Охрана материнства и детства (2013) №2 **(22)** УДК 618.5-089.888

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДА ИНДУКЦИИ РОДОВ ПО УРОВНЯМ ЦИТОКИНОВ В ЦЕРВИКАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ

М.Л. ТЕСАКОВА, Л.М. НЕБЫШИНЕЦ, Е.В. МЕЛЬНИК, О.Л. МАЛОЛЕТКИНА, Г.И. ИВАНЧИК

Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск

Реферат

В статье представлены данные иммунологического исследования уровней провоспалительных (ИЛ-8, ФНО-α) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов в цервикальном секрете женщин с доношенной беременностью накануне самопроизвольных физиологических родов, а так же неосложненных и осложненных родов, индуцированных местными формами простагландинов и механическими средствами. Установлено, что при индукции родов механическими методами низкие показатели ИЛ-8 в цервикальном секрете накануне родовозбуждения характерны для осложненного течения предстоящих индуцированных родов. При индукции родов динопростон гелем о повышенном риске неблагоприятного исхода свидетельствует следующие изменения уровней цитокинов после индукции родов: повышение уровня ИЛ-4, снижение уровня ИЛ-8, отсутствие роста уровня ФНО-α.

Ключевые слова: цитокины, цервикальный секрет, интерлейкины, ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО-α, самопроизвольные роды, индуцированные роды.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным исследованиям успешное пролонгирование беременности и развитие родового процесса являются следствием динамического равновесия в системе мать-плацента-плод, которое поддерживается иммунной системой и зависит от баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [1, 2].

При физиологическом течении беременности в децидуальной ткани преобладает секреция ИЛ-4 и ИЛ-10, которые являются мощными ингибиторами иммунных и воспалительных реакций [3, 4].

Цитокины ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО-α, наоборот, запускают процесс прерывания беременности, что сопровождается повышением их активности в крови при угрожающем выкидыше [5], в околоплодных водах при преждевременных и срочных родах [6, 7].

ИЛ-4 совместно с ИЛ-10 и прогестероном участвует в подготовке эндометрия к имплантации, обеспечивая локальную иммуносупрессию [1]. В свою очередь, ИЛ-10 стимулирует продукцию прогестерона и созревание желтого тела беременности [4].

ИЛ-8 является хемоаттрактантом и активатором нейтрофилов, отвечающим за направленную миграцию последних из крови в периферическую ткань [8]. Под влиянием ИЛ-8 в нейтрофильных гранулоцитах происходит высвобождение ферментов: эластазы, коллагеназы, миелопероксидазы, что приводит к структурным изменениям в шейке матки [1, 9]. C.G. Barclay и R.Kelly предложили использовать ИЛ-8 с целью ускорения процессов «созревания» шейки матки и индукции родов [10].

ФНО-α способствует высвобождению арахидоновой кислоты и, как следствие, продукции миометрием простагландинов, а также повышает выработку матриксной металлопротеиназы, что приводит к подготовке шейки матки к родам [11]. Согласно данным некоторых авторов содержание ФНО-α в цервиковагинальном секрете накануне срочных родов увеличивается [12, 13].

Наиболее доступными биоматериалами для иммунологического исследования у женщин во время беременности и накануне родов являются кровь и цервикальный секрет. Ряд исследователей отмечает локальность проявления эффектов цитокинов, поэтому в норме в системном кровотоке обнаруживаются лишь их следовые концентрации [14]. Это обусловило наш интерес к изучению уровней цитокинов в цервикальном секрете для определения степени готовности организма беременной к родам и прогнозирования исхода индукции родов.

ЦЕЛЬ

Исследовать уровни провоспалительных (ИЛ-8, ФНО-α) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов в цервикальном секрете женщин с доношенной беременностью накануне самопроизвольных физиологических родов, а также накануне индуцированных местными формами простагландинов (динопростон вагинальный гель) и механическими сред-

ствами родов с осложнениями и без них для выявления прогностических критериев развития неблагоприятного исхода при родовозбуждении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 67 женщин, госпитализированных для родоразрешения в Учреждение здравоохранения «Клинический родильный дом Минской области» в период с февраля 2011 г. по сентябрь 2012 г. в сроке беременности 37-42 недели.

