

molecules26030604

18. Yeh T, Wen Z, Lee H, Lee C, Yang Z, Jean Y, et al. Intra-articular injection of collagenase induced

experimental osteoarthritis of the lumbar facet joint in rats. Eur Spine J 2008;17(5):734e42

УДК: 618.177-089.888.11]-078.33:616.69-008.8

ВЛИЯНИЕ КОНТРИКАЛА И КЛЕКСАНА НА ДИНАМИКУ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ ПРИ НАЛИЧИИ ГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Мухитдинова К.О., Джураев Б. М., Алейник В.А., Бабич С.М.
Андижанский государственный медицинский институт,
Институт иммунологии и геномики человека АН РУз

XULOSA

Maqsad: kontrikal va kleksanning homiladorlikning dastlabki bosqichida immunitet ko'rsatkichlarining o'zgarishiga ta'sirini o'rganish.

Materiallar va usullar: 3 guruhga bo'lingan 79 ayol tekshirildi. Pro – va yallig'lanishga qarshi interleykinlar dinamikasi - IL-1 β va IL-10, o'sma nekrozi omili- α (TNF- α), shuningdek immunogramma o'rganildi.

Tadqiqot natijalari: jinsiy a'zolar infeksiyalari va haddan tashqari yallig'lanishli immunitet reaksiyasi bo'lgan ayollarda qon zardobidagi yallig'lanishli interleykinlar miqdori sezilarli darajada oshdi va yallig'lanishga qarshi interleykinlar miqdori kamaydi, hujayra immune subpopulyatsiyasining pasayishi kuzatildi.

Xulosa. Kontrikal va kleksanning odatdagi homila tushishi kuzatilgan ayollarda immunitet ko'rsatkichlarining o'zgarishiga ta'siri, ularning antibiotiklar bilan kombinatsiyasi haddan tashqari yallig'lanish immunreaktsiyalarini bostirishni, yuqumli agent ta'sirining pasayishini ko'rsatdi.

Kalit so'zlar: yallig'lanishga qarshi immunitet reaksiyalari, yallig'lanishga qarshi interleykinlar, yuqumli kasalliklar, homiladorlik, genital infeksiyalar.

Несмотря на известную антикоагулянтную активность, биологическая функция гепарина остается неясной. Гепарин изменяет уровни цитокинов [1], и было показано, что его производные способны действовать в нескольких точках воспалительного процесса [10]. Таким образом, одна из его биологических ролей может заключаться в смягчении эффектов внезапного высвобождения большого количества цитокинов после инфекции или повреждения [3].

В частности, предполагается, что гепарин играет защитную роль в воспалительной реакции [5], что интерпретируется как включающее (помимо прочего) ингибирование эластазы и взаимодействие с несколькими цитокинами [10,11]. Таким образом, ряд

SUMMARY

Objective: to study the effects of contrykal and clexane on changes in immunity indicators at an early stage of pregnancy

Materials and methods: 79 women were examined, divided into 3 groups. The dynamics of pro- and anti-inflammatory interleukins - IL-1 β and IL-10, tumor necrosis factor- α (TNF- α), as well as an immunogram were studied.

The results of the study. In women with genital infections and excessive inflammatory immune response, the content of inflammatory interleukins in the blood serum significantly increased and the content of anti-inflammatory interleukins decreased, there was a decrease in cellular immune subpopulations.

Conclusion. The effects of contrykal and clexane on changes in immunity indicators in women with habitual miscarriage, their combination with antibiotics showed suppression of excessive inflammatory immune response, reduction of exposure to an infectious agent.

Keywords: anti-inflammatory immune reactions, anti-inflammatory interleukins, infectious agents, pregnancy, genital infections.

применений гепарина может быть обусловлен его способностью смягчать воспаление [3,6].

Молекулярный механизм противовоспалительного действия низкомолекулярного гепарина не зависит от типа вируса и в целом причины острого воспалительного процесса. Это еще больше расширяет диапазон его применения – для лечения вирусных инфекций, приводящих к острым воспалительным состояниям, характеризующимся повышенным уровнем цитокинов, в частности IL-6 и IFN γ [4].

Дополнительным преимуществом является то, что гепарин является хорошо известным и широко используемым лекарством, а его побочные эффекты подробно изучены [2].

Контрикал (апротинин) представляет собой ингибитор протеазы, используемый не только для уменьшения кровотечения, но и для уменьшения элементов диффузной воспалительной реакции. Было обнаружено, что при высоких дозах апротинина снижается цитокиновая и клеточная активация, связанная с острыми воспалительными реакциями, что позволяет предположить, что это может быть инициировано гиперстимулированными иммунными клетками [7]. Лечение высокими дозами апротинина уменьшало воспалительную реакцию [8].

