

Волков А. О.

## ДИНАМИКА УРОВНЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ РОДИЛЬНИЦ ПОСЛЕ КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ ПРИ ТОТАЛЬНОЙ ВНУТРИВЕННОЙ АНЕСТЕЗИИ

КУ «Днепродзержинская городская больница № 9» [aleksei2009@i.ua](mailto:aleksei2009@i.ua)

Изучена динамика уровня провоспалительных цитокинов (интерлейкина (ИЛ)-6 и фактора некроза опухоли (ФНО)- $\alpha$ ) в крови родильниц после кесарева сечения и тотальной внутривенной анестезии. Показано, что уровень ИЛ-6 достоверно повышается к третьему триместру беременности, тогда как концентрация ФНО- $\alpha$  достоверно снижается. При тотальной внутривенной анестезии с искусственной вентиляцией легких эндотрахеальным методом концентрация ИЛ-6 резко увеличивается через 24 ч после операции, а к 5–7-м суткам хотя и достоверно резко снижается, но превышает норму. Концентрация ФНО- $\alpha$  остается значительно сниженной через 24 ч после операции и достоверно продолжает снижаться к 5–7-м суткам послеоперационного периода.

**Ключевые слова:** кесарево сечение, провоспалительные цитокины, анестезия.

Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов межклеточного взаимодействия, участвующих главным образом в формировании и регуляции защитных реакций организма при внедрении патогенов и нарушении целостности тканей, а также в регуляции ряда нормальных физиологических функций. Цитокины могут быть выделены в новую самостоятельную систему регуляции, существующую наряду с нервной и эндокринной системами поддержания гомеостаза, причем все три системы взаимосвязаны и взаимозависимы. За последние два десятилетия клонированы гены большинства цитокинов и получены рекомбинантные аналоги, полностью повторяющие биологические свойства природных молекул. Сейчас известно более 200 индивидуальных веществ, относящихся к семейству цитокинов [6].

Классифицировать цитокины можно по их биохимическим и биологическим свойствам, а также по типам рецепторов, посредством которых цитокины осуществляют свои биологические функции.

Группы цитокинов, включающие семейство интерлейкина (ИЛ)-6 (лиганды общей рецепторной субъединицы gp130), фактора некроза опухолей (ФНО) и хемокины, представлены наибольшим числом индивидуальных лигандов. Семейство ФНО сформировано в основном на основании сходства в строении лигандов и их рецепторов, состоящих из трех нековалентно связанных одинаковых субъединиц, формирующих биологически активные молекулы. По биологическим свойствам в данное семейство включены цитокины с разной активностью. Например, ФНО является одним из наиболее типичных провоспалительных цитокинов, Fas-лиганд вызывает апоптоз клеток мишеней, а CD40-лиганд обеспечивает стимулирующий сигнал при межклеточном взаимодействии Т- и В-лимфоцитов. Такие различия в биологической активности структурно сходных молекул определяются в первую очередь особенностями экспрессии и строения их рецепторов, например, наличием или отсутствием внутриклеточного домена «смерти», определяющего апоптоз клеток [3].

W.J. Jin et al. (2013) [8] доказали, что астроциты оказывают значительное влияние на когнитивные функции. Активация астроцитов, индуцированная хронической церебральной гипоперфузией, приводит к когнитивным нарушениям. Гиппокампаальные провоспалительные цитокины (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ) оказывают активное негативное влияние на пространственную память у мышей.

Большое количество работ подтверждает гипотезу о том, что нейровоспаление имеет причинно-следственную связь с развитием послеоперационных когнитивных дисфункций (ПОКД). На моделях животных доказана связь длительности операции и анестезии с ПОКД. Эта связь коррелирует с изменениями провоспалительных цитокинов [7].

Показано (Волков, Клигуненко, 2013), что при беременности возникают легкие когнитивные нарушения в виде рассеянности внимания, диспраксии, некоторого снижения памяти, легкой недостаточности управляющих функций. Когнитивные дисфункции возникают в I триместре беременности у каждой четвертой женщины. По мере увеличения срока беременности их частота увеличивается с вероятностью возникновения у каждой второй женщины, а проявления усиливаются и сохраняются до конца беременности [1].

