

С1 ИНГИБИТОР СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА У НОВОРОЖДЕННЫХ ГРУППЫ РИСКА ПО РАЗВИТИЮ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ

С.И. Жданова¹, З.М. Бикмуллина¹, Л.В. Козлов², В.П. Булатов¹, Н.В. Гора²,
С.С. Андина², Р.И. Жданов³

¹Казанский государственный медицинский университет им. С.В. Курашова, Казань, Россия

²Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия

³Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Complement system C1-inhibitor at newborns of intrauterine infection development risk group

S.I. Zhdanova¹, Z.M. Bikmullina¹, L.V. Kozlov², V.P. Bulatov¹, N.V. Gora², S.S. Andina², R.I. Zhdanov³

¹S.V. Kurashov Kazan State Medical University, Kazan, Russia

²G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

³Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

Система комплемента относится к неспецифическим защитным механизмам организма, которая начинает функционировать сразу после рождения ребенка. Малоизученным является состояние комплементарной системы у новорожденных детей, в том числе нет данных о С1 ингибиторе. Целью работы являлось изучение функциональной активности и содержания С1 ингибитора системы комплемента в крови новорожденных детей (3–5 день) и их матерей из группы риска по развитию микоплазменной и уреоплазменной инфекций.

Было исследовано 105 образцов крови, взятых у новорожденных и их матерей из группы риска по развитию микоплазменной и уреоплазменной инфекции методом случайной выборки. Группой сравнения явились 10 практически здоровых новорожденных детей с отсутствием риска развития внутриутробных инфекций и матери. Функциональную активность и содержание С1 ингибитора комплемента изучали методом иммуноферментного анализа.

Активность и содержание С1 ингибитора у детей от матерей с инфекцией выше по сравнению с детьми от здоровых матерей. Инфекционный агент у матери вызывает в большей степени повышение активности С1 ингибитора по сравнению с его количеством, что объясняется ускорением обновления этого белка. Выявлено достоверное нарастание активности С1 ингибитора в крови у детей как в контрольной группе ($p = 0,009$), так и у детей от матерей с инфекцией ($p = 0,0009$) по сравнению с пуповинной кровью. У матерей обнаружено в большинстве случаев очень высокое содержание и функциональная активность С1 ингибитора, многократно превышающее нормальные значения, что может быть обусловлено острофазным состоянием организма в период родового процесса. Почти четырехкратное достоверно более низкое содержание С1 ингибитора в пуповинной крови по сравнению с материнской свидетельствует о существовании гематоплацентарного барьера для С1 ингибитора.

Ключевые слова: С1 ингибитор, система комплемента, новорожденный, микоплазменная и уреоплазменная инфекции.

Система комплемента относится к неспецифическим защитным механизмам организма, которая начинает функционировать сразу после рождения ребенка. Компоненты комплемента в норме присутствуют в крови в виде функционально неактивных молекул [1]. Активация системы комплемента может происходить под действием комплексов антиген-антитело (классический путь) или без участия антител за счет воздействия полисахаридов и липополисахаридов бактерий, вирусов и вирус-инфицированных клеток (альтернативный путь) [2]. В ряде исследований выявлено, что наследственный дефицит компонентов комплемента или их ингиби-

Complement system is considered as unspecific defence system of human organism, which starts to function just after born. The state of complement system at newborns including C1 inhibitor data is less studied. The paper is aimed to study functional activity and contents of C1 inhibitor in blood of newborn infants (taken on 3–5 day of life), their mothers and umbilical blood as well from group of the risk of development of mycoplasma and ureaplasma infections.

Totally 105 blood samples taken from newborn infants and their mothers of risk group were analysed based on occasional selection approach. Ten healthy newborn infants without risk of intrauterine infection development and their mothers were used as a control group. Complement C1 inhibitor functional activity and contents is studied by immune enzyme assay using ELISA.