Апротинин оказывает глубокое влияние на синдром системной воспалительной реакции, оказывает дозозависимое ингибирование активности плазмина и калликреина [9].

Было показано, что апротинин, используемый в клинических целях для снижения воспалительной реакции, ингибирует активируемый протеазой рецептор 1 (PAR) на тромбоцитах *in vitro* и *in vivo*. Это исследование показывает, что активация эндотелиальных клеток тромбином и последующие воспалительные реакции могут ингибироваться апротинином *in vitro* посредством блокады протеазо-активируемого рецептора 1. Установлено, что ингибитор протеазы апротинин, уже одобренный для клинического использования блокирует активацию PAR на тромбоцитах как *in vitro*, так и *in vivo* [3]

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение воздействия контрикала и клексана на изменение показателей иммунитета на раннем этапе беременности при наличии генитальных инфекций и чрезмерных провоспалительных иммунных реакциях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 79 женщин с привычным невынашиванием, генитальными инфекциями и чрезмерной провоспалительной реакцией иммунитета. Составлены группы: 27 женщин (1 группа) без прегравидарного лечения; 16 женщин (2 группа), получавших прегравидарно антибиотики кларитромицин и доксициклин в течение 15 дней по 1 таблетке 2 раза в день; 19 женщин (3 группа), получавших прегравидарно ингибитор протеаз (контрикал) дозой 10 тыс. ЕД - 1 раз в день, внутривенно (в шприце при соотношении 1:2 со стандартным растворителем) и низкомолекулярный гепарин (клексан) по 20 мг 1 раз в день в течение 15 дней, контролируя протромбиновый индекс; 17 женщин (4 группа), которые прегравидарно получали ингибитор протеаз и низкомолекулярный гепарин, а также антибиотики.

В крови методом ИФА до беременности, на 6 и 12 неделях определяли значения: про- и противовоспалительных интерлейкинов - ИЛ-1 β и ИЛ-10, фактор некроза опухолей- α (TNF- α), а также иммунограмма, посредством тест-систем ЗАО «Вектор-Бест».

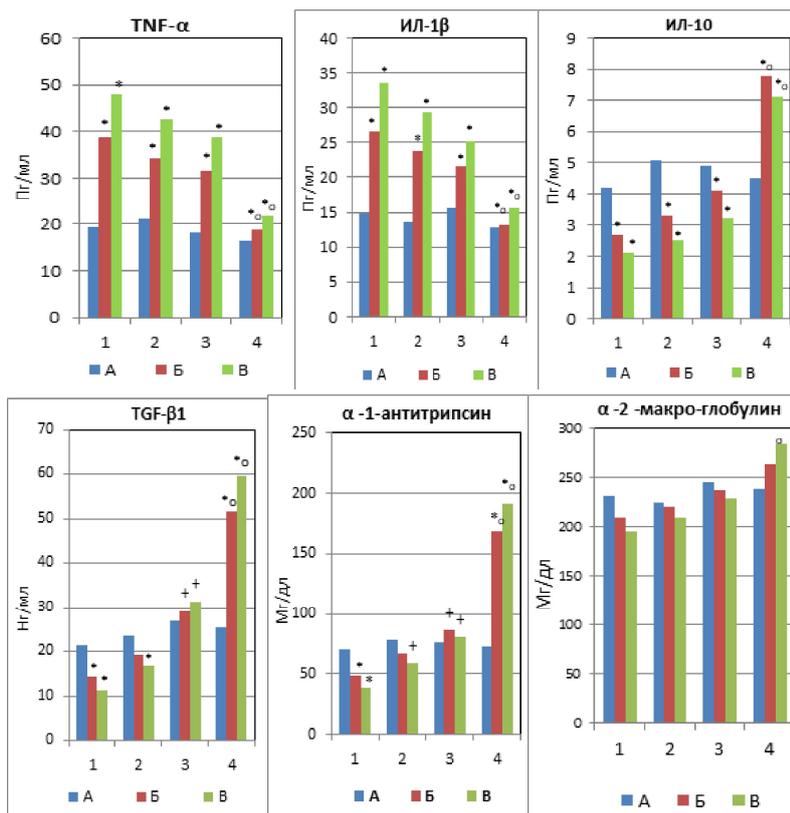
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали (рис.), что у исследуемых 1 группы TNF- α на 6 неделе составлял $38,8 \pm 4,3$ пг/мл, а на 12 неделе беременности соответственно - $48,1 \pm 5,1$ пг/мл. Оба показателя были достоверно ($P < 0,001$) выше сравниваемых результатов до беременности ($19,5 \pm 2,1$ пг/мл). У 2 группы TNF- α на 6 неделе, получавших прегравидарно антибиотики, составлял $34,3 \pm 3,5$ пг/мл, на 12 неделе - $42,5 \pm 4,4$ пг/мл, что было достоверно ($P < 0,001$) выше значений до беременности ($21,1 \pm 2,4$ пг/мл) и не существенно ниже относительно 1 группы. При этом применение прегравидарно комплекса контрикал и клексан в группе показатель TNF- α составил на 6 неделе $31,7 \pm 3,3$ пг/мл, $42,5 \pm 4,4$ пг/мл - на 12 неделе беременности, что было недостоверно меньше относительно 1 и 2 групп. В крови у 4 группы отмечалось недостоверное увеличение TNF- α , сравнительно с данными до беременности ($16,5 \pm 1,7$ пг/мл), $18,9 \pm 2,1$ пг/мл - на 6 неделе и $21,8 \pm 2,3$ пг/мл - на 12 неделе, что явилось достоверно меньше сравнительно данных 1, 2 и 3 групп (рис.).

