

**РЕЗЮМЕ**

**ASP299GLY ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНУ TLR4 І ІМУННА ВІДПОВІДЬ НА ЕНДОТОКСИН У ДОРΟΣЛИХ ПАЦІЄНТІВ НА РЕФРАКТЕРНУ БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ**

*Курченко А.І., Бісюк Ю.А., Кондратюк В.Є., Дубовий А.І.*

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Вивчено антиендотоксинний імунітет і поліморфізм Asp299Gly гена рецептору TLR-4 у 40 пацієнтів на рефрактерну та у 291 на нерепрактерну бронхіальну астму. Групу контролю склали 285 практично здорових волонтера. Рівні антиендотоксинних антитіл класу А, М, G і sCD14 в сироватці та індукованому мокротинні визначали за допомогою імуноферментного аналізу. Встановлено, що ризик розвитку нерепрактерної астми в популяції АР Крим пов'язаний з переважанням генотипів AG і GG поліморфної ділянки Asp299Gly гена TLR-4. У пацієнтів на рефрактерну астму для генотипу AA в порівнянні з AG (Asp299Gly, TLR-4) спостерігається активація гуморальної і адаптивної (збільшення рівнів анти-ET-IgM і Анти-ET-IgG) і дисбалансом ендобронхіальної (зниження рівня анти-ET-slgA, збільшення сироваткового sCD14) імунної відповіді.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, ендотоксин, кортикостероїди, поліморфізм Asp299Gly TLR-4.

**SUMMARY**

**ASP299GLY GENE POLYMORPHISM OF TLR-4 AND IMMUNE RESPONSE TO ENDOTOXIN IN ADULTS PATIENTS WITH REFRACTORY ASTHMA**

*Kurchenko A.I., Bisyuk Yu.A., Kondratiuk V.E., Dubovyi A.I.*

Bogomolets National Medical University

There was studied anti-endotoxin immunity and Asp-299Gly polymorphism in 40 patients of refractory and 291 of non-refractory bronchial asthma. The control group consisted of 285 healthy volunteers. The level of anti-endotoxin antibodies of A, M, G classes and sCD14 in the serum and induced sputum were determined by ELISA. It is established that the risk of non-refractory asthma in the population of Crimea is associated with the prevalence of AG and GG genotypes of polymorphic site (Asp-299Gly) of TLR-4 gene. Patients with refractory asthma and AA genotype compared to AG (Asp299Gly, TLR-4) had activation of humoral and adaptive (increased levels of anti-ET-IgM and anti-ET-IgG) and endobronchial imbalance (reduction in anti-ET-slgA, an increase of serum sCD14) immune response.

**Key words:** bronchial asthma, endotoxin, corticosteroids, Asp299Gly polymorphism of TLR-4.

УДК 618.3:612.017.1:618.33-007.12-008.6

**ТРАНСФОРМИРУЮЩИЙ ФАКТОР РОСТА (TGF-В) В КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ С СИНДРОМОМ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА**

*ГНАТКО Е.П., КУРЧЕНКО А.И., КОРОСТИЛЬ М.А.*

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

По данным ВОЗ перинатальные заболевания занимают 4-е место среди причин смертности населения. В сравнении с предыдущими десятилетиями заболеваемость новорожденных увеличилась более чем в два раза, а одна треть детей рождается больными или болеет на протяжении периода новорожденности [1]. Основным источником перинатальной патологии является беременность высокого риска, удельный вес которой в общей популяции составляет более 10% [2,3]. Особого внимания заслуживают новорожденные с малой (до 2500,0 г) и экстремально малой (1500,0 г) массой тела при рождении, среди которых определенную часть составляют дети, рожденные до 28 недели беременности.

Несмотря на успехи, достигнутые в снижении смертности недоношенных новорожденных с малой и экстремально малой массой тела при

рождении остается еще ряд нерешенных вопросов относительно причин и частоты синдрома задержки роста плода (СЗРП) и заболеваемости таких детей в неонатальном периоде по отношению к популяции недоношенных детей.

