

Газиева И.А., Чистякова Г.Н.,  
Ремизова И.И., Тарасова М.Н., Паначева Н.М.

## Оценка уровня эндокинов в ранние сроки беременности: новый инструмент прогнозирования плацентарной недостаточности

ФГБУ «НИИ ОММ» Минздравсоцразвития России, г.Екатеринбург

*Gazieva I.A., Chistjakova G.N., Remisova I.I., Tarasova M.N., Panacheva N.M.*

### Detection of level endokines in early pregnancy: new instrument of prediction of placental insufficiency

#### Резюме

Цель: определение прогностической значимости уровня некоторых эндогенных регуляторных факторов в ранние сроки беременности, осложненной впоследствии плацентарной недостаточностью (ПН). Проанализированы результаты обследования 75 женщин в первом триместре беременности. Основную группу составили 35 женщин, беременность которых осложнилась во второй половине гестации ПН, группу сравнения составили 40 женщин, беременность которых до момента родоразрешения протекала физиологически. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной лазерной цитофлюориметрии, оценку содержания растворимых медиаторов межклеточного взаимодействия и молекул адгезии, факторов роста, маркеров функционального состояния эндотелия в сыворотке крови осуществляли методом ИФА. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета "Statistica 6.0", проверку статистических гипотез осуществляли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Установлено, что патогенетические механизмы развития плацентарной недостаточности связаны с системной активацией лейкоцитов (увеличением уровня экспрессии как ранних, так и поздних маркеров активации и некоторых молекул адгезии, в том числе растворимых), нарушением элиминации эфektorных клеток, реализовавших свою функцию (снижением количества CD95+-лимфоцитов), провоспалительной направленностью иммунного ответа (повышением уровня TNF- $\alpha$  IL-6 и С-реактивного белка), на фоне снижения уровня одного из ключевых факторов антиоксидантной защиты (лактоферрина), нарушением функционального состояния эндотелия (повышением уровня эндотелина-1) и формированием антиангиогенного статуса (снижением содержания проангиогенных PIGF и VEGF на фоне увеличения ингибитора sVEGF-R1). **Ключевые слова:** ранние сроки беременности, иммунологическая регуляция, плацентарная недостаточность, ангиогенез, молекулы адгезии, цитокины, эндотелий.

#### Summary

The aim of the research: to estimate the predictive significance of level of some endogenic regulatory factors in early pregnancy, complicated subsequently by placental insufficiency. Totally 75 women in first trimester of pregnancy were examined. The main group consisted of 35 women with evident placental insufficiency in the second half of pregnancy, the comparison group contained of 40 women with physiological pregnancy until delivery. Immunophenotyping of lymphocytes of peripheral blood was made by flow cytometry, the level of soluble mediators of intercellular interaction and adhesion molekules, growth factors, markers of functional state of endothelium in serum in blood serum was determined by the enzyme-linked immunosorbent assay. Statistical data analysis was carried by "Statistica 6.0" package, the reliability of distinctions between groups was estimated by nonparametric U-Mann-Whitney criterion. Pathogenetic mechanisms of development of by placental insufficiency are associated with systemic activation of leukocytes (increased expression level both early and late of activation markers and some adhesion molecules including soluble), abnormality of elimination of effector cells, realized their function (decreased number of CD95+- lymphocytes), proinflammatory immune response (increased concentration of TNF- $\alpha$ , IL-6 and C-reactive protein) along with decrease of level of one in the key factors of antioxidant system (lactoferrin), dysfunctions of endothelium (increased level of endothelin-1) and antiangiogenic status (decreased concentration of proangiogenic PIGF and VEGF along with increased level of angiogenes inhibitor sVEGF-R1). **Key words:** early pregnancy, immunological regulation, placental insufficiency, angiogenesis, adhesion molecules; cytokines; endothelium

## Введение

В последние годы внимание исследователей, занимающихся проблемами гестации, фокусируется на протеннах эмбрионального или материнского происхождения, вовлеченных в уникальный процесс материнско-плодового взаимодействия, которое в физиологических условиях направлено на сохранение беременности. Данные о структуре и функциях различных сигнальных молекул рассматриваются с целью оценки их потенциальной роли на протяжении всего гестационного процесса. Определение специфических биомаркеров, ассоциированных с теми или иными нарушениями, необходимо для понимания патофизиологических механизмов, вовлеченных в неблагоприятные перинатальные исходы.

