

© В. М. Бондаренко, К. Р. Бондаренко, 2014
УДК [618.1+618.2]-07

В. М. Бондаренко¹

докт. мед. наук

К. Р. Бондаренко²

канд. мед. наук

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, Москва

² Российский государственный научно-исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва

Эндотоксинемия в акушерско-гинекологической практике

Представлены данные литературы и результаты собственных исследований, касающиеся роли липополисахаридов грамотрицательных бактерий в инфекционной патологии женского генитального тракта и осложнениях гестации. Проанализированы последние научные данные о липополисахарид-опосредованных изменениях гомеостаза при патологическом течении беременности. Оценивается участие эндотоксина в генезе неблагоприятных исходов беременности.

Ключевые слова: бактериальный липополисахарид, антиэндотоксиновый иммунитет, акушерские осложнения, гинекологические заболевания

В норме избыточное проникновение эндотоксина (липополисахарида, ЛПС) грамотрицательных бактерий в общий кровоток ограничено звеньями врожденного иммунитета. При нарастании массивности эндотоксинемии системный ответ организма приобретает неконтролируемый характер и реализуется, преимущественно, через провоспалительные и противовоспалительные цитокины [1–3].

Для обнаружения эндотоксина могут быть использованы различные методы. Наиболее известен способ детекции эндотоксина по его способности вызывать коагуляцию белков, содержащихся в лизате амебоцитов краба *Limulus polyphemus*, — так называемый LAL-тест. Реакция с лизатом амебоцитов высокочувствительна (порог чувствительности — 5 пкг ЛПС в 1 мл), однако способ недостаточно специфичен и выявляет не только ЛПС грамотрицательных бактерий, но и некоторые компоненты клеточной стенки грампозитивных бактерий и грибов. Применение LAL-теста затруднено в присутствии также гепарина, аминогликозидов, пенициллина. Для детекции эндотоксина в кровотоке LAL-тестом необходимо взятие пробы крови из вены и ее обработка перхлористой кислотой

или прогреванием для инактивации компонентов плазмы крови, влияющих на результаты реакции. К тому же, его применение практически полностью зависит от импорта препаратов лизата амебоцитов.

Более доступны и специфичны иммунологические методы, в частности иммуноферментные методы, позволяющие выявлять ЛПС в нанogramмовых количествах, что существенно ограничивает возможность их применения для диагностики эндотоксинемии. Недавно разработан резонансно-частотный способ детекции ЛПС по спектру частот собственных электромагнитных излучений. С этой целью был использован спектр частот, характерных для гликолипида *Re*-хемотипа, который входит в состав ЛПС большинства грамнегативных бактерий. В качестве источников, генерирующих электромагнитные излучения, может быть использован аппарат «Мини-эксперт-ДТ» производства ООО «ИМЕДИС» (Москва) или аппарат «BICOM» фирмы «Regimed» (Германия). Детекцию эндотоксина при помощи указанных приборов осуществляют по методу электропунктурного вегетативного резонансного теста. Предложенный способ характеризуется высокой чувствительностью и выявляет 0,1 пкг эндотоксина в 1 мл. Указанные методы детекции ЛПС отражены в новейшем обзоре [1].

Цель статьи — обобщение собственных материалов и данных литературы о патогенетиче-

Виктор Михайлович Бондаренко
e-mail: bvmz@yandex.ru

ской роли избыточной эндотоксиновой нагрузки на организм при акушерско-гинекологических заболеваниях и осложнениях разного генеза.

Транслокация эндотоксина из открытых полостей организма в системный кровоток. Важным при транслокации ЛПС в системный кровоток является его кооперация с эндотоксинсвязывающим белком (*LBP* — lipopolysaccharide-binding protein). Далее ЛПС–*LBP*-комплекс связывается с *CD14*, находящимся в двух формах: растворимой (*s*)*CD14*, присутствующей в плазме крови и взаимодействующей с клетками миелоидного ряда, и мембраносвязанной (*m*)*CD14*, экспрессируемой на плазматической мембране клеток миелоидного ряда. Клеточный ответ на ЛПС в дальнейшем зависит от взаимодействия комплекса ЛПС–*LBP*–*CD14* с трансмембранным Toll-like рецептором 4-го типа (*TLR4*), завершающегося освобождением и транслокацией в ядро транскрипционного нуклеарного фактора *NF-κB*, ответственного за регуляцию более чем 150 генов цитокинов, *NO*-синтазы и других медиаторных белков и регуляторных молекул воспаления [3].

