



## ЛИТЕРАТУРА

1. Серов, В.Н. Неотложная помощь в акушерстве и гинекологии / под ред. В.Н. Серова. – М.: Изд-во: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 345 с.
2. Радзинский, В.Е. Акушерский риск: Максимум информации - минимум опасности для матери и младенца / В. Е. Радзинский, С. А. Князев, И. Н. Костин. — М.: Эксмо, 2009. – 288 с.
3. Черноситов, А.В. Неспецифическая резистентность, функциональные асимметрии и женская репродукция / А.В. Черноситов. – Ростов-на-Дону: Изд - во СКНЦ ВИ, 2000. - 193 с.
4. Агаджанян, Н.А. Хронофизиология хронофармакология и хронотерапия / Н.А. Агаджанян, В.И. Петров, И.В. Радыш. – М.; Волгоград, 2005. – 335 с.
5. Боташева, Т.Л. Хронофизиологические и стереофункциональные особенности системы «мать–плацента–плод» при нормальном и осложненном течении беременности: дис. ... д-ра мед. наук: – 14.00.17, 14.00.01 / Боташева Татьяна Леонидовна. – Ростов н/Д, 1999. – 392 с.
6. Руцкова, Е. М. Особенности цикла сон-бодрствование у крыс на ранней стадии беременности: автореф. дисс... канд. биол. наук: 03.03.01/ Руцкова Елизавета Михайловна - Москва, 2010. - 28 с.
7. Левин, Я.И. Инсомния, современные диагностические и лечебные подходы / Я.И. Левин, Г.В. Ковров, М.Г. Полуэктов - М.: Медпрактика - М, 2005.
8. Анисимов, В.Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма / В.Н. Анисимов // Успехи физиол. наук. - 2008. - Т. 39, № 4. - С. 40–65.
9. Вейн, А.М. Сон человека. Физиология и патология / А. М. Вейн, К. Хехт. - М.: Медицина, 1989.- 270с.
10. Ковров, Г.В. Стресс и сон у человека / Г.В. Ковров, А.М. Вейн.- М.: Нейромедиа, 2004. 96 с.

ПОСТУПИЛА 26.07.2013

УДК 618.36.-008.64

**А.С. Дегтярева<sup>1</sup>, И.И. Крукиер<sup>1</sup>, Е.В. Нарезная<sup>2</sup>, В.В. Авруцкая<sup>1</sup>,  
М.А. Левкович<sup>1</sup>, А.А. Никашина<sup>1</sup>**

## **РОЛЬ ЦИТОКИНОВ И АГМАТИНА В РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ПЛАЦЕНТЕ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ И ОСЛОЖНЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИМ**

<sup>1</sup>*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии  
Россия, 344012, Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43; e-mail: biochem@rniiar.ru;*

<sup>2</sup>*Южный федеральный университет, химический факультет  
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, 7.*

Цель: изучение содержания цитокинов и агматина в процессе развития плаценты при физиологической и осложненной гестации.

Материалы и методы: обследовано 57 женщин, из них 34 с физиологическим течением беременности и 23 с плацентарной недостаточностью (ПН). В раннем хорионе после прерывания беременности и доношенной плаценте методом иммуноферментного анализа изучено содержание трансформирующего фактора роста (ТФР- $\alpha$  и ТФР- $\beta$ ), фактора некроза опухоли-  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и методом капиллярного электрофореза – уровень агматина.

Результаты: Установлено увеличение плацентарной продукции как ТФР- $\alpha$  и ТФР- $\beta$ , так и ФНО- $\alpha$  в процессе нормальной гестации. При доношенной беременности, осложненной ПН и самопроизвольно прервавшейся в первом триместре, содержание ТФР- $\beta$  и ФНО- $\alpha$  повышено относительно физиологических величин, а ТФР- $\alpha$  – снижено в изученные сроки гестации. Для агматина обнаружены разнонаправленные изменения: в ранние сроки его уровень снижен, а к концу гестации – повышен по сравнению с физиологической беременностью.

