

## NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 63 – 70

**L. S. Kayupova, N. V. Kravtsova, L. S. Dzo, A. M. Kurmanova**

Scientific Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: kls-5858@mail.ru

**IMMUNOLOGICAL CRITERIA  
OF PLACENTAL INSUFFICIENCY**

**Abstract.** The studies established the immune system quantitative and functional parameters changes in III trimester of pregnant, women in childbirth, postpartums and newborns with placental insufficiency. The imbalance of lymphocytes subpopulations indicators, increase of early activation and functional cytotoxic activity of immune cells in the systemic and local level were revealed. These changes specify the immunoregulatory mechanisms violations in the mother-placenta-fetus system in case of placental insufficiency and necessity for appropriate correction.

**Keywords:** placental insufficiency, lymphocytes subpopulation profile, perforin.

УДК 618

**Л. С. Каюпова, Н. В. Кравцова, Л. С. Дзоз, А. М. Курманова**

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ и СР РК, Алматы, Казахстан

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ  
ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

**Аннотация.** В результате проведенных исследований установлен характер изменений количественных и функциональных параметров иммунной системы у беременных III триместра, рожениц, родильниц и новорожденных при плацентарной недостаточности. Выявлена разбалансировка показателей субпопуляционного состава лимфоцитов, увеличение ранней активации и функциональной цитотоксической активности иммунокомпетентных клеток на системном и локальном уровне. Полученные изменения указывают на нарушение иммунорегуляторных механизмов в системе мать-плацента-плод при плацентарной недостаточности и необходимости проведения соответствующей коррекции.

**Ключевые слова:** плацентарная недостаточность, субпопуляционный профиль лимфоцитов, перфорин.

При беременности складываются своеобразные взаимоотношения организмов матери и плода. В течении гестационного процесса плод развивает собственную иммунологическую компетентность, а материнский организм при помощи маточно-плацентарного комплекса усиливает влияние программ адаптации, что в конечном итоге позволяет сосуществовать двум чужеродным организмам – материнскому и плодovому [1]. Участие иммунной системы матери в контроле гестационного процесса бесспорно, при физиологической беременности иммунная система женщины претерпевает значительные изменения, в основе которых лежит формирование гестационной иммуносупрессии [2, 3].

Состояние иммунной системы является одним из важных критериев полноценности функциональных гомеостатических механизмов беременной, обеспечивающих динамическое равновесие в системе мать-плацента-плод [4]. Беременность характеризуется появлением плодовых антигенов, которые определяют тот или иной тип иммунного ответа, популяционный состав

иммунокомпетентных клеток и их функциональную активность. На каждом этапе гестации имеется определенный количественный уровень популяций и субпопуляций лимфоцитов, отражающий последовательную системную адаптацию к выраженности антигенной нагрузки [5].

В результате развития иммунологических взаимоотношений между матерью и плодом плацента становится иммунологически привилегированной тканью. Трофобласт выступает также в роли иммуносорбента, связывая антитела, являющиеся иммунорегуляторами, и устанавливая иммунный камуфляж, блокирующий эфферентное звено иммунного ответа. К 10 неделям беременности плод становится иммунологическим партнером матери. Данный симбиоз приводит к развитию иммунологического импринтинга в организме матери, который остается на всю жизнь. После установки иммунологического симбиоза между матерью и плодом, система становится исключительно устойчивой к неблагоприятным иммунологическим воздействиям. Гормональные и другие события, запрограммированные на конец беременности, приводят к разрыву иммунологического симбиоза [6].

**Цель исследования.** Изучить характер изменений иммунологических параметров у беременных, рожениц, родильниц и новорожденных при плацентарной недостаточности

**Материал и методы.** Для изучения особенностей гомеостаза в системе мать-плацента-плод при плацентарной недостаточности (ПН) были определены 2 группы – контрольная и основная. Контрольную группу составили 30 здоровых женщин фертильного возраста с физиологически протекающей беременностью при сроке беременности 38-41 неделя (III триместр), 30 рожениц, 30 родильниц и 30 новорожденных, родившихся при естественных родах с оценкой по шкале Апгар 8-9 баллов. В основную группу вошли женщины с беременностью, осложненной плацентарной недостаточностью (III триместр – 30), 30 рожениц, 30 родильниц и новорожденные, перенесшие внутриутробно ПН (30). Материалом исследования служила периферическая кровь женщин, а также пуповинная кровь новорожденных.

Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови женщин, рожениц, родильниц и пуповинной крови выявляли по общелимфоцитарному гейту CD45+ методом прямой мембранной иммуофлюоресценции на проточном цитометре BD FACS Calibur с применением панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов: к CD3+ - маркеру зрелых Т-лимфоцитов, к CD3+, CD4+ - маркеру хелперно-индукторных Т-клеток, к CD3+, CD8+ - маркеру супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов, к CD3+, CD16+, и к CD3+, CD56+ - маркеру натуральных киллерных клеток CD16+ и CD56+ фенотипов, к CD19+ - маркеру В-лимфоцитов, к CD3+, HLA-DR+ - маркеру активированных Т-лимфоцитов, к CD3+, CD25+ - маркеру  $\alpha$ -цепи ИЛ-2, к CD3+, CD95+ - маркеру апоптоза. Определяли ИРИ по соотношению CD4+/CD8+ клеток, а также индекс апоптоза по CD95+/CD25+. Локализацию активационных маркеров CD25+ и CD95+ на клетках осуществляли методом двойного фенотипирования.

Пороформирующий белок перфорин в клетках определяли методом пермеабилзации. Использовали коммерческие наборы реагентов, меченные FITS (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD95, HLA-DR), а также меченные PE (CD25, CD95) BD Biosciences (США).

### Результаты исследования и их обсуждение

Критерием включения беременных в основную группу исследования был выставленный клинический диагноз ПН, подтвержденный инструментальными методами. Для оценки клинического состояния беременных была разработана анкета, включающая соматический, акушерский, гинекологический анамнез, сведения о течении беременности. Также учитывалось состояние новорожденных при рождении.

Таблица 1 – Оценка новорожденных исследуемых групп по шкале Апгар

Наименование	ПСП	Оценка по шкале Апгар.		Масса при рождении, г
		на 1 мин.	на 5 мин.	
Контрол. Группа (n=30)	0,84±0,05	7,8±0,17	9,0±0,52	3435,5±286,3
Основная группа с ПН (n=30)	2,35±0,15*	6,7±0,52*	7,5±0,34*	3112,4±222,8
*p < 0,001 (относительно контроля).				

Период постнатальной адаптации у всех детей контрольной группы протекал без особенностей. В группе новорожденных, перенесших ПН, отмечалось значительное количество осложнений. У 16,6% был отмечен риск реализации внутриутробной инфекции, гипотрофия I-II степени отмечалась у 6,6%, у 36,6% новорожденных отмечалось поражение ЦНС гипоксического генеза, гемолитическая болезнь новорожденных – 3,3%.

При изучении субпопуляционного профиля лимфоцитов периферической крови было выявлено, что иммунологические параметры у беременных с ПН существенно отличались от аналогичных данных, выявленных в группе контроля (таблица 2).

Таблица 2 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов периферической крови у беременных с плацентарной недостаточностью (Штриместр)

Наименование субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Группы беременных	
	ПН (n=30)	Контроль (n=30)
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	69,01 ± 0,91*	60,91 ± 0,46
Т-хелперы (CD4+CD8-)	39,54 ± 0,40	40,01 ± 0,46
Т-цитотоксич (CD8+CD4-)	26,02 ± 0,26	26,34 ± 0,063
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	19,83 ± 0,49*	10,36 ± 0,19
Т-киллеры (CD56+CD3+)	9,30 ± 0,28*	5,79 ± 0,030
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	20,59 ± 0,02*	13,08 ± 0,49
Т-активирован. (CD3+HLA-DR+)	15,42 ± 0,02*	10,76 ± 0,20
В-активир. и НК (CD3+HLA-DR+)	22,63 ± 0,020*	12,04 ± 0,20
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	0,45 ± 0,02*	8,0 ± 0,12
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	1,29 ± 0,02*	7,21 ± 0,03
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	3,02 ± 0,19*	0,90 ± 0,01
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,52 ± 0,01	1,52 ± 0,30
*p < 0,05 относительно контроля.		

