

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 612.071.1:616.155.88:612.017.1:618.14-002

Т.Е. Белокрыницкая, Ю.А. Витковский, Л.И. Анохова, Н.И. Фролова

### ЦИТОКИНЫ, СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ И ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ПОСЛЕРОДОВЫХ ЭНДОМЕТРИТАХ У ПАЦИЕНТОК МОЛОДОГО ВОЗРАСТА

ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ (Чита)

Проведена сравнительная оценка уровней цитокинов, субпопуляций лимфоцитов и фагоцитарной активности лейкоцитов у рожильниц молодого фертильного возраста (18–26 лет), из которых 19 были с неосложненным течением пуэрперии и 19 – с послеродовыми эндометритами. У больных с послеродовыми эндометритами было выявлено снижение содержания лимфоцитов с маркерами CD4+, снижен иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+), резко повышено содержание IL-1a, TNF $\alpha$ , IL-8, усилена фагоцитарная активность лейкоцитов.

**Ключевые слова:** послеродовой эндометрит, субпопуляции лимфоцитов, цитокины, фагоцитоз

### CYTOKINES, LYMPHOCYTE SUBSETS AND NEUTROPHIL PHAGOCYTOSIS ACTIVITY IN YOUNG PUERPERAL WOMEN WITH ENDOMETRITIS

Т.Е. Belokrinitskaya, Yu.A. Vitkovsky, L.I. Anohova, N.I. Frolova

Chita State Medical Academy, Chita

Cytokines levels, lymphocyte subsets and phagocytosis activity of peripheral blood neutrophils were studied in young puerperal women (aged 18–26 years). The level of IL-1a, TNF $\alpha$ , IL-8 was significant decrease, the number of CD4+ lymphocytes and immunoregulatory index (CD4+/CD8+) were increase, neutrophils phagocytosis activity risen in patients with puerperal endometritis.

**Key words:** puerperal endometritis, cytokines, lymphocyte subsets, phagocytosis

Для возникновения послеродовой инфекции имеются объективные предпосылки, заключающиеся, прежде всего, в снижении функциональной активности реакций иммунной системы. Последнее является одной из приспособительных реакций организма беременной, направленных на обеспечение физиологического течения процесса гестации и предупреждение отторжения плода, который, по сути, является аллотрансплантантом для матери.

В процессе реализации функций иммунной системы ведущая роль принадлежит системе мононуклеарных фагоцитов, которые объединяют все клетки, участвующие в защитных реакциях организма. Большой спектр цитокинов, продуцируемых макрофагами, подтверждает многогранность их функций, причем каждая функция макрофагов контролируется одновременно несколькими факторами [6, 7, 9]. Активация иммунитета происходит на разных этапах развития иммунного ответа: стимуляции пролиферации стволовых клеток (IL-1, IL-3, IL-6) и клеток-предшественников Т- и В-лимфоцитов (IL-1, IL-3, IL-6), дифференцировки в цитотоксические лимфоциты (IL-12, IL-15), активации синтеза антител (IL-1, IL-6) и др.

В литературе имеются лишь единичные работы, в которых освещены сведения о содержании провоспалительных цитокинов при неосложненном течении послеродового периода и при развитии эндометрита после самопроизвольных или оперативных родов [1]. В то же время изучение этого вопроса имеет важное теоретическое и практическое значение, поскольку цитокины, и в частности, интерлейкины, и фактор некроза опухоли являются не только медиаторами иммунного ответа, но и обеспечивают взаимосвязь и кооперативное взаимодействие между клетками иммунной, фагоцитарной систем и гемостазом [2, 5, 8, 9, 11].

Между тем, в доступной отечественной и зарубежной литературе отсутствуют данные о взаимосвязи функциональной активности моноцитов и реакций иммунитета и неспецифической резистентности у здоровых рожильниц и женщин с послеродовыми эндометритами.

