

УДК: 577.175.4:616-097:616.12-008.331

## ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЕЙ С-РБ, ОТДЕЛЬНЫХ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И АНТИЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ У ЖЕНЩИН С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ КЛИМАКСА

ФРОЛОВА Л.А., \*ФРОЛОВ А.К., ФУШТЕЙ И.М.,  
\*\*ПРИЛУЦКИЙ А.С., \*\*\*КОЛЬЦОВА И.Г.

Запорожская медицинская академия последипломного образования

\* Запорожский национальный университет

\*\* Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

\*\*\* Одесский национальный медицинский университет

Провоспалительные цитокины (ПЦ) и анти-эндотелиальные антитела (АЭАТ) играют значимую роль в развитии ряда воспалительных реакций в организме человека. При этом одними из первых в системный иммунный ответ вовлекаются именно ПЦ [1], что обуславливает их особую диагностическую значимость для различных патологических состояний. В свою очередь, повышение уровней АЭАТ может быть расценено в качестве чувствительного маркера повреждения клеток эндотелия при отдельных аутоиммунных заболеваниях, в том числе васкулитах, а также атеросклерозе и пр. [2, 3]. Имеются сообщения, что АЭАТ могут присутствовать в крови здоровых лиц [4]. В определенных концентрациях у последних также обнаруживаются провоспалительные гуморальные факторы: С-реактивный белок (С-РБ) и цитокины ИЛ8, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  [5].

С возрастом, особенно в климактерическом периоде у женщин, могут наблюдаться некоторые сбои в регуляции иммунных механизмов и воспалительных реакций, в результате чего может увеличиваться продукция ПЦ [6]. Кроме того данные процессы могут усугубляться различными сопутствующими патологиями, в том числе гипертонической болезнью (ГБ) [7]. Таким образом, иммунная реактивность организма у женщин климактерического периода, страдающих ГБ, может иметь ряд особенностей, в связи с чем, возникает необходимость их детального изучения, с целью разработки новых подходов в диагностике и лечении гипертонической болезни у лиц данной категории.

На основании вышеизложенного, целью нашего исследования стало изучение изменений уровней АЭАТ, С-РБ и провоспалительных цитокинов ИЛ8, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  у женщин, страдающих ГБ, в различные периоды климакса.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами обследованы 163 женщины, составляющих 4 группы. Первую группу составили 37 женщины детородного возраста от 20 до 26 лет (контроль 23,9  $\pm$  2,2 лет); вторую группу – 41

женщина в перименопаузном периоде без ГБ в возрасте от 38 до 49 лет (44,2  $\pm$  3,9 лет); третью группу – 42 женщины в перименопаузном периоде с ГБ в возрасте от 39 до 52 лет (49,2  $\pm$  3,5 лет); четвертую группу – 43 женщины в постменопаузе с ГБ в возрасте от 50 до 69 лет (58,9  $\pm$  4,2 лет).

Уровни АЭАТ определяли в сыворотке крови у 23, 28, 34, 31 женщины из 1-й, 2-й, 3-й и 4-й групп соответственно, с помощью наборов реактивов для иммунофлюоресцентного полуколичественного анализа АЭАТ – HUVES-IIFTFA 1960-1005, производства EUROIMMUN, Германия. Набор включает предметные стёкла с биочиповыми реакционными зонами, содержащие культуральные эндотелиальные клетки человека. Учет реакции проводили по 4-х балльной шкале: слабая – 1 балл ( $\pm$ ), средняя – 2 балла (+), выраженная – 3 балла (++) , сильная – 4 балла (+++) люминесцентная реакция, которую определяли с помощью люминесцентного микроскопа «Zeiss», Германия. Помимо определения наличия в сыворотке больных АЭАТ по характерному гранулярному типу свечения цитоплазмы, в возможности данного набора входило определение наличия антинуклеарных антител или антител к органоидам (АОАТ), в соответствии с флуоресценцией окраски клеточного ядра или органоидов цитоплазмы эндотелиальных клеток.

Диагноз ГБ устанавливали согласно критериям ВОЗ. В плазме крови обследованных женщин также определяли уровни С-РБ, ИЛ-8, ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем «Укрмед-Дон» (г. Донецк, Украина) на автоматическом анализаторе «Chemwell – 2910» (Awarenes Tech, США).

