

УДК 618.2-008.331.1 (575.2)(04)

**ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВА ОТДЕЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
И СУБПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
И ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКЕ ПЛАЦЕНТЫ У ЖЕНЩИН
С ОСЛОЖНЕННЫМ ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ ТЕЧЕНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ**

З.Г. Хамидуллина, Т.М. Укыбасова

Рассматриваются установленные нами изменения количественных параметров клеточного звена иммунитета у беременных с преэклампсией, характеризующиеся как дисфункциональные нарушения, свойственные этому грозному осложнению течения беременности, и которые могут служить диагностическими критериями развития преэклампсии у беременных.

Ключевые слова: преэклампсия; лимфоциты; апоптоз; шеддинг.

Успешное развитие беременности зависит от иммунологического контроля взаимоотношений матери и плода. Наиболее тяжелой формой патологии беременности, связанной с нарушением регуляторных механизмов является преэклампсия, частота которой в различных странах колеблется от 3 до 17 % к числу всех беременностей (Савельева Г.М., 2000 и др.). В Казахстане отмечается достаточно высокий, не снижающийся процент осложнений беременности преэклампсией (17%). В частности, исследование фенотипического профиля иммунокомпетентных клеток в циркуляции, процессы их активации локально и на системном уровне позволяют глубже раскрыть возможные дисфункции иммунной системы матери.

С этой целью проведена оценка количественных и функциональных параметров иммунокомпетентных клеток периферической крови и децидуальной оболочки плаценты беременных с преэклампсией. Обследованы в III-м триместре беременности 30 женщин с осложнением течения преэклампсией (основная группа) и 30 женщин на тех же сроках беременности, не имеющих данной патологии (контрольная группа).

Материал и методики исследования. Материалом исследования служила периферическая кровь, децидуальная ткань плаценты. Лимфоциты крови выделяли на градиенте плотности фиколл/верографин $\rho=1,77$ г/мм по (А. Воуит., 1968; Г. Фримель., 1998). Субпопуляционный

анализ лимфоцитов осуществляли на проточном цитофлюориметре "Facs Calibur", фирмы "Becton Dickenson" методом непрямой мембранной иммунофлюоресценции по методике МЗ РФ (А.В. Филатов, 1992) с применением панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов с *Fitc-меткой* (НПО "Сорбент" Москва, РФ): CD₃₊ – зрелые Т-лимфоциты, CD₄₊ – Т-хелперы/индукторы, CD₈₊ – супрессорно/цитотоксические лимфоциты, CD₁₆₊, CD₅₆₊ – натуральные киллеры, CD₂₀₊ – В-лимфоциты, CD₂₅₊ – рецептор α -цепи интерлейкина 2, CD₉₅₊ – Fas-рецептор, опосредующий апоптоз.

Субпопуляционный анализ лимфоцитов децидуальной оболочки плаценты проводили методом двойного фенотипирования с моноклональными антителами к поверхностным антигенам лимфоцитов (НПО "Сорбент", Москва, РФ): CD₃₊, CD₄₊, CD₈₊, CD₁₆₊, CD₅₆₊, CD₂₀₊ с *Fitc-меткой*. Локализацию активационных маркеров CD₂₅₊, CD₉₅₊ на лимфоцитах с PE-меткой (фикоэритрин).

Анализ популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов на системном и локальном уровне у беременных с осложненным преэклампсией течением беременности позволил выявить следующее.

В периферической крови (системный уровень) у женщин основной группы, в сравнении с контрольной, регистрировалось увеличение абсолютного общего количества лимфоцитов, цир-