Одной из наиболее актуальных проблем перинатологии является поиск путей прогнозирования и доклинической диагностики плацентарной недостаточности на основе использования современных медицинских технологий с целью своевременной профилактики данного патологического состояния [1, 2]. Эффективным инструментом превентивной диагностики различных нарушений, ведущих к развитию данного осложнения беременности, может стать анализ сывороточного содержания различных эндогенных молекул, в том числе передающих сигналы тревоги и являющихся активаторами иммунной системы. Такие сигнальные молекулы предложено называть аларминами (от англ. alarm – тревога) или эндокинами [3, 4, 5, 6]. В настоящее время к эндокинам относят целый ряд продуктов активации клеток, в том числе цитокины и их растворимые рецепторы, белки острой фазы, белки теплового шока, мочевую кислоту и другие эндогенные регуляторы.

Для успешного прогрессирования беременности в организме женщины должны активироваться механизмы физиологической защитной иммуномодуляции. В ответ на высвобождение факторов, запускающих каскад активации врожденного иммунитета, происходит включение механизмов обратной (down-) регуляции, дефекты которой лежат в основе развития осложнений беременности. Таким образом, на основании выраженности активации врожденного иммунитета, индикаторами которой служат многие факторы, экспрессирующиеся иммунокомпетентными клетками или выделяющиеся из них активным или пассивным путем, уже с ранних сроков беременности можно судить о нарушении регуляции и прогнозировать формирование гестационных осложнений. Кроме того, сложившийся традиционный взгляд на клеточный иммунитет как на процесс взаимодействия иммунокомпетентных клеток в настоящее время претерпел существенное переосмысление. Убедительно доказано, что последовательность иммунологических событий при нарушении постоянства внутренней среды организма включает ряд дополнительных звеньев, которые первоначально не рассматривались в качестве компонентов иммунного ответа, например, эндотелий, являющийся одним из основных продуцентов факторов роста и вазоактивных веществ. Иммунообусловленная гиперактивация эндотелия может вносить существенный вклад в нарушение его функций и

приводить к снижению васкуляризации плаценты [7, 8, 9, 10]. В связи с вышесказанным определению прогностической значимости регуляторов различных иммунопосредованных процессов для оценки риска реализации гестационных осложнений, связанных с нарушением функции плаценты, не теряет своей актуальности и продолжает оставаться одним из приоритетных направлений поиска резервов снижения перинатальной патологии.

**Цель:** определение прогностической значимости уровня некоторых эндогенных регуляторных факторов в ранние сроки беременности, осложненной в последствии плацентарной недостаточностью (ПН).

## Материалы и методы

Проведено клинико-иммунологическое обследование 75 женщин, наблюдавшихся в клинко-диагностическом отделении ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России в первом триместре беременности. С учетом характера течения второй половины гестации все женщины были разделены на 2 группы: основную группу составили 35 женщин с диагностированной ПН, в группу сравнения вошли 40 женщин с неосложненным течением всего периода гестации. Критерием включения являлась одноплодная спонтанно наступившая беременность, критерием исключения – тяжелая соматическая патология в стадии декомпенсации. Проанализирован соматический и акушерский анамнез женщин, особенности течения данной беременности. Группы не отличались по возрасту, паритету, частоте выявления соматической патологии. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной лазерной цитофлюориметрии на анализаторе “FACSCalibur” фирмы “Becton Dickinson” (США). Оценка содержания растворимых медиаторов межклеточного взаимодействия, факторов роста, растворимых молекул адгезии, рецепторов к ряду эндогенных регуляторов, маркеров функционального состояния эндотелия в сыворотке крови осуществляли методом ИФА в соответствии с рекомендациями фирм-производителей тест-систем. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Statistica 6.0”, проверку статистических гипотез осуществляли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

## Результаты и обсуждение

Определение поверхностного фенотипа лимфоцитов периферической крови показало, что у женщин с патологически протекающей беременностью отмечалось нарушение клеточно-опосредованных механизмов иммунологической регуляции гестационного процесса. Так, выявлено достоверное повышение относительного и абсолютного содержания лимфоцитов, численности Т- и В-клеток, а также цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-клеток, что может свидетельствовать об увеличении цитотоксического эффекторного потенциала (табл.1). Полученные данные указывают на то, что нормальный процесс дифференцировки лимфоцитов, характеризующийся экспрессией определенных поверхностных антигенов,

**Таблица 1. Содержание некоторых популяций и субпопуляций лимфоцитов в первом триместре беременности, осложненной впоследствии ПН (M±σ)**

