

эффективнее при более раннем применении тинростима (3–5-е сутки инфекции). При парентеральном (подкожном) введении препарата более интенсивно выражены явления гранулематозного воспаления с преобладанием реакций гиперчувствительности замедленного типа. В целом патоморфоз экспериментальной псевдотуберкулезной инфекции при применении тинростима в комплексе с гентамицином характеризует картину, свойственную для данной инфекции при благоприятном (доброкачественном) течении у человека и животных.

#### Литература

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А. // *Архив патологии*. — 1980. — №5. — С. 4–13.
2. Аничков Н.М. *Морфогенез экспериментальной псевдотуберкулезной инфекции : дис. ... канд. мед. наук.* — Л., 1972.
3. Беседнова Н.Н., Гажса А.К., Эпштейн Л.М. и др. // *Антибиотики и химиотерапия*. — 1996. — Т. 41, № 1. — С. 7–12.
4. Галанкин В.Н., Токмаков А.М., Харченко Н.М. // *8-й Всесоюзный съезд патологоанатомов : тезисы докладов.* — М., 1989. — С. 166–168.
5. Исачкова (Сомова) Л.М., Жаворонков А.А., Антоненко Ф.Ф. *Патология псевдотуберкулеза.* — Владивосток : Дальнаука, 1994.
6. Мазинг Ю.А. *Гистологическая и гистохимическая характеристика экспериментальной и спонтанной*

*псевдотуберкулезной инфекции : дис. канд. ... биол. наук.* — Л., 1982.

7. Пушкарева Т.В. *Экспериментальное обоснование клинического применения тинростима при псевдотуберкулезе : автореф. дис. канд.... мед. наук.* — Владивосток, 2004.
8. Разник С.Д. *Характеристика биологического действия термостабильного токсина Yersinia pseudotuberculosis : автореф. дис.... канд. мед. наук.* — Владивосток, 1999.

Поступила в редакцию 16.06.06.

#### PATHOMORPHOSIS OF THE PSEUDO-TUBERCULOSIS INFECTION IN CASE OF TINROSTIM USE

L.M. Somova, N.N. Besednova

Scientific Research Institute of epidemiology and microbiology Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Science (Vladivostok)

*Summary* — In the work the data about pathomorphosis of the experimental pseudo-tuberculosis infection under the effect of tinrostim (immune active peptide, activating the system of mononuclear phagocytes) are shown. On the guinea pigs model it is shown, that tinrostim as monotherapy caused reduction of bacterial count, decrease in intensity of circulation changes in inner organs, stimulated macrophages and reparative reaction with cellular detrit resorbition in the centers of an inflammation. Nonpureblood mice were introduced tinrostim in a combination to gentamycin and it considerably reduced expressiveness of the necrotic component of pathological process and septicopyemia, and also the phenomena of secondary immunodeficiency, promoted the development of immune morphologic reactions in inner organs.

*Pacific Medical Journal, 2006, No. 4, p. 43–47.*

УДК618.3-06.33-008.3-092:612.017

Э.А. Щербавская

### ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ГЕСТОЗА

ДВ филиал НЦ медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН (г. Владивосток)  
Краевой клинический центр охраны материнства и детства (г. Владивосток)

*Ключевые слова:* провоспалительные цитокины, противовоспалительные цитокины, гестоз.

На сегодняшний день существует большое количество теорий патогенеза гестоза, одной из актуальнейших среди которых является теория иммунной дизадаптации [7, 9]. Полагают, что при гестозе, который рассматривается как системная воспалительная реакция, запускается весь каскад провоспалительных цитокинов: фактор некроза опухоли (ФНО-) и интерлейкинов (ИЛ) 1, 6, 8 [6]. Многие авторы отмечали, что высокая концентрация последних является неблагоприятным фактором, отражающим активность и тяжесть патологического процесса [11, 13, 15]. Однако важен не сам факт повышения или снижения уровней цитокинов, а соотношение их оппозиционных пулов [5, 8]. При всем многообразии кли-

нического течения гестоза его продолжительность и тяжесть следует связывать с дисбалансом между продукцией про- и противовоспалительных цитокинов, с экспрессией мембранных форм цитокиновых рецепторов и уровнем растворимых форм в сыворотке крови и тканевых жидкостях [12, 14].

