

Оцінювання стану цитокінового профілю у вагітних з ентеровірусною інфекцією

М.І. Антонюк¹, Х.В. Зарічанська², Н.О. Ємець³, П.В. Лакатош¹

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

²Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

³ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ

Проаналізовано основні показники стану цитокінового профілю у вагітних з ентеровірусною інфекцією. Виявлено зміни імунного статусу у вигляді надлишкового утворення інтерферону, дисбалансу про- і протизапальних цитокінів, що свідчить про вплив ентеровірусів на механізми адаптації імунної системи під час вагітності. Оцінка цитокінового профілю у вагітних з ентеровірусною інфекцією може бути чутливим маркером патологічного перебігу вагітності. **Ключові слова:** ентеровірусна інфекція, невиношування вагітності, цитокіновий профіль.

Невиношування вагітності є актуальною проблемою в акушерстві і залишається провідною причиною перинатальної захворюваності та смертності. Незважаючи на досягнуті успіхи у діагностиці та лікуванні, частота даної патології залишається високою: 15–20% клінічно діагностованих вагітностей закінчуються спонтанним перериванням, з них 75–80% у терміні до 12 тиж [1, 2].

Основні труднощі, пов'язані з вивченням проблеми невиношування вагітності, зумовлені поліетіологічністю цієї патології. Особливе значення у передчасному перериванні вагітності мають екстрагенітальні захворювання інфекційного і неінфекційного генезу та урогенітальні запальні захворювання жінки. Більшість вірусних та бактеріальних інфекцій під час гестації перебігають в атипичних і латентних формах, що зумовлює великий відсоток ускладнень вагітності (гестоз, загроза переривання вагітності, багатоводдя, гестаційний пієлонефрит, плацентарна недостатність, передчасне відшарування плаценти), внутрішньоутробних уражень плода та новонародженого [2–4].

Змішана персистивна вірусна інфекція (вірус герпесу, Коксаки А, ентеровіруси 68–71-го типів, цитомегаловірус) зустрічається у хворих з невиношуванням вагітності достовірно частіше, ніж у жінок з нормальним акушерським анамнезом [4, 5]. Негативний вплив ентеровірусної інфекції на репродуктивну функцію жінок пов'язаний зі збільшенням числа мимовільних викиднів, передчасних пологів, вроджених вад розвитку плода [6]. Вплив ентеровірусної інфекції на механізми невиношування залишається найменш вивченим питанням.

Гестаційні ускладнення на тлі вірусних інфекцій можуть виникати внаслідок імунних змін. Імунологія репродукції визначає вагітність як фізіологічно зумовлений стан толерантності імунної системи матері до генетично чужорідного плода [7]. Одним з найважливіших механізмів формування імунологічної толерантності є зміщення акценту системних імунних реакцій в бік гуморальних (феномен Th2-девіації) за рахунок переважної секреції протизапальних цитокінів. Також у цей період велике значення має баланс між Т-регуляторними лімфоцитами (Treg) і субпопуляціями IL-17-продукувальних лімфоцитів (Th17) [1, 7].

Для пояснення механізмів розвитку вагітності запропонована концепція «Th1/Th2/Th17/Treg» [8]. Т-лімфоцити-хел-

пери (Th) класифікують на Th1-клітини, що регулюють клітинний імунітет і продукують Th1-цитокіни (зокрема, IFN- γ та IL-2) та на Th2-клітини, які регулюють гуморальний імунітет і продукують Th2-цитокіни (зокрема, IL-4, IL-5, IL-13). Під час фізіологічного перебігу вагітності в імунній системі матері відбуваються зміни, які супроводжуються домінуванням Th2 і Treg над Th1- і Th17-лімфоцитами. Зміна співвідношення цих клітинних підтипів, як правило, призводить до передчасних пологів або спонтанного аборту [7, 8].

Основними медіаторами між клітинами імунної системи організму матері та плода є цитокіни, які відіграють важливу роль в імплантатії та розвитку ембріона [9]. За допомогою цитокінів та їхніх рецепторів відбувається взаємодія трофобласта і децидуальних клітин, що забезпечує толерантність між організмом матері та плода. До теперішнього часу остаточно не з'ясовано значення різних цитокінів у розвитку фізіологічної вагітності, не вирішено питання скринінгу маркерів патологічного перебігу гестаційного періоду.