ФНО- $\alpha$  (кахектин) обладает плеiotропными эффектами и участвует в развитии воспалительного и иммунного ответа при многих инфекционных и неинфекционных заболеваниях, включая септический шок, хронические воспалительные процессы (васкулиты, артриты), аутоиммунные заболевания. ФНО- $\alpha$  выполняет важнейшие функции в период запуска воспаления: активирует эндотелиальные клетки и лейкоциты, увеличивает проницаемость эндотелия, цитотоксичность фагоцитов, адгезивные свойства лейкоцитов. Он

способствует миграции лейкоцитов в зону воспаления, что обуславливает развитие тканевых повреждений, влияет на липидный метаболизм, коагуляцию, устойчивость к инсулину, функционирование эндотелия, стимулирует продукцию интерферона-гамма [9]. ФНО- $\alpha$  принимает участие в репарации тканей в связи со способностью стимулировать ангиогенез и пролиферацию фибробластов, играет ведущую роль в развитии атеротромбоза при анти-фосфолипидном синдроме и атеросклерозе, участвует в формировании органной дисфункции при синдроме системного воспалительного ответа (ССВО). При ССВО уровень плазменных рецепторов ФНО- $\alpha$  превышает уровень самого цитокина в 10–100 раз. Избыточная продукция ФНО- $\alpha$  вызывает нарушение гемодинамики (снижает сократимость миокарда, минутный объем крови, увеличивает проницаемость капилляров), оказывает цитотоксический эффект на клетки организма. Доказано значение полиморфизма гена ФНО- $\alpha$  в патогенезе ССВО. У пациентов с септическим шоком выявляют более высокий уровень ФНО- $\alpha$  в плазме, у них развиваются более тяжелые нарушения в работе органов и отмечена большая частота летального исхода [4].

ФНО- $\alpha$  играет ключевую роль в регуляции фибринолиза, однако не является ведущим фактором, активирующим процессы коагуляции. После внутривенного введения ФНО- $\alpha$  происходит выраженная активация фибринолитического ответа, обусловленная увеличением продукции тканевого фактора. Впоследствии наблюдается ингибирование фибринолиза за счет стимуляции экспрессии PAI-1 под действием ФНО- $\alpha$  [4, 9].

ИЛ-6 обладает широким спектром биологической активности: участвует в активации Т- и В-лимфоцитов, гемопоэза, синтеза острофазовых белков, процессов коагуляции. Так, содержание ИЛ-6 при

воспалении коррелирует с интенсивностью лихорадки и уровнем С-реактивного белка.

Ранние цитокины (ФНО- $\beta$  и ИЛ-1) обладают синергичным эффектом по отношению к ИЛ-6, активируя его экспрессию. ИЛ-6 ингибирует экспрессию ранних цитокинов. Кроме того, он воздействует непосредственно на гипоталамус, активируя гипоталамо-гипофизарную систему, усиливая выработку адренокортикотропного гормона и кортизола [5].

Введение ИЛ-6 не сопровождается признаками системного воспаления у обезьян. Считают, что уровень ИЛ-6 характеризует активность воспалительного каскада. Показано, что его содержание коррелирует с тяжестью процесса и является значимым признаком для прогнозирования исхода ССВО. ИЛ-6 является медиатором коагуляционного каскада, но не затрагивает систему фибринолиза. Ему отводят ключевую роль в повышении экспрессии тканевого фактора. Последний активирует процессы коагуляции, которые в условиях системного воспаления становятся критическими и приводят к синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Провоспалительные цитокины (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8) усиливают экспрессию рецепторов, активируемых протеинами (2 типа) на эндотелии, и продукцию тромбина моноцитами, усиливая гиперкоагуляцию. У мышей с высоким уровнем ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 отмечено ускоренное образование тромба по сравнению с контрольной группой [9].