Статистическую обработку результатов проводили непараметрическими методами с использованием программ MedStat, Statistica ver.6. Для исследуемых показателей были рассчитаны медиана, ошибка медианы ( $M_0 \pm m_{M_0}$ ), правая и левая границы 95% доверительного интервала (ДИ). Множественные сравнения в

исследуемых группах выполнялись с использованием критерия Данна. Также были рассчитаны частоты встречаемости АЭАТ и АОАТ в различных исследуемых группах, и проведено их сравнение с использованием углового преобразования Фишера (с учетом поправки Йейтса). Учитываемая достоверность полученных данных устанавливалась с уровня  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Таким образом, нами обследовано 4 группы женщин различного возраста, с наличием или отсутствием ГБ. При этом у женщин, находящихся в детородном периоде (1-я группа, контроль) АЭАТ к структурным компонентам плазмолеммы в разведении плазмы 1:10 не обнаруживались. Определялись лишь АОАТ у 2-х женщин к отдельным органоидам клеток эндотелия (табл.1).

Таблица 1

**Содержание антиэндотелиальных антител в плазме крови у женщин в разные периоды климакса**

№ группы	N	АЭАТ, %							АОАТ, %						
		Всего		Баллы					Всего		Органоиды				
		n	%	1 (±)	2 (+)	3 (++)	4 (+++)	Mo± mMo	n	%	1	2	3	4	5
1	23	0	0	0	0	0	0	0	2	8,69± 5,87	0	4,34± 4,24	4,34± 4,24	8,69 ± 5,87	4,34± 4,24
2	28	10	35,71± 9,05*	21,42 ± 7,75	10,71 ± 5,84	3,57± 3,50	0	1+0,28§	8	28,57± 8,53	10,71 ± 5,84	10,71 ± 5,84	3,57± 3,50	3,57± 3,50	3,57± 3,50
3	34	13	38,23 ± 8,33*	11,76± 5,52	20,58 ± 6,93	5,88± 4,03	0	2+0,24§	10	29,41 <sup>  </sup> ± 7,81	8,82 ± 4,86	5,88± 4,03	8,82 ± 4,86	2,94± 2,89	2,94± 2,89
4	31	10	32,25 ± 8,39*	6,45± 4,41	16,12 ± 6,60	3,23± 3,18	6,45± 4,41	2+0,42§	10	32,25± 8,39	12,90± 6,02	6,45 ± 4,41	0	12,90± 6,02	0

Примечание: Баллы: 1(±) – слабоположительная реакция; 2(+) – положительная реакция; 3(++) – значительно положительная реакция; 4(+++) – сильно положительная реакция.  
 Органоиды: 1 – скелетные белки; 2 – ядрышко; 3 – ядерная оболочка; 4 – центромеры; 5 – ядро.  
 \* – достоверное отличие от 1-й группы,  $p < 0,001$ ;  
 § – достоверное отличие от 1-й группы,  $p < 0,01$ ;  
<sup>||</sup> – отличие от 1-й группы на уровне статистической тенденции,  $p = 0,1$ ;  
 ¶ – отличие от 1-й группы на уровне статистической тенденции,  $p = 0,075$ .

Среди обследованных в перименопаузальном периоде без сопутствующей ГБ (2-я группа), количество сероположительных женщин составило 35,71±9,03%, что достоверно ( $p < 0,001$ ) выше, чем в группе контроля. Однако при проведении полуколичественной оценки в большинстве образцов плазмы значения АЭАТ находились на уровне разрешающей способности метода (слабоположительная реакция). Кроме АЭАТ регистрировалось наличие антител к органоидам цитоплазмы (у 28,57±8,53% женщин), в большинстве случаев к цитоскелету и ядрышку в 10,71±5,84%, а также к ядерной оболочке, центромерам и ядру в 3,57±3,50%.

Наличие ГБ у лиц аналогичной возрастной категории (3-я группа) также сопровождалось достоверно более высокой частотой серопо-

ложительных результатов (38,23±8,33% при  $p < 0,001$ ), чем в контроле. Большинство сероположительных образцов плазмы давали положительную (2 балла) и значительную положительную (3 балла) люминесцентную реакцию. Антиорганодные антитела определялись как к цитоплазматическим, так и к ядерным структурам. Так антитела к цитоскелетным белкам и ядерной оболочке были выявлены в 8,82±4,46%, к ядрышку в 5,88±4,03%, к центромерам и ядру – в 2,94±2,89%.

