

Роль системной эндотоксинемии в патогенезе гестоза

К.Р.Бондаренко¹, А.Р.Мавзютов², Л.А.Озолина¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. О.В.Макаров);

²Башкирский государственный медицинский университет, кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии, Уфа (зав. кафедрой — проф. А.Р.Мавзютов)

Цель исследования — выявление роли системной эндотоксинемии в патогенезе гестоза (преэклампсии) в зависимости от степени тяжести его клинических проявлений. Было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 134 беременных, у 74 из них был диагностирован гестоз (основная группа). Обследуемые основной группы были разделены на 3 подгруппы: 27, 23 и 24 беременные с гестозом легкой, средней и тяжелой степени соответственно. Контрольную группу составили 60 беременных с физиологическим течением гестации. Определяли уровни бактериального липополисахарида (ЛПС), ЛПС-связывающего белка и IgG к core-региону ЛПС, цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ), IgA, IgM, IgG, C-реактивного белка в плазме крови. Показано повышение уровня ЛПС, титров IgG к core-региону ЛПС и ЛПС-связывающего белка в плазме крови беременных с гестозом. Изменения цитокинового баланса при гестозе характеризовались повышением уровней IL-1 β , IL-8, TNF- α и IL-10 при одновременном уменьшении концентрации IL-2 и IFN- γ . Установлены отличия в уровне системной эндотоксинемии в зависимости от степени клинических проявлений гестоза. Результаты исследования свидетельствуют об участии ЛПС грамотрицательных бактерий в поддержании иммунопатологических реакций при гестозе.

Ключевые слова: гестоз, преэклампсия, ЛПС, ЛПС-связывающий белок, антитела к core-региону ЛПС, цитокины

The Role of Systemic Endotoxemia in the Pathogenesis of Gestosis

K.R.Bondarenko¹, A.R.Mavzyutov², L.A.Ozoliny¹

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology №1 of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. O.V.Makarov);

²Bashkir State Medical University, Department of Fundamental and Applied Microbiology, Ufa (Head of the Department — Prof. A.R.Mavzyutov)

The purpose of the investigation was to identify the role of systemic endotoxemia in pathogenesis of gestosis (preeclampsia) depending on the degree of severity of the clinical manifestations. Complex clinical and laboratory examination of 134 pregnant women was undertaken, 74 of them were diagnosed with gestosis (a study group). They were divided into 3 subgroups: 27, 23 and 24 pregnant women with mild, moderate and severe gestosis respectively. The control group consisted of 60 pregnant women with physiological course of gestation. The levels of bacterial lipopolysaccharide (LPS), LPS-binding protein and IgG antibodies to core-region of LPS, cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ), IgA, IgM, IgG, C-reactive protein were determined in plasma. It was shown the increase in LPS, IgG titers to the core-region of LPS and LPS-binding protein in the blood plasma of pregnant women with gestosis. Changes in cytokine balance at gestosis were characterized by increased levels of IL-1 β , IL-8, TNF- α and IL-10 and reduced concentration of IL-2 and IFN- γ at the same time. The differences in the level of systemic endotoxemia depending on the clinical manifestations of preeclampsia were established. The results of the study indicate the involvement of LPS gram-negative bacteria in the maintenance of immune reactions at gestosis.

Key words: gestosis, preeclampsia, LPS, LPS-binding protein, anti-core LPS antibodies, cytokines

В настоящее время актуальность проблемы гестозов (преэклампсии) обусловлена в первую очередь отсутствием кардинальных изменений в сторону снижения

Для корреспонденции:

Бондаренко Карина Рустамовна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 113152, Москва, Загородное ш., 18 а

Телефон: (495) 952-9661

E-mail: karinabond@mail.ru

Статья поступила 23.10.2012, принята к печати 14.02.2013

распространенности этого грозного осложнения беременности, а также масштабом медико-социальных последствий как для материнского организма, так и для плода. Так, по данным ФГБУ ЦНИИОИЗ Минздрава России, за 2010 г. по сравнению с 2009 г. частота гестозов несколько увеличилась — с 17,8 до 18,1% [1]. Гестоз, как известно, определяет неблагоприятные исходы гестации, к которым относят внутриутробную задержку роста плода, отслойку нормально расположенной плаценты, преждевременные роды, а также составляет 18% в структуре причин материнской смертности.