Критериями включения в основную группу явились: доношенная беременность, «незрелая» или недостаточно «зрелая» шейка матки, показания для индукции родов, отсутствие генитальных и экстрагенитальных воспалительных заболеваний.

Критериями включения в контрольную группу явились: доношенная беременность, «зрелая» шейка матки, самопроизвольное развитие родовой деятельности, отсутствие генитальных и экстрагенитальных воспалительных заболеваний.

Критериями исключения пациенток из исследования явились: нежелание участвовать в исследовании, наличие острых и обострение хронических воспалительных заболеваний любой локализации, недоношенная или переношенная беременность, противопоказания для родоразрешения через естественные родовые пути.

Для определения нормальных показателей цитокинов в цервикальном секрете накануне родов (за 1-14 сутки до родов) их уровни были изучены у женщин, родовая деятельность которых развилась самопроизвольно, роды закончились через естественные родовые пути, и не было случаев дистресса плода и асфиксии новорожденного. Данные женщины составили контрольную группу (n=26).

Женщины с индуцированными родами (n=41) составили основную группу, в которой были выделены 3 подгруппы – 1-я подгруппа, 2-я подгруппа и 3-я подгруппа – в зависимости от выбранного метода родовозбуждения. Каждая из подгрупп в зависимости от исхода индукции родов подразделялась на подгруппу А (с неблагоприятным исходом – асфиксия новорожденного, кесарево сечение) и подгруппу Б (с благоприятным исходом – роды через естественные родовые пути, без асфиксии новорожденного). В 1-ю подгруппу было включено 16 пациенток, родовозбуждение которым осуществлялось интравагинальным введением динопростон геля (1 мг однократно), из них подгруппу 1А составили 10 (62,5%) женщин, подгруппу 1Б – 6 (37,5%). 2-ю подгруппу составили 11 пациенток, родовозбуждение которым проводилось путем введения интрацервикально ламинарий в количестве до 6 штук на 16-18 часов (однократно), из них в подгруппе 2А оказалось 7 (63,6%) беременных, в подгруппе 2Б – 4 (36,4%). В 3-ю подгруппу вошли 14 женщин, родовозбуждение которым осуществлялось введением катетера Фолея за внутренний зев шейки матки (нагнетание в баллон 40-60 мл 0,9% раствора NaCl), из них подгруппу 3А составили 5 (35,7%) беременных, подгруппу 3Б – 9 (64,3%).

Показатели провоспалительных (ИЛ-8, ФНО-α) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов в цервикальном секрете женщин изучались до и после применения индуктора в основной группе и накануне самопроизвольных родов в группе контроля.

Забор цервикального отделяемого производили цитологической щеткой накануне самопроизвольных родов (1-14 сутки до родов), а также до применения индукторов (за 1-24 часа) и после применения индукторов: через 4-6 часов после вагинального введения динопростон геля и через 18-24 часа после введения механического средства в предварительно взвешенные пробирки.

Методика обработки цервикального секрета и иммунологического исследования. Для определения цитокинов в цервикальном секрете последний гомогенизировали, разводили дистиллированной водой до концентрации 0,1 г/мл. Пробирку с полученным

Таблица 1. Уровни цитокинов в цервикальном секрете беременных до и после применения динопростон геля

Цитокины	1-я подгруппа основной группы				Контрольная группа (n=26)
	1А (n=10)		1Б (n=6)		
	До индукции	После индукции	До индукции	После индукции	
	Me (QL-QU)	Me (QL-QU)	Me (QL-QU)	Me (QL-QU)	Me (QL-QU)
ИЛ-4 (пг/мл)	2,4 (0,0-6,5)	5,9** (4,6-8,6)	0,0 (0,0-5,6)	3,7 (0,0-7,4)	0,0 (0,0-5,7)
ИЛ-8 (пг/мл)	477,2 (268,9-625)	64,4 (42,9-256,5)	223,8 (75,7-435,5)	434,9 (172,2-625)	336,9 (111,3-505,5)
ИЛ-10 (пг/мл)	2,3 (1,5-3,4)	0,0 (0,0-3,0)	1,1 (0,0-2,5)	2,3 (1,6-3,0)	1,5 (0,0-3,2)
ФНО-α (пг/мл)	1,7 (0,0-2,4)	1,8 (0,5-2,3)	1,5 (0,9-2,3)	3,6* (1,8-4,8)	1,6 (0,3-2,3)

