

ИММУННАЯ ДЕЗАДАПТАЦИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Воронин К. В., Лоскутова Т. А., Филиппова Е. В.¹

Днепропетровская государственная медицинская академия,

¹Комунальное учреждение «Днепропетровская областная клиническая больница им. И. И. Мечникова»

В работе проведено исследование состояния клеточного и гуморального иммунитета у беременных в зависимости от степени тяжести преэклампсии. Установлено, что с нарастанием степени тяжести преэклампсии происходит превалирование цитотоксического звена иммунного ответа, о чем свидетельствует повышенное количество CD8+, CD 16+(NK), CD25+, снижение иммунорегуляторного индекса. Отмечено повышение функциональной активности клеток фагоцитарной системы, системы комплемента, повышенного количества ЦИК. Установлено, что активация неспецифической иммунной защиты, превалирование цитотоксического звена иммунного ответа, на фоне дисбаланса гуморальной составляющей иммунного ответа сопровождается развитием острой воспалительной реакции сосудистой стенки, активации свертывающей системы с развитием тотального эндотелиоза. Изменение показателей иммунограммы следует дополнительно учитывать при определении степени тяжести преэклампсии.

Ключевые слова: преэклампсия, беременность, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, гестационная артериальная гипертензия.

Преэклампсия остается одной из актуальных проблем акушерства. Высокая частота материнской и перинатальной заболеваемости и смертности при преэклампсии объясняется отсутствием точных сведений о патогенезе заболевания, достоверных методов диагностики, и, как следствие, действенных мер профилактики [1, 7, 9]. Существует представление о преэклампсии как о мультифакторном заболевании, в генезе которого важная роль принадлежит как генетическим, так и различным неблагоприятным экзогенным факторам [1]. Результатом воздействия этих факторов является системная эндотелиопатия. Известно, что пациентки с преэклампсией имеют иммунологические нарушения, однако остается открытым вопрос являются ли эти нарушения причиной или следствием преэклампсии [7, 8]. Исходя из современных представлений о патогенезе преэклампсии, высока вероятность наличия ассоциации с преэклампсией совокупности полиморфизмов генов, вовлеченных в сложный процесс регулирования многообразных функций эндотелия: генов тромбофилии, генов дисфункции эндотелия и генов иммунной дезадаптации [1]. Эти полиморфизмы приводят к нарушенной инвазии трофобласта, развитию ишемии, активации иммунной системы и повреждению эндотелия.

Известно, что при нормальном развитии беременности происходит угнетение иммунного ответа материнского организма по Th1-типу (снижается выработка цитотоксических цитокинов, превалирует образование регуляторных цитокинов), происходит активация Th2-типа иммунно-

го ответа и угнетается активность естественных киллеров, что способствует пролонгированию беременности и обеспечивает нормальные гемореологические взаимоотношения между матерью и плодом. При преэклампсии характерен Th1 ответ, с гиперпродукцией мононуклеаров, естественных киллеров, активацией апоптоза, увеличение количества провоспалительных цитокинов [4, 6–9]. В литературе отсутствуют сведения об использовании показателей клеточного иммунитета для прогноза оценки тяжести течения и в качестве контроля над эффективностью лечения преэклампсии. В отечественной литературе имеются единичные указания на угнетения гуморального звена иммунитета, а в зарубежной в основном клеточного звена и только при преэклампсии и эклампсии [8, 9]. **Целью исследования** явилась оценка клеточного и гуморального иммунитета у беременных в зависимости от степени тяжести преэклампсии.

Материалы и методы исследования

Для реализации поставленной цели было обследовано 142 беременных в третьем триместре беременности. Все женщины были поделены на три клинические группы с учетом тяжести преэклампсии. I группу составили 52 беременных с гестационной артериальной гипертензией и преэклампсией легкой степени, II группу – 32 беременных с преэклампсией средней тяжести, III группу – 15 беременных с преэклампсией тяжелой степени. Контрольную (К) группу составили 43 здоровых беременных. Степень тяжести