**Цель исследования** – изучить динамику уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ ) в крови у рожениц после кесарева сечения и тотальной внутривенной анестезии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В Днепропетровской городской больнице № 9 обследованы 15 женщин со сроком беременности 37–42 нед (в

среднем – 39,2 нед), которым проведено родоразрешение путем кесарева сечения в условиях тотальной внутривенной анестезии с искусственной вентиляцией легких эндотрахеальным методом. Средний возраст пациенток – 28,4 года (19–42 года). Критерии исключения: возраст до 18 и более 45 лет, срок беременности до 36 недель, преэклампсия тяжелой степени или эклампсия, декомпенсированная экстрагенитальная патология, сахарный диабет, психические заболевания, признаки бактериальной или вирусной инфекции, микозов, отказ женщины от участия в исследовании на любом из этапов, использование кетамина в анестезиологическом пособии.

Анестезию проводили по методике для кесарева сечения согласно приказу МЗ Украины № 977 от 27.12.2011 г. [2]. Тотальная внутривенная анестезия с искусственной вентиляцией легких эндотрахеальным методом: тиопентал натрия в дозе 4 мг/кг массы тела, сукцинилхолин в дозе 1,0–1,5 мг/кг массы тела, после извлечения плода – фентанил по схеме 10–5–3 мкг/кг массы тела в час и диазепам в дозе 10 мг. Глубину анестезии контролировали с помощью BIS-индекса (монитор BISX Module, BIS™ Covidient, США).

Средняя длительность операции – (27,1 $\pm$ 2,3) мин. Осложнений операции и анестезии не было. Гемодинамические нарушения не зарегистрированы.

В послеоперационный период женщины получали нестероидное противовоспалительное средство (кеталонг) в дозе 2,0 мл дважды в сутки внутримышечно. У всех пациенток боль в первые сутки послеоперационного периода была менее 30–40 мм по нумерической шкале боли, поэтому опиаты не назначали.

Концентрацию цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа. Для ФНО- $\alpha$  использовали наборы реактивов ЗАО «Вектор-Бест» А-8756 с диапазоном

измеряемых концентраций 0–250 пг/мл, для ИЛ-6 – набор реактивов Human ИЛ-6 ELISA kit Diaclone (Франция) с диапазоном измеряемых концентраций 0–200 пг/мл. Забор крови для анализов производили: 1) при поступлении беременной женщины в родильное отделение, 2) через 1 сутки после операции, 3) при выписке (на 5–7-е сутки послеоперационного периода).

Параметры региональной нормы для ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  были определены у 15 небеременных здоровых женщин в возрасте 25–40 лет. Забор крови проводили натощак в 9–11 часов утра. Норма для ИЛ-6 составила  $(1,40 \pm 0,15)$  пг/мл (0,92–1,67 пг/мл,  $\sigma = 0,34$ ), а ФНО- $\alpha$  –  $(9,37 \pm 1,07)$  пг/мл (4,50–12,7 пг/мл,  $\sigma = 3,17$ ).

Для статистического анализа использовали методы параметрической и непараметрической статистики, пакет статистических функций для Excel 2010, статистическую программу Statistica 10.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И

## ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что исходно (в III триместре беременности) уровень ИЛ-6 составлял в среднем  $(4,13 \pm 0,52)$  пг/мл (от 2,43 до 6,97 пг/мл) и достоверно превышал норму на 195% ( $p = 0,004$ ), на втором этапе исследования –  $(55,12 \pm 5,23)$  пг/мл (от 85,65 до 29,72 пг/мл) и достоверно превышал норму на 3837% ( $p < 0,001$ ), на третьем этапе –  $(9,93 \pm 1,50)$  пг/мл (от 19,78 до 4,38 пг/мл) и превышал норму на 609,3%, на момент выписки достоверно снижался на 3227,7% ( $p < 0,0001$ ). Выявлена достоверная разница между I и III этапами исследования ( $p = 0,0028$ ) (рис. 1).

Таким образом, к третьему триместру беременности уровень ИЛ-6 достоверно превышал норму. После кесарева сечения он достоверно резко увеличивался в 1-е сутки, а к 5–7-м суткам резко снижался, хотя и оставался выше нормы. Резкое увеличение концентрации ИЛ-6 происходит, вероятно, в ответ на хирургическую травму, анестезию, а также для запуска коагуляционного каскада и активации тканевого фактора и гемопоэза.

