

УДК 618.3-008.6-092:612.017.1

И.А. Панова, А.В. Кудряшова, Л.Ю. Мальгина

НАРУШЕНИЕ АПОПТОЗА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ И ПЛАЦЕНТАРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ГЕСТОЗЕ

Федеральное государственное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

ПОРУШЕННЯ АПОПТОЗУ ПЕРИФЕРИЧНИХ І ПЛАЦЕНТАРНИХ ЛІМФОЦИТІВ ПРИ ГЕСТОЗІ. Досліджували характеристики апоптозу лімфоцитів і його генної регуляції при неускладненій вагітності та гестозі. В периферичній крові жінок з гестозом відзначалося підвищення рівня лімфоцитів, що знаходяться на оборотних етапах апоптозу та зниження експресії ними мРНК антиапоптотичного білка XIAP. У плаценті при гестозі виявлено підвищення рівня AnnexinV + PI-децидуальної лімфоцитів, на фоні багаторазового посилення синтезу лімфоцитами проапоптотичного білка APAF. Для лімфоцитів ворсинчастого хоріона плаценти при гестозі було характерним зниження синтезу XIAP.

НАРУШЕНИЕ АПОПТОЗА ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ И ПЛАЦЕНТАРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ГЕСТОЗЕ. Исследовали характеристики апоптоза лимфоцитов и его генной регуляции при неосложненной беременности и гестозе. В периферической крови женщин с гестозом отмечалось повышение уровня лимфоцитов, находящихся на обратимых этапах апоптоза и снижение экспрессии ими мРНК антиапоптотического белка XIAP. В плаценте при гестозе выявлено повышение содержания AnnexinV+PI-децидуальных лимфоцитов, на фоне многократного усиления синтеза лимфоцитами проапоптотического белка APAF. Для лимфоцитов ворсинчатого хориона плаценты при гестозе было характерным снижение синтеза XIAP.

DISORDER OF APOPTOSIS OF PERIPHERAL AND PLACENTAL LYMPHOCYTES DURING GESTOSIS The parameters of lymphocytes apoptosis and its genetic regulation during uncomplicated pregnancy and gestosis were studied. In peripheral blood of women with gestosis the increase of the amount of early apoptotic lymphocytes and the decrease of the expression of antiapoptotic protein XIAP mRNA by lymphocytes were seen. In the placenta of women with gestosis the elevation of the content of AnnexinV+PI- decidual lymphocytes associated with the multiple increase of the lymphocyte's synthesis of proapoptotic protein APAF was found. The lymphocytes derived from villous chorion of gestosis placenta were characterized by low level of XIAP synthesis.

Ключові слова: апоптозу лімфоцитів, гестозі.

Ключевые слова: апоптоз лимфоцитов, гестоз.

Kew words: lymphocytes apoptosis, gestosis.

ВВЕДЕНИЕ. Одним из важнейших иммунных механизмов регуляции гестационного процесса, начиная с имплантации эмбриона и заканчивая рождением здорового ребенка, является апоптоз. В процессе гестации апоптоз необходим для децидуализации маточного эндометрия, адекватного ремоделирования тканей материнской децидуальной оболочки, подготовки к родам [1, 2]. Нарушение апоптоза на системном и локальном уровнях отмечается при развитии осложнений беременности. В литературе имеются данные об усилении апоптоза при гестозе в плацентарных структурах [3, 4], но характеристики апоптоза лимфоцитов периферической крови и плаценты остаются неизученными.

Цель исследования: установить новые патогенетические механизмы развития гестоза у беременных женщин на основании изучения апоптоза и его генной регуляции в периферических и плацентарных лимфоцитах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ: всего обследовано 150 беременных женщин в III триместре. Среди пациенток были выделены основная группа – 100 женщин с гестозом раз-

ной степени тяжести (50 женщин с гестозом легкой и 50 – с гестозом тяжелой степени) и контрольная группа – 50 женщин без признаков гестоза. Степень тяжести гестоза определяли по бальной шкале Гоека в модификации Г.М.Савельевой (1996). Материалом для исследования служили периферическая кровь из локтевой вены, децидуальная ткань и ткань ворсинчатого хориона зрелой плаценты.

