

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): CD<sub>3+</sub> – зрелые Т-лимфоциты, CD<sub>4+</sub> – Т-хелперы/индукторы, CD<sub>8+</sub> – супрессорно/цитотоксические лимфоциты, CD<sub>16+</sub>, CD<sub>56+</sub> – натуральные киллеры, CD<sub>20+</sub> – В-лимфоциты, CD<sub>25+</sub> – рецептор  $\alpha$ -цепи интерлейкина 2, CD<sub>95+</sub> – 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): CD<sub>3+</sub>, CD<sub>4+</sub>, CD<sub>8+</sub>, CD<sub>16+</sub>, CD<sub>56+</sub>, CD<sub>20+</sub> с *Fitc-меткой*. Локализацию активационных маркеров CD<sub>25+</sub>, CD<sub>95+</sub> 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.