Анализ динамики концентрации ФНО- $\beta$  выявил, что его средний уровень в III триместре беременности составлял  $(1,99 \pm 0,62)$  пг/мл (от 1,11 до 5,34 пг/мл), что на 78,8% было ниже нормы ( $p < 0,0001$ ), на втором этапе исследования –  $(1,57 \pm 0,19)$  пг/мл (от 0,69 до 2,82 пг/мл) и был ниже нормы на 83,2% и ниже исходного уровня на 4,4%. Разница между этапами недостоверна ( $p = 0,15$ ), на третьем этапе –  $(0,61 \pm 0,12)$  пг/мл (от 0,16 до 1,17 пг/мл), что было ниже нормы на 93,5% и достоверно ниже на 10,3%, чем на втором этапе ( $p = 0,0002$ ). Разница между

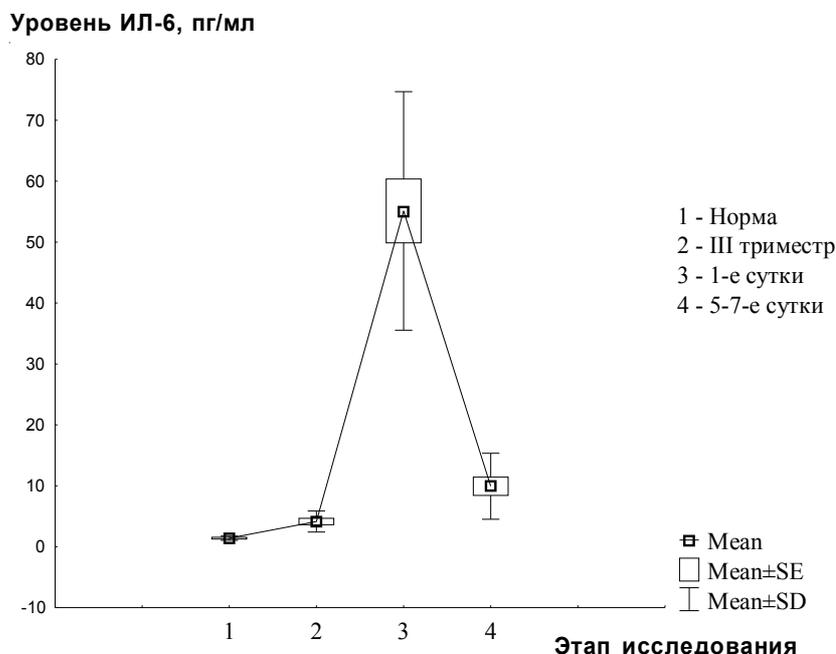


Рис. 1. Динамика уровня ИЛ-6 после кесарева сечения

I и III этапами исследования была достоверной ( $p=0,0002$ ) (рис. 2).

Таким образом, к третьему триместру беременности уровень ФНО- $\alpha$  достоверно снижался. В послеоперационный период после кесарева сечения он остается сниженным как на 1-е сутки, так и на 5–7-е сутки. Снижение концентрации ФНО- $\alpha$ , вероятно, обусловлено перестройкой иммунной системы во время беременности (липидный метаболизм, коагуляция, устойчивость к инсулину, функционирование эндотелия), а также «предотвращаем» организмом чрезмерной активации фибринолиза (и, как следствие, кровотечения в родах) и отрицательных гемодинамических сдвигов (с последующим шоком).

Соотношение между уровнями ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  в конце третьего триместра беременности по отношению к норме составляло  $2,9 : 0,2$ , через сутки после кесарева сечения –  $39,4 : 0,2$ , на 5–7-е сутки –  $7,1 : 0,07$  (рис. 3).

