагітності /М.А. Левкович // Проблеми репродукції. – 2008. – № 3. – С. 37–40.
12. Ломова Н.А. Синдром системної запальної відповіді і вагітність (огляд літератури) / Н.А. Ломова, Н.В. Орджонікідзе, Л.В. Ванько //Акушерство та гінекологія. – 2012. – № 1. – С. 23–27.
13. Кузнецов В.П., Маркелова Е.В., Колесникова Н.В. и др. Цитокины в патогенезе инфекций и иммунокоррекция //Аллергология и иммунология. – 2001. – Т. 2, № 3. – С. 6.
14. Краснопольский В.И., Тареева Т.Г., Малиновская В.В., и др. Система иммунокоррекции при хронических инфекционно-воспалительных заболеваниях у беременных //Российский вестник акушера-гинеколога. – 2004. – № 1. – С. 36–38.
15. Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Кан Н.Е. и др. Содержание цитокинов в амниотической жидкости, пуповинной крови и сыворотке крови женщин с внутриутробной инфекцией //Акушерство и гинекология. – 2005. – № 5. – С. 5–7.

Статья поступила в редакцию 09.02.2015