гипертензивних порушень була діагностована в відповідності з клінічним протоколом МЗ України № 676 [4]. Всем вагітним було проведено клініко-лабораторне обстеження, вивчення показників згортливої і протизгортливої систем, а також проведено забор периферическої крові для імунологічного дослідження. Кількість CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+ визначали з використанням моноклональних антител виробництва «Гранум», Харків методом проточної цитофлуориметрії. Функціональну активність кліток фагоцитарної системи (поглинальну активність і здатність до накоплення реактогенних метаболітів кисню) визначали в тесті з відновленням нітросинього тетразолію (НСТ-тест) [3]. Визначення рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦИК) проводили спектрофотометричним методом після селективної преципітації їх із сироватки крові в 4,17% розчині поліетиленгліколю з молекулярною масою 6000 Д. Оцінку системи комплементу проводили на основі титру комплементу до 50% гемолізу. Визначення імуноглобулінів А, М, G (Ig А, М, G) проводили методом імунотурбідиметрії на апараті Colos с System, з використанням моноспецифічних сироваток проти імуноглобулінів людини виробництва Roche Diagnostics GmbH (Німеччина). Статистичний аналіз проводили з допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2000 і Graph Pad Prism 5 for Windows. Для порівняння якісних показників використовували критерій χ^2 . Для порівняння кількісних величин використовували непарний критерій t. За значимий приймали рівень достовірності $p < 0,05$.

Результати дослідження і їх обговорення

Вагітні були рівномірно розподілені в групах за віком. В I групі середній вік склав $27,7 \pm 0,8$, в II групі – $27,3 \pm 0,8$, в III групі – $27,0 \pm 1,6$ і в контрольній $26,12 \pm 0,8$ років ($p > 0,05$). Кількість народжуючих в I групі було 59,6%, в II групі 62,5%, в III групі 53,3% і в контрольній 58,1% ($p < 0,05$). Термін народження в II групі ($34,0 \pm 0,7$ тижнів) і III групах ($32,5 \pm 0,9$) був достовірно нижче ($p < 0,05$), ніж в I ($37,5 \pm 0,4$) і К ($38,4 \pm 0,3$) групах.

Преждевременно роды наблюдались в 65,4% случаев среди беременных с преэклампсией средней и тяжелой степени, именно наличие ПЭ и отсутствие эффекта от ее лечения являлись показанием для индуцированных досрочных родов. По способу родоразрешения обращает внимание высокая частота оперативных родов в группах с преэклампсией: в II группе путем операции кесарева сечения 46,9%, в III – 66,7%, в контрольной группе – 18,7% ($p < 0,05$).

Показанием к кесареву сечению было отсутствие эффекта от консервативного лечения преэклампсии, нарастание явлений преэклампсии при отсутствии условий для родоразрешения через естественные родовые пути, осложнение течения преэклампсии развитием дистресса плода, задержки внутриутробного развития плода тяжелой степени. Весовые характеристики новорожденных во II и III группах были достоверно ниже, чем в I (3057 ± 87 г и $50,4 \pm 0,5$ см) и контрольной (3406 ± 81 г и $51,9 \pm 0,4$ см) группах и составили 1927 ± 139 г, $44,2 \pm 1,0$ см и 1495 ± 230 г, $41,0 \pm 1,7$ см соответственно ($p < 0,05$, К). Досрочное родоразрешение в группах с преэклампсией средней и тяжелой степени привело к рождению детей с морфо-функциональной незрелостью и достоверно более низкой оценкой плода по шкале Апгар. Оценка по Апгар на 1 и 5 минутах была в I группе $6,5 \pm 0,1$ и $7,6 \pm 0,08$ балла, в II группе $5,7 \pm 0,3$ и $6,7 \pm 0,3$ балла ($p < 0,05$, К), в III группе $4,8 \pm 0,1$ и $5,8 \pm 0,1$ баллов ($p < 0,05$, К) и в контрольной группе $6,9 \pm 0,09$ и $7,9 \pm 0,09$. 21,2% новорожденных во II группе и 57,1% новорожденных в III группе имели задержку внутриутробного развития плода. В III группе – 8, а во II – 16 новорожденных потребовали лечения в отделении интенсивной терапии и были переведены на второй этап оказания помощи в связи с их морфофункциональной незрелостью, в четырех случаях отмечалась антенатальная гибель плода на фоне преэклампсии тяжелой степени.