Исследование стадий апоптоза производили методом двухцветной проточной цитофлюориметрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, США). Для определения количества клеток, вступивших в апоптоз, проводили тест с одновременным окрашиванием клеток AnnexinV и пропидиумом иодидом (PI). Для определения экспрессии в клетках мРНК APAF и XIAP использовали количественный метод RT-PCR в реальном времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. По нашим данным, в периферической крови беременных с гестозом легкой и тяжелой степени отмечалось повышенное содержание периферических лимфоцитов, находящихся на ранних, обратимых, этапах апоптоза

(AnnexinV+PI-) ($15,78 \pm 0,91\%$ в контрольной группе, $19,64 \pm 0,83\%$ в группе с легким гестозом, $p < 0,001$; $19,22 \pm 0,60\%$ в группе с тяжелым гестозом, $p < 0,001$). Кроме того, при гестозе легкой степени было выявлено повышенное содержание лимфоцитов, находящихся на поздних этапах апоптоза (AnnexinV+PI+) ($4,37 \pm 0,67\%$ в контрольной группе, $7,41 \pm 1,09\%$ в группе с легким гестозом, $p < 0,02$). Нарушение завершенности апоптоза периферических лимфоцитов при тяжелом гестозе может приводить к накоплению активированных цитотоксических клеток, отмечаемому большинством авторов при гестозе [5, 6] и способствовать развитию цитотоксических реакций в различных органах и тканях.

Процесс апоптоза клеток регулируется различными экзо- и эндогенными сигналами, среди которых важная роль принадлежит проапоптотическому фактору APAF и антиапоптотическому – XIAP [4, 7]. Как показали результаты RT-PCR, отмеченное нами при гестозе повышение содержания AnnexinV-позитивных периферических лимфоцитов не определялось усилением синтеза APAF, так как во всех исследуемых группах уровень экспрессии его мРНК был крайне незначителен ($0,56 \pm 0,56$ копий пар/мл в контрольной группе, $2,40 \pm 2,40$ копий пар/мл в группе с легким гестозом; $0,16 \pm 0,16$ копий пар/мл в группе с тяжелым гестозом; $p > 0,05$ во всех случаях). Известно, что APAF играет важную роль в митохондриальном пути апоптоза клеток [4]. Вероятно, митохондриальный путь апоптоза не имеет большой значимости для лимфоцитов периферической крови, как при неосложненной беременности, так и при гестозе. В то же время, для периферических лимфоцитов при легкой и тяжелой степени гестоза было характерно снижение экспрессии мРНК XIAP по сравнению с показателями в контрольной группе ($5,05 \pm 1,75$ копий пар/мл в контрольной группе, $0,74 \pm 0,22$ копий пар/мл в группе с легким гестозом, $p < 0,05$; $0,46 \pm 0,06$ копий пар/мл в группе с тяжелым гестозом, $p < 0,02$). Известно, что XIAP не влияет на индукцию апоптоза, но способен подавлять его эффекторные механизмы, связывая активные формы каспазы-3, -7 и -9, то есть подавлять переход апоптоза в заключительную фазу деградации клеток [8]. Следовательно, усиление обратимых этапов апоптоза периферических лимфоцитов при гестозе могло быть обусловлено угнетением синтеза XIAP.

Исследование апоптоза лимфоцитов в плаценте показало, что при легкой и тяжелой степени гестоза по сравнению с показателями контрольной группы повышалось содержание AnnexinV+PI- ($p < 0,02$ и $p < 0,001$, соответственно) децидуальных лимфоцитов. Изменения параметров апоптоза лимфоцитов ворсинчатого хориона при гестозе проявлялись в небольшом

повышении содержания клеток, находящихся на поздних этапах апоптоза ($p < 0,05$).