Это касалось достоверного увеличения количества зрелых Т-(CD3+CD19-), В- (CD19+CD3-) лимфоцитов, нарастания количества натуральных киллерных клеток CD16+CD3+ и CD56+CD3+ фенотипов, увеличения количества активированных CD3+HLA-DR+ и CD3+HLA-DR+ клеток, как показателя усиления иммунного ответа на чужеродные антигены гистосовместимости второго класса (p<0,05).

В то же время регистрировалось снижение количества Т-лимфоцитов, несущих маркер ранней активации CD25+ и маркер апоптоза CD95+ в сравнении с контролем, что приводило к нарастанию индекса апоптоза CD95+/CD25+ и указывало на нарушения процессов пролиферации и апоптоза при ПН у беременных (p<0,05). ИРИ, а также количество иммунорегуляторных хелперно-индукторных (CD4+CD8-) и цитотоксических (CD8+CD4-) лимфоцитов практически оставалось на одном уровне с контролем.

В группе рожениц (таблица 3) с ПН изменения параметров иммунной системы выражались в уменьшении количества зрелых Т-(CD3+CD19-), Т-хелперных (CD4+CD8-) лимфоцитов, увеличении числа натуральных киллерных клеток CD16+CD3+ и CD56+CD3+ фенотипов, в нарастании количества В-клеток антителопродуцентов (CD19+CD3-), цитотоксических CD8+CD4- лимфоцитов, увеличения количества активированных CD3+HLA-DR+ и CD3+HLA-DR+ клеток, уменьшения уровня Т-лимфоцитов, несущих маркеры ранней активации CD25+ и Fas-рецептора CD95+, опосредующего апоптоз. Индекс апоптоза CD95+/CD25+ был ниже. Данные указывают на разбалансировку показателей иммунитета в родах в группе рожениц с ПН.

В группе родильниц с ПН, обследованных на 3-4 сутки после родов, в сравнении с контрольными данными (таблица 4) в периферической крови регистрировалось уменьшение количества иммунорегуляторных CD4+CD8- и CD8+CD4- лимфоцитов, снижение числа CD95+CD3+ клеток и отсутствие изменений количества зрелых CD3+CD19-лимфоцитов. В тоже время тестировано

Таблица 3 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов периферической крови у рожениц с плацентарной недостаточностью

Наименование субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Группы рожениц	
	ФПН (n=30)	Контроль (n=30)
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	56,84 ± 0,31*	65,3 ± 0,20
Т-хелперы (CD4+CD8-)	40,89 ± 0,23*	43,17 ± 0,24
Т-цитотоксич (CD8+CD4-)	29,40 ± 0,5*	27,2 ± 0,40
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	22,28 ± 0,51*	11,3 ± 0,02
Т-киллеры (CD56+CD3+)	10,26 ± 0,33*	0,10 ± 0,01
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	23,19 ± 0,31*	13,9 ± 0,31
Т-активирован (CD3+HLA-DR+)	14,5 ± 0,18*	11,38 ± 0,21
В-активир. и НК (CD3-HLA-DR+)	22,83 ± 0,33*	13,01 ± 0,10
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	0,80 ± 0,01*	7,74 ± 0,11
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	0,90 ± 0,05*	7,51 ± 0,02
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	0,83 ± 0,05*	0,97 ± 0,02
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,39 ± 0,02	1,59 ± 0,015

\*p < 0,05 относительно контроля.