Анализ показателей специфического клеточного иммунитета показал (табл. 1), что в исследуемых группах наблюдались различной степени выраженности изменения, которые характеризовались субпопуляционным дисбалансом состава Т-лимфоцитов со снижением иммунорегуляторного индекса.

Было отмечено снижение общего количества лимфоцитов во всех группах исследования, с минимальными показателями в группе с тяжелой преэклампсией ($p < 0,01$). Достоверного отличия в содержании общей популяции Т-лимфоцитов (CD3+) между группами исследования не было. Не отмечено, также изменений в содержании циркулирующих Т-хелперов (CD4+). В тоже время, у беременных с преэклампсией повышено количество клеток с фенотипом CD8+. Их количество было достоверно выше в 1,3 раза в группе с преэклампсией тяжелой степени ($p < 0,05$), чем в группе контроля. С нарастанием степени тяжести преэклампсии отмечено превалирование цитотоксического звена иммунного ответа, о чем свидетельствует повышенное количество CD16+(NK) у беременных с преэклампсией средней и тяжелой степени в сравнении с показателями контроля ($p < 0,05$) и превалирование CD8+, которые продуцируют провоспалительные цитокины. В связи с развившимися нарушениями в показателях клеточного иммунитета регулятор-

Таблиця 1

Состояние клеточного звена иммунитета у беременных с различной степенью тяжести преэклампсии

Показатели иммунограммы	I группа	II группа	III группа	Контроль
Лейкоциты*10 ⁹	8,6±0,4	9,7±0,6	9,0±0,6	8,5±0,6
Лимфоциты, %	24,5±0,9*	26,7±1,8	21,7±1,9*	27,35±1,1
Лимфоциты	2,05±0,1*	2,45±0,2	2,05±0,15*	2,28±0,1
CD3, %	44,2±1,7	42,8±1,8	41,14±2,5	41,46±2,6
CD3*10 ⁹	0,94±0,07	1,08±0,1	0,85±0,08	0,89±0,01
CD4, %	37,23±1,3	36,6±2,0	35,3±1,7	34,33±2,1
CD4*10 ⁹	0,78±0,06	0,93±0,01	0,77±0,07	0,74±0,07
CD8, %	31,6±1,6	31,5±2,2	37,7±2,6*	29,9±1,9
CD8*10 ⁹	0,66±0,05	0,79±0,01*	0,8±0,06*	0,66±0,06
CD16, %	27,9±1,6	26,8±2,1	31,8±2,3*	27,04±2,3
CD16*10 ⁹	0,59±0,05	0,69±0,07*	0,68±0,06*	0,58±0,07
CD25, %	24,4±1,7	26,6±3,9	35,7±3,3*	25,3±2
CD25*10 ⁹	0,45±0,05	0,56±0,09	0,73±0,02	0,6±0,07
CD4/CD8	1,23±0,04	1,2±0,06	0,99±0,06* ¹	1,18±0,04
CD20, %	25,2±1,7	25,5±2,3	30,7±2,3	26,9±2,0
CD20*10 ⁹	0,5±0,04	0,68±0,01	0,65±0,07	0,63±0,07

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверное отличие с показателями контрольной группы, 1 – $p < 0,05$ достоверное отличие с показателями I группы

Таблиця 2

Анализ показателей состояния гуморального иммунитета в зависимости от степени тяжести преэклампсии

Показатели иммунограммы	I группа	II группа	III группа	Контроль
Ig A, г/л	1,75±0,01	1,9±0,01	1,8±0,02	1,6±0,09
Ig M, г/л	1,5±0,01*	1,7±0,01*	1,4±0,02*	2,1±0,03
Ig G, г/л	8,6±0,03	7,8±0,03*	7,7±0,05*	8,98±0,04
ЦИК, усл.ед	0,08±0,001	0,06±0,001	0,1±0,001	0,06±0,001
Фагоцитарная активность, %	61,8±1,6	62,6±2,4	68,0±3,2	59,7±2,3
Фагоцитарное число	5,04±0,3	5,2±0,27	4,9±0,2	5,07±0,2
Индекс завершенности фагоцитоза	0,79±0,04	0,9±0,06	1,07±0,09	0,86±0,02
НСТ-спонтанный, %	15,1±1,6	17,6±2,6	18,7±2,6	16,9±1,7
НСТ-индуцированный, %	32,5±3,5	38,1±6,8	44,9±2,8*	37,2±2,3
Активность комплемента, усл. ед.	61,7±3,3	51,4±2,5	73,8±1,8*	62,4±3,9