C1 inhibitor activity and blood contents at newborn infants from mothers of infection risk group is higher compare to newborn infants from healthy mothers. Infection agent induces C1 activity more than its content at mother blood, due to higher turnover of this protein. It is approved the increased C1 activity at newborn blood of control group ($p = 0,009$) and of mothers of risk group ($p = 0,0009$) compare to umbilical blood. The mothers' blood is characterized with very high level of C1 content and functional activity many times higher than normal values which is specific to the acute phase state of the organism during the born process. C1 content at umbilical cord blood is 4-fold less than at mothers blood which testifies an existence of blood-brain barrier for C1 inhibitor.

Key words: C1 inhibitor, complement system, newborn, mycoplasma and ureaplasma infections.

торов может приводить к аутоиммунным нарушениям [3]. Однако известно, что система комплемента существенно изменяется и при наличии в организме инфекционных агентов [4], и это приводит к повторным бактериальным инфекциям, хроническим воспалительным состояниям [5, 6]. Система комплемента обеспечивает такие процессы иммунного ответа как бактериальный лизис, хемотаксис нейтрофилов, стимуляция специфического и неспецифического фагоцитоза, индукция естественной цитотоксичности и воспаления иммунной природы [7]. С1 ингибитор является ключевым регулятором процессов активации комплемента по классическому, альтернативному

и лектиновому путям, свертывающей и противосвертывающей, а также кинин-калликреиновой систем [8]. Он является полипептидом с молекулярной массой 76 кДа, состоящим из двух доменов, содержащих 113 остатков аминокислот в N-концевом домене и 365 — в C-концевом. Нормальная концентрация C1-ингибитора в плазме — 200 мкг/мл [9]. Дефицит его (количественный и/или функциональный), врожденный или приобретенный (в результате образования аутоантител) приводит к отеку Квинке, возникновению аутоиммунных заболеваний и рецидивирующих бактериальных и грибковых инфекций [10, 11]. Малоизученным является состояние системы комплемента у новорожденных детей, в том числе нет данных о C1 ингибиторе. Не изучены также его количественные и качественные характеристики, изменение при наличии в организме инфекционных агентов. Известно лишь, что у новорожденных в целом ослаблены процессы активации классического пути, и наиболее выраженным снижением характеризуется альтернативный путь [12–15]. Целью настоящей работы явилось изучение функциональной активности и содержания C1 ингибитора системы комплемента в крови новорожденных детей и их матерей из группы риска по развитию инфекций.

Материал и методы

Дизайн исследования. В исследовании принимали участие матери на добровольной основе, подписавшие информированное согласие, утвержденное этическим комитетом КГМУ, и их новорожденные дети. Согласно протоколу, матери из группы риска по развитию микоплазменной и уреоплазменной инфекций были отобраны для исследования в перинатальном центре Республиканской клинической больницы г. Казани методом случайной выборки. Работа проводилась совместно с лабораторией молекулярной иммунологии Московского института эпидемиологии и микробиологии им Г.Н. Габричевского (МНИИЭМ). Было исследовано 110 образцов крови, взятых у новорожденных и их матерей. Изучено состояние системы комплемента у 25 новорожденных и их матерей, обладавших риском развития микоплазменной и уреоплазменной инфекций (основная группа). Исследовано 75 образцов крови (в основной группе). Все образцы разделены на три подгруппы: 1 — 25 сывороток крови новорожденных детей, взятой на 3–5 день жизни; 2 — 25 сывороток пуповинной крови этих же новорожденных; 3 — сывороток материнской крови, взятой во время родов. Группой сравнения явились сыворотки крови 10 практически здоровых доношенных новорожденных детей, не имевших риска развития внутриутробных инфекций, и их матерей. У матерей основной группы было выявлено методом ПЦР наличие в организме микоплазменной, уреоплазменной, в том числе в сочетании с цитомегаловирусной, герпетической или хламидийной инфекциями. При этом клинические проявления инфекций как у матерей, так и у их детей отсутствовали. В контрольной группе полимеразная цепная реакция показала отсутствие этих возбудителей.