Установлено, что изменения гомеостаза при гестозе во многом идентичны таковым при системном воспалительном ответе, что свидетельствует об универсальности механизмов их формирования и позволяет рассматривать гестоз как акушерскую модель системной эндотоксинемии [2]. Последняя связана с гемодинамикой липополисахаридов (ЛПС) грамотрицательных бактерий и реализацией их биологических эффектов как за счет непосредственного деструктивного воздействия на клеточные мембраны, так и опосредованно — через стимуляцию цитокинового каскада [3]. Под воздействием ЛПС, через стимуляцию продукции цитокинов и запуск сигнального каскада, в ранние сроки беременности нарушается процесс инвазии трофобласта, что является патогенетическим субстратом для развития позднего гестоза [4]. Ранее показано, что тяжелый гестоз (преэклампсия) в третьем триместре гестационного периода при нормальном морфофункциональном состоянии плаценты может развиваться именно в ответ на экзогенное воздействие ЛПС, что связывают с повышением чувствительности в этом периоде организма беременной как к инфекционным агентам и их структурным компонентам (ЛПС), так и к фетальным триггерам родовой деятельности [5].

Немногочисленные исследования по проблеме эндотоксинемии в акушерстве не дают возможности однозначно объяснить значение ЛПС грамотрицательных бактерий в патофизиологии гестоза. Большинство зарубежных исследований моделируют системную эндотоксинемия на животных, что не всегда позволяет в полной мере применять полученные результаты в отношении человеческого организма. Последнее обстоятельство диктует необходимость комплексной оценки показателей гомеостаза женского организма в условиях предполагаемой системной эндотоксинемии для расширения знаний о патогенезе гестоза (преэклампсии).

В этой связи целью нашего исследования было выявление роли отдельных маркеров системной эндотоксинемии в патогенезе гестоза в зависимости от степени тяжести его клинических проявлений для потенциального их использования в прогнозировании развития гестоза.

Пациенты и методы

Для определения уровня системной эндотоксинемии и состояния антиэндотоксинового иммунитета было проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование 134 беременных во II–III триместрах гестационного периода, у 74 из них был диагностирован гестоз (основная группа наблюдения). В зависимости от степени тяжести гестоза (по Савельевой Г.М. [6]: до 7 баллов — легкая степень тяжести; 8–11 баллов — средняя; 12 и более — тяжелая) основную группу разделили на 3 подгруппы. В первую подгруппу были включены 27 беременных с гестозом легкой степени, вторую подгруппу составили 23 обследуемые с гестозом средней степени, и в третью подгруппу вошли 24 пациентки с тяжелым гестозом. Контрольную группу сформировали 60 женщин с физиологическим течением беременности. Группы сравнения были сопоставимы по возрасту, акушерско-гинекологическому и соматическому анамнезам и сроку беременности. Средний возраст женщин основной группы составил $27,4 \pm 6,0$ года, контрольной группы — $25,0 \pm 2,8$ года ($p = 0,083$), срок гестации — $32,2 \pm 3,3$ и $31,9 \pm 2,2$ нед со-

ответственно ($p = 0,65$). В исследовании участвовали беременные с нормостеническим типом телосложения, без сопутствующей тяжелой экстрагенитальной патологии.

Лабораторные исследования включали определение иммуноферментным методом на микропланшетном фотометре iMark (Bio-Rad, США) уровней общих иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG, цитокинов TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), С-реактивного белка (CRP) с помощью набора hsCRP ELISA (Biomerica, Австрия). Оценку степени эндотоксинемии проводили по концентрации ЛПС (LPS) с лизатом амебоцитов LIMULUS хромогенным методом по конечной точке, оценку состояния антиэндотоксинового иммунитета — по уровням липополисахарид-связывающего белка (LBP) и IgG к core-региону ЛПС (IgG EndoCAb) в плазме крови (HyCult biotechnology, Голландия).

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью современного пакета прикладных программ. Поскольку в массиве измерений в ряде случаев имели место практически нулевые значения, а вариация данных по градациям фактора существенно различалась, для проверки статистических гипотез использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Описательная статистика включала в себя определение медианы (*Me*) и интерквартильного диапазона [25; 75]. Производили расчет показателей структуры в процентах. Для выявления связи между признаками определяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s).

