

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

## ВОЗДЕЙСТВИЕ КОНТРИКАЛА И КЛЕКСАНА НА ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В I ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ОТСУТСТВИИ 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 genital infektsiyalari bo'lmagan va immun tizimini kuchli reaksiyasi mavjud ayollarning 1-chi trimestrida immunologik ko'rsatkichlarning o'zgarishiga ta'sirini o'rganish.

**Materiallar va usullar.** 3 guruhga bo'lingan 88 ayol tekshirildi. Homiladorlikdan oldin, 6 va 12 haftalarda ELISA usuli bilan qon tekshirildi: yallig'lanish oldi va yallig'lanishga qarshi interleykinlar - IL-1 $\beta$ , IL-10 va o'sma nekrozi omili-a (TNF-a), shuningdek immunogramma.

**Tadqiqot natijalari.** genital infektsiyalari bo'lmagan va haddan tashqari yallig'lanish oldi reaksiyalari mavjud ayollarda, kontrikal va kleksan kompleksi bilan pregravidar davolanishdan keyin, immunitetning hujayraviy bo'g'inidagi kam o'zgarishlar va yallig'lanish oldi va yallig'lanishga qarshi interleykinlarning aniq o'zgarishi va tiklanishi qayd etildi.

**Xulosa.** Genital infektsiyalari bo'lmagan va haddan tashqari yallig'lanish oldi reaksiyalari mavjud ayollarda, kontrikal va kleksan kompleksi bilan pregravidar davolanishdan so'ng immunitetning hujayra bo'g'inidagi kam o'zgarishlar va yallig'lanish holdi va yallig'lanishga qarshi interleykinlarning aniq o'zgarishi va tiklanishi qayd etildi.

**Kalit so'zlar:** interleykinlar, erta homiladorlik, abort, kontrikal, kleksan, hujayra immunitet.

Имеющиеся данные показывают, что гепарин является мощным противовоспалительным агентом благодаря его способности взаимодействовать с двумя ключевыми цитокинами в развитии цитокинового шторма, IFN $\gamma$  и IL-6, тем самым подавляя их биологическую активность. Это наблюдение подтверждает возможность благоприятного влияния гепарина на состояния, характеризующиеся сверхэкспрессией определенных цитокинов. Кроме того показано, что эффективность гепарина (имеется в виду низкомолекулярный гепарин) обусловлена его антицитокиновой активностью в дополнение к предотвращению свертывания крови [7].

Гепарин обладает способностью снижать воспаление и в целом, считается, что гепарин действует несколькими путями, включая взаимодействие с цитокинами и как ингибитор гепараназы, для достижения

### SUMMARY

**Objective:** to study the effect of contrykal and clexane on changes in immunological parameters in the absence of genital infections and the presence of excessive immune reactions in women in the first trimester of pregnancy.

**Materials and methods.** 88 women were studied, divided into 3 groups. Blood before pregnancy, at 6 and 12 weeks, was examined by ELISA for: pro- and anti-inflammatory interleukins - IL-1 $\beta$ , IL-10 and tumor necrosis factor-a (TNF-a), as well as an immunogram.

**The results of the study.** In women without genital infections, the presence of excessive pro-inflammatory reactions after pre-gravidar treatment with a complex of kontrikal and kleksan, there were unexpressed changes in the cellular link of immunity and a pronounced change and restoration of pro-inflammatory and anti-inflammatory interleukins.

**Conclusions.** In women, in the absence of genital infections, the presence of an excessive pro-inflammatory immune response after pregravidar treatment with a complex of contrykal and clexane, less pronounced changes and restoration of the cellular link of immunity were noted, but pronounced changes and restoration of pro-inflammatory and anti-inflammatory interleukins.

**Keywords:** interleukins, early pregnancy, miscarriage, contrykal, clexane, cellular immunity.

снижения рекрутирования лейкоцитов [8].

Потенциал, основанный на прогнозе способности гепарина ингибировать бактериальную инфекцию и уменьшать воспаление, также исследовался [10], но заметного улучшения при низких дозах (50 000 МЕ) не было показано.