Відомо, що трофобласт продукує цілий спектр цитокінів, серед яких найважливішим є IL-2, необхідний для формування імунної відповіді. IL-2 є основним автокринним регулятором дозрівання Treg та активатором НК-клітин [1, 7, 9]. Звичайні спонтанні аборти супроводжуються зниженням рівня Treg та підвищенням концентрації IL-2 і НК-клітин [8]. Доведено, що Th1-цитокіни призводять до втрати плода, спричиняють розвиток ендотеліопатії та активацію системи комплементу, а дефіцит Th2-цитокінів призводить до недостатнього розвитку плаценти і загибелі плода [7].

Компоненти цитокінової системи беруть участь у підготовці ендометрія до імплантатії, зокрема, в якості автокринних і паракринних медіаторів передачі імпульсів гормонів шляхом експресії стероїдних рецепторів.

Таким чином, під час вагітності велике значення має баланс Th1/Th2/ Th17/Treg. Фізіологічний перебіг вагітності асоційований з Th2, тоді як переважання Th1 супроводжується спонтанними абортами і прееклампсією. Вірусні інфекції можуть бути причиною активації цитотоксичного імунітету та Th1/Th2-шифта імунної системи. Відсутність супресорної перебудови та домінування Th1 є несприятливим фактором, оскільки IL-2, IFN- γ та TNF- α , які продукуються Th1, чинять або пряму пошкоджувальну дію на плід, або опосередковану, через активацію НК-клітин і макрофагів [10]. Якщо локальна супресія в силу домінування Th1 не формується, відбувається передчасне переривання вагітності [11].

Актуальним питанням є вивчення імунологічних аспектів невиношування вагітності. На думку багатьох дослідників, модифікована імунореактивність материнського організму, безумовно, відображається у порушеннях цитокінового профілю крові і, відповідно, у змінах автокринного, паракринного і системного впливів цитокінів на матково-плацентарний кровотік, гормональний баланс, формування плода [12]. Роль інфекцій в генезі порушення імунологічної

Рівень цитокінів у вагітних з ентеровірусною інфекцією (M±m)

Цитокіни, пг/мл	Контрольна група	Основна група
IFN-γ	11,9±4,5	35,8±7,1*
TNF-α	12,9±5,8	70,61±3,4*
IL-2	6,4±1,2	10,5±1,6*
IL-4	60,6±8,4	34,8±9,2*
IL-10	132,8±6,4	41,3±5,4

Примітка: * – різниця достовірна відносно показників контрольної групи (p<0,05).

толерантності залишається недостатньо вивченою. Найбільший інтерес представляє аналіз змін імунної системи, особливо цитокінового профілю.

Мета дослідження: з'ясування особливостей стану цитокінового профілю у вагітних з ентеровірусною інфекцією.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 60 вагітних у термінах гестації 10–20 тиж. До основної групи увійшли 30 вагітних з діагностованою ентеровірусною інфекцією. Контрольну групу склали 30 здорових вагітних з необтяженим акушерсько-гінекологічним та соматичним анамнезом.

Усім жінкам проведено загальноклінічне, мікробіологічне та імунологічне дослідження. Детекцію ентеровірусів здійснювали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в осаді сечі з використанням комерційної тест-системи «АмпліСенс 100Р» (Росія). Виділення РНК вірусів проводили за допомогою набору «РИБО-сорб» (Росія).

Імунологічне обстеження включало вивчення рівнів цитокінів IFN-γ, TNF-α, IL-2, IL-4, IL-10 в сироватці крові методом імуноферментного аналізу наборами фірми «Протеїновий контур» (Санкт-Петербург) на планшетному фотометрі Multiscan PLUS MCC/340 з автоматичними піпетками фірми «Labsystem Oy» (Finland).

Статистичне оброблення проводили стандартними методами варіаційної статистики із застосуванням ПП Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У вагітних основної групи рівень IFN-γ склав 35,8±7,1 пг/мл, що у 3 рази вище за показник контрольної групи – 11,9±4,5 пг/мл (p<0,05) (таблиця). IFN-γ стимулює диференціацію Т-лімфоцитів-хелперів в Th1, а також продукцію останніми IFN-γ та інших цитокінів. У той самий час IFN-γ пригнічує проліферацію і здатність синтезувати цитокіни Th2. Зміни функціональної активності Th1 свідчать про порушення в системі імунорегуляції у жінок з ентеровірусною інфекцією.