Результаты исследования и их обсуждение

В результате исследования было установлено многократное увеличение концентрации бактериального ЛПС в плазме крови у женщин с гестозом по сравнению с таковой у беременных контрольной группы: $3,10 [2,00; 9,60]$ EU/мл против $0,34 [0,01; 0,62]$ EU/мл, $p < 0,0001$ (норма — $0–1$ EU/мл), что указывает на наличие эндотоксиновой составляющей в патогенезе гестоза (табл. 1). Наличие такой составляющей подтверждалось также активацией антиэндотоксинового иммунного ответа, что проявлялось более чем двукратным нарастанием титров IgG EndoCAb и статистически достоверным увеличением уровня LBP в плазме крови беременных с гестозом на фоне нормального содержания общих иммуноглобулинов классов А, М и G, а также С-реактивного белка в сравниваемых группах. Однако определить, является ли ЛПС неким триггером в процессе запуска патологических механизмов, приводящих в итоге к осложнению беременности гестозом, либо развитию ЛПС-ассоциированных патофизиологических сдвигов предшествует связанное с гестозом снижение перфузии кишечника вследствие периферического генерализованного вазоспазма, что способствует массивной транслокации грамотрицательных бактерий и их структурных компонентов (ЛПС) через кишечную стенку, достаточно затруднительно. Возможно, именно ЛПС принадлежит роль молекулярного субстрата, который замыкает порочный патологический круг, формирующийся при гестозе. Предположительно, попадание избыточных доз ЛПС в системный кровоток из желудочно-кишечного, урогенитального трактов и других экстрагенитальных очагов хронической инфекции, этиологически обусловленной грамотрицательными патогенами, инициирует развитие эндотелиальной дисфункции и гестоза, впоследствии приводящего к

ишемии кишечной стенки, что, в свою очередь, способствует нарастанию эндотоксинемии.

Анализ полученных нами данных показал, что ЛПС-обусловленные изменения цитокинового статуса при беременности, осложненной гестозом, проявлялись разнонаправленными сдвигами в концентрациях про- и противовоспалительных интерлейкинов. Так, была зарегистрирована ранее установленная [7] тенденция к повышению содержания в крови при гестозе основных Th-1 цитокинов — IL-1 β , TNF- α , IL-8 при одновременном уменьшении концентрации других провоспалительных интерлейкинов: IL-2 в 4,5 раза и IFN- γ в 2 раза. Известно, что функционально IL-2 и IFN- γ способны переключать дифференцировку Т-клеток в сторону Th1, а IFN- γ напрямую связан с экспрессией антигенов HLA I и II классов, что чрезвычайно важно для установления нормальных иммунных взаимоотношений в системе «мать–плацента–плод» [8]. Ингибирование их продукции приводит к нарушению дифференцировки лимфоидных клеток с угнетением процессов презентации антигенов, к снижению антигенной стимуляции иммунной системы матери, что обуславливает патологическое течение процесса гестации [8] и может привести к акушерским осложнениям, в частности к гестозу. Среди беременных с гестозом отмечалось увеличение концентрации основного противовоспалительного цитокина IL-10 в 3 раза при отсутствии статистически значимых различий в содержании IL-4 и IL-6 в двух сравниваемых группах. Полученные данные в определенной мере противоречат «Th1/Th2-парадигме» беременности, в основе которой лежат представления о преобладании дифференцировки Т-хелперов в сторону Th2-клеток при физиологическом течении беременности [9], соответственно, о сдвиге в направлении Th1-клеток — при развитии каких-либо

осложнений гестационного периода. Наряду с этим, имеются экспериментальные данные, указывающие на повышение Th2-регуляторных цитокинов и преобладание реакций гуморального типа, обуславливающих активацию аутоиммунных процессов в организме при гестозе [10].

Связывание ЛПС с липополисахарид-связывающим белком, активация синтеза цитокинов при гестозе являются начальными звеньями нейтрализации эффектов ЛПС, что необходимо для формирования специфического иммунного ответа. В наших наблюдениях активация адаптивного звена антиэндотоксического иммунитета проявлялась усилением синтеза специфических антител к core-региону ЛПС (см. табл. 1), что, однако, не соответствует результатам других исследований, в которых, напротив, регистрировали угнетение выработки антиэндотоксических иммуноглобулинов при гестозе [2].

В результате исследований были установлены отличия в значениях лабораторных показателей системной эндотоксинемии в зависимости от степени клинических проявлений гестоза (табл. 2). Уровень ЛПС в плазме крови был минимальным при легкой степени гестоза, повышался до максимума при средней степени с последующей тенденцией к снижению при развитии тяжелой клинической формы заболевания. При этом интенсивность синтеза антиэндотоксических IgG, определяемая по их концентрации в плазме, изменялась диаметрально противоположным образом, что проявлялось пиковыми концентрациями IgG EndoCAb при гестозе легкой степени, резким падением в 3 раза при гестозе средней степени тяжести с последующим умеренным подъемом, не достигающим первоначальных значений, при утяжелении течения гестоза. При этом уровень LBP оставался примерно на одном уровне во всех подгруппах с незначительной тенденцией к снижению.