Выводы: выявленные изменения процессов продукции цитокинов и агматина в хорионе и плаценте могут иметь патогенетическое значение в развитии плацентарной недостаточности.

**Ключевые слова:** трансформирующий фактор роста- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ), трансформирующий фактор роста- $\alpha$  (ТФР- $\alpha$ ), фактор некроза опухоли-  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), агматин, хорион, плацента.



A.S. Degtyareva<sup>1</sup>, I.I. Krukier<sup>1</sup>, E.V. Narezhnaya<sup>2</sup>, V.V. Avrutskaya<sup>1</sup>,  
M.A. Levkovich<sup>1</sup>, A.A. Nikashina<sup>1</sup>

## THE ROLE OF CYTOKINES AND AGMATINE IN THE DEVELOPING PLACENTA WITH PHYSIOLOGICAL AND PREGNANCY COMPLICATED

<sup>1</sup>Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics  
43, Mechnikova Str., Rostov-on-Don, 344012, Russia. E-mail: biochem@rniiap.ru

<sup>2</sup>Southern Federal University, Faculty of Chemistry  
7 R.Zorge st., Rostov-on-Don, 344090, Russia

**Purpose:** To study the content of cytokines and agmatine in the development of the placenta in physiological and complicated gestation.

**Materials and Methods:** 57 women, of which 34 women with physiological pregnancy and 23 women with placental insufficiency were examined. In the early chorion after the abortion and full-term placenta the content of the transforming growth factor (TGF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was studied by means of the immune-enzyme analysis. The level of agmatine was studied by capillary electrophoresis.

**Results:** In the process of normal gestation the increase of the placental production both of the TGF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  was established. During the pregnancy complicated with placental insufficiency and abortion in the first trimester the content of TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$  was raised, and content of TGF- $\alpha$  was lowered in comparison with the physiological values. For agmatine differently directed changes were revealed: in the early stages of its level was reduced, and by the end of gestation - increased compared with physiological pregnancy.

**Summary:** The revealed changes of the production processes of the cytokines and agmatine in the placenta may have the pathogenic meaning in the abortion and placental insufficiency development.

**Key words :** transforming growth factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), transforming growth factor- $\beta$  (TGF - $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$ , agmatine, chorion, placenta.

### Введение

Конечной целью формирования функциональной системы «мать-плацента-плод» является рождение здорового ребенка. Поскольку беременность представляет собой стремительно развивающуюся систему с прогрессирующей нагрузкой на её компоненты, выявить те или иные отклонения можно только при динамическом контроле за одними и теми же показателями. Взаимоотношения матери и плода во многом зависят от состояния плаценты, объединяющей эти два организма в единую биологическую систему. Нарушения функционально-метаболической полноценности плаценты, превышающие ее компенсаторно-приспособительные возможности, приводят к истощению последних и формированию осложненной беременности. Различные осложнения беременности и экстрагенитальные заболевания матери часто приводят к изменениям в плаценте, нарушая ее функции, что обуславливает формирование плацентарной недостаточности (ПН) и в свою очередь отрицательно сказывается на состоянии плода.

Современный этап в развитии плацентологии требует изучения тонких биохимических механизмов регуляции на внутри- и межклеточном уровне, обеспечивающих нормальное развитие плаценты и, следовательно, фетоплацентарного комплекса в целом. Особый интерес представляет изучение плацентарных факторов роста, являющихся мощными регуляторными биосубстанциями,