* различия статистически значимы в сравнении с соответствующим показателем в группе контроля, $p<0,05$

** различия статистически значимы в сравнении с соответствующими показателями в подгруппе 1А до индукции, $p<0,05$

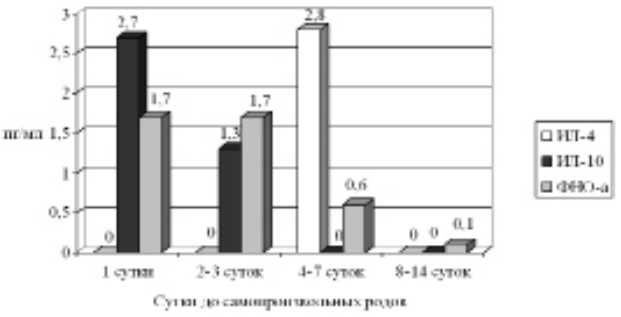

Рисунок 1. Уровни ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО-α в цервикальном секрете накануне самопроизвольных физиологических родов

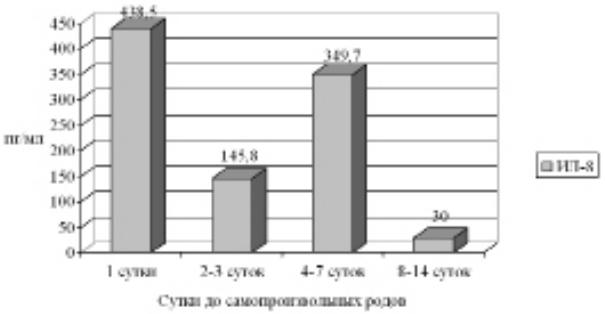

Рисунок 2. Уровень ИЛ-8 в цервикальном секрете накануне самопроизвольных физиологических родов

материалом центрифугировали 2700 оборотов/мин в течение 5 минут. Полученная надосадочная жидкость послужила материалом для иммунологического исследования, которое выполнялось на высокоскоростной автоматической системе для подготовки иммуноферментных и аллергологических анализов на 96 луночных микропланшетах с использованием аппарата BRIO-SIRIO. Использовали иммуноферментные наборы для определения ИЛ4, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО-α ООО «ЦИТОКИН» (Россия). Уровни цитокинов измерялись в пикограмм на миллилитр (пг/мл).

Статистическая обработка результатов выполнена в программе STATISTICA 6.0. Проверка нормальности распределения признака проводилась при помощи W-теста Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде Me (QL-QU), где Me – медиана, а QL-QU – межквартильный размах (25‰ и 75‰). Статистические различия между группами определяли с помощью критерия U тест Манна-Уитни, Вилкоксона. Различия считали достоверными при значении $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование вошли беременные женщины в возрасте 25,7 (22-28) лет. Пациентки всех подгрупп основной и контрольной групп были сопоставимы между собой по возрасту, соотношению перво- и повторнородящих, частоте сопутствующей патологии, особенностям репродуктивной функции, сроку беременности и ее осложнениям ($p>0,05$).

Было установлено, что в течение 1-14 суток перед физиологическими родами показатели цитокинов в цервикальном секрете статистически значимо не изменяются (рис. 1, 2). Вследствие этого, в контрольной группе приводятся средние значения показателей цитокинов в цервикальном секрете за весь указанный временной промежуток.

Данные иммунологического исследования цервикального секрета у женщин до и после индукции родов динопростон гелем (1-я подгруппа) отражены в таблице 1 и на рисунках 3, 4.

Уровень ИЛ-4 в подгруппе 1А после применения индуктора был достоверно выше, чем в подгруппе 1А до применения индуктора: 5,9 (4,6-8,6) пг/мл и 2,4 (0,0-6,5) пг/мл соответственно, $p<0,05$, T=0,0; Z=2,02; p=0,0431.

При анализе показателей ИЛ-8 в цервикальном секрете пациенток не было выявлено статистически значимых отличий в подгруппах 1А и 1Б между собой и с контрольной группой ($p>0,05$). Однако в подгруппе 1А после применения индуктора наблюдалось снижение показателя ИЛ-8 в 2 и более раза: с 477,2 (268,9-625) пг/мл до 64,4 (42,9-256,5) пг/мл. В то время, как в подгруппе 1Б наблюдался прирост данного показателя: с 223,8 (75,7-435,5) пг/мл до 434,9 (172,2-625) пг/ мл.