Было показано, что гепарин и его производные эффективны в предотвращении инфицирования клеток вирусом гриппа, штаммом H5N1 [11], и оказывают воздействие на ZIKV-индуцированную гибель клеток, независимо от адгезии и инвазии [3]. В этом случае гепарин обладает лишь умеренной способностью защищать от инфекции по аналогии с вирусом денге, который также принадлежит к семейству флавивирусов и взаимодействует с гепарином через гликопротеины оболочки [6]. Скорее, гепарин может защищать инфицированные клетки от цитотоксических

эффектов и гибели клеток посредством активации сигнальных путей выживания клеток. Способность гепарина защищать клетки от запрограммированной гибели их уже наблюдалась в клетках человека (неинфицированных) [4], и это может открыть новые интересные возможности для применения производных гликозаминогликанов, в частности гепарансульфата (HS) и гепарина как таковых.

Противовоспалительные свойства контрикала (апротинина) известны уже более 10 лет, однако молекулярные механизмы, с помощью которых это достигается, остаются неуловимыми. На основе экспериментальных моделей воспаления были предложены ингибирование контактной активации тромбоцитов и нейтрофилов, косвенные эффекты за счет ингибирования калликреина и блокада экстравазации лейкоцитов [1,9]. Клинически апротинин также уменьшает накопление нейтрофилов и секрецию IL-8. Однако специфические рецепторные механизмы были обнаружены на тромбоцитах только путем воздействия на протеазо-активируемый рецептор 1 (PAR1) *in vitro* и *in vivo* [2,5]. Поскольку тот же рецептор присутствует на эндотелиальных клетках и опосредует провоспалительные сигнальные пути, обусловленные тромбином, в исследованиях изучалось, воздействует ли апротинин на эндотелиальный PAR1 *in vitro*.

#### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние контрикала и клексана на изменение иммунологических показателей при отсутствии генитальных инфекций и наличии чрезмерных иммунных реакций у женщин в I триместре беременности.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали 88 женщин, разделенных на 3 группы. В 1 группу составили 32 здоровые женщины. 2 группу - 30 женщин с привычным невынашиванием, чрезмерной провоспалительной реакцией и отсутствием генитальных инфекций. В 3 группе было 26 женщин, с чрезмерной провоспалительной реакцией и без генитальных инфекций, прегравидарно получавшие ингибитор протеаз контрикал в дозе 10 тыс ЕД 1 раз в день и низкомолекулярный гепарин клексан в дозе 20 мг 1 раз в день в течении 15 дней.

Кровь до беременности, на 6 и 12 неделе методом ИФА исследовали на: про- и противовоспалительные интерлейкины - ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10 и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), а также иммунограмма посредством применения тест-систем ЗАО «Вектор-Бест».

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было обнаружено, что до беременности у обследуемых 2 и 3 групп значение ФНО- $\alpha$  достоверно, был выше относительно 1 группы. У 1 группы на 12 неделе ФНО- $\alpha$  был выше, чем до беременности и 6 неделе. У 2 группы ФНО- $\alpha$  в 2,8 раза был выше, чем в у 1 группы. У 3 группы показатели на 12 неделе в 1,7 раз были выше 1 группы, но ниже, чем во 2 группе.

ИЛ-1 $\beta$  до беременности у 2 группы имел изменения подобно ФНО- $\alpha$ . У женщин 3 группы ИЛ-1 $\beta$  на 6 неделе был больше, чем у 1 группы и в 1,5 раза был меньше 2 группы. У 2 группы ИЛ-1 $\beta$  также более чем в 2,6 раза был выше, чем у 1 группы. Также у женщин 3 группы на 12 неделе ИЛ-1 $\beta$  более чем в 1,7 раза был выше, чем у 1 группы и достоверно более чем в 1,5 раза ниже женщин 2 группы (табл. 1).