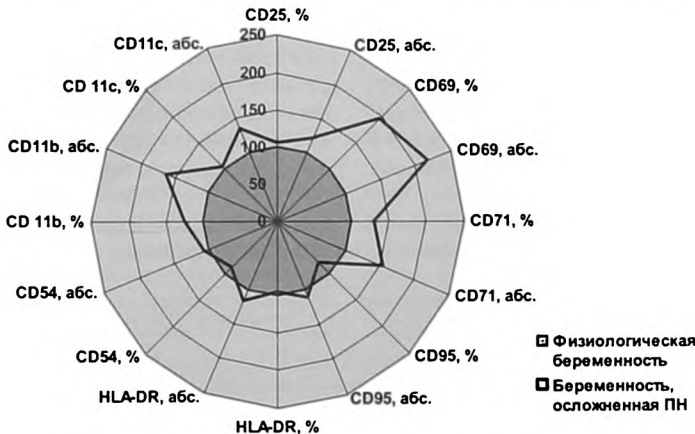
Показатель	Физиологическая беременность (n=40)	Беременность, осложненная ПН (n=35)	Уровень значимости различий между группами (p)
Лейкоциты 10 <sup>9</sup> /л	6,79±2,01	7,52±3,23	0,236
Лимфоциты %	33,29±8,15	37,94±9,61	0,026
Лимфоциты 10 <sup>9</sup> /л	2,26±0,85	2,86±1,34	0,026
CD3 <sup>+</sup> %	71,92±6,1	72,5±6,73	0,579
10 <sup>9</sup> /л	1,63±0,64	2,08±0,92	0,015
CD19 <sup>+</sup> %	10,29±3,73	11,03±3,69	0,401
10 <sup>9</sup> /л	0,24±0,13	0,31±0,17	0,043
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> %	44,18±7,48	43,03±6,11	0,496
10 <sup>9</sup> /л	1,01±0,45	1,23±0,63	0,093
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> %	26,67±7,13	28,47±7,85	0,291
10 <sup>9</sup> /л	0,61±0,31	0,80±0,37	0,013
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup> %	17,12±5,75	15,94±7,01	0,369
10 <sup>9</sup> /л	0,38±0,2	0,47±0,35	0,019
CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup> %	3,62±3,49	3,29±2,9	0,694
10 <sup>9</sup> /л	0,07±0,07	0,08±0,08	0,741
CD4/CD8	1,83±0,68	1,65±0,55	0,219

нарушен уже в ранних сроках беременности, осложненной впоследствии ПН. НК-клетки относятся к врожденному звену иммунитета, при беременности они мигрируют в ткань матки, где участвуют в регуляции формирования и развития ткани плаценты. Повышенное содержание натуральных киллеров (абсолютной численности НК-клеток) может свидетельствовать о сохранении их в периферической крови и нарушении процессов миграции этих клеток в децидуальную ткань, где, в условиях физиологической беременности, происходит изменение их фенотипа с цитотоксического (CD16brightCD56dim) на регуляторный (CD16dimCD56bright) с целью снижения цитотоксической активности и формирования иммунологической толерантности в отношении клеток трофобласта и плаценты [11].

Оценка уровня экспрессии маркеров активации и молекул адгезии в ранние сроки беременности выявила существенное увеличение количества клеток, экспрес-

сирующих ранний маркер активации CD69 (рис.1). Менее выражено, однако, также статистически значимо повышалось содержание лимфоцитов, несущих рецептор к трансферрину (CD71), который является поздним маркером активации лимфоцитов и экспрессируется в период пролиферации.

Активация Т-клеток сопровождается экспрессией Fas-рецептора (CD95), через который в клетку поступают сигналы, индуцирующие апоптоз. В основной группе процент клеток, обнаруживающих готовность к апоптозу (CD95+) был снижен. Активационно-индуцированная программированная гибель зрелых Т-лимфоцитов является одним из основных механизмов поддержания иммунного гомеостаза, а также весьма чувствительной точкой воздействия различных экзогенных и эндогенных факторов. Процесс апоптоза представляет собой ключевой механизм регуляции силы и продолжительности иммунного ответа. Уменьшение процента клеток, экспрес-



**Рис.1. Профиль экспрессии маркеров активации и молекул адгезии в первом триместре беременности, осложненной впоследствии ПН. Затененная зона – профиль группы сравнения, принятый за 100%. Сплошная линия – профиль основной группы.**

сирующих маркер готовности к апоптозу, может свидетельствовать о сохранении в циркуляции активированных клонов лимфоцитов, потенциально опасных для развивающегося плода, и нарушении механизма фетопroteкции, заключающегося в элиминации клеток, реализовавших свою эффекторную функцию.

Таким образом, ранние сроки беременности, осложнившейся впоследствии ПН, характеризуются активированным состоянием иммунной системы, обусловленным увеличением уровня экспрессии как ранних, так и поздних маркеров активации лимфоцитов, с преобладанием позитивной активации клеток на фоне снижения элиминации клеток, реализовавших эффекторный потенциал.