В отличие от периферической крови, при гестозе в децидуальной оболочке плаценты отмечалось многократное усиление синтеза лимфоцитами APAF ($7,18 \pm 1,28$ копий пар/мл в контрольной группе, $36,59 \pm 9,40$ копий пар/мл в группе с гестозом, $p < 0,05$), но в сравниваемых группах отсутствовали различия в экспрессии мРНК XIAP ($p > 0,05$). Характер экспрессии APAF лимфоцитами ворсинчатого хориона не различался в сравниваемых группах ($p > 0,05$), но при гестозе было выявлено снижение синтеза XIAP ($p < 0,05$).

Полученные нами данные о повышении синтеза APAF свидетельствовали об усилении митохондриального пути апоптоза иммунными клетками на уровне децидуальной оболочки плаценты. Изменения характеристик апоптоза лимфоцитов в тканях плаценты могли вызывать те же патологические реакции со стороны активированных цитотоксических клеток и В-лимфоцитов, которые отмечаются на системном уровне. Однако на уровне ворсинчатого хориона отмеченное нами усиление поздних этапов апоптоза на фоне снижения экспрессии XIAP могут отражать развитие компенсаторных реакций, подавляющих патологическое воздействие активированных иммунных клеток в системной циркуляции плода.

Таким образом, развитие гестоза ассоциируется с изменением апоптоза клеток иммунной системы. Дисбаланс продукции апоптоз-регулирующих факторов по-видимому лежит в основе нарушения апоптоза клеток иммунной системы, что приводит к развитию цитотоксических реакций, повреждению фетоплацентарного барьера и усиленному поступлению в кровотоки матери микрочастиц трофобласта и клеток плодового происхождения. Повышенная антигенная стимуляция материнской иммунной системы в свою очередь может вновь инициировать цитотоксические и аутоиммунные реакции, формируя порочный круг патологических реакций.

ВЫВОДЫ. У женщин с гестозом увеличивается количество лимфоцитов периферической крови и децидуальной оболочки, находящихся на обратимых этапах апоптоза, и лимфоцитов ворсинчатого хориона на необратимых этапах апоптоза, при гестозе легкой степени повышается содержание периферических лимфоцитов, находящихся на необратимых этапах апоптоза.

Для женщин с гестозом характерно снижение уровня экспрессии мРНК XIAP периферическими и трофобластическими лимфоцитами и усиление синтеза APAF лимфоцитами децидуальной оболочки.

ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИССЛЕДОВАНИЕ механизмов регуляции апоптоза периферических и плацентарных лимфоцитов при неосложненной беременности и гестозе открывает новые перспективы в изучении патогенеза гестоза.

Литература

1. Ayatollahi M., Geramizadeh B., Samsami A. Transforming growth factor beta-1 influence on fetal allografts during pregnancy // *Transplant Proc.* – 2005. – Vol.37(10). – P.4603-4604.
2. Bachmayer N. Aberrant uterine natural killer (NK)-cell expression and altered placental and serum levels of the NK-cell promoting cytokine interleukin-12 in preeclampsia // *Am. J. Reprod Immunol.* – 2006. – Vol.56(5-6). – P.292-301.
3. Leung D.N. Increased placental apoptosis in pregnancies complicated by preeclampsia // *Am. J. Obstet.Gynecol.* – 2001. – Vol.184. – P.1249-1250.
4. Gupta S., Su H., Bi R., Agrawal S., Gollapudi S. Life and death of lymphocytes: a role in immunosenescence // *Immun. Ageing.* – 2005. – Vol.23. – P.2-12.
5. Matthiesen L., Berg G., Ernerudh J., Ekerfelt C., Jonsson Y., Sharma S. Immunology of preeclampsia // *Chem. Immunol. Allergy.* – 2005. – Vol.89. – P.49-61.
6. Sharma A., Satyam A., Sharma J.B. Leptin, IL-10 and inflammatory markers (TNF-alpha, IL-6 and IL-8) in pre-eclamptic, normotensive pregnant and healthy non-pregnant women // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2007. – Vol.58(1). – P.21-30.
7. Schimmer A.D., Welsh K., Pinilla C., Wang Z., et al. Small-molecule antagonists of apoptosis suppressor XIAP exhibit broad antitumor activity // *Cancer Cell.* – 2004. – Vol.5(1). – P.25-35.
8. Фильченков А.А., Степанов Ю.М., Липкин В.М., Кушлинский Н.Е. Участие системы Fas/Fas-лиганд в регуляции гомеостаза и функционировании клеток иммунной системы // *Аллергология и иммунология.* – 2002. -т.3. – №1. – с.24-35.