кулирующих в единице объема крови ($p < 0,05$), в то время как их уровень (%) был несколько снижен. Аналогичное увеличение в циркуляции абсолютного количества лимфоцитов отмечалось и в отношении зрелых CD_{3+} клеток ($p < 0,05$), при их неизменном процентном содержании ($p > 0,05$). Иммунорегуляторных CD_{4+} и CD_{8+} клеток также были достоверно больше в основной группе, нежели в контрольной, причем их процентное и абсолютное значения были увеличены среди CD_{4+} и абсолютное значение – среди CD_{8+} лимфоцитов ($p < 0,05$). ИРИ был соответственно повышен, хотя и не выявил достоверных отличий от контроля ($p < 0,05$). Натуральные киллерные клетки обоих типов (CD_{16+} , CD_{56+}) в основной группе превышали их количественные параметры (процентное и абсолютное значения) в группе контроля ($p < 0,05$), что вероятно, лежит в основе патогенеза преэклампсии. Клетки антителопродуценты CD_{20+} (В-лимфоциты) в основной группе были также достоверно выше (процентное и абсолютное значения), нежели в контроле ($p < 0,05$). На фоне увеличения общего количества лимфоцитов, при обострении течения беременности преэклампсией, шло нарастание циркулирующих в единице объема крови зрелых Т-лимфоцитов, уровня и абсолютного количества В-клеток антителопродуцентов, увеличение хелперно/индукторных и супрессорно/цитотоксических Т-лимфоцитов с одновременным нарастанием уровня и абсолютного числа натуральных киллерных клеток обоих типов.

Исследование экспрессии маркеров активации иммунокомпетентных клеток у беременных основной группы выявило в сравнении с контролем увеличение рецепции к ИЛ-2 (CD_{25+} маркеру) процентное и абсолютное значение ($p < 0,05$), что указывает на усиление процесса ранней активации клеток при обострении течения беременности преэклампсией. Экспрессия Fas-рецептора CD_{95+} на клетках у этих беременных также была ярко выраженной (процентное и абсолютное значения) ($p < 0,05$), что характеризовало наличие в крови большого количества клеток, готовых к гибели (апоптозу). Но все же количество пролиферирующих клеток в основной группе беременных преобладало над клетками, готовыми к гибели ($p < 0,05$), о чем свидетельствовали соотношение CD_{25+}/CD_{95+} и индекс апоптоза В отличие от данных контроля, децидуальная оболочка плаценты рожениц с осложнением течения беременности преэклампсией по клеточному составу несколько отличалась от предыдущего. Это выражалось в уменьшении

количества зрелых CD_{3+} и иммунорегуляторных CD_{4+} лимфоцитов ($p < 0,05$). Количество CD_{8+} клеток превышало аналогичные данные контроля ($p < 0,05$).

При этом число пролиферирующих клеток при преэклампсии было уменьшенным, нежели в контрольной группе и, наоборот, в децидуе преобладали процессы гибели (апоптоза) над пролиферацией клеток ($p < 0,05$), о чем свидетельствуют индексы CD_{25+}/CD_{95+} и индекс апоптоза (CD_{95+}/CD_{25+}). В плаценте локальное осложнение течения беременности преэклампсией вызывало усиленную гибель (апоптоз) клеток. Это свидетельствует о том, что разбалансировка количественных и функциональных параметров иммунокомпетентных клеток, тестируемая на системном уровне, приводила к истощению и серьезной поломке процесса иммунорегуляции в плаценте, что явилось причиной такого грозного осложнения течения беременности.

В этом плане определенный интерес представляло исследование локализации активационных антигенов CD_{25+} и CD_{95+} на отдельных субпопуляциях Т-лимфоцитов на системном уровне и локально, в децидуальной оболочке плаценты методом двойного фенотипирования

Было установлено, что при преэклампсии локализация CD_{25+} маркера ранней активации лимфоцитов была значительно сниженной, по сравнению с контролем среди иммунорегуляторных CD_{4+} и CD_{8+} клеток крови, что характеризует нарушение процесса иммунорегуляции ($p < 0,05$) на системном уровне.

Наоборот, на натуральных киллерных клетках обоих типов локализация CD_{25+} антигена была повышенной в сравнении с контролем ($p < 0,05$), т.е. натуральные киллерные клетки крови были излишне активированы.

Локализация молекулы апоптоза (CD_{95+}) на всех исследуемых клетках периферической крови при осложненном преэклампсией течении беременности была значительно выше, нежели в контрольной группе ($p < 0,05$). Это указывает на то, что и хелперно/индукторные CD_{4+} клетки-помощники, и супрессорно/цитотоксические CD_{8+} лимфоциты, и натуральные киллерные (CD_{16+} и CD_{56+}) клетки периферической крови были готовы к апоптозу или к гибели, что практически исключало работу этих клеток в иммунорегуляторных механизмах и являлось причиной развития преэклампсии на уровне молекул.