Таблица 4 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов периферической крови у родильниц с плацентарной недостаточностью

Наименование субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Группы родильниц	
	ФПН (n=30)	Контроль (n=30)
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	66,69 ± 0,66	67,10 ± 0,45
Т-хелперы (CD4+CD8-)	35,93 ± 0,25*	47,2 ± 1,25
Т-цитотоксич (CD8+CD4-)	22,33 ± 0,27*	26,9 ± 1,21
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	15,93 ± 0,05 *	12,0 ± 0,54
Т-киллеры (CD56+CD3+)	6,67 ± 0,13*	4,13 ± 0,26
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	19,02 ± 0,52*	8,3 ± 0,45
Т-активирован. (CD3+HLA-DR+)	9,62 ± 0,13	9,04 ± 0,44
В-активир. и НК (CD3-HLA-DR+)	18,72 ± 0,24*	10,3 ± 0,21
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	0,66 ± 0,02*	0,097 ± 0,01
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	0,77 ± 0,05*	5,14 ± 0,23
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	1,09 ± 0,08*	0,71 ± 0,01
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,62 ± 0,01*	1,75 ± 0,03

\*p < 0,05 относительно контроля.

увеличение количества натуральных киллерных клеток обеих фенотипов, В-клеток антителопродуцентов и их активации по HLA-DR+ антигену, увеличение количества активированных CD25+CD3+ лимфоцитов и индекса апоптоза. ИРИ был достоверно ниже данных группы контроля.

Таким образом, исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у женщин с ПН, обследованных в указанные периоды (беременные III триместра, роженицы, родильницы) в сравнении с аналогичными данными, полученными у женщин при физиологическом течении беременности, родах и послеродовом периоде, выявило разбалансировку иммунных параметров, обусловленных ПН.

В отличие от нормы во всех группах обследованных при ПН регистрировалось увеличение количества натуральных киллерных клеток CD16+ и CD56+ фенотипов, осуществляющих киллинговый эффект; нарастание количества В-клеток антителопродуцентов (CD19+CD3-); увеличение

количества Т- и В-лимфоцитов с HLA-DR+ антигеном (беременные, роженицы) и только В- (родильницы); снижение количества клеток, несущих маркеры ранней активации CD25+ и апоптоза CD95+ (беременные, роженицы) и CD95+ (родильницы), увеличение количества клеток с CD25+ маркером (родильницы); нарастание общего количества зрелых Т-лимфоцитов (беременные), снижение их числа (роженницы), не меняющееся количество (родильницы); отсутствие изменений количества иммунорегуляторных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов у беременных, снижение их числа у родильниц и разнонаправленность результатов в группе рожениц.

Также были исследованы основные показатели локализации активационных маркеров CD25+, CD95+ на CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитах периферической крови беременных, рожениц, родильниц с ПН. Так локализация активационного маркера CD25+ на CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитах у беременных с ПН была достоверно выше, нежели в контрольной группе беременных. Локализация на клетках Fas рецептора CD95+, опосредующего апоптоз, была усиленной на CD3+, CD16+, CD56+, лимфоцитах, что свидетельствовало о готовности зрелых Т-, натуральных киллерных клеток CD16+, CD56+ фенотипов к гибели и сниженной на CD4+, CD8+ лимфоцитах, осуществляющих иммунорегуляторные функции.

Сравнительный анализ между данными, полученными при исследовании контрольной и основной групп пуповинной крови представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов пуповинной крови при плацентарной недостаточности

Наименование субпопуляций (%)	Пуповинная кровь			
	Материнская часть		Плодовая часть	
	Контроль	ПН	Контроль	ПН
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	64,26 ± 0,89	55,56 ± 0,82*	48,889 ± 0,06	51,51 ± 1,03*
Т-хелперы (CD4+CD8-)	37,98 ± 0,15	35,95 ± 0,54*	30,42 ± 0,07	34,99 ± 0,49*
Т-цитотоксические (CD8+CD4-)	24,79 ± 0,05	19,71 ± 0,41*	18,2 ± 0,02	22,69 ± 0,22*
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	10,21 ± 0,01	13,0 ± 0,28*	8,83 ± 0,03	14,0 ± 0,22*
Т-киллеры (CD56+CD3+)	5,1 ± 0,12	5,53 ± 0,13*	3,71 ± 0,04	6,80 ± 0,36*
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	15,05 ± 0,48	13,69 ± 0,40*	9,33 ± 0,08	15,04 ± 0,40*
Т-активированные (CD3+HLA-DR+)	10,45 ± 0,15	10,16 ± 0,42	5,71 ± 0,03	8,49 ± 0,37*
В-активированные и НК (CD3+HLA-DR+)	13,99 ± 0,13	13,23 ± 0,50	10,67 ± 0,04	15,06 ± 0,58*
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	2,41 ± 0,009	1,13 ± 0,09*	0,75 ± 0,01	0,54 ± 0,04*
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	0,84 ± 0,007	0,81 ± 0,03	1,17 ± 0,09	0,93 ± 0,04*
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	0,35 ± 0,004	1,35 ± 0,10*	1,56 ± 0,07	1,72 ± 0,37
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,53 ± 0,003	1,85 ± 0,03*	1,67 ± 0,001	1,55 ± 0,02*
*p < 0,05.				