которые стимулируют пролиферативные процессы в тканях плаценты и плода и принимают активное участие в ангиогенезе. Известно, что факторы роста играют важную роль и в процессах эмбриогенеза. Так, ТФР- $\alpha$  – полипептид, являющийся сильным митогеном для эпителиальных клеток и фибробластов, принимает также участие в росте и стимуляции дифференциации фолликулов [1]. Наряду с активирующими факторами, участвующими в регуляции клеточного роста, существуют факторы, ингибирующие пролиферацию клеток-мишеней. К одному из таких факторов относится ТФР- $\beta$ . Семейство ТФР- $\beta$  состоит из несколько подсемейств, к которым относятся активины, ингибины и другие цитокины. ТФР- $\beta$  является цитокином системного действия, поскольку он и его специфические рецепторы выявлены практически во всех типах клеток. ТФР- $\beta$ , выделенный из гомогенатов плацентарной ткани, признан местнодействующим фактором, регулирующим пролиферацию и инвазию цитотрофобласта в плацентарно-маточной области. Иммуногистохимически он обнаружен в синцитиотрофобласте, эпителии ворсин, во вневорсинчатых субпопуляциях цитотрофобласта [2].

В последние годы появилось множество сообщений о роли ФНО- $\alpha$  в регуляции процессов апоптоза на ранних стадиях гестации известно также его участие в регуляции инвазии клеток трофобласта [3;4]. Данный фактор усиливает пролиферацию Т и В-клеток, образование адгезивных молекул, острофазных белков, активирует фибробласты.



Регуляторами многочисленных физиологических функций в организме являются аминокислоты и их производные – биогенные амины. Так, агматин наряду с другими аминами считается важным нейромедиатором и модулятором клеточной пролиферации и воспаления, т. е. он становится важнейшим фактором для эмбрионального развития и дифференциации клеток и, кроме того, ингибирует активность NO-синтазы и индуцирует высвобождение некоторых пептидных гормонов [5].

Цель настоящей работы - изучение содержания некоторых цитокинов и агматина в процессе развития плаценты при физиологической и осложненной гестации.

### Материалы и методы

Обследовано 57 беременных 23-29-летнего возраста. Исследования проведены в ткани плаценты в первом триместре беременности (хорион) и после своевременных родов. Группу 1 составили 15 клинически здоровых женщин, беременность которых была прервана по их желанию в 6-12 недель. У 19 женщин беременность и роды протекали без осложнений и закончилась рождением доношенного ребенка (группа 2). В группу 3 вошли 10 женщин с плацентарной недостаточностью, беременность которых самопроизвольно прервалась в 6-10 недель и в группу 4 – 13 женщин с ПН, у которых беременность была доношена. Диагноз ПН был поставлен на основании комплексного обследования, включающего ультразвуковую фетоплацентометрию, гормональные исследования и определение специфического плацентарного изофермента – глутаматдегидрогеназы.

Содержание ТФР-β, ТФР-α и ФНО-α в гомогенатах хориона и плаценты определяли методом иммуноферментного анализа, используя коммерческие наборы «R&D system» (USA) в соответствии с протоколами исследования производителей.

Идентификацию и количественное определение агматина выполняли методом капиллярного электрофореза с использованием немодифицированного кварцевого капилляра («Капель-105», «Люмэкс», С-Петербург, Россия). Сбор и обработку данных осуществляли при помощи IBM PC с программным обеспечением «Мультихром» (АО

«Амперсенд»). Перед началом работы капилляр последовательно промывали 1 М раствором соляной кислоты, дистиллированной водой, 0,5 М раствором гидроксида натрия, и буферным раствором (20мМ боратный буфер, рН – 9,15), время ввода пробы 15 сек., при давлении 30 мбар, рабочее напряжение – 20 кВ. Спектрофотометрическое исследование проб проводили при температуре 30° С и длине волны 200 нм.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 5.1, фирмы StatSoft.. Inc.). Однородность дисперсий оценивали по критерию Фишера. Для оценки статистической значимости различий между сравниваемыми группами использовали критерий Стьюдента и непараметрический критерий Манна-Уитни. Достоверными считались различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что в процессе развития беременности плацентарная продукция изученных факторов роста (ТФР-β, ТФР-α) возрастает. Так, уровень ТФР-β в «зрелой» плаценте (группа 2) превышает соответствующие показатели в хорионе (группа 1) в 2,7 раза, а содержание ТФР-α увеличено в плаценте на 42% по сравнению с начальными сроками. По-видимому, именно такое соотношение ТФР-α и ТФР-β является физиологически сбалансированным и направлено на создание оптимальных условий для процессов плацентации.