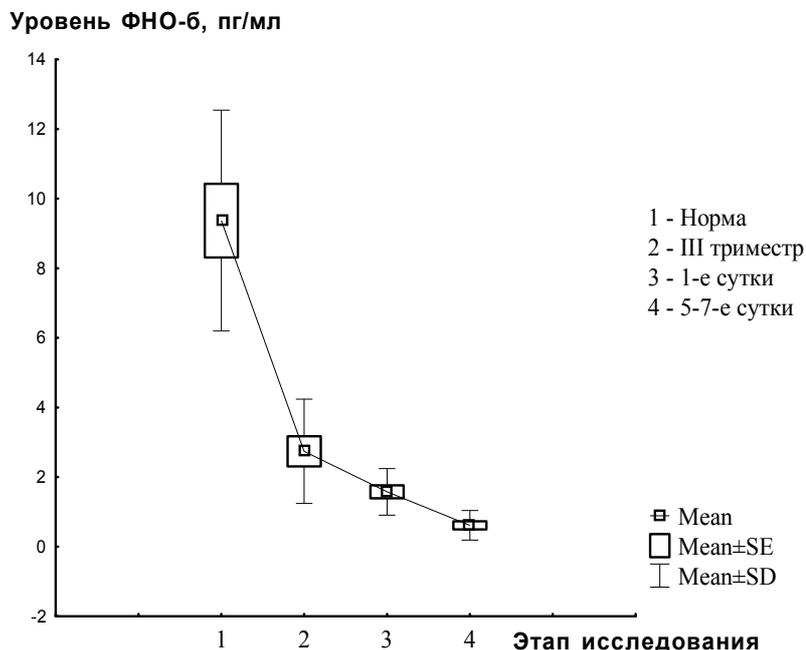


Рис. 2. Динамика уровня ФНО- $\alpha$  после кесарева сечения

### ВЫВОДЫ

1. Уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6 достоверно повышается к третьему триместру беременности, тогда как концентрация ФНО- $\alpha$  достоверно снижается.
2. При тотальной внутривенной анестезии с искусственной вентиляцией легких эндотрахеальным методом концентрация

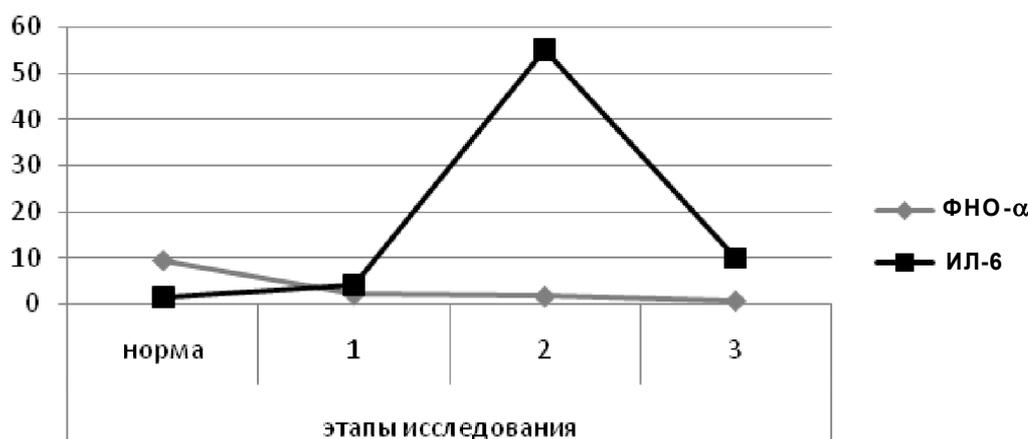


Рис. 3. Соотношение уровней ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  после кесарева сечения.

ІЛ-6 різко збільшується через 24 ч після кесарева сечення, а к 5–7-м суткам достовірно різко знижується, хоча і остається вище норми.