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов при ПН в материнской части пуповинной крови позволил установить достоверное снижение количества зрелых CD3+CD19-, иммунорегуляторных CD4+CD8-, CD8+CD4- Т-лимфоцитов, CD19+CD3-, CD25+CD3+, с одновременным увеличением количества CD16+CD3+, CD56+CD3- лимфоцитов. Было отмечено отсутствие различий между группами количества CD3+HLA-DR+, CD3+HLA-DR+, CD95+CD3+ лимфоцитов в сравнении с контролем. При этом индекс апоптоза при ПН был значительно выше.

Т.е. при ПН имеют место отклонения в перераспределении и миграции лимфоцитов материнской части пуповинной крови, что вызывало количественный дефицит зрелых Т-, иммунорегуляторных, Т-хелперных и Т-супрессорно-цитотоксических лимфоцитов, В-клеток антителопродуцентов, а также, снижение числа Т-лимфоцитов, несущих маркер ранней активации CD25+. Натуральные киллеры CD16+ и CD56+ фенотипов, наоборот, при ПН были выше, чем в контроле, а количество активированных Т-, В-, и НК- клеток по HLA-DR маркеру не выявило достоверных различий. В плодовой части пуповинной крови при ПН изменения показателей относительно контроля отличались от таковых в материнской части. Было выявлено достоверное увеличение числа

CD3+CD19-, CD4+CD8-, CD8+CD4-, CD16+CD3+, CD56+CD3-, CD19+CD3-, увеличение количества активированных Т-, В-, и NK- клеток по HLA-DR, снижение количества CD25+CD3+ и CD95+CD3+ клеток, а также ИРИ. Индекс апоптоза в сравнении с контролем был одинаковым.

При исследовании функциональных свойств лимфоцитов материнской и плодовой частей пуповинной крови при плацентарной недостаточности были выявлены однотипные изменения. Так, в отличие от показателей контрольной группы, при плацентарной недостаточности увеличена локализация CD25+ маркера ранней активации, ответственного за процессы пролиферации клеток, на CD3+CD19-, CD4+CD8-, CD8+CD4-, CD16+CD3+, CD56+CD3+ лимфоцитах как в материнской, так и в плодовой частях, что указывает на увеличение пролиферативной активности зрелых Т-, хелперно-индукторных, супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов, а также увеличении функций натуральных киллерных лимфоцитов при ПН ( $p < 0,05$ ).

Локализация CD95+ маркера, опосредующего апоптоз, была достоверно увеличенной на лимфоцитах как материнской, так и плодовой частей пуповинной крови при ПН в сравнении с контролем. Это касалось зрелых Т-, супрессорно-цитотоксических Т-, натуральных киллерных клеток CD16+CD56+ фенотипов, что свидетельствовало о готовности данных клеток к гибели.