Таким образом, распознавание ЛПС рецепторами *TLR4*, связывание с *CD14* и *LBP*, липопротеинами, с недавно обнаруженным *BPI* (Bactericidal/permeability increasing protein) и активация фактора *NF-κB* являются ведущими начальными звеньями нейтрализации эффектов ЛПС, необходимыми для формирования специфического иммунного ответа, включающего синтез *IL-12*, *IL-23*, *IL-27*, для дифференциации *T*-хелперов 1-го типа и *B*-лимфоцитов, распознающих и связывающих белковые, полисахаридные и липопротеидные антигены [4]. Нейтрализующая активность антител к *O*-специфическим цепям ЛПС относительно невысока вследствие вариабельности *O*-антигена грамотрицательных бактерий и установлена для *IgA*, *IgG*, *IgM* по отношению к глубоким детерминантам *core*-региона ЛПС. При этом специфические *IgG* передаются через плаценту от матери к плоду и определяются в сыворотке новорожденных, в отличие от *IgM*, обнаруживаемых к 1-му месяцу жизни и обратно коррелирующих с высокой частотой синдрома внезапной детской смерти среди новорожденных [5].

Уровень антител к глубоким детерминантам *core*-региона ЛПС в сыворотке здоровых взрослых доноров варьирует от 35 до 250 МУ/ml. В связи с этим, определение концентраций антител к *core*-региону ЛПС имеет прогностическое значение для установления вероятности

благополучного исхода в тяжелых клинических ситуациях [6]. У здоровых людей содержание антител к *core*-региону ЛПС остается относительно стабильным. В случае массивной транслокации ЛПС в системный кровоток в зависимости от типа стрессорного фактора (тканевая деструкция вследствие травмы, ожога, острая бактериальная инфекция и другие) наблюдаются разнонаправленные сдвиги уровней антител к *core*-региону ЛПС. В частности, в результате посттравматического сепсиса, динамика колебаний их титров характеризуется следующими особенностями: в первые сутки наблюдается уменьшение концентраций *IgG* и *IgM* к *core*-региону ЛПС с последующим их увеличением по мере прогрессирования системной эндотоксинемии [6]. При оценке антиэндотоксиновой защиты в сыворотках крови определяют уровни ЛПС и титры *IgG* к *core*-региону ЛПС, являющимся его токсифорной группой.

Выявление эндотоксинемии в гинекологической практике. При дисбиотическом состоянии вагинального биотопа у женщин наблюдается увеличение концентрации ЛПС в системном кровотоке в 7 раз, уровня *LBP* — в 2 раза и титров *IgG* к *core*-региону ЛПС — в 1,7 раза по сравнению с нормобиоценозом [7]. Участие ЛПС в патогенезе бактериального вагиноза согласуется с тем, что указанный синдром протекает без признаков воспалительной реакции, в основе чего лежит снижение функциональной активности нейтрофилов, проявляющейся незавершенностью фагоцитоза. Последнее, возможно, связано с воздействием сверхвысоких концентраций ЛПС грамотрицательных бактерий, доминирующих при вагинозе, на лейкоциты, ведущим к снижению фагоцитарной активности и цитотоксическому эффекту. Установлено также более чем десятикратное повышение концентрации ЛПС в сыворотке крови у женщин с бесплодием на фоне хронических неспецифических воспалительных заболеваний органов малого таза, ведущих к снижению уровня антиэндотоксиновых антител и угнетению активности гранулоцитарного звена антиэндотоксинового иммунитета [8].