СЗРП имеет большой удельный вес в структуре причин перинатальной заболеваемости и смертности, достигая 12-40% [1,4], а репродуктивные потери и затраты на комплексное лечение детей с СЗРП наносят существенный социальный и экономический ущерб [3,4]. По данным многих исследователей СЗРП является основным проявлением плацентарной дисфункции. Патогенез плацентарной дисфункции и СЗРП сложен и затрагивает основные этапы развития беременности: имплантации, инвазии цитотрофобласта и гестационной перестройки спиральных артерий, становления маточно-плацентарного и плодово-плацентарного

кровообращения, функционирования плаценты [1,5]. Несмотря на установленные механизмы развития плацентарной дисфункции и СЗРП некоторые патогенетические аспекты формирования данных осложнений остаются не раскрытыми.

Нормальное развитие гестации во многом зависит от продукции факторов роста, стимулирующих пролиферацию и инвазию трофобласта, контролирующих рост, развитие и регресс сосудов маточно-плацентарного и плодово-плацентарного комплекса. Нарушение этих процессов может сопровождаться развитием плацентарной дисфункции и, как следствие, приводить к гипоксии и задержке роста плода [5,6].

Недостаток кислорода (гипоксия) является основным стимулом к ангиогенезу при физиологических и патологических состояниях, который через индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1) индуцирует экспрессию многих ангиогенов, прежде всего факторов роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов. VEGF избирательно стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, их предшественников и моноцитов, увеличивает сосудистую проницаемость, способствует вазодилатации через усиление продукции оксида азота (NO). В процессе созревания новой сосудистой сети среди других факторов принимает участие трансформирующий фактор роста-бета (TGF- $\beta$ 1) [7]. Трансформирующий фактор роста является регуляторным цитокином, играющим плеiotропную роль в иммунных реакция [ 5,7]. TGF- $\beta$ 1 широко экспрессируется в лейкоцитах и стромальных клетках, связан с активацией CD4 + T-клеток в T-хелперы 1 (Th1) и Th2 клетки.

Учитывая вышеизложенное, можно полагать, что исследование продукции факторов роста, регулирующих процессы плацентации и эмбриогенеза, у женщин с СЗРП позволит углубить представления о патогенезе данного осложнения беременности и установить объективные критерии для диагностики.

Цель работы. Исследовать уровень трансформирующего фактора роста бета1 в крови беременных с задержкой роста плода

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

В исследование вошли 106 беременных в возрасте 16- 37 лет с диагнозом СЗРП, поступившие в стационар и родившие в сроках гестации 22-36 недель. Критериями включения пациенток в исследование были: одноплодная беременность, СЗРП, подтвержденный при рождении ребенка, рост пациенток выше 160 см. В исследование не включались пациентки с экстрагенитальной патологией, многоплодной беременностью. Все пациентки давали инфор-

мированное согласие на участие в исследовании. Контрольную группу составили 32 пациентки с физиологическим течением беременности, обследованные в те же сроки беременности.

Диагноз СЗРП до родов был установлен по результатам ультразвукового исследования (фетометрии), которая проводилась на аппарате «ALOKA-SSD-1700» (Япония).

Оценка фето-плацентарного комплекса проводилась по результатам комплексного клинико-лабораторного обследования: фето-плацентометрии, доплерометрии маточных и пуповинных артерий, определения плацентарных гормонов (плацентарный лактоген, естриол). Уровень гормонов определяли в крови беременных иммунологическим методом ELISA.

После родов проводилось морфологическое исследование плацент.

Уровень TGF- $\beta$ 1 определяли с помощью иммуноферментного анализа, используя сертифицированный на Украине реагент, производства ООО «Протеиновый контур» (С-Петербург, Россия).