Все большее число исследователей рассматривают гестоз как модель полиорганной недостаточности, в основе которой лежит генерализованная дисфункция эндотелиоцитов, тромбоцитов и трофобласта. Изучение механизмов формирования синдрома полиорганной недостаточности привело к признанию концепции системной воспалительной реакции, характеризующейся активацией фагоцитов — макрофагов/моноцитов, гранулоцитов, а также эндотелиоцитов, мастоцитов и тромбоцитов. В результате усиливается продукция свободных радикалов, цитокинов, протеиназ, дериватов арахидоновой кислоты, что приводит к генерализации патологического процесса. Среди веществ, способных реализовать синдром генерализованной эндотелиальной дисфункции, в последнее время все больший интерес привлекают цитокины, например такие, как ИЛ-1 и ФНО- [3].

Усугубление изменений цитокинового профиля связано с тяжестью гестоза, длительностью его течения, выраженностью метаболических нарушений,

гипоксии. Тканевая гипоксия может иметь самостоятельное значение в патогенезе биохимических и иммунологических сдвигов. Так, в условиях гипоксии возникает активация ИЛ-1, ФНО- и ИЛ-6. Замечено, что при среднетяжелом и тяжелом гестозе со стойкой гипоксией наблюдается инвертированное действие цитокинов [11]. Таким образом, из приведенных данных вытекает необходимость дальнейшего исследования роли системы цитокинов в патогенезе гестоза, которая во многом остается неясной.

Цель исследования состояла в анализе продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у беременных с гестозом различной степени тяжести.

Изучение цитокинового профиля в сыворотке крови было проведено у 130 пациенток с гестозом в возрасте от 20 до 34 лет (в среднем  $25,8 \pm 0,4$  года) со сроком беременности от 27 до 40 недель (в среднем  $33,4 \pm 0,3$  недели). В зависимости от степени тяжести гестоза выделены следующие группы: 40 человек с легким гестозом, 59 — с гестозом средней степени тяжести и 31 — с тяжелым гестозом. Контрольная группа состояла из 60 здоровых женщин с физиологически протекающей беременностью и была аналогичной по возрасту, паритету и срокам гестации.

Уровень цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-) в сыворотке крови определяли с помощью коммерческих тест-систем ProCep, разработанных в Государственном НИИ особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург) и производимых ТОО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). Для определения концентрации ИЛ-10 использовали набор реагентов фирмы Immunotech Coulter Company (Франция). Измерения проводили методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с помощью двойных антител согласно рекомендациям производителей. Индикаторным компонентом реакции служил конъюгат пероксидазы хрена со стрептавидином. В качестве стандарта для сравнения в каждой реакции использовались рекомбинантные цитокины, входящие в состав тест-наборов. По данным титрования стандартных образцов строили калибровочные графики для каждого из изучаемых веществ, по которым определяли их уровень в исследуемой биологической среде в диапазоне детектируемых концентраций от 10 до 2000 пг/мл.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с вычислением средней арифметической, ее ошибки и критерия Стьюдента.

При гестозе в сыворотке крови увеличивалась концентрация провоспалительных цитокинов ИЛ-1 Р ( $250,1 \pm 48,4$  пг/мл), ИЛ-6 ( $137,1 \pm 34,2$  пг/мл), ИЛ-8 ( $276,1 \pm 54,6$  пг/мл) и ФНО- ( $264,2 \pm 42,7$  пг/мл) по сравнению с женщинами с физиологическим течением беременности. Наиболее выраженные сдвиги отмечены для ИЛ-6 (в 3,2 раза) и ФНО- (в 3,1 раза).

Среди провоспалительных цитокинов классическими являются ИЛ-1 и ИЛ-6 [2]. Уровень ИЛ-ф с

высокой степенью достоверности различался во всех четырех группах. Наибольшая концентрация этого цитокина отмечена при тяжелом гестозе, наименьшая — у беременных с легким течением гестоза (табл. 1). ИЛ-1 включает различные механизмы, в частности, ИЛ-1 в синергизме с ФНО-а стимулирует продукцию ИЛ-6 и ИЛ-8 [5].

При исследовании ИЛ-6 в сыворотке крови мы наблюдали увеличение уровня этого цитокина при легкой форме гестоза по сравнению со здоровыми беременными и у женщин со среднетяжелым гестозом по сравнению с показателями в группе беременных с легким гестозом. Интересно отметить, что при тяжелом течении гестоза в целом по группе продукция ИЛ-6 снижалась по сравнению со среднетяжелым гестозом, причем у 5 человек (16,1%) его уровень достоверно не изменялся, у 23 (74,2%) — выявлено уменьшение концентрации, а у 3 (9,7%) — повышение.