3. Концентрація провоспалительного цитокіна ФНО- $\alpha$  при тотальній внутривенній анестезії з искусственной вентиляцією легких ендотрахеальним методом остається значительно зниженою через 24 ч після кесарева сечення і достовірно продовжує знижуватися к 5–7-м суткам послеоперационного періода.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волков А.О., Клигуненко Е.Н. (2013) Нарушение познавательных функций при беременности: Матеріали VI Національного конгресу анестезіологів України (Львів, 18-21 вересня 2013 р.). Біль, знеболювання і інтенсивна терапія, № 2д, с. 58-60.
2. Наказ МОЗ України від 27.12.2011 р. № 977 «Про внесення змін до наказу МОЗ України від 15.12.2003 р. № 582 “Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги”».
3. Симбирцев А.С. (2004) Цитокины: классификация и биологические функции. Цитокины и воспаление, т. 3, № 2, с. 16–23.
4. Тромбогеморрагические осложнения в акушерско-гинекологической практике: Руководство для врачей / Под ред. А.Д. Макацария (2011). М.: Мед. информ. агентство, 1056 с.
5. Цитокины человека и связанные с ними молекулы: интернет-ресурс: Информационный портал по лабораторной диагностике. Режим доступа до журналу <http://laboratory.rusmedserv.com/immunstatus/citokin/html> Назва з екрана.
6. Beutler B. (2004) Innate immunity: an overview. *Mol.Immunol*; 40: 845-859.
7. Haseneder R., Kochs E., Jungwirth B. (2012) Postoperative cognitive dysfunction. Possible neuronal mechanisms and practical consequences for clinical routine. *Anaesthesist*; 61(5):437-43.
8. Jin W.J., Feng S.W., Feng Z., et al. (2013) Minocycline improves postoperative cognitive impairment in aged mice by inhibiting astrocytic activation. *Neuroreport*. Epub ahead of print.
9. Levi M., Poll T.B., Her H.R. (2004) Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation*; 109: 2698-2704.

**Волков О.О.**

ДИНАМІКА РІВНЯ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ У КРОВІ ПОРОДІЛЬ ПІСЛЯ КЕСАРЕВОГО РОЗТИНУ ПРИ ТОТАЛЬНІЙ ВНУТРІШНЬОВЕННІЙ АНЕСТЕЗІЇ

КЗ «Дніпродзержинська міська лікарня № 9»

Вивчено динаміку рівня прозапальних цитокінів (інтерлейкіну (ІЛ)-6 і фактора некрозу пухлини (ФНП)- $\alpha$ ) у крові породіль після кесаревого розтину і тотальної внутрیشньовенної анестезії. Показано, що рівень ІЛ-6 достовірно підвищується до третього триместру вагітності, тоді як концентрація ФНП- $\alpha$  достовірно знижується. При тотальній внутрیشньовенній анестезії зі штучною вентиляцією легень ендотрахеальним методом рівень ІЛ-6 різко збільшується через 24 год після операції, а до 5–7-ї доби хоча достовірно різко знижується, але перевищує норму. Концентрація ФНП- $\alpha$  залишається значно зниженою через 24 год після операції і достовірно продовжує знижуватися до 5–7-ї доби післяопераційного періоду.

**Ключові слова:** кесарев розтин, прозапальні цитокіни, анестезія.

**Volkov O.**

THE DYNAMIC OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES LEVELS IN PARTURIENTS' SERUM AFTER CAESARIAN SECTION UNDER TOTAL INTRAVENOUS ANAESTHESIA

Dniprodzerzhynsk Municipal Clinic N 9

The dynamic of proinflammatory cytokines levels (IL-6 and TNF- $\alpha$ ) in parturients serum after caesarian section under total intravenous anaesthesia is studied. It is shown that level of IL-6 had risen to the third trimester of pregnancy, while concentration of TNF- $\alpha$  goes down. At total intravenous anaesthesia with MLV by an intratracheal method concentration of IL-6 extremely increases in 24 hours after caesarean section and to the 5-th–7-th day goes down significantly, although level of IL-6 remains increased. Concentration of TNF- $\alpha$  remains significantly decreased in 24 hours after caesarean section and continues to go down to the 5-th–7-th day after surgery.