При исследовании ИЛ-1 β наблюдалось достоверное повышение показателя у обследуемых 1, 2 и 3 групп на 6 и 12 неделях беременности. В то же время в 4 группе значение ИЛ-1 β на 6 и 12 неделях беременности было достоверно меньше по отношению к 1, 2 и 3 группам.

ИЛ-10 у обследованных 1 групп, при соотношении к данным до беременности ($4,2 \pm 0,5$ пг/мл), наблюдалось достоверное снижение ИЛ-10 на 6 и 12 неделе беременности, т.е. $2,7 \pm 0,4$ пг/мл ($P < 0,05$) и $2,1 \pm 0,3$ пг/мл ($P < 0,01$) соответственно. Подобные изменения отмечались и во 2 группе с применением антибиотиков. У 2 группы исследуемых ИЛ-10 на 6 и 12 неделе беременности был незначительно больше показателей 1 группы (рис.). В 3 группе прослеживались аналогичные изменения, как в 1 и 2 группах. Также у женщин 3 группы значения ИЛ-10, на 6 и 12 неделе беременности были незначительно выше значений 1 и 2 групп. В то же время в 4 группе прослеживалось повышение ИЛ-10 у исследуемых на 6 ($7,8 \pm 0,8$ пг/мл, $P < 0,01$) и 12 неделе беременности ($7,1 \pm 0,7$ пг/мл, $P < 0,01$), что достоверно было выше данных женщин 1, 2 и 3 групп (рис.).

TGF- β 1 у 1 группы, при сравнении с данными до беременности снижено на 6 и 12 неделе. Аналогичные изменения и во 2 группе. При этом TGF- β 1 на 6 и на 12 неделе беременности были несущественно выше результатов 1 группы. В 3 группе TGF- β 1, как на 6, так и 12 неделях беременности были достоверно выше данных 1 и 2 групп. В 4 группе TGF- β 1 на 6 неделе - ($51,5 \pm 5,3$ пг/мл, $P < 0,001$), и на 12 неделе - ($59,7 \pm 6,1$ пг/мл, $P < 0,001$), при сравнении со значениями до беременности ($25,4 \pm 6,3$ пг/мл), что было выше значений 1, 2 и 3 групп.



Динамика значений про- и противовоспалительных (TNF-α, ИЛ-1β, ИЛ-10) интерлейкинов, TGF-β1 и ингибиторов протеаз в обследованных группах.

Примечание: А - до беременности; Б – Б –6 недель бер-ти; В –12 недель бер-ти. 1-женщины без прегравидарного лечения; 2 – женщины, получавшие прегравидарно антибиотики; 3 – женщины, получавшие прегравидарно (комплекс) кон-трикал+клексан; 4– женщины, получавшие прегравидарно антибиотики+контрикал+клексан.

*- достоверно отличающиеся величины к показателям до беременности.

o - достоверно отличающиеся величины к показателям 1, 2 и 3 групп.

+ - достоверно отличающиеся величины к показателям 1 группы.

Из результатов α-1-антитрипсина следовало, что у 2 группы исследуемых этот показатель на 6 неделе был недостоверно, а на 12 неделе достоверно выше сравнительно с 1 группой. В тоже время у женщин 3 группы показатель α-1-антитрипсина у женщин на 6 и на 12 неделях был достоверно выше аналогичных показателей женщин 1 группы. У 4 группы, относительно к данным до беременности ($73 \pm 7,2$ мг/дл), прослеживалось повышение α -1-антитрипсина на 6 ($169 \pm 17,4$ мг/дл, $P < 0,001$) и 12 неделях ($192 \pm 20,4$ мг/дл, $P < 0,001$). α-1-антитрипсин 4 группы был достоверно выше относительно 1, 2 и 3 групп (рис.).