Активация клеток сопровождается появлением на их поверхности межклеточных молекул адгезии – селектинов и интегринов. Анализ уровня экспрессии молекул адгезии, характеризующего в том числе регуляцию лейкоцитарно-эндотелиальных взаимодействий, показал, что в ранние сроки патологически протекающей беременности имеет место увеличение абсолютной численности CD11b+ и CD11c+-лимфоцитов, а также снижение процентного содержания клеток, экспрессирующих молекулу межклеточной адгезии CD54. Избыточная экспрессия молекул адгезии, свидетельствующая о гиперактивации клеток иммунной системы, обуславливает усиление сродства лейкоцитов с эндотелием и повышает риск тромботических осложнений в связи с гиперкоагуляционными сдвигами в системе гемостаза. В целом, как снижение, так и повышение экспрессии молекул адгезии свидетельствует о нарушении информационного обмена на уровне межклеточной кооперации.

Регуляцию межклеточных взаимодействий в ходе развития иммунного ответа осуществляет система цитокинов, являющихся продуктами активированных клеток иммунной системы. Определение сывороточного уровня цитокинов показало, что в основной группе содержание TNF- $\alpha$  и IL-6 было выше, что свидетельствует об активации системы врожденного иммунитета и провоспалительной направленности иммунного реагирования (табл.2). Выработка цитокинов является непосредственным отражением функциональной активности иммунокомпетентных клеток. Определяя характер межклеточных взаимодействий, цитокины оказываются вовлеченными во все механизмы развития иммунного ответа и воспаления. Одним из наиболее значимых гуморальных

медиаторов воспаления является фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ), основными продуцентами которого являются моноциты/макрофаги, эндотелиоциты, НК-клетки. В результате высвобождения TNF- $\alpha$  изменяется функциональное состояние эндотелия, повышается проницаемость капилляров, активируется система свертывания крови. TNF- $\alpha$  увеличивает синтез нейтрофилами и моноцитами молекул эндотелиальной, лейкоцитарной и внутрисосудистой адгезии. Провоспалительный эффект TNF- $\alpha$  усиливается тем, что он способен индуцировать синтез острофазных белков и других провоспалительных соединений, обладающих хемоаттрактивным действием, таких как IL-1, IL-6, IL-8.

IL-6 также является основным участником процесса воспаления, медиатором, определяющим динамическое равновесие в системе цитокиновой регуляции и нормализацию иммунологической адаптации, поскольку может подавлять синтез ранних цитокинов, запускающих воспалительный каскад, на уровне транскрипции белка. Основными продуцентами IL-6 являются Т-лимфоциты, макрофаги и клетки эндотелия. IL-6 регулирует силу и продолжительность иммунного ответа, гемопоэз, продукцию иммуноглобулинов и синтез белков острой фазы.

Регуляция чрезмерной активации клеток врожденного иммунитета, результатом которой является усиленное высвобождение медиаторов воспаления, осуществляется включением механизмов негативного контроля, опосредованных продукцией противовоспалительных цитокинов и растворимых ингибиторов провоспалительных цитокинов. Установлено, что в основной группе концентрации IL-4 была сниженной, что на фоне избыточной продукции классических провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-6 является неблагоприятным прогностическим фактором для успешного прогрессирования беременности.

Исследованиями других авторов также установлены признаки системного воспалительного ответа уже в первом триместре беременности, протекавшей с формированием поздних осложнений, таких как ПН, задержка роста плода, гестоз и пр. [12, 13]. Формирование ПН связывают с неполноценностью Th2-ответа, который ослабляет и подавляет неблагоприятные клеточноопосредованные реакции материнского организма в отношении плода, и повышением активности Th1-лимфоцитов и натуральных киллеров, приводящим к повреждению плацентарной и эм-

**Таблица 2. Содержание некоторых цитокинов и белков острой фазы в первом триместре беременности, осложненной впоследствии ПН (M $\pm$  $\sigma$ )**

Показатель	Физиологическая беременность (n=40)	Беременность, осложненная ПН (n=35)	Уровень значимости различий между группами (p)
IL-1 $\beta$ , пг/мл	0,77 $\pm$ 0,5	0,69 $\pm$ 0,41	0,754
IL-2, пг/мл	7,73 $\pm$ 2,28	8,91 $\pm$ 2,85	0,052
IL-4, пг/мл	2,16 $\pm$ 1,61	1,01 $\pm$ 0,48	0,008
IL-6, пг/мл	3,28 $\pm$ 0,96	4,48 $\pm$ 1,44	0,049
TNF- $\alpha$ , пг/мл	7,24 $\pm$ 2,51	9,72 $\pm$ 2,01	0,048
СРБ, мг/л	3,27 $\pm$ 1,66	4,55 $\pm$ 2,61	0,042
Лактоферрин, пг/мл	2400 $\pm$ 1155	1857 $\pm$ 1010	0,033
Ферритин, пг/мл	43,54 $\pm$ 34,9	39,08 $\pm$ 30,17	0,531

Таблица 3. Содержание маркеров функционального состояния эндотелия, ростовых факторов и растворимых рецепторов в первом триместре беременности, осложненной впоследствии ПН ( $M \pm \sigma$ )