Для IFN-γ характерні імуномодулювальні властивості на рівні всіх фаз імунної та запальної відповіді. Надлишкова продукція IFN-γ пригнічує секрецію епітелієм матки ростових факторів, необхідних для росту і диференціювання трофобласта. Високий рівень IFN-γ в сироватці крові може порушувати нормальний розвиток плацентації, обмежуючи інвазію трофобласта та спричинювати пряму токсичну дію на ембріон.

Важливим показником активації клітин макрофагального ряду є продукція TNF-α. Цей показник у пацієток основної групи (70,61±3,4 пг/мл) майже в 5 разів перевищував дані контрольної групи (12,9±5,8 пг/мл) (p<0,05). Наявність підвищеного рівня TNF-α пояснюється участю даного цитокіну в будь-яких запальних, в тому числі інфекційних процесах. Таке значне зростання TNF-α активує проліферацію фібробластів, лімфоцитів, спричинюючи поширення інфекції, інволютивно-дистрофічні зміни плаценти та порушення процесів гестації.

Підвищення рівня IFN-γ та TNF-α, з одного боку, може

свідчити про напруженість імунітету, зростання запальних процесів, з іншого – про активацію Th1, що призводить до синтезу прозапальних цитокінів і порушення ендокринно-імунних взаємозв'язків у системі «мати–плід».

У групі вагітних з ентеровірусною інфекцією вміст IL-2 в крові становив 10,5±1,6 пг/мл, що в 1,6 разу більше, ніж у контрольній групі (6,4±1,2 пг/мл, p<0,05). Аналізуючи отримані результати, слід зазначити, що IL-2 в основному забезпечує процеси диференціювання і проліферації Т-лімфоцитів, а також підвищує мітотичну активність НК-клітин, моноцитів, тканинних макрофагів, лімфоцитів, меншою мірою стимулює В-систему лімфоцитів. У зв'язку з цим, виявлений нами факт зростання рівня IL-2 свідчить, цілком ймовірно, про активацію клітинно-опосередкованих імунних реакцій в системі «мати–плацента–плід».

Таке значне збільшення прозапальних цитокінів у вагітних з ентеровірусною інфекцією може свідчити про зсув цитокінового профілю за даної патології за запальним типом. Отримані дані можуть свідчити про генералізовану активацію імунної системи організму.

Середні значення IL-4 у пацієток основної групи (34,8±9,2 пг/мл) виявилися нижчими в 1,7 разу, ніж показники контрольної групи (60,6±8,4 пг/мл, p<0,05). Слід зазначити, що фізіологічний перебіг вагітності асоціюється з високими рівнями в крові цитокіну IL-4.

За нашими даними, показники рівня IL-10 були зниженими в 3 рази у більшості пацієток основної групи (41,3±5,4 пг/мл проти 132,8±6,4 пг/мл у контрольній групі). Імуносупресивний ефект IL-10 полягає в блокаді синтезу прозапальних цитокінів TNF-α, IL-6, IL-8, а також у пригніченні утворення продуктів окиснення імунними клітинами. Зниження вмісту IL-10 зумовлює погіршення протиінфекційного захисту і розвиток хронічної інфекції.

Зростання активності CD4+ Th1 може зумовити зміну спрямованості імунної відповіді з гуморальної на клітинну та провокувати невиношування вагітності та передчасні пологи. Отже, наявність ентеровірусної інфекції у вагітних призводить до активації імунопатологічних процесів, підвищеного синтезу прозапальних цитокінів (IFN-γ, TNF-α, IL-2), що є перешкодою для створення в передімплантаційний період локальної імуносупресії, необхідної для формування захисного бар'єра і попередження викидня.

ВИСНОВКИ

Таким чином, у вагітних з ентеровірусною інфекцією виявлено зміни співвідношення прозапальних і протизапальних цитокінів. Слід зауважити, що серед прозапальних цитокінів відзначалося найбільше зростання рівня IFN-γ.

Підвищення вмісту прозапальних цитокінів, які накопичуються активованими цитотоксичними клітинами, може призводити до розвитку гіперкоагуляції, пошкодження ендотелію та порушення мікроциркуляції із запуском запального каскаду. Все це в подальшому може спричинити порушення функціонування фетоплацентарного комплексу та формування перинатальної патології.