УДК: 618.14.36-07:575

А.И. Малышкина, И.Н. Фетисова, Ж.А. Дюжев, О.Г. Ситникова, М.Л. Добрынина
ДЕЛЕЦИИ ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ И ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС КАК
ФАКТОРЫ БЫСТРОГО РОСТА МИОМЫ МАТКИ

ФГУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения и социального развития России

ДЕЛЕЦІЇ ГЕНІВ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ І ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС ЯК ЧИННИКИ ШВИДКОГО ЗРОСТАННЯ МІОМИ МАТКИ. Проведений аналіз делеційного поліморфізму генів глутатіон-S-трансфераз *M1* і *T1* у поєднанні з оцінкою параметрів перекисного окислення у 100 жінок з міомою матки і 50 здорових жінок. У жінок з швидкорослою міомою матки виявлено підвищення частоти делеційного варіанту гена *GSTM1*, а також достовірно посилення перекисних процесів поряд з активацією антиоксидантного захисту. Таким чином, наявність делеції гену *GSTM1* у жінки може сприяти оксидативному стресу і розглядатися як маркер спадкової схильності до швидкого зростання лейомиоми матки.

ДЕЛЕЦИИ ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗ И ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС КАК ФАКТОРЫ БЫСТРОГО РОСТА МИОМЫ МАТКИ. Проведен анализ делеционного полиморфизма генов глутатион-S-трансфераз *M1* и *T1* в сочетании с оценкой параметров перекисного окисления у 100 женщин с миомой матки и 50 здоровых женщин. У женщин с быстрорастущей миомой матки выявлено повышение частоты делеционного варианта гена *GSTM1*, а также достоверное усиление перекисных процессов наряду с активацией антиоксидантной защиты. Таким образом, наличие делеции гена *GSTM1* у женщины может способствовать оксидативному стрессу и рассматриваться как маркер наследственной предрасположенности к быстрому росту лейомиомы матки.

GLUTHATIONE TRANSFERASE GENES DELETIONS AND OXIDATIVE STRESS AS UTERINE FIBRUS FAST GROW FACTORS. Deletion polymorphisms in *GSTM1* and *GSTT1* genes in association with oxidative stress parameters were investigated in 100 females with uterinus fibroids and 50 healthy controls. Women with fast growing fibroids had higher frequency of *GSTM1* deletion and aggravated lipid peroxidation. *GSTM1* deletion may promote oxidative stress and can be considered as hereditary predisposition factors for fast grow of uterinus leiomyoma.

Ключові слова: міома матки, поліморфізм генів, глутаріон - S-трансферази, оксидативний стрес.

Ключевые слова: миома матки, полиморфизм генов, глутатион-S-трансферазы, оксидативный стресс

Key-words: uterus leiomyoma, gene polymorphisms, glutathione transferases, oxidative stress.

ВВЕДЕНИЕ. Лейомиома матки в настоящее время большинством исследователей рассматривается как мультифакториальное заболевание, являющееся результатом совместного дей-

ствия множества генетических и средовых факторов. Определены наиболее характерные хромосомные аберрации, которые наблюдаются в клетках миоматозного узла, а также названы