**Key words:** caesarian section, proinflammatory cytokines, anaesthesia.

Volkov Oleksiy

THE DYNAMIC OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES LEVELS IN PARTURIENTS SERUM AFTER CAESARIAN SECTION UNDER TOTAL INTRAVENOUS ANAESTHESIA

Public Institution "Dniprodzerzhynsk municipal clinic №9" Dnipropetrovs'k Regional Council Dniprodzerzhynsk, Ukraine. [aleksei2009@i.ua](mailto:aleksei2009@i.ua)

The cytokines are a group of polypeptide mediators of intercellular cooperation, participating mainly in forming and adjusting of protective reactions of organism at introduction of pathogens and violation of integrity of tissues, and also in adjusting of the normal physiological functions. Jin W.J. and other, 2013 [4] had proven that asters considerably have an influence with cognitive functions. Asters activating, induced by chronic cerebral hypoperfusion, results to cognitive dysfunctions. Hippocampal proinflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6,  $\Phi\text{HO}\alpha$ ) have active negative influence with spatial memory for mice. The great number of works confirms a working hypothesis, that neuroinflammation has impact on development of the postoperative cognitive dysfunctions. The surgery duration and anaesthesia duration influence the postoperative cognitive dysfunctions was proven on animal models. This effect correlates with the changes of proinflammatory cytokines [3]. **The aim** of this article is to study of the dynamic of proinflammatory cytokines levels (IL-6 and  $\Phi\text{HO}\alpha$ ) in parturients' serum after caesarian section and total intravenous anaesthesia. **Materials and methods.** After local ethics committee approval and obtained informal consent, 15 parturients are inspected in the term of pregnancy of 37-42 weeks whose were delivered by the caesarian section under the total intravenous anaesthesia. Criteria of exception were: age to 18 and 45 more than, term of pregnancy to 36 weeks, severe preeclamsia or eclampsia, decompensated extragenital pathology, diabetes mellitus, psychical diseases, signs of bacterial or viral infection, mycoses, abandonment of woman from participating in the research at any of it stages, use ketamine in an anaesthetic manual. Total intravenous anaesthesia with mechanical lung ventilation (TIVA with MLV) : thiopental sodium 4 mgs/ kg, succinylcholine 1-1,5 mgs/ kg, after extraction of newborn is a phentanyl, by the scheme of 10-5-3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hour}$  and Diazepam 10 mgs. The depth of anaesthesia was controlled by measurement of BIS-index (monitor of BISX Module, BIS™ Covidient, the USA). Duration of the caesarian section was  $27,1 \pm 2,3$  min. The operation and the anaesthesia had no any complications. For all the patients postoperative pain was less than 30-40 mm on VAS. The cytokines concentration was determined by the method of IFA analysis. We used on the kits of reagents JSC "Vector-Best" A- 8756 for  $\Phi\text{HO}\alpha$  with the range of measureable concentrations: 0-250 pg/ml. For IL - 6 was used on the kit of reagents Human IL-6 ELISA kit Diaclone (France) with the range of measureable concentrations: 0-200 pg/ml. The blood samples for analyses were taken: 1) at entering to the obstetrical department, 2) in a 24 hours after a surgery, 3) at discharge from hospital (5-7th postoperative day). Parameters of regional norm for IL-6 and  $\Phi\text{HO}\alpha$  were measured for 15 unpregnant healthy women in age 25-40. The blood samples for analyses were taken on an empty stomach at 9-11 a.m. The Normal value for IL-6 was  $1,40 \pm 0,15$  pg/ml (range 0,92-1,67 pg/ml,  $y=0,34$ ). For  $\Phi\text{HO}\alpha$  a level of normal values was  $9,37 \pm 1,07$  pg/ml (range 4,50-12,7 pg/ml,  $y=3,17$ ). **Conclusions.** It is shown that IL-6 level has risen to the third trimester of pregnancy, while concentration of  $\Phi\text{HO}\alpha$  goes down. At total intravenous anaesthesia with MLV by an intratracheal method concentration of IL-6 extremely increases in 24 hours after caesarean sections, and by a 5-7th day after surgery goes down significantly, although IL-6 level remains increased. Concentration of proinflammatory cytokine  $\Phi\text{HO}\alpha$  at total intravenous anaesthesia remains significantly decreased in 24 hours after caesarean sections and continues to go down by 5-7th day after surgery.

**Keywords:** caesarian section, proinflammatory cytokines, anaesthesia.