Полученные цифровые данные обработаны методом математического и статистического анализа с вычислением средних величин ( $M \pm m$ ), критерия Стьюдента и показателя достоверности с использованием программ обработки электронных таблиц «Exel 7,0 for Windows XP». Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Все беременные с СЗРП в зависимости от срока, были распределены в группы: 1 группа - 28(26,4%) пациенток в сроке 22-28 нед, 2 группа - 37(34,9%) беременных – 29-32 нед., 3 группа - 41(38,4%) пациентка – 33- 36 нед.

Средний возраст в группах составил соответственно: 25,6 $\pm$ 1,1 лет, 26,3 $\pm$ 1,3 и 25,3 $\pm$ 1,0 года. В контрольной группе - 24,6 $\pm$ 1,1года.

Менструальный цикл в анамнезе был регулярным и нормопонирующим у 70(66,0%) беременных с СЗРП: 1 группа- 18(64,3%), 2 группа – 22(59,5%) и 3 группа – 30(73,2%). Гинекологическая патология в анамнезе была выявлена у 42(39,6%): нарушения менструального цикла – у 14(33,3%), лейомиома матки – у 7(16,7%), дисплазия шейки матки – у 10(23,8%), бактериальный вагиноз – у 11(26,2%). Характер и частота гинекологической патологии в группах представлена в таблице1.

Таблиця 1.

**Характер и частота гинекологической патологии в анамнезе у обследованных беременных с СЗРП, абс. %**

Характер гинекологической патологии	1 группа, n - 28	2 группа, n - 37	3 группа, n - 41
Нарушения менструальной функции	4 – 14,3%	5 – 13,5%	5 – 12,3%
Лейомиома матки	2 - 7,1%	3 - 8,1%	2 - 4,9%
Дисплазия шейки матки	3 - 10,7%	3 - 8,1%	4 - 9,8%
Бак.вагиноз	3 - 10,7%	4 - 10,8%	4 - 9,8%

Первобеременных было 27(25,5%), повторн-беременных - 79(74,5%). В 1 группе первобеременных было-6(21,4%), повторн-беременных - 22(78,6%), во 2 группе соответственно 11(29,7%) и 26(70,3%), в 3 группе – 10(24,4%) и 31(75,6%).

Из числа повторнобеременных роды были у 26(32,9%), аборт-ы - у 15(19,0%), роды и аборт-ы - у 38(48,1%). Исходы предыдущих беременностей у обследованных беременных с СЗРП в группах представлены в таблице 2.

Таблиця 2.

**Исходы предыдущих беременностей у пациенток с СЗРП, абс. %**

Исходы родов	1 группа, n - 22	2 группа, n - 26	3 группа, n - 31
Роды	10 – 45,5%	12 – 46,2%	14 – 45,2%
Аборт-ы	4 - 18,2%	4 - 15,4%	7 - 22,6%
Роды+аборт-ы	8 - 36,4%	10 - 38,5%	10 - 32,3%

Осложненное течение предыдущих беременностей (угроза прерывания, анемия, угроза преждевременных родов, преэклампсия, гестационный пиелонефрит, плацентарная дисфункция, дистресс плода) отмечено у 38(48,1%) повторн-рожающих женщин. В предыдущих беременностях не было отмечено случаев СЗРП.

Осложнения в предыдущих родах (преждевременное излитие околоплодных вод, аномалии родовой деятельности, преждевременная

отслойка нормально расположенной плаценты, гипотония матки) имели 27(34,2%) пациенток. Оперативное родоразрешение (кесарево сечение, акушерские щипцы, вакуум-экстракция) проведено у 15(19,0%).

Настоящая беременность до 22 недель осложнилась у 32(30,2%) – угрозой прерывания, у 16(15,1%) - ранним токсикозом.

В результате комплексного обследования в группах был установлен СЗРП различной степени тяжести (табл.3).

Таблиця 3.