Функциональную активность и содержание C1 ингибитора комплемента определяли методом иммуноферментного анализа [16, 17]. Поскольку имеются определенные трудности получения и хранения высокоочищенного препарата C1 ингибитора, сохраняющего 100% своей функциональной актив-

ности, решено было выбрать в качестве стандарта пул из не менее, чем 10 сывороток здоровых людей, сохраняемый либо в замороженном виде при -20°C , либо в лиофильно высушенном. Поскольку среднее содержание C1 ингибитора в сыворотках крови равно 200 мкг/мл, стандарту условно приписывали содержание C1 ингибитора 200 мкг/мл, а активность также принималась равной активности 200 мкг/мл ингибитора. При этом полагали, что белок в контрольной сыворотке обладает 100% активности, хотя определенная часть белка в сыворотке крови может находиться в неактивном или инактивированном состоянии. Поэтому более высокая, по сравнению с контролем, удельная активность C1 ингибитора в определяемых образцах, объясняемая более высокой скоростью обновления белка в острофазный период, может приводить к парадоксальным более высоким значениям активности по сравнению с количеством [18].

Среди обследованных детей из группы риска развития микоплазменной и уреоплазменной инфекций большинство доношенных 38–41 нед. гестации и недоношенных детей гестации 36–37 нед. — 8%, из них мальчиков — 60%, девочек — 40%. В контрольной группе все дети были доношенными, из них половина — мальчики, половина — девочки. Все дети из обеих групп были выписаны домой на пятый — седьмой день жизни в удовлетворительном состоянии, общеклинические исследования крови были в пределах возрастной нормы.

Статистическая обработка. Данные были подвергнуты однофакторному дисперсионному анализу. В таблицах приведены величины среднего значения и стандартной ошибки среднего с расчетом статистической значимости различий.

Результаты

С целью изучения состояния системы комплемента как индикатора риска развития микоплазменной и уреоплазменной инфекций определяли содержание и функциональную активность C1 ингибитора в крови новорожденных, их матерей и пуповинной крови. Ранее было показано, что динамика изменения содержания и функциональной активности C1 ингибитора может характеризовать протекание инфекционного процесса [17]. При этом повышенный биосинтез этого белка в острый период заболевания приводит к увеличению удельной активности C1 ингибитора с кажущимся превышением активности над содержанием. Было выявлено, что активность C1 ингибитора у детей от матерей с инфекцией достоверно выше по сравнению с детьми от здоровых матерей ($p = 0,003$) (табл. 1). Количество ингибитора (табл. 2) также повышалось у детей от матерей с инфекцией, хотя различия не были статистически значимы ($p = 0,06$). Кроме того, у детей контрольной группы количество и активность C1 ингибитора высоко коррелируют между собой, а у детей от матерей с инфекцией — корреляция незначительна, из чего можно предположить, что инфекционный агент у матери вызывает в большей степени повышение активности C1 ингибитора по сравнению с его количеством. Выявлено достоверное нарастание активности C1 ингибитора у детей как в контрольной группе ($p = 0,009$), так и у детей от матерей с инфекцией ($p = 0,0009$) по сравнению с пуповинной кровью, при отсутствии значимых различий по содержанию

C1 ингибитора между детьми и пуповинной кровью. У детей от матерей с инфекцией в значительно большей степени нарастает его активность, что может быть обусловлено острофазной реакцией на инфекцию. У матерей обнаружено в большинстве случаев очень высокое содержание и функциональная активность C1 ингибитора — многократно превышающее нормальные значения (100–200 мкг/мл), что может быть обусловлено острым периодом родового процесса, осложненного к тому же наличием инфекции. Почти четырехкратное достоверное снижение содержания C1 ингибитора в пуповинной крови по сравнению с материнской (табл. 2) свидетельствует о существовании гематоплацентарного барьера для C1 ингибитора.