При исследовании группы постменопаузального периода было установлено наличие сероположительных реакций у 32,25±8,39% женщин (при  $p < 0,001$ , по сравнению с контролем). Следует отметить, что в данной группе впервые было зафиксировано наличие силь-

ной положительной люминисцентной реакции (4 балла) у двоих обследуемых. Среди АОАТ обнаруживались антитела к цитоскелетным белкам и к центромерным участкам хромосом в  $12,90 \pm 6,02\%$ , и к ядрышку в  $6,45 \pm 4,41\%$ . Таким образом, были выявлены достоверные ( $p < 0,001$ ) различия в уровнях АЭАТ между тремя обследуемыми группами и контрольной группой, что может свидетельствовать об отрицательном, опосредованном аутоиммунными процессами, влиянии дисгормональных нарушений, особенно в комплексе с ГБ, на состояние эндотелия сосудистой стенки. Наряду с этим, статистически значимого отличия в уровнях антиорганойдных антител во всех четырех группах найдено не было. Однако, важно отметить, что были обнаружены различия на уровне статистической тенденции между 1-й и

3-й группами, а также между 1-й и 4-й группами ( $p=0,1$  и  $p=0,075$  соответственно), что все же может быть расценено как подтверждение данных о существовании связей между повышением уровней антител к органоидам эндотелиальных клеток и развитием ГБ [7].

Анализ уровней С-РБ показал, что достоверные различия значений данного показателя с группой контроля ( $p < 0,01$ ) обнаруживались в группе лиц находящихся в перименопаузном периоде с ГБ, а также в постменопаузном периоде с ГБ (табл.2). Кроме того, статистически значимые различия обнаруживались между группой перименопаузного периода без ГБ и группой перименопаузного периода с ГБ ( $p < 0,01$ ), а также между показателями группы перименопаузного периода без ГБ и группой постменопаузного периода с ГБ ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

Уровни С-РБ и цитокинов в плазме крови у женщин в разные периоды климакса

№ группы	N	Mo ± m <sub>мо</sub> (95% ДИ)			
		мг/л	пг/мл		
		С-РБ	ИЛ-1	ИЛ-8	ФНО-
1	37	0,23 ± 0,07 (0,17 – 0,34)	0,50 ± 0,40 (0 – 1,20)	1,10 ± 0,63 (0 – 2,90)	0,10 ± 0,36 (0 – 1,20)
2	41	0,39 ± 0,14 (0,20 – 0,68)	7,20 ± 1,83* (3,80 – 11,80)	15,30 ± 3,21* (7,40 – 24,20)	4,80 ± 1,67* (2,10 – 7,40)
3	42	1,71 ± 0,45*§ (1,06 – 2,20)	15,60 ± 3,85*§ (9,80 – 19,10)	39,20 ± 7,38*§ (29,40 – 43,20)	11,05 ± 7,70* (5,90 – 13,00)
4	43	1,15 ± 0,37*§ (0,56 – 1,48)	8,10 ± 1,47*  (5,00 – 9,50)	16,90 ± 4,51*  (13,60 – 33,00)	8,40 ± 1,20* (5,40 – 10,50)

Примечание: \* – достоверное отличие от 1-й группы,  $p < 0,01$ ;  
§ – достоверные отличия от 2-й группы,  $p < 0,01$ ;  
| – достоверные отличия от 3-й группы,  $p < 0,01$ .

Интересно отметить, что динамика значений провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ИЛ-8 в различных группах была одинаковой. Были установлены статистически значимые более высокие значения данных показателей во 2-й, 3-й и 4-й группах по сравнению с группой контроля ( $p < 0,01$ ). Также были выявлены достоверные различия ( $p < 0,01$ ) значений цитокинов в группах перименопаузного периода без ГБ (2-я группа) и перименопаузного периода с ГБ (3-я группа), а также в группах перименопаузного периода с ГБ и постменопаузного периода с ГБ (4-я группа). Важно отметить, что если в 3-й группе отмечались более высокие значения ИЛ-1β и ИЛ-8 по сравнению со 2-й группой обследованных, то в 4-й группе регистрировались более низкие значения данных показателей по сравнению с 3-й группой. Такие результаты подтверждают литературные данные о стимулирующем влиянии дисгормональных изменений и ГБ на выработку провоспалительных цитокинов [6,7]. Нами

показано, что наиболее выраженный провоспалительный эффект климактерических изменений наблюдается в перименопаузном периоде, с наступлением же постменопаузы, происходит некоторое снижение выработки провоспалительных цитокинов.

Оценка уровней ФНО-α показала, что достоверные ( $p < 0,01$ ) различия значений данного показателя регистрировались только между тремя обследуемыми группами (2-й, 3-й и 4-й) и группой контроля. При этом статистически значимой разницы уровней данного цитокина во 2-й, 3-й и 4-й группах не было.