В процессе физиологического развития плаценты имеет место усиление апоптоза, что выражается в увеличении уровня ФНО-α в 2 раза по сравнению с начальными сроками. Очевидно, это связано с обновлением клеток плаценты к моменту родов, а также сбалансированностью в этот период пролиферативных и апоптотических процессов. Причем модифицировать синтез ФНО-α способен и ТФР-β, являющийся ингибитором роста для клеток различных типов. Что касается уровня агматина, то его максимальное содержание при физиологической беременности отмечено в первом триместре, а к родам снижается на 52%.

Таблица 1

### Содержание ТФР-β, ТФР-α, ФНО-α и агматина в хорионе и плаценте женщин при физиологической беременности и плацентарной недостаточности (M±m)

Параметры	ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕРЕМЕННОСТЬ		ПЛАЦЕНТАРНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ	
	1 группа (хорион)	2 группа (плацента)	3 группа (хорион)	4 группа (плацента)
ТФР-β (нг/г)	0,21±0,02	0,58±0,05•	1,26±0,12*	2,07±0,11**
ТФР-α (нг/г)	0,77±0,04	1,09±0,07•	0,33±0,05*	0,60±0,14**
ФНО-α (нг/г)	9,68±0,80	12,0±0,59•	24,3±2,04*	33,2±2,52**
Агматин (мг/г)	3,5±0,5	2,3±0,2•	2,0±0,22**	5,5±0,9**

Примечание: • - достоверные отличия между показателями 1-й и 2-й групп; \* - достоверные отличия между показателями 1-й и 3-й групп; \*\* - достоверные отличия между показателями 2-й и 4-й групп.



Нарушение физиологического баланса изученных нами биоактивных соединений, участвующих в метаболическом обеспечении процессов клеточного роста и дифференцировки в плаценте, превышающее компенсаторно-приспособительные возможности органа, по-видимому, приводит к истощению последних и формированию ПН.

Уже на начальных этапах формирования органа,

при осложненной ПН беременности, наблюдаются существенные сдвиги в уровне изученных нами цитокинов и агматина. Уровень ТФР- $\alpha$  и агматина в различной степени снижен (на 57% и 43% соответственно), а продукция ТФР- $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , напротив, значительно повышена (в 6 – для ТФР $\beta$  и 2,5 раза – для ФНО- $\alpha$ ) в первом триместре осложненной гестации относительно нормальных величин (рис. 1).

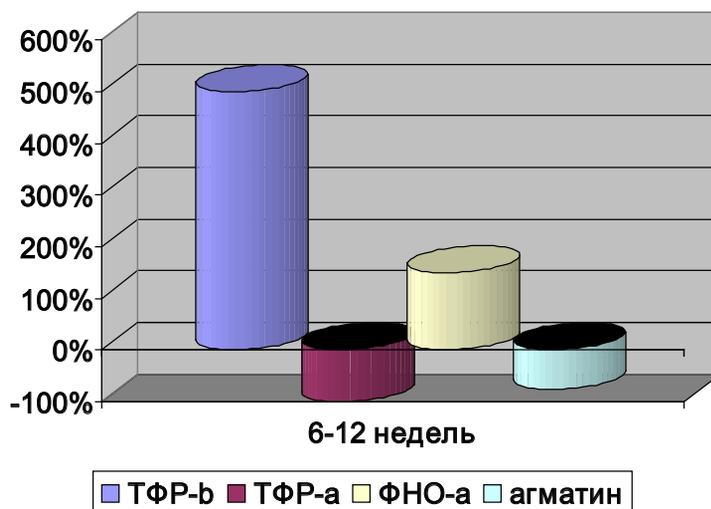


Рис. 1 Изменение содержания цитокинов и агматина (в % к контролю) в хорионе женщин (6-12 недель) при осложненной беременности.