Характер секреции ИЛ-8 в зависимости от степени тяжести гестоза был сходен с характером продукции ИЛ-1: минимальное количество отмечено при легком гестозе, максимальное — при тяжелом гестозе (табл. 1). Известно, что ИЛ-8 продуцируется фагоцитами и клетками мезенхимы в ответ на увеличение продукции ИЛ-1 или ФНО-. Возможно ИЛ-8, вызывая хемотаксис и активацию нейтрофилов, способствует дальнейшей продукции провоспалительных цитокинов [8]. Значительное изменение в крови содержания ИЛ-8 выявляется при генерализованных патологических процессах, в частности и при гестозе [13].

Заметно повышалась в крови и концентрация фактора некроза опухоли-, которая достигала пиковых значений при тяжелом течении гестоза. Наименьший уровень этого цитокина зарегистрирован у больных легкой формой гестоза (табл. 1). Известно, что фактор некроза опухоли- индуцирует синтез ИЛ-1, ИЛ-6, запуская каскад провоспалительных цитокинов.

Полученные результаты согласуются с данными других авторов о росте содержания некоторых провоспалительных цитокинов, связанном с прогрессированием гестоза [1, 4]. Изучение цитокинового профиля показало, что у беременных с гестозом повышалась не только концентрация провоспалительных цитокинов, но достоверно изменяется и системный уровень их оппозиционных пулов, что приводило к существенному дефекту цитокиновой сети. Так, в целом по группе беременных с гестозом отмечалось заметное снижение уровня противовоспалительных цитокинов по сравнению со здоровыми беременными. Это относилось как к ИЛ-4, так и к ИЛ-10. Уровень системно продуцируемого ИЛ-4 уменьшался с увеличением тяжести гестоза. Количество ИЛ-10 в сыворотке крови у беременных с гестозом также было различным во всех трех группах с высокой степенью достоверности. Наименьшее содержание этого

Таблица 1

Содержание цитокинов в сыворотке крови у беременных женщин в зависимости от степени тяжести гестоза

Цитокин	Концентрация в сыворотке крови, пг/мл			
	легкий гестоз	среднетяжелый гестоз	тяжелый гестоз	контроль
ИЛ-1 $\beta$	159,2 $\pm$ 25,3 <sup>1,4</sup>	234,3 $\pm$ 26,2 <sup>2,4</sup>	397,5 $\pm$ 44,7 <sup>3,4</sup>	94,7 $\pm$ 20,4
ИЛ-6	83,4 $\pm$ 15,2 <sup>1,4</sup>	186,2 $\pm$ 30,4 <sup>2,4</sup>	112,9 $\pm$ 21,4 <sup>4</sup>	42,5 $\pm$ 13,6
ИЛ-8	214,8 $\pm$ 32,1 <sup>1,4</sup>	329,8 $\pm$ 38,4 <sup>2,4</sup>	502,6 $\pm$ 73,1 <sup>3,4</sup>	103,2 $\pm$ 26,5
ФНО- $\alpha$	160,7 $\pm$ 28,6 <sup>1,4</sup>	248,5 $\pm$ 32,7 <sup>2,4</sup>	427,6 $\pm$ 51,2 <sup>3,4</sup>	86,4 $\pm$ 19,1
ИЛ-4	101,8 $\pm$ 16,2 <sup>1,4</sup>	61,2 $\pm$ 12,4 <sup>2,4</sup>	26,5 $\pm$ 8,3 <sup>3,4</sup>	154,3 $\pm$ 20,4
ИЛ-10	139,6 $\pm$ 16,4 <sup>1,4</sup>	98,3 $\pm$ 13,1 <sup>2,4</sup>	62,8 $\pm$ 10,2 <sup>3,4</sup>	196,5 $\pm$ 23,4

<sup>1</sup> Различия статистически значимы между легким гестозом и гестозом средней степени тяжести.<sup>2</sup> Различия статистически значимы между гестозом средней степени тяжести и тяжелым.<sup>3</sup> Различия статистически значимы между легким и тяжелым течением гестоза.<sup>4</sup> Различия статистически значимы по сравнению с контролем.

цитокина зарегистрировано у женщин с тяжелыми формами гестоза (табл. 1).