Таблица 1. Показатели эндотоксинемии, антиэндотоксического иммунитета и цитокинового профиля при беременности, осложненной гестозом (Ме [25; 75])

Показатель	Физиологическое течение беременности (контрольная группа) <i>n</i> = 60	Гестоз <i>n</i> = 74
LPS, EU/мл	0,34 [0,01; 0,62]	3,10 [2,00; 9,60]***
LBP, мкг/мл	49 [48; 50]	51 [49; 52]**
IgG EndoCAb, MU/мл	56 [21; 89]	122 [44; 160]***
IgA, г/л	1,1 [0,7; 1,2]	1,0 [0,8; 1,5]
IgG, г/л	28 [19; 39]	20 [11; 47]
IgM, г/л	2,1 [1,4; 3,2]	2,1 [1,5; 2,6]
CRP, мкг/л	1,5 [0,2; 1,8]	0,9 [0,6; 1,7]
IL-1 β , пг/мл	1,9 [1,1; 2,5]	85,0 [28,6; 135,4]***
IL-2, пг/мл	6,1 [3,7; 13,0]	1,3 [0; 8,1]**
IL-4, пг/мл	0,5 [0,3; 1,2]	0,6 [0,2; 1,0]
IL-6, пг/мл	2,1 [1,8; 2,7]	2,6 [1,0; 4,7]
IL-8, пг/мл	4,7 [2,5; 6,2]	26,8 [2,7; 84,0]***
IL-10, пг/мл	8,5 [4,0; 17,0]	28,5 [16,5; 49,7]***
TNF- α , пг/мл	2,2 [0; 4,2]	3,7 [2,5; 5,8]***
IFN- γ , пг/мл	33,4 [27,4; 35,0]	15,7 [9,7; 21,0]***

Звездочки — статистически значимые отличия от значений контрольной группы: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ и менее

Таблица 2. Уровень эндотоксинемии и показатели состояния антиэндотоксического иммунитета в зависимости от степени тяжести гестоза (Ме [25; 75])

Показатель	1-я подгруппа <i>n</i> = 27	2-я подгруппа <i>n</i> = 23	3-я подгруппа <i>n</i> = 24
LPS, EU/мл	2,3 [2,0; 9,7]	8,8 [1,5; 9,4]	3,1 [2,3; 9,3]
IgG EndoCAb, MU/мл	160 [128; 372]	57 [36; 71]	122 [26; 152]
LBP, мкг/мл	51 [48; 57]	50 [49; 52]	50 [48; 50]

Анализ корреляционных взаимосвязей между лабораторными показателями выявил ряд статистически значимых закономерностей, косвенно подтверждающих участие ЛПС грамотрицательных бактерий в патогенезе гестоза. В группе беременных с гестозом уровень ЛПС положительно коррелировал с концентрацией TNF- α , синтезирующегося ЛПС-стимулированными клетками моноцитарно-монофагальной системы, плацентарной тканью, способного в больших концентрациях индуцировать развитие тромбозов и тем самым нарушать микроциркуляцию, регионарную гемодинамику в различных органах и тканях [3, 11], что, вероятно, определяет патогенетическую взаимосвязь эндотоксинемии с TNF- α при беременности, осложненной гестозом. Положительная сильная корреляционная взаимосвязь ведущего провоспалительного цитокина IL-1 β и основных антиэндотоксиновых иммунологических факторов IgG EndoCAb ($r_s = 0,74$; $p < 0,01$) и LBP ($r_s = 0,7$; $p < 0,01$), установленная в группе беременных с гестозом, вероятно, свидетельствует о цитокин-опосредованной активации антиэндотоксинового иммунного ответа на повышение эндотоксиновой нагрузки при гестозе. Нарастание же титров IgG EndoCAb отмечалось одновременно с увеличением общего пула сывороточных IgG ($r_s = 0,4$; $p < 0,05$). Концентрации в крови маркера врожденного антиэндотоксинового иммунитета LBP и специфических антиэндотоксиновых антител IgG EndoCAb при гестозе изменялись однонаправленно, что подтверждалось наличием между ними статистически значимой положительной корреляционной связи ($r_s = 0,46$; $p < 0,01$). Корреляционный анализ показал наличие статистически значимой отрицательной связи между тяжестью клинико-лабораторных проявлений гестоза, оцениваемых в баллах (по Савельевой Г.М.), и степенью активности антиэндотоксинового иммунного ответа: по мере увеличения тяжести гестоза имело место снижение концентраций основных антиэндотоксиновых белков плазмы крови — LBP ($r_s = -0,46$; $p < 0,05$) и IgG EndoCAb ($r_s = -0,43$; $p < 0,05$), что может свидетельствовать об истощении антиэндотоксинового иммунного ответа при прогрессировании гестоза. Последнее дает возможность в перспективе рассматривать LBP и IgG EndoCAb в качестве потенциальных лабораторных предикторов неблагоприятного исхода беременности, что подтверждается отдельными литературными данными, в которых рассматривали высокий уровень LBP как благоприятный прогностический признак, в частности при сепсисе [12], а снижение уровня IgG EndoCAb предшествовало развитию тяжелых форм бактериальной инфекции [13].