На нарушение синхронности в действии изученных факторов роста при плацентарной недостаточности влияют, по-видимому, многочисленные регуляторные функции ТФР $\beta$ , в том числе: ингибирование активности НО-синтазы и генерации оксида азота; индукция активности аргиназы и модификация экспрессии других цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ТФР- $\alpha$ , ИЛ-1). Если в ранние сроки гестации интенсивная продукция ТФР- $\beta$  необходима для обеспече-

ния развития трофобласта, то последующее её повышение относительно нормальных величин может провоцировать его негативное влияние прежде всего на процессы гемодинамики в фетоплацентарной системе [6].

Так, уровень ТФР- $\beta$  в доношенной плаценте был также повышен в 3,5 раза, а продукция ТФР- $\alpha$  снижена на 45% как и в ранние сроки гестации, но изменения эти были менее выражены (рис. 2).

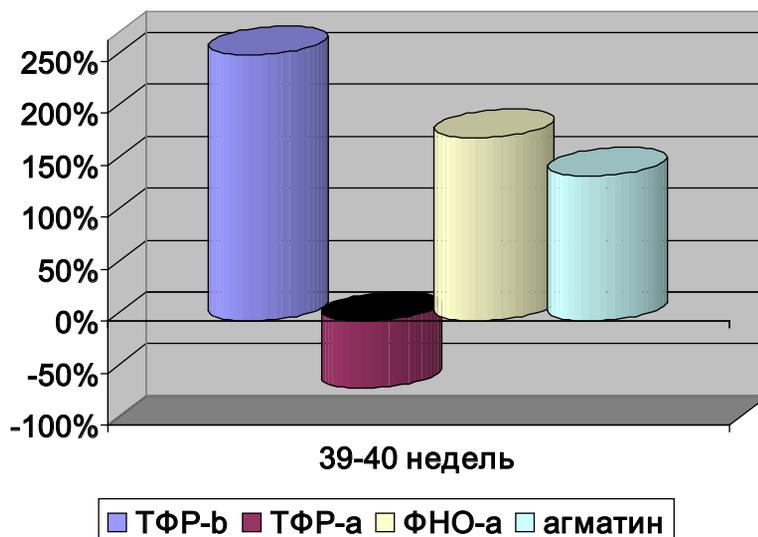


Рис. 2. Изменение содержания цитокинов и агматина (в % к контролю) в плаценте женщин (39-40 недель) при осложненной беременности.



Продукция ФНО- $\alpha$  и агматина в плаценте к концу осложненной беременности были повышены в 2,7- 2,4 раза соответственно по сравнению с величинами при физиологической беременности. Выраженное негативное влияние ФНО- $\alpha$  на процессы плацентации, кроме провоспалительных эффектов, обусловлено, очевидно, и его вазоконстрикторным действием на сосуды плацентарной сети, приводящим к снижению в ней кровотока.

Следует отметить, что действие ФНО- $\alpha$  способствует развитию так называемого «окислительного стресса», системного воспаления, что в конечном итоге может привести к формированию синдрома полиорганной недостаточности [7]. Многократное усиление продукции вышеперечисленных цитокинов способно вызвать отрицательные воздействия, вплоть до критических состояний, т.е. прерывания беременности в ранние сроки.

В то же время агматин, являясь структурным аналогом аргинина, с одной стороны, ингибирует активность NO-синтазы, вызывая вазодилатацию, т.е. он выступает в роли регулятора разнообразных эффектов оксида азота [8]. С другой стороны, при определенной стимуляции агматина цитокинами, этот процесс может привести к негативным воспалительным эффектам. Известны также данные, когда агматин значительно снижал уровень ФНО- $\alpha$  при действии гипоксии, что авторы связывают с его нейропротекторным механизмом действия против гипоксических повреждений [9].