**Распределение в группах беременных по степеням с СЗРП, абс. %**

Степень СЗРП	1 группа n - 28	2 группа n - 37	3 группа n - 41
I ст	15 - 53,6%	22 – 59,5%	22 – 53,7%
II ст	8 - 28,6%	12 - 32,4%	13 – 31,7%
III ст	5 – 17,9%	3 - 8,1%	6 – 14,6%

Симметричная форма СЗРП в 1 группе диагностирована у 12(42,9%), асимметричная – у 16(57,1%); во 2 группе симметричная форма установлена у 9(24,3%), а асимметричная – у 28(75,7%); в 3 группе соответственно симме-

тричная форма у 8(19,5%) и асимметричная – у 32(78,0%).

Плацентарная дисфункция отмечена в 1 группе в 64,3% случаев, в 2 – в 62,2%, в 3 – 70,7%. Маловодие наиболее часто встречалось

в 1 групі - 35,7%, во 2 групі – 21,6%, в 3 групі – 19,5%.

Гемодинамічні порушення кровотоку по даним доплерометрії різної ступені були виявлені в 1 групі в 82,1% спостережень,

во 2 і 3 групах відповідно в 75,7% і 78,0% випадків. Частота і ступінь гемодинамічних порушень в досліджуваних групах вагітних СЗРП представлений в таблиці 4.

**Таблиця 4.**

**Частота і ступінь гемодинамічних порушень у вагітних з СЗРП, абс, %**

Ступінь гем. порушень	1 група n - 28	2 група n - 37	3 група n - 41
IA ст	7 – 25,0%	8 – 21,6%	6 – 29,3%
IB ст	9 – 32,1%	12 – 32,4%	8 – 24,4%
II ст	5 – 17,9%	6 – 16,2%	7 – 19,5%
III ст	2 – 7,1%	2 -5,4 %	2 – 4,9%
Без гем. порушень	5 – 17,9%	9 – 24,3%	9 – 22,0%

Оцінка вмісту TGF-β1 в крові вагітних з СЗРП в різні терміни показала, що рівень даного цитокіну відрізняється від аналогічних показувачів при фізіологічному перебігу вагітності ( табл.5). В 1 групі рівень в крові TGF-β1 був в 1,2 рази нижче,

чим в контролі (p < 0,05), во 2 і 3 групах – в 1,3 рази нижче, чем в контролі (p < 0,05). Слід відзначити, що з збільшенням терміну вагітності мав місце підвищення вмісту цитокіну як при фізіологічній вагітності, так при вагітності, ускладненій СЗРП.

**Таблиця 5**

**Вміст TGF-β1 в крові вагітних з СЗРП (M±m)**

Показувач	Групи вагітних			
	22- 28 нед	29- 32 нед	33 – 36 нед	
TGF-β1, пг/мл	Контроль	n 32 31,7±1,6	n 32 38,5±2,1**	n 32 43,6±1,5 *** , ****
	СЗРП	n 28 25,5±1,2 *	n 37 29,4±2,0 *	n 41 33,4±1,4 *, ***

Примітка: \* – вказана достовірність p < 0,05 між групами і контролем, \*\* – між 1-2 групами, \*\*\* – між 1-3 групами, \*\*\*\* – між 2-3 групами

При фізіологічній вагітності з збільшенням терміну вагітності в групах різниці вмісту TGF-β1 була достовірною, що можна розцінювати як відповідні зросту плоду процеси ангиогенезу. При наявності СЗРП показувач рівня TGF-β1 хоча і мав динаміку до зростання, однак був нижче контролю, що можна розцінювати як недостатність індукції процесів ангиогенезу, обумовленого впливом даного фактора.

Сравниваючи величини показувача TGF-β в крові вагітних з СЗРП в залежності від форми і ступені СЗРП відзначено найбільш низькі показувачі при симетричній формі і II - III ступені тяжкості СЗРП. Встановлені рівні TGF-β1 співпадали при цих умовах з глибиною гемодинамічних порушень, свідчать про той чи інший ступінь гіпоксії плоду.

Зменшення вмісту даного фактора, несомненно, є важливим ланкою в патогенетичній ланці метаболічних порушень при СЗРП.