При анализе показателей ИЛ-10 не было выявлено статистически значимых отличий подгрупп 1А и 1Б между собой и с контрольной группой ($p>0,05$).

Уровень ФНО-α в подгруппе 1Б после применения индуктора был достоверно выше, чем в контрольной группе: 3,6 (1,8-4,8) пг/мл и 1,6 (0,3-2,3) пг/мл соответственно, $p<0,05$, p=0,0454. Кроме того, в подгруппе 1Б наблюдался прирост данного показателя после приме-

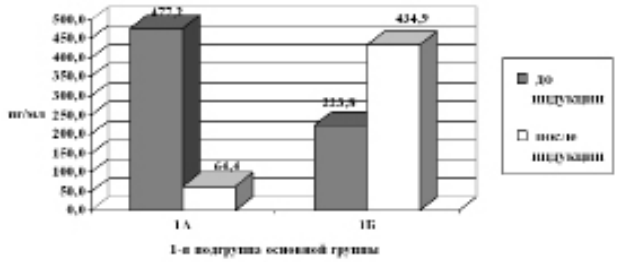

Рисунок 3. Уровень ИЛ-8 в цервикальном секрете до и после индукции родов динопростон гелем

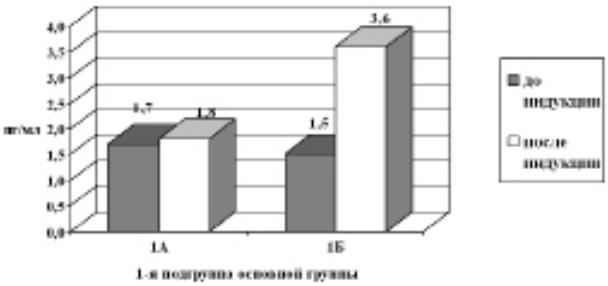

Рисунок 4. Уровень ФНО-α в цервикальном секрете до и после индукции родов динопростон гелем

Таблица 2. Показатели цитокинов в цервикальном секрете беременных до и после применения ламинарий

Цитокины	2-я подгруппа основной группы				Контрольная группа (n=26)
	2А (n=7)		2Б (n=4)		
	До индукции Me (QL-QU)	После индукции Me (QL-QU)	До индукции Me (QL-QU)	После индукции Me (QL-QU)	Me (QL-QU)
ИЛ-4 (пг/мл)	0,0 (0,0-0,0)	3,1 (0,0-51,8)-	0,0 (0,0-3,4)	0,0 (0,0-1,3)	0,0 (0,0-5,7)
ИЛ-8 (пг/мл)	117,3** (106,2-146,9)	410,4 (242,4-543,4)	473,4 (295,3-625,0)	334,3 (203,1-465,5)	336,9 (111,3-505,5)
ИЛ-10 (пг/мл)	1,2 (0,0-2,6)	2,6 (0,0-5,2)	0,0 (0,0-1,5)	0,0 (0,0-0,0)	1,5 (0,0-3,2)
ФНО-α (пг/мл)	2,2*** (1,5-2,3)	2,1* (1,9-2,9)	1,3 (1,0-1,4)	2,1 (1,5-2,9)	1,6 (0,3-2,3)

* различия статистически значимы в сравнении с соответствующим показателем в группе контроля, p<0,05

** различия статистически значимы в сравнении с соответствующими показателями в подгруппе 2Б и контрольной группе, p<0,05

*** различия статистически значимы в сравнении с соответствующим показателем в подгруппе 2Б, p<0,05

нения индуктора в 2 и более раза: с 1,5 (0,9-2,3) пг/ мл до 3,6 (1,8-4,8) пг/мл. А в подгруппе 1А после применения индуктора не было отмечено повышение данного показателя (1,7 (0,0-2,4) пг/мл и 1,8 (0,5-2,3) пг/мл соответственно).

Данные иммунологического исследования цервикального секрета у женщин до и после индукции родов ламинариями (2-я подгруппа) отражены в таблице 2.