Оценка состояния цитокинового профиля у беременных с энтеровирусной инфекцией
М.И. Антонюк, К.В. Заричанская, Н.А. Емец, П.В. Лакатош

Evaluation of cytokine profile in pregnant women with enterovirus infection
M.I. Antonjuk, K.V. Zarichanska, N.O. Iemets, P.V. Lakatosh

Проанализированы основные показатели состояния цитокинового профиля у беременных с энтеровирусной инфекцией. Выявлены изменения иммунного статуса в виде избыточного образования интерферона, дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов, что свидетельствует о влиянии энтеровирусов на механизмы адаптации иммунной системы во время беременности. Оценка цитокинового профиля у беременных с энтеровирусной инфекцией может быть чувствительным маркером патологического течения беременности.

Ключевые слова: энтеровирусная инфекция, невынашивание беременности, цитокиновый профиль.

Cytokine profile in pregnant women with enterovirus infection was evaluated. The changes of the immune status in the form of excessive production of interferon, an imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines was established. These results indicate the effect of enteroviruses in the adaptation mechanisms of the immune system during pregnancy. Evaluation of cytokine profile in pregnant women with enterovirus infection may be a sensitive marker of abnormal pregnancy.

Key words: enterovirus infection, cytokine profile, miscarriage.

Сведения об авторах

Антонюк Марьяна Ивановна – Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, 03150, г. Киев, ул. Предславинская, 9. E-mail: kozar-17@ukr.net

Заричанская Кристина Владимировна – Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: zarichanska@ukr.net

Емец Надежда Александровна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (067) 672-19-13. E-mail: pin-cet@ukr.net

Лакатош Павел Владимирович – Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, 01601, г. Киев, бульвар Т. Шевченко, 13. E-mail: p.lakatosh1993@gmail.com

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. Особенности Т-клеточной иммунорегуляции при невынашивании беременности: эволюция парадигмы / А.И. Макаров, С.Н. Буянова, О.Г. Иванова, А.П. Линник // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – № 5. – С. 10–16.
2. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности: Руководство для практикующих врачей. – М.: МИА, 2010. – 536 с.
3. Инфекции в акушерстве и гинекологии / Под ред. О.В. Макарова, В.А. Алешкина, Т.Н. Савченко. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 464 с.
4. Система обследования и лечения беременных с нарушениями микробиоценоза родовых путей, инфекциями, передаваемыми половым путем, и восходящим инфицированием плода / А.Н. Стрижаков, О.Р. Баев, П.В. Буданов // Акуш и гин. – 2003. – № 1. – С. 47–52.
5. Инфекционная патология нижнего отдела половых путей женщины и бесплодие (обзор литературы) / Е.Б. Рудакова, С.И. Семенченко, О.Ю. Панова [и др.] // Гинекология. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 132–136.
6. Мальцев С.В. Прегравідарна підготовка жінок з невиношуванням вагітності, обумовленим ентеровірусною інфекцією: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / С.В. Мальцев / Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця. – К., 2011. – 18 с.
7. Заморина С.А. Механизмы иммуномодулирующей активности хорионического гонадотропина: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 14.03.09 / С.А. Заморина / Южно-Уральский государственный медицинский университет. – Челябинск. – 2013. – 48 с.
8. Th1/Th2/Th17 and Regulatory T-Cell Paradigm in Pregnancy/ S. Saito, A. Nakashima, T. Shima, M. Ito // American Journal of Reproductive Immunology. – 2010. – № 63. – P. 601–610.
9. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16–23.
10. Exogenous interferon-(gamma) alters murine inner cell mass and trophoblast development. Effect on the expression of ErbB1, ErbB4 and heparin sulfate proteoglycan (parlecane) / Fontana V., Choren V., Vauthay L [et al.] // Reproduction. -2004; 128:6: 717–725.
11. Decrease of T-helper 2 and T-cytotoxic 2 cells at implantation sites occurs in unexplained recurrent spontaneous abortion with normal chromosomal content / Michimata T., Sakai M., Miyazaki S [et al.] // Hum. Reprod. – 2003; 18; 7: 1523–1528.
12. Чеснокова Н.П. Закономерности нарушений цитокинового статуса матери и плода при гестозе / Н.П. Чеснокова, С.М. Архангельский, Н.Н. Яхамова // Фундаментальные исследования. – 2008. – № 10. – С. 12–17.