Индукцированные эндотоксином иммунопатогенетические изменения гомеостаза, проявляющиеся эндотелиальной дисфункцией, во многом идентичны таковым при развитии преэклампсии, что свидетельствует об универсальности механизмов их формирования и позволяет рассматривать преэклампсию как модель системной эндотоксинемии [2]. Последнее яв-

ляется современной концепцией, объясняющей феномен преэклампсии с позиции реализации негативных биологических эффектов ЛПС на фоне недостаточности ЛПС-связывающих и ЛПС-элиминирующих систем. Так, было показано, что при тяжелой преэклампсии уровень ЛПС в сыворотке повышается многократно на фоне угнетения синтеза иммуноглобулинов к *core*-региону ЛПС [9]. При этом известно, что основным источником ЛПС при преэклампсии может служить кишечная микробиота. В условиях сниженной тканевой перфузии вследствие периферического генерализованного вазоспазма при преэклампсии может происходить усиленная транслокация грамотрицательных бактерий и их эндотоксина через ишемизированную кишечную стенку. Интенсивность указанного процесса повышается на фоне дисбактериоза кишечника, клинически проявляющегося констипацией у беременных: при этом уровень ЛПС в системном кровотоке увеличивается двукратно по сравнению со здоровыми пациентками, а концентрация антиэндотоксиновых антител, соответственно, закономерно падает.

Показано, что гемоциркуляция ЛПС на фоне угнетения антиэндотоксинового иммунитета при констипации может проявляться частым развитием гестоза первой половины беременности, угрозой прерывания беременности на ранних сроках, а также аномалиями родовой деятельности [10]. Наряду с кишечным биоценозом, другим резервом ЛПС является вагинальный биотоп, особенно при вагинозах, когда удельный вес грамотрицательных микроорганизмов увеличивается в тысячи раз, а атрофические изменения слизистой оболочки влагалища, обусловленные воздействием бактериальных ферментов, способствуют проникновению ЛПС в развитую венозную и лимфатическую сосудистую сеть органов репродуктивной системы в период гестации [9].

Другим возможным механизмом развития преэклампсии является опосредованная ЛПС стимуляция продукции цитокинов *IL-8*, *IL-6* и запуск сигнального каскада митогенактивированной протеинкиназы (МАРК — mitogen-activated protein kinase), способствующего нарушению инвазии трофобласта в ранних сроках беременности, что является, как известно, патогенетическим субстратом для развития преэклампсии [11]. При этом преэклампсия в III триместре при нормальном морфофункциональном состоянии плаценты может развиваться именно в ответ на экзогенное воздействие ЛПС, что свя-

зывают с повышением чувствительности в этом периоде организма беременной как к инфекционным агентам и их структурным компонентам (ЛПС), так и к фетальным триггерам родовой деятельности. Подтверждением вышеуказанного является исследование образцов крови, полученных в разные сроки гестационного периода, в которые вносили ЛПС и констатировали большую интенсивность ЛПС-индуцированного синтеза провоспалительных цитокинов *in vitro* при сроке беременности свыше 34 нед [12].

Проблема невынашивания беременности при дисбиотических состояниях генитального и кишечного трактов. Ведущую роль в невынашивании беременности играют инфекционно-воспалительные заболевания матери. При нормальном течении гестации, наряду с повышением уровня цитокинов в период инвазии трофобласта, увеличивается экспрессия *TLR-4*, *C*-реактивного белка, общего пула циркулирующих в кровотоке моноцитов [13]. Однако дальнейшее изменение цитокинового профиля в сторону преобладания провоспалительных цитокинов может приводить к тромбозам и ишемическим некрозам в плаценте и запускает каскад реакций, приводящих к невынашиванию беременности [14]. Вероятно, что пусковым механизмом в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков может служить именно массивная инвазия ЛПС грамотрицательных бактерий, вызывающая изменения в системе неадаптивного иммунитета (увеличение уровня экспрессии *TLR-4*, стимуляция синтеза провоспалительных цитокинов и, как следствие, острофазных реактантов и др.).

В 30–40 % случаев причиной преждевременных родов является инфекционный фактор. Данное предположение подтверждается экспериментами, проведенными на животных, при которых после внутриматочного или интраперитонеального введения ЛПС в середине гестационного периода преждевременные роды у мышей развивались в течение 24 ч через активацию *TLR 4*-го типа, повышение синтеза сигнальных молекул, в том числе провоспалительных цитокинов и простагландинов. Более устойчивыми к развитию ЛПС-индуцированных родов оказались мыши, которым на 10-й день гестации были введены очищенные *CD4(+)* *T*-клетки, которые оказывали протективный эффект в отношении ЛПС. Следовательно, преждевременная инициация родовой деятельности может быть связана с бактериальными ЛПС, которые после распознавания *TLR-4* вызывают увеличение

концентрации простагландинов в миометрии, плаценте, оболочках плода и других тканях за счет активации циклооксигеназы и угнетения 15-гидроксипростагландин-дегидрогеназы [15].