Аналіз змін продукції трансформуючого фактора зросту TGF-β1 дозволив розглядати його дослідження як дослідження якості інформативного тесту діагностики СЗРП.

**ВИВОДИ**

1. Трансформуючий фактор зросту (TGF-β1) грає важливу роль в процесах ангиогенезу при фізіологічній вагітності.
2. Формування СЗРП супроводжується зниженням рівня TGF-β1 в крові вагітних, що свідчить про погіршення метаболічних процесів як умов розвитку плоду.

3. Определение продукции TGF- $\beta$ 1 в крови беременных можно рекомендовать как диагностический маркер для прогноза развития СЗРП
7. *Повещенко А.Ф.* Механизмы и факторы ангиогенеза / А.Ф.Повещенко, В.И. Коненков // Успехи физиол.наук 2010.-Т.41, №2.- С 69-89.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Макаров И.О.* Задержка роста плода. Врачебная тактика: учеб. пособие / И. О. Макаров, Е. В. Юдина, Е. И. Боровкова. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 56 с.
2. *Баева И. Ю.* К проблеме маловесных детей / И. Ю. Баева, Г. П. Черепова, Т. А. Кундик // Информационный арх. – 2009. – Т. 3, № 4. – С. 27–30.
3. Mortality risk in preterm and small-for-gestational-age infants in low-income and middle-income countries: a pooled country analysis / J. Katz, A. C. C. Lee, N. Kozuki et al. // The Lancet. – 2013. – Vol. 382, N 9890. – P. 417–425.
4. Cognitive function after intrauterine growth restriction and very preterm birth / E. Morsing, M. Asard, D. Ley et al. // Pediatrics. – 2011. – Vol. 127, N 4. – P. e874–e882.
5. *Маркарьян И.В.* Содержание факторов роста в крови беременных и их значение в диагностике синдрома задержки развития плода /И.В. Маркарьян, В.В.Авруцкая, Л.Ю.//Успехи современного естествознания.- 2005.- №10.-С.67-69
6. *Орлов В.И.* Продукция факторов роста и вазоактивных веществ при синдроме задержки роста плода / В. И. Орлов, В. В. Авруцкая, З. С. Крымшохалова.//Журн. акушерства и жен. болезней.– 2008. – № 2. – С. 84–89.

### РЕЗЮМЕ

#### **ТРАНСФОРМУЮЧИЙ ФАКТОР РОСТУ (TGF- $\beta$ ) В КРОВІ ВАГІТНИХ З СИНДРОМОМ ЗАТРИМКИ РОСТУ ПЛОДА**

*ГНАТКО О.П., КУРЧЕНКО А.І., КОРОСТИЛЬ М.О.*

Національний медичний університете імені О.О. Богомольця

Проведена оцінка вмісту в крові вагітних з СЗРП трансформуючого фактору росту - (TGF- $\beta$ 1) в терміні вагітності 22-36 тиж. гестації. Відмічено зниження рівня даного цитокіну в порівнянні з контрольною групою. Характер змін вмісту TGF- $\beta$ 1 в крові вагітних з СЗРП пов'язаний із формою та ступенем СЗРП, характером гемодинамічних порушень в системі мати-плацента-плід, що може бути використано в якості діагностичного маркера для прогнозу розвитку СЗРП.

### SUMMARY

#### **TRANSFORMING GROWTH FACTOR (TGF- $\beta$ ) IN THE BLOOD OF PREGNANT WOMEN WITH THE SYNDROME OF INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION**

*GNATKO EP, KURCHENKO AI, KOROSTIL MA*

Bogomoletz National Medical University

The blood content of transforming growth factor (TGF- $\beta$ 1) was evaluated in pregnant women with IUGR at 22-36 weeks of gestation. This cytokine was decreased compared with the control group. The nature of changes in the blood TGF- $\beta$ 1 in pregnant women with IUGR is related to the form and degree of IUGR, the nature of hemodynamic maternal-placental-fetal disorders that can be used as a diagnostic marker for the prediction of IUGR.