Показатель	Физиологическая беременность (n=40)	Беременность, осложненная ПН (n=35)	Уровень значимости различий между группами (p)
Эндотелин, фмоль/мл	0,16±0,44	1,37±3,95	0,012
Общий NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	12,31±5,68	17,44±13,92	0,036
Эндогенный NO <sub>2</sub> , мкмоль/л	0,26±0,66	0,43±0,81	0,043
NO <sub>3</sub> , мкмоль/л	12,05±4,21	15,6±11,08	0,165
PIGF, пг/мл	31,74±26,06	23,15±14,59	0,048
VEGF, пг/мл	11,83±34,88	4,33±23,05	0,037
VEGF-R1, пг/мл	0,96±1,67	1,33±1,57	0,025
sICAM-1, пг/мл	365±213,0	444±201,4	0,396
sVCAM-1, пг/мл	583±451,12	920±609,1	0,019

бриональной тканей продуктами активации этих клеток (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ). Риск развития ПН повышается, если гиперпродукция вышеперечисленных цитокинов, обладающих фетодеструктивными свойствами, сопровождается усиленным синтезом провоспалительных медиаторов, высвобождаемых клетками врожденного иммунитета (IL-1 $\alpha$ , IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-6) [14].

Неотъемлемой частью воспалительного ответа является повышенный синтез белков острой фазы, опосредованных первичными медиаторами межклеточного взаимодействия. Представляя собой связующее звено между иммунной системой и различными механизмами антигеннеспецифической резистентности, белки острой фазы – вторичные медиаторы межклеточного взаимодействия – обладают многочисленными регуляторными эффектами в отношении иммунокомпетентных клеток. В основной группе женщин выявлено увеличение концентрации СРБ, одного из наиболее динамичных реактантов воспаления, на фоне снижения уровня лактоферрина, который, как известно, является мощным антиоксидантом. Одним из основных стимуляторов продукции СРБ является IL-6, содержание которого в сыворотке крови в этот период также значительно повышается. По данным ряда авторов, субклинически повышенный уровень СРБ в первом триместре беременности отражает нарушение процессов трансплантации оплодотворенной яйцеклетки, является маркером повреждения числа эндотелий-трофобласт, нарушения целостности амниотической мембраны, а также достоверным прогностическим фактором риска развития преэклампсии и преждевременных родов [15, 16, 17].

Лактоферрин, наряду с лизоцимом, является основным компонентом специфических гранул нейтрофилов и секретируется при активации этих клеток, в то же время защищая нейтрофилы от окислительного повреждения посредством механизма ингибирования перекисного окисления липидов. Его положительное действие связано с подавлением избыточного синтеза IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$  и стимуляцией синтеза толерогенного цитокина IL-10 [3]. Как и многие алармины, лактоферрин обладает двойственным эффектом, провоспалительные или противовоспалительные свойства которого проявляются в зависимости от ситуации и конкретных потребностей организма. Сниженный уровень этого белка при осложнен-

ной беременности позволяет констатировать неполноценность механизмов защиты клеток и тканей организма в период значительной активации иммунной системы и усиления выработки свободных радикалов и других агрессивных факторов.

Таким образом, динамика изменения уровня прооксидантных и антиоксидантных белков острой фазы в ранние сроки беременности, осложненной впоследствии ПН, имеет различную направленность. Повышение сывороточной концентрации СРБ является, с одной стороны, важным признаком накопления в циркуляции факторов воспалительного каскада, который оказывает повреждающее действие на эндотелий, обуславливает нарушение его функционального состояния и воспалительную трансформацию микроциркуляции, с другой – свидетельствует об увеличении нагрузки на системы детоксикации. Воспалительная направленность иммунного реагирования и острофазный ответ на фоне снижения факторов антиоксидантной защиты в первом триместре гестации может быть ранним критерием формирования патологического процесса.

Результаты поведенных исследований свидетельствуют о том, что активация клеток врожденного и приобретенного иммунитета, гиперпродукция ими цитокинов, усиливающих белковосинтетическую функцию печени в направлении цитокин-индуцированного синтеза гепатоцитами белков острой фазы, обуславливает формирование оксидативного стресса, а снижение уровня одного из ключевых факторов антиоксидантной системы создает дополнительные условия для его поддержания.