Наследственный дефицит C1 ингибитора довольно редкое заболевание, поэтому обнаружить его при обследовании 45 человек было маловероятно. Тем не менее, в крови четверых (8,9%) новорожденных (трое из основной группы обследованных, один — из контрольной) и в их сыворотках пуповинной крови выявлен дефицит C1 ингибитора комплемента, определяемый как количественно, так и по функциональной активности (табл. 3). Содержание C1 ингибитора в пуповинной крови равно $73,50 \pm 8,80$ мкг/мл, активность — $96 \pm 7,85$ мкг/мл, что в два раза меньше нормы; в крови ребенка количество и функциональная активность незначительно выше и составляет $85 \pm 5,95$ мкг/мл и $141,25 \pm 30,30$ мкг/мл, соответственно.

Таблица 1. Активность C1 ингибитора в крови обследованных детей и их матерей (M±m)

Группы	Активность C1 ингибитора в крови, мкг/мл		
	Пуповина	Ребенок	Мать
Основная	$160,58 \pm 11,90^{**}$	$298,79 \pm 33,56^{*/**}$	$513,28 \pm 43,67$
Контроль	$130,30 \pm 10,10^{**}$	$178,10 \pm 13,20^{**}$	$432,8 \pm 49,80$

* — различия статистически значимы при сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$); ** — различия статистически значимы при сравнении с другими тестовыми группами.

Таблица 2. Содержание C1 ингибитора в крови обследованных детей и их матерей (M±m)

Группы	Количество C1 ингибитора в крови, мкг/мл		
	Пуповина	Ребенок	Мать
Основная	$165,50 \pm 16,20$	$216,50 \pm 32,20$	$521,36 \pm 62,10^*$
Контроль	$142,70 \pm 13,47$	$159,90 \pm 14,80$	$602,60 \pm 54,78^*$

* — различия статистически значимы при сравнении с другими тестовыми группами (пуповина, ребенок).

Таблица 3. Содержание и активность C1 ингибитора в крови детей (4 обследованных) с дефицитом C1 ингибитора и их матерей (M±m)

Количество, мкг/мл			Активность, мкг/мл		
Пуповина	Ребенок	Мать	Пуповина	Ребенок	Мать
$73,50 \pm 8,80$	$85 \pm 5,95$	$472,75 \pm 78$	$96 \pm 7,85$	$141,25 \pm 30,30$	$445,75 \pm 98,60$

Обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что в период родовой деятельности наблюдается повышенный биосинтез C1 ингибитора для предотвращения активации системы комплемента и явлений воспаления, которые могут помешать нормальному течению родов. Кроме того, у 8,9% детей наблюдается, вероятно, наследственный дефицит C1 ингибитора. Для C1 ингибитора существует гематоплацентарный барьер. В пуповинной крови содержание и активность C1 ингибитора минимальны. После родов происходит достоверное нарастание активности этого белка при незначительном нарастании содержания, причем как в группе с инфекцией, так в контрольной. Повышение удельной активности C1 ингибитора может быть обусловлено более высоким содержанием доли свежего активного белка, обусловленного усилением его биосинтеза.

Инфицированность матерей во время или до беременности сопровождается повышением активности C1 ингибитора в крови новорожденного ребенка, как белка острой фазы. Активность C1 ингибитора у детей от матерей с инфекцией также достоверно повышена по сравнению с контролем, что доказывает индукцию биосинтеза этого белка как в организме матери, так и в организме плода в результате влияния инфекций, как изолированно микоплазменной, уреоплазменной, так и в сочетании с вирусной — герпес, ЦМВИ, а также и хламидийной инфекциями. Выявление у 9% новорожденных низкого содержания в крови C1 ингибитора как в пуповинной, так и после рождения, может свидетельствовать о наличии врожденного дефицита. Поскольку у матерей этих новорожденных дефициты обнаружены не были, можно предположить, что дефициты у детей унаследованы от отцов. Полученные данные также

могут свидетельствовать о том, что для обнаружения врожденных дефицитов С1 ингибитора может быть использован анализ количества и функциональной активности С1 ингибитора в пуповинной крови, получаемой без инвазивных процедур, поскольку полученные нами результаты соответствуют содержанию этого фактора в крови ребенка, а не его матери.