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверное отличие с показателями контрольной группы

ный индекс, который отражает соотношение T4+ и T8+, был снижен относительно показателей контрольной группы в 1,3 раза.

Было также установлено, что с увеличением степени тяжести преэклампсии достоверно увеличивается количество CD25+, что отражает наличие Т-лимфоцитов несущих рецепторы к интерлейкину 2. Интерлейкин 2 стимулирует цитотоксичность лимфоцитов, продукцию интерферона γ , активирует макрофаги и стимулирует

ответ клеточного типа. Индивидуальный анализ иммунограмм позволил установить, что наблюдается параллелизм между степенью иммунодефицита и выраженностью клинической симптоматики. При наиболее выраженной клинической манифестации наблюдается более выраженная Т-лимфопения и снижение иммунорегуляторного индекса. При незначительной Т-лимфопении и минимальном увеличении уровня CD8+ имеет место тенденция к увеличению данного индекса,

что может свидетельствовать о реализации компенсаторных реакций, данные изменения отмечаются в I и II группах. Достоверных отличий в содержании CD20+ в группах исследования выявлено не было.

Анализ функции фагоцитов показал усиление их активности у беременных с преэклампсией: отмечается увеличение фагоцитарного числа, индекса завершенности фагоцитоза с нарастанием степени тяжести преэклампсии (табл. 2). Также значительно повышена функциональная активность клеток фагоцитарной системы, о чем свидетельствует увеличение показателя спонтанного и индуцированного НСТ-теста.

Активность фагоцитоза тесно связана с системой комплемента. Установлено повышение ее активности у беременных с преэклампсией. Система комплемента тесно связана с системой свертывания крови и системой кининов. Через компонент комплемента C3 происходит активация фактора XII и тромбоцитов, что приводит к гиперкоагуляции. Активация системы комплемента сопровождается острой воспалительной реакцией сосудистой стенки или отдельных ее участков.

Анализ содержания иммуноглобулинов различных классов показал, что с нарастанием степени тяжести заболевания отмечается тенденция к нарастанию количества IgA и снижению IgM, IgG. Уровень ЦИК также повышен у беременных с преэклампсией [2]. Отложение ЦИК в сосудах плаценты, почек ведет к активации системы комплемента, стимуляции ПОЛ, альтерации тканевых элементов, повышению активации тромбоцитов (возрастанию уровня тромбоса-

на), гиперкоагуляции, отложению фибрина, что вызывает ишемию плаценты и других органов. Ишемия плаценты (ацидоз, набухание базальной мембраны сосудов) способствует повышению проницаемости плацентарного барьера и возрастающему воздействию на плод различных повреждающих факторов, что приводит к фетоплацентарной недостаточности и гипотрофии плода. Указанные изменения свидетельствуют, что при преэклампсии, особенно при тяжелом ее течении происходит нарушение функции гуморальной составляющей иммунитета.

Выводы

1. Развитие преэклампсии связано с возникновением субпопуляционного дисбаланса Т-лимфоцитов.

2. С нарастанием степени тяжести преэклампсии отмечено превалирование цитотоксического звена иммунного ответа, о чем свидетельствует повышенное количество CD8+, CD 16+(NK), CD25+, снижение иммунорегуляторного индекса.

3. Активация неспецифических факторов иммунной защиты, имеющей место при преэклампсии, сопровождается развитием острой воспалительной реакцией сосудистой стенки, активации свертывающей системы и развитием тотального эндотелиоза, с клиническими проявлениями характерными для преэклампсии.

4. Изменение показателей иммунограммы следует дополнительно учитывать при определении степени тяжести преэклампсии.