Оценка функционального состояния эндотелия показала, что содержание эндотелина, обладающего мощной вазоконстрикторной активностью, при осложненной беременности превышает аналогичный показатель группы сравнения практически в 2 раза (табл.3). Функциональное состояние эндотелия находится под контролем цитокиновой регуляции, и изменения цитокинового окружения, а также острофазный ответ непосредственно отражаются на структурно-функциональных свойствах внутренней выстилки сосудов. В результате нарушения функции эндотелиальные клетки продуцируют аномальные количества прокоагулянтов, вазоконстрикторов, что приводит к изменению баланса между тромбогенными и тромборезистентными свойствами сосудистой стенки

в сторону увеличения тромбогенного потенциала. Роль активаторов эндотелия могут выполнять различные субстанции, в том числе молекулы адгезии, цитокины, липопротеины низкой плотности, перекиси липидов и т.п. «Окислительный стресс», по мнению ряда исследователей, является одним из главных триггерных механизмов активации эндотелия, возникающих вследствие истощения антиоксидантной системы организма [18, 19, 20]. Он влечет за собой дисбаланс между прооксидантами и антиоксидантами, обуславливающий преобладание процессов окисления, что ведет к нарушению окислительно-восстановительного равновесия, снижению активности ферментов, и, в итоге, повреждению клеток и тканей. Увеличение в циркуляции количества активированных иммунокомпетентных клеток и повышение адгезивности лейкоцитов, в свою очередь, приводит к усилению взаимодействия клеток крови с эндотелиоцитами и, наряду с дистантным действием растворимых провоспалительных факторов, потенцирует контактную активацию эндотелия.

В то же время продукция оксида азота в основной группе также была повышена, что мы связываем с компенсаторным ответом клеток эндотелия на вазоконстрикцию. По современным представлениям, при различных осложнениях беременности имеет место не только окислительный, но и «нитрационный» стресс [21, 22]. Оксид азота (NO) является свободным радикалом, который продуцируется из молекулярного кислорода и L-аргинина. NO включается в неспецифический иммунитет и частично в комплексный механизм тканевого повреждения как важный медиатор воспалительных процессов и апоптоза. При стимуляции лейкоцитов цитокинами увеличение продукции оксида азота может приводить к усилению реактивности супероксида и образованию значительного количества пероксинитрита, который, в свою очередь, оказывает выраженное токсическое действие на клетки.

Следующим этапом исследования явилось определение соотношения про- и антиангиогенных факторов, которое обеспечивает нормальное функционирование системы мать-плацента-плод. Нарушение баланса стимуляторов и ингибиторов ангиогенеза, с одной стороны, может являться следствием системной эндотелиальной дисфункции, а с другой – триггером нарушений функционального состояния эндотелия. Члены семейства сосудисто-эндотелиального фактора (VEGF) являются основными медиаторами васкуло- и ангиогенеза. Одним из ключевых представителей семейства васкуло-эндотелиальных факторов роста является плацентарный фактор роста (PlGF). Анализ продукции ангиогенных факторов при беременности, осложнившейся ПН, выявил сниженный уровень PlGF, начиная с малых сроков, причем наиболее выраженные отличия в динамике нарастания данного регулятора были установлены в период 12-16 недель. Сниженная продукция плацентарного фактора роста является маркером неполноценной инвазии цитотрофобласта и развития плацентарной ишемии у данного контингента беременных женщин. Кроме того, проведенные исследования продемонстрировали, что пред-

казательной значимостью для оценки риска формирования ПН может обладать не только значение того или иного фактора, но и показатель его изменения на определенном отрезке времени (дельта), что подтверждается данными других авторов [9, 23].

Для оценки процессов, характеризующих регуляцию ангиогенеза, определяли содержание проангиогенного VEGF и растворимого рецептора к нему (VEGF-R1). Растворимая форма рецептора sVEGFR-1 является одним из основных ингибиторов ангиогенеза. Этот эндогенный протеин плацентарного происхождения способен связывать проангиогенные факторы VEGF и PlGF, тем самым блокируя их функции. Установлено, что в ранних сроках патологически протекающей беременности содержание VEGF снижено, а уровень VEGF-R1, напротив, повышен. В первую очередь это свидетельствует о формировании антиангиогенного профиля, способствующего нарушению процессов плацентации и предопределяющего гемодинамические изменения маточно-плацентарного кровотока. Кроме того, это может служить подтверждением нарушения функционального состояния эндотелия, который является основным продуцентом данного фактора.

О нарушении механизмов сигнальной трансдукции, играющих важную роль в патогенезе различных осложненных гестаций, может свидетельствовать изменение уровня экспрессии не только мембранных, но и растворимых антигенов. Растворимые формы мембранных антигенов участвуют в регуляции иммунологических механизмов на разных этапах реализации иммунного ответа. Нарушение их равновесного содержания в биологических жидкостях организма приводит к модуляции межклеточных мембранных взаимодействий, в связи с чем растворимые формы мембранных антигенов рассматриваются в качестве эндогенных иммунорегуляторных молекул, интегрированных в общую иммунологическую сеть [24, 25]. Нередко функции растворимых форм прямо противоположны функциям их мембранных гомологов. Так, растворимые антигены ICAM-1, VCAM-1, как и мембранные, обладают способностью связываться со своими лигандами, но вызывают торможение процессов клеточной адгезии в отличие от мембранных форм, обеспечивающих межклеточные взаимодействия.