Таким образом, нейрогуморальная перестройка в организме женщин климактерического периода, обусловленная снижением синтеза половых гормонов, прежде всего эстрогенов, а с ними и репродуктивной функции, сопровождается комплексными реакциями, со значительным увеличением концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-8 и ФНО-α [6].

Наши данные также свидетельствуют, что присоединение к климактерическому синдрому ГБ еще больше способствует повышению уровней данных факторов, а также возрастает секреция С-РБ и АЭАТ, что согласуется с данными литературы [2,3,7].

Следует однако сказать, что в менопаузе у женщин происходит некоторое снижение уровней ПЦ, о чем наглядно свидетельствуют полученные нами результаты динамики ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8. Однако, уровни как цитокинов, так и С-РБ и АЭАТ в постменопаузном периоде остаются существенно более высокими относительно нормы здоровых лиц (группы контроля).

Учитывая все выше изложенное, контроль выработки исследованных в данной работе провоспалительных цитокинов и С-РБ важен для назначения целенаправленных лечебных мероприятий.

### ВЫВОДЫ

1. В группе женщин перименопаузного периода без ГБ нами выявлены достоверно более высокие уровни АЭАТ ( $p < 0,001$ ), а также концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  ( $p < 0,01$ ) по сравнению с женщинами, находящимися в репродуктивном возрасте.
2. В группе женщин, находящихся в перименопаузе и страдающих ГБ были установлены статистически значимые более высокие уровни АЭАТ ( $p < 0,001$ ), а также С-РБ, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой контроля. Кроме того, более высокие уровни С-РБ, ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 ( $p < 0,01$ ) были зарегистрированы у данных лиц, по сравнению с группой аналогичного возраста, не имеющих ГБ.
3. В группе женщин постменопаузного периода, и страдающих ГБ, были зафиксированы более высокие уровни АЭАТ ( $p < 0,001$ ) и концентрации С-РБ, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой контроля, также были установлены более высокие уровни С-РБ, ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 ( $p < 0,01$ ), по сравнению с группой перименопаузного периода без ГБ, при регистрации более низких значений ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-8 ( $p < 0,01$ ), по сравнению с группой перименопаузного периода с ГБ.
4. Полученные результаты о стадийности изменений всех исследованных показателей целесообразно использовать как в научно-исследовательской деятельности, так и в практике здравоохранения, с целью усовершенствования диагностики и разработки новых методов лечения среди женщин, страдающих ГБ в климактерическом периоде.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология: пособие для студентов, врачей-интернов, иммунологов, аллергологов, врачей лечебного профиля всех специальностей / Г.Н. Дранник. – 4-е изд., доп. – К., 2010. – 552 с.: табл., рис.
2. Horvathova M. Detection of antiendothelial cell antibodies in patients with connective tissue diseases by flow cytometry and their relation to endothelial cell activation / M. Horvathova, E. Jahnova, S. Nyulassy // *Physiol Res.* – 2002. – Vol. 51. – P. 613-617.
3. Shepshelovich D. Prediction and prevention of autoimmune diseases: additional and aspects of the mosaic autoimmunity / D. Shepshelovich, Y. Shoenfeld // *Lupus.* – 2006. – Vol. 13. – P. 183 – 190.
4. Полетаев А.Б. Физиологическая иммунология (естественные аутоантитела и проблемы наномедицины) / А.Б.Полетаев. – М.: Миклош, 2010. – 220 с.
5. Forsey R.J. Plasma cytokine profiles in elderly humans / R.J. Forsey, J.M. Thompson, J. Ernedh et all // *Mech Aging Dev.* – 2003. – Vol. 124. – P. 487-493.
6. Bruunsgaard H. Aging and proinflammatory cytokines / H. Bruunsgaard, M. Pedersen, B.K. Pedersen // *Curr Opin Hematol.* – 2001. – Vol. 8. – P.131-136.
7. Testa M. Circulating levels of cytokines and their endogenous modulators in patients with mild to severe congestive heart failure due to coronary artery disease or hypertension / M. Testa, M. Yeh at all // *J Am Coll Cardiol.* – 2006. – Vol. 28. P.964-971.