**Цель работы:** провести комплексную оценку субпопуляционного состава лимфоцитов, уровней цитокинов и фагоцитарной активности нейтрофилов у рожильниц с неосложненным течением пуэрперии и с послеродовыми эндометритами.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Сравнительная оценка показателей медиаторов иммунной системы цитокинов, субпопуляционного состава лимфоцитов и фагоцитарной активности нейтрофилов была проведена у рожениц молодого фертильного возраста (18–26 лет), из которых 19 были с неосложненным течением послеродового периода и 19 – с послеродовыми эндометритами. Субпопуляционный состав лимфоцитов, уровни цитокинов, показатели неспецифической резистентности организма оценивали на 1-е и 7-е сутки послеродового периода. Для исследования субпопуляции лимфоцитов использовали метод непрямой поверхностной иммунофлуоресценции. Содержание цитокинов интерлейкина 1-альфа (IL-1α), интерлейкина 1-бета (IL-1β), интерлейкина 8 (IL-8) и фактора некроза опухоли альфа (TNFα) определяли с применением тест-систем производства ТОО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью двойных антител и применением пероксидазы хрена. Фагоцитарная активность нейтрофилов оценена на основе гистохимических исследований (НСТ-тест, индекс активации, содержание лизосомальных катионных белков). Все исследования выполнены в лаборатории физиологии и патологии иммунитета и гемостаза НИИ Медицинской экологии ГБОУ ВПО «Читинская Государственная медицинская академия» Минздрава России (руководитель – профессор Ю.А. Витковский).

Кровь для исследования у всех пациенток забирали из периферической вены утром натощак.

Все включенные в исследование женщины были молодого репродуктивного возраста (от 18 до 26 лет), подобраны по принципу «копия – пара» и на период обследования не имели обострений хронических или острых инфекционно-воспалительных заболеваний. Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой при включении в одну из групп.

Диагноз эндометрита ставился на основании характерного клинического симптомокомплекса (тахикардия, гипертермия, не соответствие размеров матки суткам послеродового периода, аб-

доминальный болевой синдром, патологический характер лохий, признаки общей интоксикации) и лабораторных данных (лейкоцитоз, изменения лейкоцитарной формулы, гиперфибриногенемия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с определением числовых характеристик переменных – средней арифметической (*M*), средней ошибки выборки (*m*), и определением коэффициента достоверности различий (*p*). Различия средних считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Мы обнаружили значительные сдвиги в субпопуляционном составе лимфоцитов у женщин с послеродовыми эндометритами (табл. 1). У таких пациенток, в сравнении со здоровыми роженицами, выявлялось снижение содержания Т-хелперов/индукторов, несущих на своей поверхности маркера CD4+. Эти изменения клеточного состава отразились на соотношении CD4+/CD8+, что свидетельствовало о наличии хелперного дефекта, являющегося одной из вероятных причин развития послеродовых гнойно-септических заболеваний.

Достоверных отличий в содержании CD3+, CD8+, CD16+, CD22+ субпопуляций лимфоцитов в обследуемых группах рожениц нами не выявлено.

В.Я. Розенберг, А.Н. Бутыльский (2007) отмечают у взрослых жителей Забайкалья более высокую численность субпопуляций лимфоцитов с рецепторами CD3+, CD4+, CD16+ и меньшие количества клеток с маркерами CD22+.

В кооперации и реализации межклеточных взаимодействий при иммунном ответе важная роль отводится цитокинам. Кроме того, цитокины являются связующим звеном между иммунитетом, неспецифической резистентностью, гемопоэзом и другими процессами, обеспечивающими защитные и репаративные функции организма, которые чрезвычайно важны при возникновении послеродового инфекционно-воспалительного заболевания [1, 2, 6, 7].