Концентрация sVCAM-1 у женщин основной группы была в 1,8 раза выше, чем аналогичный показатель в группе сравнения, уровень sICAM также обнаруживал тенденцию к повышению. Несмотря на то, что экспрессия мембранных и растворимых форм дифференцированных антигенов имеет различные механизмы регуляции, снижение доли лимфоцитов, экспрессирующих ключевой рецептор межклеточного взаимодействия CD54, установленное в результате проведенных исследований, может быть связано с увеличением содержания растворимой формы этого антигена во внеклеточном пространстве. Повышенный уровень растворимых молекул адгезии в циркуляции свидетельствует об активации как иммунокомпетентных клеток, так и эндотелиоцитов. Экспрессия VCAM-1 в большей степени свидетельствует об активации клеток сосудистого эндотелия, а повышенная

продукция ICAM-1 характерна для активированных клеток иммунной системы. Растворимые формы молекул адгезии способны конкурировать с мембранными антигенами ICAM-1 и VCAM-1 на эндотелиальных клетках, увеличивая адгезивность внутренней выстилки сосудов. С другой стороны, оказывая влияние на эффекторную функцию иммунокомпетентных клеток, sICAM-1 действует как провоспалительный медиатор-хемоаттрактант, активируя лейкоциты и усиливая их средство с эндотелием. Избыточная продукция растворимых молекул адгезии может являться дополнительным фактором развития микроциркуляторных и гемодинамических нарушений посредством усиления прокоагуляционного потенциала крови, что обуславливает нарушение процессов плацентации. В то же время снижение уровня экспрессии мембранных антигенов адгезии, возможно, свидетельствует об усилении процессов протеолитического шеддинга – отщепления внеклеточной части мембранных белков с поверхности клеток. Это может приводить к нарушению сигнальной трансдукции и недостаточной модуляции иммунного ответа материнского организма. Сбрасывание дифференцировочных антигенов в межклеточное пространство чаще всего является следствием активации иммунной системы и приводит к down-регуляции иммунного ответа, возникающей вследствие снижения плотности экспрессии мембранных форм антигенов.

Заключение. Поиск ранних маркеров реализации гестационных осложнений на сегодняшний день не утратил своей актуальности. Нарушение иммунологической регуляции процессов плацентации может приводить к дисфункции эндотелия, играющей важную роль в становлении гемодинамической системы, обеспечивающей все виды обмена и гомеостатическое равновесие между двумя генетически различающимися организмами. Патоген-

етические механизмы развития плацентарной недостаточности связаны с системной активацией лейкоцитов, нарушением элиминации эффекторных клеток, реализовавших свою функцию, провоспалительной направленностью иммунного ответа, сопровождающейся формированием оксидативного стресса на фоне снижения уровня ключевых факторов антиоксидантной защиты, нарушением функционального состояния эндотелия, повышением его адгезивности и формированием антиангиогенного статуса. В целом маркеры провоспалительной трансформации микроциркуляции и неполноценности процессов ангиогенеза в совокупности обладают предикторной значимостью в оценке риска формирования перинатальной патологии и могут быть использованы при создании математических моделей раннего прогнозирования патологических состояний, связанных со снижением перфузии плаценты. ■

*Газиева И.А. – к.б.н., с.н.с. отделения иммунологии и микробиологии ФГБУ «НИИ ОММ» Минздравоохранения России, г. Екатеринбург; Чистякова Г.Н. – д.м.н., руководитель отделения иммунологии и микробиологии ФГБУ «НИИ ОММ» Минздравоохранения России, г. Екатеринбург; Ремизова И.И. – к.б.н., с.н.с. отделения биохимических методов исследования ФГБУ «НИИ ОММ» Минздравоохранения России, г. Екатеринбург; Тарасова М.Н. – к.б.н., н.с. отделения иммунологии и микробиологии ФГБУ «НИИ ОММ» Минздравоохранения России, г. Екатеринбург; Папачева Н.М. – к.м.н., врач функциональной диагностики ФГБУ «НИИ ОММ» Минздравоохранения России, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Газиева Ирина Александровна, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 1, e-mail: uchsek@niomm.ru*