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о существенном значении липополисахаридов грамотрицательных бактерий в инициации и/или поддержании иммунопатологических реакций при гестозе. Изменения уровня эндотоксиновой нагрузки на организм и активности антиэндотоксинового иммунитета при этом четко коррелируют с тяжестью клинических проявлений данной акушерской патологии, что также указывает на участие липополисахаридов в патофизиологических механизмах, лежащих в основе формирования гестоза.

Работа выполнена в соответствии с Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг., в рамках реализации мероприятия № 1.2.1. Государственный контракт ГК П385 от 30.07.2009.

Литература

1. Суханова Л.П. Статистика службы родовспоможения в России и регионах Центрального федерального округа [Электронный ресурс] // Федеральный Центр качества медицинской помощи ФГУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения Минздравсоцразвития РФ» [Официальный сайт]. URL: http://www.healthquality.ru/open/index_con.php?obj=co_library&ac=index&fl_id=573 (дата обращения: 20.09.2012).
2. Серов В.Н. Гестоз — современная лечебная тактика // Рус. мед. журн. 2005. Т.13. №1. С.2–6.
3. Лиходед В.Г., Бондаренко В.М. Антиэндотоксиновый иммунитет в регуляции численности эшерихиозной микрофлоры кишечника. М.: Медицина, 2007. 216 с.
4. Pennington K.A., Schlitt J.M., Jackson D.L. et al. Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease // Dis Model Mech. 2012 Jan. V.5 (1). P.9–18.
5. Brewster J.A., Orsi N.M., Gopichandran N. et al. Gestational effects on host inflammatory response in normal and pre-eclamptic pregnancies // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2008. V.140 (1). P.21–26.
6. Современные подходы к диагностике, профилактике и лечению гестоза: Метод. указания / Под ред. Г.М.Савельевой и др. М.: МЗ РФ, 1999. 28 с.
7. Чистякова Г.Н., Газиева И.А., Ремизова И.И. Оценка системы цитокинов при беременности, осложненной гестозом // Акуш. и гин. 2006. №2. С.25–28.
8. Астраух Н.В., Сотникова Н.Ю., Крошкина Н.В. Особенности процессов активации и продукции регуляторных цитокинов на локальном уровне при гестозе // Мед. иммунол. 2001. Т.3. №2. С.249–250.
9. Wegmann T.G., Lin H., Guilbert L. et al. Bidirectional cytokine interactions in the maternal fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon (Review) // Immunol Today. 1993. V.14 (7). P.353–356.
10. Посисеева Л.В., Сотникова Н.Ю. Иммунология беременности // Акуш. и гинекол. 2007. №5. С.42–45.
11. Архангельский С.М., Чеснокова Н.П., Яхамова Н.Н. Закономерности нарушений цитокинового статуса матери и плода при гестозе [Электронный ресурс] // Фундаментальные исследования [Официальный сайт]. 2008. №10. С.12–16. URL: www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=7781291 (дата обращения: 20.09.2012).
12. Opal S.M., Scannon P.J., Vincent J.L. et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock // J Infect Dis. 1999 Nov. V.180 (5). P.1584–1589.
13. Barclay G.R. Endogenous endotoxin-core antibody (Endo-CAB) as a marker of endotoxin exposure and a prognostic indicator: a review // Prog Clin Biol Res. 1995. V.392. P.263–272.

Информация об авторах:

Озолина Людмила Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 113152, Москва, Загородное ш., 18 а
Телефон: (495) 952-9661
E-mail: ozolina@yandex.ru

Мавзютов Айрат Радикович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского государственного медицинского университета
Адрес: 450077, Уфа, ул. Ленина, 3
Телефон: (347) 276-1960
E-mail: ufalab@mail.ru