Таким образом, в работе обнаружено повышение активности С1 ингибитора у матерей в процессе родов по сравнению с нормативными, а также у новорожденных от инфицированных матерей по сравнению с детьми из контрольной группы. Кроме того, у 9% новорожденных на основании снижения содержания в крови С1 ингибитора менее 100 мкг/мл можно предположить наличие врожденного дефици-

та С1 ингибитора. Содержание и активность С1 ингибитора малоисследованы и дальнейшее изучение могло бы приоткрыть особенности функционирования системы комплемента у детей и истоки возникновения различных воспалительных заболеваний, в том числе и аутоиммунных.

Благодарности

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, а также средств НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ РФ и КГМУ им. С.В. Курашова и грантом РФФИ № 12-03-97089-р_поволжье.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Хаитов Р.М. Клиническая аллергология. Руководство для практикующих врачей. Москва: Медицина; 2002.
2. Козлов Л.В. Белки системы комплемента: активация и регуляция. Иммунология 1997; 2: 8–13.
3. Тиц Н.У., редактор. Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Москва: Лабинформ; 1997.
4. Kikkawa S., Matsumoto M., Sasaki T. et al. Complement activation in Mycoplasma fermentans-induced mycoplasma clearance from infected cells: probing of the organism with monoclonal antibodies against M161Ag. Infect. Immun. 2000; 68(3): 1672–80.
5. Матвиенко Н.А. Внутриутробная инфекция и иммунитет. Москва: Медицина; 2000.
6. Сидорова И.С., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. и др. Состояние иммунной системы у беременных и новорожденных группы высокого риска по внутриутробному инфицированию. Российский вестник перинатологии и педиатрии 1999; 6: 10–6.
7. Ройт А. Основы иммунологии. Москва: Мир; 2000.
8. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты: руководство для врачей. Санкт-Петербург; 1998.
9. Nuijens J.H., Eerenberg-Belmer A.J., Huijbregts C.C. et al. Proteolytic inactivation of plasma C1-inhibitor in sepsis. J. Clin. Invest. 1989; 84: 443–50.
10. Козлов Л.В. Комплемент и болезни. Вопросы медицинской

химии 2000; 46(5): 484–6.

11. Шабалов Н.П. Иммунодефицитные состояния. Санкт-Петербург; 2004.
12. Королева Л.И. Роль факторов гуморального иммунитета в развитии перинатальной патологии при беременности, осложненной генитальным хламидиозом. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2000; 5: 15–9.
13. Drew J.H., Arroyave C.M. The complement system of the newborn infant. Biol. Neonat. 1980; 37(3-4): 209–17.
14. Ernst T., Späth P.J., Aebi C. et al. Screening for complement deficiency in bacterial meningitis. Acta Paediatrica 1997; 86(9): 1009–10.
15. Zilow E.P., Hauck W., Linderkamp O. et al. Alternative pathway activation of the complement system in preterm infants with early onset infection. Pediatric Research. 1997; 41(3): 334–9.
16. Андина С.С., Козлов Л.В., Дьяков В.Л. Определение функциональной активности, количества С1 ингибитора и аутоантител к нему как инструмент дифференциальной диагностики отеков. Биомедицинская химия 2004; 50(1): 86–91.
17. Козлов Л.В. Особенности функционирования протеиназ комплемента. Биоорганическая химия. 1994; 20 (3): 229–41.
18. Кулешина О.Н., Андина С.С., Попова О.П. et al. Активность комплемента при коклюше. Эпидемиология и вакцинопрофилактика 2013; 69(2): 46–51.

Поступила 18.08.2014