Другим, не менее существенным последствием инфекционно-воспалительных заболеваний матери является формирование плацентарной недостаточности, частота которой на фоне инфекции достигает 50–60%. Основным «посредником» повреждающего действия ЛПС на плаценту считают провоспалительный цитокин *IL-1* [16].

Как известно, нарушения в системе гемостаза при беременности в сторону повышения коагуляционного потенциала крови в последующем приводят к тромбозам спиральных артерий, сосудов ворсин, хориальной пластины и сосудов пуповины, что клинически проявляется развитием плацентарных нарушений, гипоксией и гипотрофией плода [17]. Возможно, именно ЛПС грамотрицательных бактерий запускает коагуляционный каскад, завершающийся тромбообразованием в маточно-плодово-плацентарных сосудах, поскольку ранее установлена способность ЛПС вызывать нарушения в системе гемостаза и микроциркуляции, которая подтверждена в экспериментах на животных. Так, при введении эндотоксина изменения параметров системы гемостаза характеризовались гиперкоагуляцией, депрессией фибринолиза в раннем периоде после введения ЛПС с последующей коагулопатией потребления и тромбоцитопенией, что соответствовало стадиям развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания [1, 2].

В ряде случаев неблагоприятные исходы беременности обусловлены сопутствующими нарушениями в системе гемостаза, в том числе антифосфолипидным синдромом, характеризующимся множественными тромбозами жизненно важных органов на фоне высокого титра антифосфолипидных антител.

В опытах было продемонстрировано, что интраамниотическое введение ЛПС влечет за со-

бой тяжелые последствия как для материнского организма, способствуя развитию хориоамнионита, так и для плода, вызывая повреждения центральной нервной системы [18]. Помимо влияния ЛПС на центральную нервную систему плода, к последствиям синергического воздействия ЛПС и активных форм кислорода на развитие эмбриона на этапе органогенеза относят формирование врожденных пороков и аномалий [19].

Для коррекции микробиологических нарушений и стабилизации нормальной микрофлоры кишечника и вагинального биотопа применяют препараты, подразделяемые на пробиотики, пребиотики и синбиотики. Пробиотики — это живые микроорганизмы и вещества микробного происхождения, оказывающие при естественном способе введения позитивные эффекты на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма хозяина через стабилизацию и оптимизацию функции его нормальной микрофлоры. Пребиотики — это препараты немикробного происхождения, способные оказывать позитивный эффект на организм хозяина через селективную стимуляцию роста или усиления метаболической активности нормальной микрофлоры кишечника. Синбиотики — это препараты, полученные в результате рациональной комбинации пробиотиков и пребиотиков [20, 21].

Таким образом, целый ряд исследований разных лет подтверждает участие ЛПС грамотрицательных бактерий в патогенезе отдельной акушерско-гинекологической патологии, в том числе при эмбриональной резорбции, задержке внутриутробного развития и антенатальной гибели плода, преждевременных родах, преэклампсии, плацентарной дисфункции. Уровни эндотоксинемии и провоспалительных цитокинов являются маркерами хронического эндогенного инфекционно-воспалительного заболевания разных отделов генитального тракта с поражением сети органов репродуктивной системы женщин.

Литература

1. Бондаренко В. М., Лиходед В. Г. Диагностика, лечение и профилактика эндотоксинемии // Лечение и профилактика. 2012. № 2(3). С. 70–76.
2. Яковлев М. Ю. «Эндотоксиновая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболевания человека и животных // Успехи соврем. биол. 2003. Т. 123. № 1. С. 31–40.
3. Бондаренко В. М., Лиходед В. Г. Взаимодействие кишечной микрофлоры с Toll-подобными рецепторами в норме и патологии // Иммунология. 2009. № 5. С. 317–320.
4. Krasity B. C., Troll J. V., Weiss J. P. et al. LBP/BPI proteins and their relatives: conservation over evolution and roles in mutualism // Biochem. Soc. Trans. 2011. Vol. 39. № 4. P. 1039–1044.