## Литература:

1. Бурлев В.А., Зайдиева З.С., Ильясова Н.А. Регуляция ангиогенеза гестационного периода. Проблемы репродукции. 2008; 3: 18-22.
2. Стрижаков А.Н., Кушлинский Н.Е., Тимохина Е.В., Тарабрина Т.В. Роль ангиогенных факторов роста в прогнозировании плацентарной недостаточности. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2009; 8 (4): 5-11.
3. Пинегин Б.В., Карсонова М.И. Алармины – эндогенные активаторы воспаления и врожденного иммунитета. Иммунология. 2010; 5: 246-255.
4. Маянский А.Н., Маянский Н.А. Поздний цитокин HMGВ1: медиаторные функции и перспективы. Иммунология. 2009; 4: 232-237.
5. Bianchi M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. J. Leukoc. Biol. 2007; 81: 1-5.
6. Oppenheim J.J., Yang D. Alarmins: chemotactic activators of immune responses. Curr. Opin. Immunol. 2005; 17: 359-365.
7. Блошинская И.А. Роль основных вазоактивных факторов сосудистого эндотелия в развитии гестоза. Российский вестник акушера-гинеколога. 2003; 4: 7-10.
8. Климов В.А. Эндотелий при физиологической беременности. Акушерство и гинекология. 2006; 5: 11-14.
9. Chaiworapongsa T., Romero R., Gotsch F. et al. Low maternal concentrations of soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 in preeclampsia and small for gestational age. J. Matern Fetal Neonatal Med 2008; 21(1): 41-52.
10. Wang X., Athayde N., Trudinger V. Microvascular endothelial cell activation is present in the umbilical placental microcirculation in fetal placental vascular disease. Am J Obstet Gynecol 2004; 190(3): 596-601.
11. Михайлова В.А., Сельков С.А., Соколов Д.И. Фенотипические и функциональные характеристики НК-клеток при беременности. Акушерство и гинекология. 2011; 5: 4-9.
12. Кудряшова А.В., Сотникова Н.Ю., Посисеева Л.В., Панова И.А., Веденева М.В. Роль иммунной системы в формировании задержки внутриутробного развития плода. Иваново; 2009.
13. Газазян М.Г., Пономарева Н.А., Мазепкина И.Н., Иванова О.Ю., Степаненко И.В. Выраженность синдрома системного воспалительного ответа в I триместре как маркер поздних осложнений беременности.

- сти. Вестник РУДН. 2011; 5: 60-66.
14. Колесникова Н.В. Цитокиновый статус беременных с хронической фетоплацентарной недостаточностью. Российский иммунологический журнал. 2010; 4 (13): 343-351.
  15. Sacks G.P., Seyani L., Lavery S., Trew G. Maternal C-reactive protein levels are raised at 4 weeks gestation. Hum Reprod. 2004; 19 (4): 1025-30.
  16. Pitiphat W., Gillman M.W., Joshipura K.J., Williams P.L., Douglass C.W., Rich-Edwards J.W. Plasma C-reactive protein in early pregnancy and preterm delivery. Am J Epidemiol. 2005; 162 (11): 1108-13.
  17. Титов В.Н. С-реактивный белок – тест нарушения «чистоты» межклеточной среды организма при накоплении «биологического мусора» большой молекулярной массы. Клиническая лабораторная диагностика. 2008; 2: 3-14.
  18. Vdolah Y., Karumanchi S.A., Sachs B.P. Recent advances in understanding of preeclampsia. Croat Med J 2005; 46(5): 728-36.
  19. Джобава Э.М., Иванова Т.А., Хейдар Л.А. и др. Факторы дисфункции эндотелия: гомоцистеин и оксид азота у беременных с гестозом на фоне сахарного диабета I типа. Современные подходы к терапии. Роль фолиевой кислоты. Проблемы репродукции. 2009; 3: 104-109.
  20. Стрижаков А.Н., Добровольская И.В., Игнатко И.В. Этиопатогенетические особенности гестоза и плацентарной недостаточности у беременных с артериальной гипертензией. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2011; 10 (1): 56-66.
  21. Roberts V.H., Smith J., McLea S.A., Heizer A.B., Richardson J.L., Myatt L. Effect of increasing maternal body mass index on oxidative and nitrative stress in the human placenta. Placenta. 2009 Feb; 30 (2): 169-75.
  22. Escudero C., Sobrevia L. A hypothesis for preeclampsia: adenosine and inducible nitric oxide synthase in human placental microvascular endothelium. Placenta 2008 Jun; 29(6): 469-83.
  23. Catarino C., Rebelo I., Belo L. et al. Fetal and maternal angiogenic/anti-angiogenic factors in normal and preeclamptic pregnancy. Growth Factors 2009; 27(6): 345-51
  24. Новиков В.В., Барышников А.Ю., Караулов А.В. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы. Иммунология. 2007; 4: 249-253.
  25. Зиганшина М.М., Кречетова Л.В., Ванько Л.В., Культербаева М.А., Соколян А.В., Сухих Г.Т. Динамика растворимых форм молекул клеточной адгезии при преэклампсии. Акушерство и гинекология. 2011; 2: 42-48.