Таблица 1

Изменение показателей интерлейкинов у женщин на ранних этапах беременности

ИИ	Исследуемые показатели	Группа	Изменение показателей интерлейкинов у женщин на ранних этапах беременности		
			До беременности	6 недель беременности	12 недель беременности
пг/мл	ФНО- $\alpha$	3	13,4 $\pm$ 1,4 <sub>о</sub>	15,3 $\pm$ 1,6 <sub>о +</sub>	20,7 $\pm$ 1,8* <sub>о +</sub>
		2	14,8 $\pm$ 1,6 <sub>о</sub>	25,5 $\pm$ 2,7* <sub>о</sub>	32,8 $\pm$ 4,1* <sub>о</sub>
		1	6,2 $\pm$ 0,8	9,7 $\pm$ 1,2*	11,9 $\pm$ 1,5*
	ИЛ-1 $\beta$	3	10,7 $\pm$ 0,9 <sub>о</sub>	12,6 $\pm$ 1,3 <sub>о +</sub>	17,4 $\pm$ 1,8* <sub>о +</sub>
		2	11,6 $\pm$ 1,5 <sub>о</sub>	19,4 $\pm$ 2,3* <sub>о</sub>	25,9 $\pm$ 3,1* <sub>о</sub>
		1	3,7 $\pm$ 0,4	7,2 $\pm$ 0,9*	10,1 $\pm$ 1,2*
	ИЛ-10	3	5,7 $\pm$ 0,6 <sub>о</sub>	4,8 $\pm$ 0,5 <sub>о</sub>	3,9 $\pm$ 0,4* <sub>о +</sub>
		2	6,1 $\pm$ 0,7 <sub>о</sub>	3,5 $\pm$ 0,5* <sub>о</sub>	2,6 $\pm$ 0,4* <sub>о</sub>
		1	9,3 $\pm$ 1,2	7,4 $\pm$ 0,8	5,9 $\pm$ 0,7*

Примечание: 1- здоровые женщины; 2 – женщины с привычным невынашиванием беременности; 3– женщины, получавших прегравидарное лечение комплексом контрикал и клексан.

\*- достоверно отличающиеся к показателям до беременности величины.

о - достоверно отличающиеся к показателям 1 группы величины.

+ - достоверно отличающиеся к показателям 2 группы величины.

ИЛ-10 у 2 и 3 групп до беременности, был ниже, чем у 1 группы. В 1 и 2 группах показатель ИЛ-10 на 6 и 12 неделях был ниже результатов до беременности. В 3 группе ИЛ-10 на 6 и 12 неделях был выше, чем у 2 группы (табл. 1). Одновременно, данный показатель у исследуемых на 12 неделе беременности был не значительно меньше, чем на 6 неделе и достоверно меньше результатов до беременности.

Эти результаты на 12 неделе также находились не достоверно ниже, чем на 6 неделе и достоверно ниже значений до беременности. При этом ИЛ-10 у группы с наличием генитальной инфекции до беременности находился не достоверно ниже подобных данных без инфекций (табл. 1).

Изучение клеточного звена иммунитета (табл. 2) не дало существенных отличий содержания лейкоци-

тов у всех групп. Относительное содержание лимфоцитов в %, отмечало снижение у всех групп на 6 и 12 неделях. Исследование абсолютного содержания лимфоцитов с 1 мкл, отмечалась подобная тенденция во 2 и 3 группах. (табл. 2).

Исследования В-лимфоцитов (CD20) в % (табл. 2), отмечало не достоверное уменьшение значения у 1 группы на 6 и 12 неделях сравнительно к результатам до беременности. У 2 и 3 групп, отмечалось выраженное понижение содержания В-лимфоцитов

в %, как на 6, так и 12 неделях при соотношении к показателям до беременности, но не достоверными изменениями между 2 и 3 группами. При исследовании Т-лимфоцитов (CD3) в %, наблюдалось не достоверное снижение показателя на 6 и 12 неделях, как у 1 группы, так и 2 и 3 группы относительно до беременности. В тоже время отмечалось достоверное снижение Т-лимфоцитов в показателях 1 мкл на 6 и 12 неделях, как у женщин 1 группы, так и женщин, 2 и 3 групп (табл. 2).