Усиленный сход с поверхности мембран CD_{56+} лимфоцитов децидуальной оболочки плаценты CD_{95+} антигена отмечен нами у 18 бере-

менных с преэклампсией, что составило 60%. В основном это были женщины с тяжелой формой преэклампсии. Среди CD_{8+} и CD_{16+} лимфоцитов децидуа плаценты женщин основной группы выявлена повышенная локализация молекулы апоптоза (CD_{95+}) в отличие от аналогичных данных контроля, что свидетельствует о нарушении апоптотических механизмов и возможности гибели этих клеток локально.

Полученные данные могут являться диагностическими критериями патологии беременности и маркерами такого серьезного осложнения течения беременности, как преэклампсия.

Таким образом, резюмируя сводные данные исследования иммунных параметров на системном и локальном уровнях у беременных с преэклампсией, обследованных в III-м триместре беременности (36–39 недель), в сравнении с контрольной группой, позволило выявить следующее.

Установлены глубокие нарушения клеточного звена иммунитета у беременных с осложненным преэклампсией течением беременности, что вносит определенный вклад в патогенетические аспекты этого грозного осложнения беременности. Выявлен дисбаланс в содержании отдельных популяций и субпопуляций лимфоцитов в крови и локально в децидуальной ткани плаценты.

И если в периферической крови процессы пролиферации клеток все же преобладали над процессами их гибели (апоптоза), то на локальном уровне в плаценте очевидная гибель клеток довлела над их пролиферацией. Об этом свидетельствует и индекс апоптоза и соотношение CD_{25+}/CD_{95+} клеток в группе беременных с преэклампсией в отличие от аналогичных данных, установленных в группе контроля.

Нарушение процесса иммунорегуляции тестируется также и снижением локализации CD_{25+} антигена-маркера ранней активации клеток на хелперно/индукторных (CD_{4+}) и супрессорно/цитотоксических (CD_{8+}) лимфоцитах как периферической крови, так и локально среди клеток децидуа плаценты при преэклампсии.

Выявлена разнонаправленность функциональной активности натуральных киллерных CD_{16+} лимфоцитов (усиление в периферической

крови и снижение в децидуа плаценты) при одинаково повышенной функциональной активности (по CD_{25+} маркеру) в крови и плаценте (CD_{56+}) натуральных киллерных клеток, что также является характерным для осложнения беременности преэклампсией.

Установлен усиленный сход (шеддинг) с поверхности мембран CD_{56+} лимфоцитов децидуальной оболочки плаценты CD_{95+} антигена, опосредующего апоптоз, у 60% беременных с тяжелой формой преэклампсии, что свидетельствует о нарушении апоптотических механизмов при данной патологии. Ярким примером этих нарушений является и усиление локализации молекул апоптоза (CD_{95+}) в крови и децидуа плаценты, расцениваемая как готовность клеток к апоптозу среди CD_{8+} и CD_{16+} лимфоцитов децидуа плаценты и CD_{56+} лимфоцитов периферической крови, а также разнонаправленность локализации CD_{95+} антигена на CD_{4+} клетках крови (где отмечено повышение) и клетках децидуа плаценты (где идет уменьшение).

Установленные нами изменения количественных параметров клеточного звена иммунитета у беременных с преэклампсией характеризуются как дисфункциональные нарушения, свойственные этому грозному осложнению течения беременности, и могут служить диагностическими критериями развития преэклампсии у беременных.

Литература

- Сидорова И.С., Гурина О.И., Милованов А.П. и др. Патогенез гестоза как проявление иммунокомплексной патологии эндотелия // Акушерство и гинекология. 2008. № 6. С. 13–17.
- Kan A., Struben H. Pre-eclampsia screening in first and second trimester. Ther Umsch 2008; 65: 11: 663–666.
- Arngrimsson R., Hayward C., Nadaud S. et al. // Am. J. Hum. Genet. 1997. Vol. 61. P. 354–362.
- Arngrimsson R., Siguroardottir S., Frigge M.L. et al. // Hum. molecular genetics. 1999. Vol. 8. P. 1799–1805.
- Chen C.P., Chen L.F., Yang S.R. et al. Functional characterization of the human placental fusogenic membrane protein syncytin 2. BiolReprod 2008; 79: 5: 815–823.