Литература

1. Айламазян Э. К. Гестоз: теория и практика / Э. К. Айламазян, Е. В. Мостовая. – М.: МЕДпресс-информ. – 2008. – 272 с.
2. Иванов И.И. Значение определения уровня циркулирующих иммунных комплексов в оценке эффективности лечения преэклампсии беременных / И. И. Иванов, Е. Н. Прочан // Таврический мед.-биол. вестн. – 2010. – Т. 13, № 4. – С. 62–67.
3. Модзлевский А. Ф. Современные методы диагностики вирусных респираторных инфекций и их терапии с использованием препаратов интерферона / А. Ф. Модзлевский, Н. С. Дяченко, Н. Я. Спивак. – К. – 1994. – 18 с.
4. Посисеева Л. В. Иммунология беременности / Л. В. Посисеева, Н. Ю. Сотникова. // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 5. – С. 42–45.
5. Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги: наказ МОЗ України № 676.
6. Сельков С. А. Механизмы иммунорегуляции развития плаценты / С. А. Сельков, О. В. Павлов, Д. И. Соколов // Журнал Акушерства и женских болезней. – 2011. – Т. LX. – № 3. – С. 136–140.
7. Сидорова И. С. Патогенез гестоза как проявление иммунокомплексной патологии эндотелия (острый иммунный эндотелоз) / И. С. Сидорова, О. И. Гурина, А. П. Милованов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 6. – С. 13–17.
8. Kolarz D. D. The immunoregulatory disturbances in the pathogenesis of pre-eclampsia / D. D. Kolarz, M. Sternik // Archives of Perinatal Medicine. – 2010 – Vol. 16. – № 2. – P. 67–73.
9. Walker J. J. Pre-eclampsia. / J. J. Walker // Lancet. – 2000. – N 356. P. 1260–1265.

ІМУННА ДЕЗАДАПТАЦІЯ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ПРЕЕКЛАМПСІЇ

Воронін К. В., Лоскутова Т. О., Філіппова Є. В.

Дніпропетровська державна медична академія,

Комунальний заклад «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова»

В роботі проведено дослідження стану клітинного та гуморального імунітету у вагітних в залежності від ступеня тяжкості преєклампсії. Встановлено, що з наростанням ступеня тяжкості преєклампсії відбувається превалювання цитотоксичного ланки імунної відповіді, про що свідчить підвищена кількість CD8+, CD16+(NK), CD25+, зниження імунорегуляторного індексу. Відзначено підвищення функціональної активності клітин фагоцитарної системи, системи комплементу, підвищеної кількості циркулюючих імунних комплексів. Встановлено, що активація неспецифічного імунного захисту, превалювання цитотоксичної ланки імунної відповіді, на тлі дисбалансу гуморальної складової імунної відповіді супроводжується розвитком гострої запальної реакції судинної стінки, активації системи згортання з розвитком тотального ендотеліозу. Зміна показників імунограми слід додатково враховувати при визначенні ступеня тяжкості преєклампсії.

Ключові слова: преєклампсія, вагітність, клітинний імунітет, гуморальний імунітет, гестаційна артеріальна гіпертензія.

IMMUNE DISADAPTATION IN DEPENDING ON THE SEVERITY OF PREECLAMPSIA

Voronin K. V., Loskutova T. A., Filippova E. V.

Dnipropetrovsk State Medical Academy,

Communal Institution "Dnipropetrovsk Regional Clinical Hospital. Mechnikov"

The work focuses on the state of cellular and humoral immunity in pregnant women, depending on the severity of preeclampsia. It was established that with an increase in the severity of preeclampsia is the prevalence of the cytotoxic level of immune response, as evidenced by the increased number of CD8+, CD16+(NK), CD25+, reduction of immunoregulatory index. It was established the increased functional activity of phagocytic cells, the complement system, increased the number of circulating immune complex. It was established that the activation of nonspecific immune defense, the prevalence of the cytotoxic immune response, humoral imbalance is accompanied by the development of acute inflammatory response of the vascular wall, activation of coagulation with the development of total endotheliosis. Changes in immunological examination should be considered in determining the severity of preeclampsia.

Keywords: preeclampsia, pregnancy, cells immunity, humoral immunity, gestational arterial hypertension.