5. *Oppenheim B. A., Barclay G. R., Morris J. et al.* Antibodies to endotoxin core in sudden infant death syndrome // *Arch. Dis. Child.* 1994. Vol. 70. P. 95–98.
6. *Barclay G. R.* Endogenous endotoxin-core antibody (Endo-CAb) as a marker of endotoxin exposure and a prognostic indicator: a review // *Prog. Clin. Biol. Res.* 1995. Vol. 392. P. 263–272.
7. *Мавзютов А. Р., Бондаренко К. Р., Бондаренко В. М.* Эндотоксинемия и антиэндотоксиновый иммунитет у женщин при бактериальном вагинозе // *Журн. микробиол.* 2009. № 5. С. 57–61.
8. *Энукидзе Г. Г.* Эндотоксиновая агрессия в патогенезе женского бесплодия на фоне хронических гинекологических воспалительных заболеваний // *Мед. помощь.* 2007. № 6. С. 23–26.
9. *Мавзютов А. Р., Бондаренко К. Р., Еникеев А. Н., Бондаренко В. М.* Системная эндотоксинемия как патогенетический фактор осложнения беременности // *Журн. микробиол.* 2012. № 5. С. 16–21.
10. *Субханкулова С. Ф., Габидуллина Р. И., Газизов Р. М. и др.* Взаимосвязь состояния микробиоценоза толстого кишечника с выраженностью системной эндотоксинемии и антиэндотоксиновой защиты у беременных с обстипационным синдромом // *Казан. мед. журн.* 2008. Т. 89. № 2. С. 163–166.
11. *Pennington K. A., Schlitt J. M., Jackson D. L. et al.* Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease // *Dis. Model. Mech.* 2012. № 5. С. 9–18.
12. *Brewster J. A., Orsi N. M., Gopichandran N. et al.* Gestational effects on host inflammatory response in normal and pre-eclamptic pregnancies // *Eur. J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol.* 2008. Vol. 140. № 1. P. 21–26.
13. *Sacks G. P., Seyani L., Lavery S., Trew G.* Maternal C-reactive protein levels are raised at 4 weeks gestation // *Hum. Reprod.* 2004. Vol. 19. № 4. P. 1025–1030.
14. *Несяева Е. В.* Неразвивающаяся беременность: этиология, патогенез, клиника, диагностика // *Акуш. и гин.* 2005. № 2. С. 3–7.
15. *Wang H., Hirsch E.* Bacterially-induced preterm labor and regulation of prostaglandin-metabolizing enzyme expression in mice: the role of toll-like receptor 4 // *Biol. Reprod.* 2003. Vol. 69. № 6. P. 1957–1963.
16. *Girard S., Tremblay L., Lepage M. et al.* IL-1 receptor antagonist protects against placental and neurodevelopmental defects induced by maternal inflammation // *J. Immunol.* 2010. Vol. 84. № 7. С. 3997–4005.
17. *Бондаренко К. Р., Мавзютов А. Р., Озолия Л. А.* Роль системной эндотоксинемии в патогенезе гестоза // *Вестн. РГМУ.* 2013. № 3. С. 40–43.
18. *Feng S. Y., Samarasinghe T., Phillips D. J. et al.* Acute and chronic effects of endotoxin on cerebral circulation in lambs // *Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010. Vol. 298. № 3. P. 760–766.
19. *Zhao L., Chen Y. H., Wang H. et al.* Reactive oxygen species contribute to lipopolysaccharide-induced teratogenesis in mice // *Toxicol. Sci.* 2008. Vol. 103. P. 149–157.
20. *Бондаренко В. М.* Обоснование и тактика назначения в медицинской практике различных форм пробиотических препаратов // *Фарматека.* 2013. № 13. С. 77–87.
21. *Кочеровец В. И., Бунатян Н. Д.* Нормальная микрофлора женских мочеполовых путей и препараты для ее коррекции. М.: Актеон, 2011.

V. M. Bondarenko¹, K. R. Bondarenko²

¹ Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

² Pirogov Russian State Medical University, Moscow

Endotoxinaemia in obstetrics and gynecological practice

The data of literature and own studies about a role of lipopolysaccharides of gramnegative bacteria at the female genital tract infectious pathology and gestational complications are presented. Contemporary analysis regarding lipopolysaccharides-associated changes of homeostasis during pregnancy are analyzed. Endotoxin participation at adverse pregnancy outcomes is assessed.

Key words: *bacterial lipopolysaccharides, antiendotoxin immunity, pregnancy complications, gynecological diseases*