При анализе показателей ИЛ-4, ИЛ-10 в цервикальном секрете пациенток 2-й подгруппы не было выявлено статистически значимых отличий подгрупп 2А и 2Б между собой и с контрольной группой (p>0,05).

Уровень ИЛ-8 в подгруппе 2А до применения индуктора был достоверно ниже, чем в подгруппе 2Б до применения индуктора и в контрольной группе: 117,3 (106,2-146,9) пг/мл, 473,4 (295,3-625,0) пг/мл и 336,9 (111,3-505,5) пг/мл соответственно, p<0,05. Доверительный интервал для ИЛ-8 в подгруппе 2А до применения индуктора – 95% ДИ (100,3-121,9), следовательно, прогностическим критерием неблагоприятного исхода индукции родов ламинариями является верхняя граница доверительного интервала – 121,9 пг/мл.

Уровень ФНО-α в подгруппе 2А до применения индуктора был достоверно выше, чем в подгруппе 2Б до применения индуктора: 2,2 (1,5-2,3) пг/мл и 1,3 (1,0-1,4) пг/мл соответственно, p<0,05, p=0,0321. Однако данный показатель не отличался от аналогичного в контрольной группе, p>0,05. Уровень ФНО-α в подгруппе 2А после применения индуктора был достоверно выше, чем в контрольной группе: 2,1 (1,9-2,9) пг/мл и 1,6 (0,3-2,3) пг/мл соответственно, p<0,05, p=0,0475. Однако данный показатель не отличался от аналогичного в подгруппе 2Б, p>0,05.

Данные иммунологического исследования цервикального секрета у женщин до и после индукции родов катетером Фолея (3-я подгруппа) отражены в таблице 3.

При анализе показателей ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО-α в цервикальном секрете пациенток 3-й подгруппы не было выявлено статистически значимых отличий подгрупп 3А и 3Б между собой и с контрольной группой (p>0,05).

ВЫВОДЫ

1. Показатели цитокинов в цервикальном секрете у женщин накануне (за 1-14 сутки) самопроизвольных физиологических родов составляют: ИЛ-4 0,0 (0,0- 5,7) пг/мл, ИЛ-8 336,9 (111,3-505,5) пг/мл, ИЛ-10

Таблица 3. Показатели цитокинов в цервикальном секрете беременных до и после применения катетера Фолея

Цитокины	3-я подгруппа основной группы				Контрольная группа (n=26)
	3А (n=5)		3Б (n=9)		
	До индукции Me (QL-QU)	После индукции Me (QL-QU)	До индукции Me (QL-QU)	После индукции Me (QL-QU)	Me (QL-QU)
ИЛ-4 (пг/мл)	6,1 (3,4-14,2)	7,8 (0,0-10,1)	4,1 (0,0-10,3)	3,4 (0,0-9,2)	0,0 (0,0-5,7)
ИЛ-8 (пг/мл)	124,1 (64,4-183,7)	345,1 (288,8-500,3)	117,4 (18,2-316,9)	445,0 (325,6-611,5)	336,9 (111,3-505,5)
ИЛ-10 (пг/мл)	0,0 (0,0-3,0)	2,8 (1,5-3,2)	2,6 (2,1-2,8)	1,5 (0,6-2,9)	1,5 (0,0-3,2)
ФНО-α (пг/мл)	1,5 (1,4-2,2)	1,7 (1,5-1,9)	1,5 (1,0-1,8)	1,9 (0,5-2,3)	1,6 (0,3-2,3)

1,5 (0,0- 3,2) пг/мл, ФНО-α 1,6 (0,3-2,3) пг/мл.

2. При родовозбуждении вагинальным введением динопростон геля факторами риска неблагоприятного исхода предстоящих родов являются следующие уровни цитокинов в цервикальном секрете через 4-6 часов после индукции:

• повышение уровня ИЛ-4 от первоначального в 2 и более раза;

• снижение уровня ИЛ-8 от первоначального в 2 и более раза;

• отсутствие роста уровня ФНО-α от первоначального или его незначительный прирост;

3. При родовозбуждении введением ламинарий интрацервикально повышенный риск неблагоприятного исхода индукции родов демонстрирует следующий показатель иммунологического исследования цервикального секрета до индукции (за 1-24 часа):

• ИЛ-8 ≤ 121,9 пг/мл;