Таблица 2

**Изменение показателей иммунограммы у женщин на ранних этапах беременности**

	Норма		Группа	До беременности	12 недель беременности	6 недель беременности
		В 1 мкл				
Лейкоциты	4000-10000	В 1 мкл	3	5420±485	5740±516	5230±464
			2	5600±519	6200±558	5950±536
			1	5200±463	5450±457	4700±418
Лимфоциты	800-4000	В 1 мкл	3	1788±151	1326±124*	1412±122
			2	1736±148	1178±94*	1369±113
			1	1820±159	1526±139	1457±127
	20-40	%	3	34±2,9	25±1,9*+	28±2,4
			2	31±2,5	19±1,6*o	23±1,8
			1	35±3,1	28±2,4	31±2,6
В-лимфоциты (CD20)	162-700	В 1 мкл	3	539±46	326±27*+	335±29*
			2	468±38	200±15*o	287±23*
			1	582±53	381±33*	393±34*
	10-36	%	3	30±2,7	22±1,8*	25±2,1*
			2	27±2,3	17±1,4*	21±1,6*
			1	32±2,9	25±2,3	27±2,4
(CD3) Т-лимфоциты	800-2400	В 1 мкл	3	988±92	567±46*	674±61*
			2	833±74	459±38*	588±55*
			1	1019±95	623±52*	713±64*
	48-80	%	3	53±4,8	42±3,6	47±4,1
			2	48±4,5	39±3,5	43±3,9
			1	56±5,1	44±3,7	49±4,3
(CD4) Т-хелперы	24-42	%	3	24±1,8	20±1,4	22±1,6
			2	22±1,6	19±1,3	21±1,4
			1	25±2,1	20±1,5	23±1,7
(CD8) Т-супрессоры	14-29	%	3	15±1,3	19±1,6	17±1,4
			2	16±1,4	20±1,7	18±1,5
			1	15±1,2	18±1,6	17±1,3
CD4/ CD8	1,2-2,0		3	1,6±0,12	1,1±0,08*	1,3± 0,10
			2	1,4±0,11	1,0±0,07*	1,2± 0,08
			1	1,7±0,13	1,1±0,09*	1,4±0,11
CD16 (Естественные Киллеры)	4-27	%	3	9,0±0,6	13,0±11*	11,0±0,9
			2	10,0±0,7	14,0±1,2*	12,0±0,8
			1	9,0±0,6	13±1,1*	11±0,9
CD25 активи- рованные лим- фоциты	7-18	%	3	11±0,8	16±1,3*	13±1,0
			2	12±0,9	17±1,4*	14±1,1
			1	11±0,8	15±1,3*	13±1,0
CD95 (маркер апоптоза)	34-46	%	3	14±1,2	10±0,7*	11±0,8*
			2	13±1,1	9±0,6*	10±0,7*
			1	15±1,2	10±0,7*	12±0,9

Примечание: 1- здоровые женщины; 2 – женщины с привычным невынашиванием беременности; 3– женщины, получавших прегравидарное лечение комплексом контрикал и клексан.

\*- достоверно отличающиеся к показателям до беременности величины.

o - достоверно отличающиеся к показателям 1 группы величины.

+ - достоверно отличающиеся к показателям 2 группы величины.

Результаты исследования Т-хелперов (CD4) в относительных показателях (табл. 2) обнаружили тенденцию снижения на 6 и на 12 неделе у 1, 2 и 3 групп относительно данным до беременности. При этом как у 1 группы, так и 2 и 3 групп по отношению к до беременности отмечалось не достоверное повышение Т-супрессоров (CD8) на 6 и 12 неделях беременности, в тоже время отсутствовали различия между группами. По данным исследования коэффициента CD4/ CD8 была отмечена динамика снижения этого показателя на 6 и 12 неделях женщин 1, 2 и 3 групп (табл. 2). В тоже время было выявлено нарастание естественных киллеров (CD16) у 1, 2 и 3 групп по отношению к женщинам до беременности с достоверным повышением на 12 неделе беременности и не достоверным отличием между группами. Аналогичная тенденция изменений отмечалась при исследовании активированных лимфоцитов (CD25). При исследовании маркера апоптоза CD95 была отмечена динамика снижения этого показателя на 6 и 12 неделях, у 1, 2 и 3 групп сравнительно к результатам до беременности, с достоверным снижением на 12 неделе у 1 группы, а также достоверном снижении на 6 и 12 неделе беременности у 2 и 3 группы (табл. 2).