Усиление тяжести патологического процесса сопровождалось значительным увеличением концентрации ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО-. У 19 беременных (61,3%) с тяжелым гестозом можно предположить развитие так называемого «феномена лейкоцитарной депрессии». В пользу подобного утверждения косвенно свидетельствовал тот факт, что в крови одновременно до максимальных значений повышались уровни ИЛ-1, ИЛ-8 и ФНО- и снижались уровни ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ-10. ИЛ-1 является основным внутриклеточным индуктором синтеза мРНК для ИЛ-8. Вероятно, именно это звено (ИЛ-1 $\beta$ ~ИЛ-8) при воспалительных и деструктивных процессах становится ведущим в активации фагоцитарных функций лейкоцитов, а при их надпороговых значениях — в развитии лейкоцитарной депрессии, при которой одновременно угнетены кислородзависимые и кислороднезависимые реакции нейтрофилов [1]. Указанный феномен можно считать критерием тяжести патологического процесса.

Приведенные результаты подтверждают основные положения адаптационно-регуляторной теории, в соответствии с которой на первых этапах влияния неблагоприятного фактора наступает фаза устойчивой гиперфункции (компенсации), а затем, по мере истощения адаптационных механизмов, — декомпенсации. С этой точки зрения можно объяснить полученные данные. Учитывая важность адаптационных реакций в развитии любого патологического процесса, в частности гестоза, проведено сопоставление изменений цитокинового профиля с тяжестью клинического течения гестоза. Выделены несколько фаз в изменении продукции цитокинов под влиянием гестоза, соответствующие фазам компенсации данного патологического состояния, которые, в свою очередь, отражают степень реализации и резервы задействованных защитных механизмов.

Первая фаза изменений наблюдается при легком течении гестоза. В этот период возрастает продук-

ция всех провоспалительных и регистрируется синхронное снижение содержания противовоспалительных цитокинов. Это компенсированная фаза — фаза устойчивой гиперфункции.

Вторая фаза имеет место при среднетяжелом гестозе. Продукция ИЛ-1, ФНО- продолжает увеличиваться, ограничивающая роль ИЛ-4 и ИЛ-10 ослабевает, уступая место ИЛ-6, количество которого в эту фазу в ответ на усиление выработки ИЛ-1 и ФНО- резко возрастает. ИЛ-6 — цитокин, замыкающий воспалительную реакцию и являющийся антагонистом ИЛ-1 и ФНО-. Эта особенность ИЛ-6 определяет его двойственность в развитии воспалительных реакций: являясь по своим эффектам типичным провоспалительным цитокином, он одновременно ингибирует продукцию ИЛ-1 и ФНО-, оказывая тем самым противовоспалительное действие. Возможно, что биологический эффект этого, казалось бы, парадоксального явления состоит в ограничении избыточной продукции провоспалительных цитокинов в тканях на завершающих этапах воспаления [10]. Это субкомпенсированная фаза — фаза начавшегося истощения компенсаторных механизмов, но с сохранением иерархической регуляции.

Во время третьей фазы, как это было продемонстрировано у больных тяжелыми формами гестоза, содержание ИЛ-1, фактор некроза опухоли резко увеличивается под воздействием уменьшенного синтеза ИЛ-6. Темпы повышения концентрации ИЛ-8 были несколько ниже, чем ИЛ-1 и ФНО-. Динамика противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) характеризовалась заметным снижением их уровня. Это декомпенсированная фаза — фаза срыва компенсаторно-приспособительных реакций.

Описанные изменения цитокинового статуса подтверждают реализацию первичного ответа иммунокомпетентных клеток на воздействие патологического фактора при участии ИЛ-1 и ФНО- [4], а также наличие ограничивающего воздействия таких цитокинов, как ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-6, на продукцию своих предшественников [14] и уменьшение содержания

этих цитокинов при адаптационных процессах в ходе прогрессирования гестоза. Процесс изменения синтеза цитокинов при гестозе является одним из звеньев адаптационной реакции организма беременной женщины. Повышение концентрации одних цитокинов и снижение синтеза других направлено на перестройку межклеточных взаимоотношений, которая должна обеспечить функционирование всех органов и систем в неблагоприятных условиях [2].

Одним из наименее изученных в патогенезе гестоза является вопрос об участии клеток моноцитарно-макрофагальной природы в иммунопатогенезе данной патологии. Заслуживает также внимания выявленный факт активации макрофагального звена иммунной системы, о чем свидетельствовал высокий уровень продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО-), маркерных для моноцитов [9], у беременных с гестозом средней и тяжелой степени. Следует отметить, что при гестозе наиболее выраженным оказалось усиление спонтанной продукции ФНО-.