4. При родовозбуждении введением катетера Фолея за внутренний зев шейки матки не было выявлено иммунологических показателей в цервикальном секрете, позволяющих прогнозировать повышенный риск неблагоприятного исхода индукции родов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Левкович, М. А. Современные представления о роли цитокинов в генезе физиологического и патологического течения беременности/М. А. Левкович // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 3. С.37-40.
2. Ширшев, С.В. Белки фетоплацентарного комплекса в регуляции иммунных реакций Текст./ С.В. Ширшев / Успехи современной биологии.- 1993. Т.l 13, №2. - С. 230-246
3. Иммуноморфологические изменения в децидуальной ткани при неразвивающейся беременности сопутствующей урогенитальной хламидийной инфекции / Мещерякова А.В. [и др. //]Акуш. и гинек. – 2001. – № 3 – С.22–24.
4. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions / M. Makhseed [et al.] // Hum Reprod. – 2001. – № 10. – P. 2219– 2226.
5. Особенности цитокиновой регуляции эндотелиально-гемостазиологических взаимодействий при угрозе прерывания беременности в I триместре / И. А. Газиева, Г. Н. Чистякова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 2 – С. 16–20.
6. Cytokine production in chorioamnionitis / F Saji [et al.] // J Reprod Immunol. – 2000. – № 2. – P. 185 – 196.
7. Cytokines and other important inflammatory mediators in gestation and bacterial intraamniotic infections / I Splíchal [et al.] // Folia Microbiol (Praha). – 2001. – № 4. – P. 345 –351.
8. Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8 / N. Mukaida [et al.] // J. Immunol. – 1989. – Vol. 143, № 4. – P. 1366-1371.
9. Schafer, W.R. (Patho-)Physiologische Grundlagen des Geburtsbeginns / W.R. Schafer, H.P. Zahradnik // Der Gynakologe. – 2004. – Vol. 37, № 4. – P. 305-313.
10. Choriodecidual production of interleukin-8 and mechanism of parturition/ R.W Kelly [et al.] // Lancet. – 1992. – V. 339. – P. 776-777.
11. Тетруашвили Н.К. Роль системы цитокинов в патогенезе привычного выкидыша и преждевременных родов / Н.К. Тетруашвили, В.М. Сидельникова//Вестн. Росс, акушгин.- 1999. № 3. - С.37-45.
12. Воскресенский, С.Л. Уровни цитокинов TNF и IL-1в цервикальной слизи во время неосложненной беременности и родов/С.Л. Воскресенский, А.Ч. Федорков // Материалы VIII всероссийского форума «Мать и дитя», Москва, 3-6 июня 2006 г./ Москва; редкол.: В.И. Кулаков [и др.].– М.,2006. – С. 63
13. Содержание цитокинов в цервикальной слизи у беременных женщин накануне родов / С.Л. Воскресенский, А.Ч. Федорков [и др.] // Репродуктивное здоровье восточная Европа. – 2012. − № 2. – С. 19−26.
14. Особенности продукции цитокинов при физиологической и осложненной беременности/Н.А. Хонина [и др.] // Акуш. и гин. – 2006. – №2. – С. 11—15

FORECASTING OF THE OUTCOME OF THE INDUCTION OF LABORACCORDING TO THE LEVELS OF CYTOKINES IN CERVICAL SECRET

M.L. TESAKOVA, L.M. NEBYISHINEC, E.V. MELNIK, O.L. MALOLETKINA, G. I. IVANCHIK

The Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

Abstract

In the article are submitted data of immunologic research of the levels of proinflammatory and antiinflammatorycytokines in cervical secret of women with fullterm pregnancy on the eve of spontaneous physiological labor, and uncomplicated and complicated labor induced by local forms of prostaglandins and mechanical agents. It is established that in case of induction of laborwith the mechanical methods low indicators of IL-8 in cervical secret on the eve of the induction of labor are characteristic for the complicated current of the forthcoming induced labor. In case of the induction of laborwith dinoprostonum gel the increased risk of the adverse outcome is shown by the following changes of cytokines levels after the induction of labor: IL-4 level rising, IL-8 level depression, lack of the increase of TNF-a level.

Key words: cytokines, cervical secret, interleukins,IL-4, IL-8, IL-10, TNF-α, spontaneous labor, induced labor.