#### ВЫВОДЫ

У женщин, при отсутствии генитальных инфекций, но наличии чрезмерных провоспалительных иммунных реакций, имеющих потенциальную возможность невынашивания беременности до 12 недель. После прегравидарного лечения комплексом контрикал и клексан отмечались менее выраженные изменения и восстановления клеточного звена иммунитета, но выраженные изменения и восстановления провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Asimakopoulos, G., Lidington, E. A., Mason, J., Haskard, D. O., Taylor, K. M., & Landis, R. C. Effect of aprotinin on endothelial cell activation // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 2001. – Т. 122. – №. 1. – С. 123-128.
- Day, J. R. S., Punjabi, P. P., Randi, A. M., Haskard, D. O., Landis, R. C., & Taylor, K. M. Clinical inhibition of the seven-transmembrane thrombin receptor (PAR1) by intravenous aprotinin during cardiothoracic surgery // *Circulation*. – 2004. – Т. 110. – №. 17. – С. 2597-2600.
- Ghezzi, S., Cooper, L., Rubio, A., Pagani, I., Capobianchi, M. R., Ippolito, G., ... & Vicenzi, E. Heparin prevents Zika virus induced-cytopathic effects in human neural progenitor cells // *Antiviral research*. – 2017. – Т. 140. – С. 13-17.
- Hills, F. A., Abrahams, V. M., González-Timón, B., Francis, J., Cloke, B., Hinkson, L., ... & Brosens, J. J. Heparin prevents programmed cell death in human trophoblast // *MHR: Basic science of reproductive medicine*. – 2006. – Т. 12. – №. 4. – С. 237-243.
- Khan, T. A., Bianchi, C., Voisine, P., Sandmeyer, J., Feng, J., & Sellke, F. W. Aprotinin inhibits protease-dependent platelet aggregation and thrombosis // *The Annals of thoracic surgery*. – 2005. – Т. 79. – №. 5. – С. 1545-1550.
- Kim, S. Y., Zhao, J., Liu, X., Fraser, K., Lin, L., Zhang, X., ... & Linhardt, R. J. Interaction of Zika virus envelope protein with glycosaminoglycans // *Biochemistry*. – 2017. – Т. 56. – №. 8. – С. 1151-1162.
- 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.
- McIntire, A. M., Harris, S. A., Whitten, J. A., Fritschle-Hilliard, A. C., Foster, D. R., Sood, R., & Walroth, T. A. Outcomes following the use of nebulized heparin for inhalation injury (HIHI Study) // *Journal of burn care & research*. – 2017. – Т. 38. – №. 1. – С. 45-52.
- Pruefer, D., Makowski, J., Dahm, M., Guth, S., Oelert, H., Darius, H., & Buerke, M. Aprotinin inhibits leukocyte-endothelial cell interactions after hemorrhage and reperfusion // *The Annals of thoracic surgery*. – 2003. – Т. 75. – №. 1. – С. 210-215.
- Serisier, D. J., Shute, J. K., Hockey, P. M., Higgins, B., Conway, J., & Carroll, M. P. Inhaled heparin in cystic fibrosis // *European Respiratory Journal*. – 2006. – Т. 27. – №. 2. – С. 354-358.
- Skidmore, M. A., Kajaste-Rudnitski, A., Wells, N. M., Guimond, S. E., Rudd, T. R., Yates, E. A., & Vicenzi, E. Inhibition of influenza H5N1 invasion by modified heparin derivatives // *MedChemComm*. – 2015. – Т. 6. – №. 4. – С. 640-646.