Наблюдения показали, что в 1-е сутки пуэрперального периода уровни IL-1α, IL-1β, IL-8 и TNFα у женщин сравниваемых групп значимых

**Таблица 1**  
Содержание субпопуляций лимфоцитов у больных с послеродовыми эндометритами, % (*M ± m*)

Субпопуляции лимфоцитов	Здоровые женщины в послеродовом периоде, <i>n</i> = 19	Женщины с послеродовыми эндометритами, <i>n</i> = 19	Коэффициент достоверность различий, <i>p</i>
CD3+	63,2 ± 4,0	61,6 ± 3,1	> 0,05
CD4+	42,4 ± 3,0	32,7 ± 2,7	< 0,05
CD8+	25,2 ± 2,2	27,8 ± 2,6	> 0,05
CD16+	17,4 ± 1,9	14,2 ± 2,1	> 0,05
CD22+	32,5 ± 2,8	35,7 ± 3,0	> 0,05
CD4+/CD8+	1,7 ± 0,1	1,2 ± 0,1	< 0,01

Таблица 2

Содержание цитокинов у родильниц с послеродовыми эндометритами, пкг/мл ( $M \pm m$ )

Цитокины	Здоровые женщины в послеродовом периоде, $n = 19$	Женщины с послеродовыми эндометритами, $n = 19$	Коэффициент достоверность различий, $p$
IL-1 $\alpha$	19,3 $\pm$ 4,1	372,5 $\pm$ 14,2	< 0,001
IL-1 $\beta$	101,8 $\pm$ 9,4	168,7 $\pm$ 13,5	< 0,05
IL-8	115,9 $\pm$ 11,2	420,6 $\pm$ 21,6	< 0,001
TNF $\alpha$	6,3 $\pm$ 2,1	85,6 $\pm$ 8,3	< 0,001

Таблица 3

Показатели функциональной активности нейтрофилов периферической крови у женщин исследуемых групп ( $M \pm m$ )

Гистохимические показатели функции нейтрофилов	Здоровые женщины в послеродовом периоде, $n = 19$	Женщины с послеродовыми эндометритами, $n = 19$	Коэффициент достоверность различий, $p$
НСТ-положительные нейтрофилы, %	26,7 $\pm$ 1,2	38,3 $\pm$ 1,3	< 0,05
Индекс активации нейтрофилов	0,25 $\pm$ 0,01	0,64 $\pm$ 0,06	< 0,01
Содержание в нейтрофилах лизосомальных катионных белков, СЦК	1,58 $\pm$ 0,01	1,16 $\pm$ 0,01	< 0,01

отличий не имели. У родильниц с неосложненным послеродовым периодом концентрации IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 и TNF $\alpha$  были максимальными на 2-й день пуэрперия, а с 3 суток снижались, приближаясь к исходным значениям на 5-й день.

На 7-е сутки у больных с послеродовыми эндометритами было резко повышено содержание всех изучаемых цитокинов (табл. 2). Наиболее выраженные сдвиги концентраций отмечены для IL-1 $\alpha$  – в 20 раз, TNF $\alpha$  – в 12 раз. В меньшей степени повышались уровни IL-1 $\beta$  – в 1,5 раза и IL-8 – в 3,5 раза.

У женщин с послеродовыми эндометритами обнаружены отклонения показателей фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови от таковых у здоровых родильниц (табл. 3). Так, у больных повышалось количество НСТ-положительных форм лейкоцитов. Одновременно с этим статистически значимо увеличивался индекс активации нейтрофилов. Выявленные сдвиги свидетельствуют о повышении кислородзависимых процессов в клетках, которые приводят к высвобождению большого количества свободных радикалов кислорода. На этом фоне в нейтрофилах усиливаются функции, не зависящие от кислородных процессов. Так, активированные нейтрофилы у больных женщин усиленно секретируют из лизосом катионные белки-дефенсины, представляющие собой как ферменты, так и неферментные протеины, которые обеспечивают неспецифическую гуморальную защиту организма [8, 9]. Это явление обусловило значительное снижение среднего цитохимического коэффициента у больных родильниц по сравнению с показателем здоровых женщин в этот же день послеродового периода.

Исходя из биологических функций воспалительных цитокинов, следует заключить, что повышение их продукции у родильниц с эндометритами

приводит к усилению фагоцитарной активности лейкоцитов [1, 2, 9].