### РЕЗЮМЕ

#### ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНІВ С-РБ, ОКРЕМИХ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ І АНТИЕНДОТЕЛІАЛЬНИХ АНТИТІЛ У ЖІНОК З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЮ В РІЗНІ ПЕРІОДИ КЛІМАКСУ

Л.О. Фролова, О.К. Фролов, І.М. Фуштей,  
О.С. Прилуцький, І.Г. Кольцова

Вивчені рівні гуморальних факторів імунітету в плазмі крові 163 жінок різного віку. У групі здорових жінок репродуктивного віку не виявилися антиендотеліальні антитіла (АЕАТ) до структур плазмолеми. С-реактивний білок (С-РБ) і прозапальні цитокини (ІЛ-8, ІЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ ) знаходилися на мінімальних фонових значеннях. У значної кількості жінок у перименопаузі виявляються АЕАТ і високі рівні прозапальних факторів, які були вищими на тлі гіпертонічної хвороби (ГБ). У жінок у менопаузі з ГБ залишаються високими рівні гуморальних факторів, характерні для всього климактеричного періоду. Високі

пограничні рівні гуморальних імунологічних факторів у плазмі крові жінок в клімактеричному періоді можуть бути приводом для повторного обстеження, та призначення імунокоригуючої терапії.

**Ключові слова:** перименопауза, постменопауза, аутоантитіла, цитокіни, гіпертензія

### SUMMARY

#### STUDY LEVELS OF CRP, CERTAIN PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND ANTIENDOTHELIAL ANTIBODIES FROM WOMEN WITH HYPERTENSION AT DIFFERENT STAGES OF MENOPAUSE

*L.A. Frolova, A.K. Frolov, \*I.M. Fushtei, A.S. Prilutsky, I.G. Koltsova*

We examined the levels of humoral immune factors in the blood plasma of 163 women of all ages.

Antiendothelial antibodies (AeAb) to plasmolemma structures were not revealed in a group of healthy women of reproductive age. C-reactive protein (CRP) and proinflammatory cytokines (IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) were at minimum baseline values. A significant number of women in perimenopause were identified with AEAT and high levels of proinflammatory factors, which were higher with essential hypertension (EH). Levels of factors, which are specific to menopause, stay high women during menopause with essential hypertension. High border levels of humoral immunological factors in the blood plasma of women in menopause may be a cause for re-examination and appointment of immunotherapy.

Keywords: perimenopause, postmenopause, autoantibody, cytokines, hypertension

УДК 616.993.192.1-036.11-078

### ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ ТОКСОПЛАЗМОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ У БЕРЕМЕННЫХ В ОДЕССКОМ РЕГИОНЕ В СООТВЕТСТВИИ СО СТАНДАРТАМИ ВОЗ И МКБ 10

*ЛИПКОВСКАЯ И.В., МАРИЧЕРЕДА В.Г., ЧУЕВА Т.П., ЛАВРЮКОВА С.Я., ПАСТЕРНИЧЕНКО М.С.*

Одесский государственный национальный университет,  
Одесский областной отдел здравоохранения облгосадминистрации,  
КП «Одесская городская инфекционная больница»

Распространенность токсоплазмоза высока и не имеет тенденции к снижению [20]. Инфицированность населения земного шара по разным данным составляет до 1,5 млрд. людей [1,2,3]. Заболевание, связанное с первичным инфицированием в момент развивающейся беременности может приводить к мертворождениям, глухоте, слепоте [1,3,4,5,7]. Проникновение инфекции к неиммунизированному плоду неизменно приводит к генерализации токсоплазмоза и гибели плода [20]. Особенно чувствительны к инфицированию токсоплазмозом беременные и дети в первые месяцы своей жизни [10,11,12,13,14,16,20].

Частота передачи инфекции от матери к плоду возрастает по мере увеличения срока беременности. На момент заражения риск инфекции составляет 15 % случаев в первом триместре, 25 % – во втором, 65 % – в третьем. Риск возникновения тяжелой инфекции плода снижается по мере развития беременности и составляет 75 %, если мать была инфицирована в первом триместре беременности, и 5 % при инфицировании в третьем триместре [2,7].

Ежегодно трем-пяти новорожденным выставляется диагноз врожденный токсоплазмоз с летальным исходом, что составляет 3,07 % случаев среди инфекционных заболеваний новорожденных [8].

По данным литературы, охват скрининговым исследованием на маркеры TORCH-комплекса матерей внезапно умерших детей составил 53,3 % среди подавляющего большинства беременных (89 %) [6].

Внутриутробное инфицирование токсоплазмозом подтверждено в первом триместре беременности у 12,4 % плодов, во втором – у 17,5 %, в третьем – у 16,3 % [8]. Риск инфицирования плода возрастает при смешанной инфекции у беременных, особенно при сочетании с цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекцией, что составило 55,6 % от всех летальных исходов [6].

Острая внутриутробная инфекция является непосредственной причиной преждевременных родов у недоношенных детей в 23,3 %, антенатальной асфиксии плода у доношенных в 4,5 % [6,8,9,10]. Другим частым проявлением токсоплазмозной инфекции у женщин молодого воз-