Изучение α-2-макроглобулина показало, что в 1, 2 и 3 группах прослеживалось недостоверное снижение α-2-макроглобулина, по большей мере - на 12 неделе, при соотношении к показателям до беременности. В тоже время у исследуемых 4 группы прослеживалось недостоверное повышение α-2-макроглобулина на 6 и достоверное на 12 неделе, при соотношении к данным до беременности (рис.).

При проведении исследования В-лимфоцитов (CD20) в %, наблюдалось существенно выраженное достоверное снижение его на 6 и 12 неделях

относительно 1 группы. Тем временем, показатели В-лимфоцитов в абсолютных показателях 1 мкл имели направленность достоверного снижения во всех группах на 12 неделе достоверным увеличением показателей на 6 и 12 неделе беременности в 4 группе относительно таких же результатов 1 группы.

При исследовании Т-лимфоцитов (CD3) в %, наблюдалась подобная направленность изменений как В-лимфоцитов.

Результаты Т-хелперов (CD4) и Т-супрессоров (CD8) обнаружили достоверное увеличение на 6 и 12 неделях в 4 группе относительно 1 группы. По данным исследования коэффициента CD4/ CD8 была отмечена динамика снижения этого показателя на 6 и 12 неделях беременности во всех группах в сравнении до беременности. Было выявлено нарастание естественных киллеров (CD16) и активированных лимфоцитов (CD25) у женщин всех групп по отношению к женщинам до беременности и достоверным различием на 6 и 12 неделе в 4 группе относительно 1 группы. Исследование маркера апоптоза CD95 дало динамику снижения на 6 и 12 неделях и достоверное повышение у 4 группы относительно 1 группы.

ВЫВОДЫ

Женщины с урогенитальными инфекциями и чрезмерной провоспалительной реакцией иммунитета на ранних сроках подвержены неблагоприятному течению беременности и развитию невынашивания беременности. Комбинированное применение антибиотиков совместно с комплексом контрикал и клексан содействует адекватному снижению чрезмерной провоспалительной реакции иммунитета, уменьшению влияния инфекционного агента, что вследствие содействует благоприятному протеканию ранних сроков беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Call D. R., Remick D. G. Low molecular weight heparin is associated with greater cytokine production in a stimulated whole blood model // *Shock*. – 1998. – Т. 10. – №. 3. – С. 192-197.
2. Lever R., Page C. P. Non-anticoagulant effects of heparin: an overview // *Heparin-A century of progress*. – 2012. – С. 281-305.
3. Lima M., Rudd T., Yates E. New Applications of Heparin and Other Glycosaminoglycans // *Molecules* (Basel, Switzerland). – 2017. – Т. 22. – №. 5. – С. E749-E749.
4. Litov, L., Petkov, P., Rangelov, M., Ilieva, N., Lilkova, E., Todorova, N., ... & Nacheva, G. Molecular mechanism of the anti-inflammatory action of heparin // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Т. 22. – №. 19. – С. 10730 -10730.
5. Negri, E. M., Piloto, B. M., Morinaga, L. K., Jardim, C. V. P., Lamy, S. A. E. D., Ferreira, M. A., ... & Deheinzelin, D. Heparin therapy improving hypoxia in COVID-19 patients—a case series // *Frontiers in physiology*. – 2020. – Т. 11. – С. 573044.
6. Page C. Heparin and related drugs: beyond anticoagulant activity // *ISRN Pharmacology*. – 2013. – Т. 2013. – С. 910743-910743.
7. Soeparwata, R., Hartman, A. R., Frerichmann, U., Stefano, G. B., Scheld, H. H., & Bilfinger, T. V. Aprotinin® diminishes inflammatory processes // *International journal of cardiology*. – 1996. – Т. 53. – С. S55-S63.
8. Tassani, P., Augustin, N., Barankay, A., Braun, S. L., Zaccaria, F., & Richter, J. A. High-dose aprotinin modulates the balance between proinflammatory and anti-inflammatory responses during coronary artery bypass graft surgery // *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*. – 2000. – Т. 14. – №. 6. – С. 682-686.
9. Taylor K. M. Antiinflammatory effects of aprotinin // *Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine*. – 2004. – Т. 6. – С. 39-46.
10. Veraldi, N., Hughes, A. J., Rudd, T. R., Thomas, H. B., Edwards, S. W., Hadfield, L., ... & Yates, E. A. Heparin derivatives for the targeting of multiple activities in the inflammatory response // *Carbohydrate polymers*. – 2015. – Т. 117. – С. 400-407.
11. Yan, Y., Ji, Y., Su, N., Mei, X., Wang, Y., Du, S., ... & Xing, X. H. Non-anticoagulant effects of low molecular weight heparins in inflammatory disorders: A review // *Carbohydrate polymers*. – 2017. – Т. 160. – С. 71-81.