В.С. Пауков и соавт. (2005) указывают на ведущую роль в воспалительной реакции системы фагоцитирующих мононуклеаров, которая является уникальным регулятором межсистемных, межклеточных и клеточно-матриксных взаимоотношений в очаге повреждения. Система фагоцитирующих мононуклеаров обеспечивает развитие воспаления, включение в воспалительный процесс иммунной системы и эффективность иммунных реакций, а также активацию репаративных механизмов, в значительной степени определяя пато- и морфогенез ограниченного воспаления.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цитокины, оказывая значительную роль в операции систем иммунитета и неспецифической резистентности организма, определяют состояние единой интегральной клеточно-гуморальной системы защиты родильницы в послеродовом периоде, о чем свидетельствует максимальное повышение их уровней на 2-сутки пуэрперия. Повышенные уровни цитокинов у пациенток с эндометритами на 7 сутки послеродового периода свидетельствуют о напряжении защитных реакций, о степени адаптации защитных механизмов для поддержания гомеостаза организма, о готовности организма противостоять инфекционным агентам.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Белокриницкая Т.Е., Витковский Ю.А. Провоспалительные цитокины в ранней диагностике эндометритов после кесарева сечения // Клиническая диагностика. – 1999. – № 4. – С. 33–35.
2. Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии (монография). – Киев : АННА-Т, 2007. – 296 с.

3. Пауков В.С., Даабуль С.А., Беляева Н.Ю. Роль макрофагов в патогенезе ограниченного воспаления // Архив патологии. — 2005. — Т. 67, № 4. — С. 3—10.

4. Розенберг В.Я., Бутыльский А.Н. Возрастные особенности иммунного статуса здоровых жителей Забайкалья // Иммунология. — 2007. — № 3. — С. 177—180.

5. Симбирцев А.С. Цитокины: новые подходы к диагностике и терапии: материалы V съезда иммунологов и аллергологов СНГ / Аллерг. и иммунол. — 2003. — Т. 4, № 2. — С. 62.

6. Aggarwal B., Pocsik E. Cytokines: from clone to clinic // Arch. Biochem. Biophys. — 1992. — Vol. 292. — P. 335—345.

7. Dinarello C. Role of pro and antiinflammatory cytokines during inflammation experimental and

clinical findings // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. — 1997. — Vol. 11, № 3. — P. 91—103.

8. Reddy R.C., Standiford T.J. Effects of sepsis on neutrophil chemotaxis // Curr. Opin. Hematol. — 2010. — Vol. 17(1). — P. 18—24. Review. 19864946.

9. Sanz M.J., Kubes P. Neutrophil-active chemokines *in vivo* imaging of neutrophil trafficking // Eur. J. Immunol. — 2012. — Vol. 42(2). — P. 278—283.

10. Emerging mechanisms of neutrophil recruitment across endothelium / M.R. Williams [et al.] // Trends Immunol. — 2011. — Vol. 32(10). — P. 461—469.

11. Fry D.E. Sepsis, systemic inflammatory response, and multiple organ dysfunction: the mystery continues // Am. Surg. — 2012. — Vol. 78(1). — P. 1—8.

#### Сведения об авторах

**Белокриницкая Татьяна Евгеньевна** — доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии ФПК и ППС Читинской государственной медицинской академии (672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, E-mail: tanbell@rambler.ru, тел.: (3022)313642)

**Витковский Юрий Антонович** — доктор медицинских наук, профессор зав. кафедрой нормальной физиологии с курсом клинической иммунологии Читинской государственной медицинской академии, 672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, E-mail: yuvitkovsky@rambler.ru, тел.: (3022) 321623)

**Анохова Людмила Ильинична** — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ППС Читинской государственной медицинской академии (672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, E-mail: ass3161@mail.ru, тел. (3022) 313642)

**Фролова Наталия Ивановна** — кандидат медицинских наук ассистент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета, ФПК и ППС (672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, E-mail: taasyaa@mail.ru, тел. 8(3022) 313642)