В ранее проведенных нами исследованиях [10] было установлено повышение уровня оксида азота и снижение активности NO-синтазы, а также выявлено определенное влияние генерации оксида азота на продукции некоторых цитокинов при ПН. Цитокины в рамках последних представлений рассматриваются как неотъем-

лемые посредники клеточно-молекулярной регуляции репродуктивных процессов, действующих не агрессивно, а конструктивно.

Нарушение баланса в цитокиновой сети в течение беременности сказывается на многих биохимических процессах, происходящих в органе, особенно в условиях плацентарной недостаточности. Вследствие этого наблюдается истощение компенсаторно-приспособительных реакций со стороны плаценты. Одной из причин нарушения данных реакций в этом органе может быть резкое увеличение секреции синцитиотрофобластом цитокинов, обладающих высокой тропностью к эндотелию сосудов.

### Выводы

Выявленные изменения в продукции цитокинов и уровне агматина к концу гестации, очевидно, носят компенсаторный характер и способствуют поддержанию плодово-плацентарной гемодинамики за счет уменьшения спазма сосудов и усиления кровотока в условиях внутриутробной гипоксии, имеющей место у данного контингента женщин.

Модификация продукции изученных цитокинов и агматина может являться ответом на различные воздействия и, очевидно, выступает в роли регулятора всех основных этапов жизнедеятельности клеток организма, модулируя процессы пролиферации, дифференцировки, миграции и апоптоза. Обнаруженные отклонения в цитокиновой продукции и уровне агматина в течение всего периода осложненной гестации обуславливают, по-видимому, дезорганизацию и угнетение основных функций плаценты и развитие деструктивных процессов в органе, что, несомненно, усугубляет и состояние плода.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Шестакова М.В., Викулова О.К. Современные возможности Kaufmann P, Black S., Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia // Biol. Reprod. – 2003. Vol. 69, №1. – P. 1-7.
2. Charnock-Jones D.S., Kaufmann P., Mayhew T.M. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. I. Molecular regulation // Placenta. – 2004. Vol. 25, №2. – P. 103-113.
3. Staszewski-Chavez S.L., Abrahams V.M., Mor G. The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy // Endocr. Rev. – 2005. Vol. 10, №1. – P. 210-221.
4. Левкович М.А., Стояненко О.О., Орлов В.И. Особенности цитокинового статуса на местном и системном уровне при угрозе прерывания беременности раннего срока // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т. 6, №2. – С. 191-192.
5. Pålsson E., Fejgin K., Wass C. Agmatine attenuates the disruptive effects of phencyclidine on prepulse inhibition // Eur. J. Pharmacol. – 2008. – Vol.590, №1. – P. 212-216.
6. Орлов В.И., Авруцкая В.С., Крымшочалова З.С. Продукция факторов роста и вазоактивных веществ при синдроме задержки роста плода // Журнал акушерства и женских болезней. – 2008. – Вып. 2. – С. 84-89.
7. Hung T.H., Charnock-Jones D.S., Skepper J.N. Secretion of tumor necrosis factor-alpha from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia // Am. J. Pathol. – 2004. Vol.164, №3. – P.1049-1061.
8. Baylis C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease // Nat. Clin. Pract. Nephrol. – 2006. Vol.2, №4. – P.209-220.
9. Hong S., Park K., Kim C.Y. Agmatine inhibits hypoxia-induced TNF-alpha release from cultured retinal ganglion cells // Biocell. – 2008. Vol.32, №2. – P.201-205.
10. Крукиер И.И., Погорелова Т.Н., Орлов А.В. Влияние генерации оксида азота на продукцию интерлейкинов и процессы синтеза простагландинов в плодных оболочках при спонтанной родовой деятельности и слабости родовых сил // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50, Вып.3. – С.304-308

ПОСТУПИЛА 26.07.2013