Полученные данные позволяют констатировать состояние повышенной активации мононуклеарных фагоцитов у беременных с гестозом, которая прогрессирует с увеличением его тяжести, а также нарушение ИЛ-6-зависимого механизма контроля синтеза ИЛ-1 и ФНО-. При тяжелом гестозе лимфоциты периферической крови или не реагируют повышением продукции ИЛ-6, или снижают ее. Подобная парадоксальная реакция у беременных с тяжелым гестозом в отношении ИЛ-6 может быть объяснена достижением максимальной активности клеток, его вырабатывающих, при которой их дальнейшая активация невозможна, т.е. имеет место истощение компенсаторных возможностей этих клеток. Резко выраженная декомпенсация резервного потенциала лимфоцитов периферической крови беременных с гестозом, продуцирующих ИЛ-6, указывает на нарушение защитных механизмов, регулирующих синтез цитокинов, обладающих провоспалительными свойствами, и приводит к гиперпродукции последних. Это свидетельствует о максимальном напряжении основных регуляторных систем организма.

Из представленных данных следует, что развитие гестоза сопровождается существенными изменениями в иммунной системе. В норме цитокины, образующиеся при первичном иммунном ответе, практически не поступают в кровотоки, т.е. имеют место локальный характер их действия [5]. При гестозе определение в периферической крови высоких уровней цитокинов свидетельствует о нарушении принципа локальности их функционирования и генерализованной активации клеток иммунной системы.

Таким образом, осложнение беременности гестозом приводит к значительным нарушениям в системе иммунитета, пропорциональным степени его тяжести. Выявленный комплекс изменений цитокино-

вого профиля при гестозе, связанный с дисбалансом продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, может рассматриваться как компенсаторно-приспособительная реакция организма беременной женщины.

#### Литература

1. Витковский Ю.А., Белокриницкая Т.Е., Кузник Б. И. // *Акушерство и гинекология*. — 1998. — №3. — С. 13-15.
2. Кашкин К.П. // *Клинич. лаб. диагностика*. — 1998. — № 11. — С. 21-32.
3. Кинит Д.Н., Верещагин Е.И., Пасман Н.М., Верещагин И.П. // *Вестн. интенсивной терапии*. — 1999. — №2. — С. 23-28.
4. Криворучко А.Ю., Аксененко В.А., Квочко А.Н., Павлов Р.В. // *Журн. акушерства и женских болезней*. — 2000. — №4. — С. 82-85.
5. Лященко А.А., Уваров В.Ю. // *Доказательная медицина и молекулярная терапия в клинике внутренних болезней: сборник научных трудов, посвященный 240-летию ММА им И.М. Сеченова*. — М., 1999. — С. 150-168.
6. Медвинский И.Д., Серов В.Н., Ткаченко С.Б. и др. // *Журн. акушерства и женских болезней*. — 2002. — М 1. — С. 33-39.
7. Рожковская Н.Н. // *Вестн. Рос. ассоциации акушеров-гинекологов*. — 1998. — №4. — С. 30-33.
8. Фрейдлин И.С. // *Тихоокеанский медицинский журнал*. — 1999. — №3. — С. 13-19.
9. Черных Е.П., Леплина О.Ю., Шевела Е.Я. и др. // *Акушерство и гинекология*. — 1996. — № 2. — С. 21-23.
10. Ярилин А.А. // *Иммунология*. — 1997. — №5. — С. 7-14.
11. Benyo D.F., Miles T.M., Conrad K.P. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2003. — Vol. 82, No. 5. — P. 1582-1588.
12. Conrad K.P., Benyo D.F. // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 1999. — Vol. 37, No. 3. — P. 240-249.
13. Dekker G.A., Sibai B.M. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2000. — Vol. 179. — P. 1379-1385.
14. Goodwin V.J., Sato T.A., Mitchell M.D., Keelan J.A. // *J. Reprod. Immunol.* — 1998. — Vol. 40, No. 5. — P. 319-325.
15. Redman C.W. // *Clin. Obstet. Gynaecol.* — 2004. — Vol. 6. — P. 601-615.

Поступила в редакцию 22.05.06.

#### IMMUNOLOGICAL MECHANISMS IN THE PROGRESS OF GESTOSIS

E.A. Shcherbavskaya

*Far-Eastern Branch of the Scientific Center of medical ecology Russian Scientific Center, Siberian Branch of the RAMS, Regional Clinical Center of Mother and Child Protection (Vladivostok)*  
Summary- IL-1p, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-a were measured in 130 pregnant women with different severity of gestosis. It was established, that the production of proinflammatory cytokines is increased and the rate of antiinflammatory cytokines is decreased in the patients with gestosis in comparison with women with physiological pregnancy. The severity of disorders of the cytokine status are in proportion with the severity of gestosis.