Таблица 6 – Локализация активационных маркеров CD25+, CD95+ на лимфоцитах пуповинной крови при плацентарной недостаточности

Наименование субпопуляций (%)	Пуповинная кровь			
	Материнская часть		Плодовая часть	
	Контроль	ПН	Контроль	ПН
CD3+ CD19-/CD25+	3,70 ± 0,04	10,0 ± 0,19*	6,43 ± 0,15	11,33 ± 0,58*
CD4+ CD8-/CD25+	3,55 ± 0,05	9,30 ± 0,09*	6,00 ± 0,20	7,90 ± 0,26*
CD8+ CD4-/CD25+	6,15 ± 0,17	11,84 ± 0,23*	7,22 ± 0,002	14,46 ± 0,54*
CD16+ CD3+/CD25+	0,91 ± 0,02	9,38 ± 0,35*	0,70 ± 0,04	9,62 ± 0,56*
CD56+ CD3+/CD25+	0,40 ± 0,05	9,57 ± 0,41*	0,65 ± 0,05	7,47 ± 0,39*
CD3+ CD19-/CD95+	1,55 ± 0,01	9,65 ± 0,27*	3,50 ± 0,07	7,43 ± 0,29*
CD4+ CD8-/CD95+	7,21 ± 0,26	11,63 ± 0,32*	8,95 ± 0,03	6,37 ± 0,39*
CD8+ CD4-/CD95+	5,31 ± 0,37	7,32 ± 0,27*	1,64 ± 0,04	10,05 ± 0,23*
CD16+ CD3+/CD95+	0,13 ± 0,003	6,22 ± 0,22*	0,15 ± 0,004	7,87 ± 0,59*
CD56+ CD3+/CD95+	0,02 ± 0,001	3,81 ± 0,16*	0,05 ± 0,001	6,39 ± 0,30*
* $p < 0,05$ .				

Исключение составили CD4+CD8- хелперно-индукторные Т-лимфоциты, осуществляющие протективный иммунный ответ, у которых апоптотические процессы различались между плодовыми и материнскими клетками пуповинной крови. В материнской части функции хелперно-индукторных Т по CD95+ маркеру были повышены, а в плодовой части – снижены. Не исключено, что это может быть связано с уменьшением функциональной активности данного пула клеток в материнской части пуповинной крови контроля ( $p < 0,05$ ). При ПН в плодовой части отмечалось нарастание локализации CD25+ на CD3+CD19-, CD8+CD4- и снижение активационных молекул на CD4+CD8- и CD56+CD3+ лимфоцитах в сравнении с материнской, что указывает на разноплановость изменений функциональной активности лимфоцитов при ЗРП и отличии ее от аналогичных данных контроля ( $p < 0,05$ ). Т.е. все параметры иммунной системы, ответственные за активацию иммунных реакций при ПН были направлены на повреждение и отторжение плода. Выявленные сдвиги могут быть расценены как критерии неблагополучия ЗРП при ПН.

Данные полученные при исследовании клинического материала представлены в таблицах 7 и 8. Анализ результатов позволил выявить увеличение как общего перфоринового числа, так и повышенный уровень продукции перфорина отдельными клетками (CD3+Perf+, CD8+ Perf+, CD16+ Perf+, CD56+ Perf+), достоверно превышающее аналогичные данные, выявленные при физиологической беременности ( $p < 0,05$ ).

Таблица 7 – Внутриклеточная продукция перфорина лимфоцитами периферической крови беременных с ПН

Наименование перфорин-позитивных субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Периферическая кровь	
	ПН	Контрольная
CD3+ Perf+	10,57 ± 0,17*	3,78 ± 0,61
CD4+ Perf+	4,98 ± 0,13*	8,74 ± 0,82
CD8+ Perf+	13,34 ± 0,82*	5,76 ± 0,31
CD16+ Perf+	9,08 ± 0,08*	5,32 ± 0,84
CD56+ Perf+	9,85 ± 0,30*	3,28 ± 0,42
Общее перфориновое число	47,82 ± 0,37*	26,88 ± 0,24
*p < 0,05.		

При этом на системном уровне при ПН показатели превышали данные контроля в 1,77 раз, в 2,8, в 2,32, в 1,71, в 3,0 раза соответственно. Это указывает на то, что при ПН в периферической крови беременных повышается уровень продукции иммунокомпетентными клетками пороформирующих белков, оказывающих цитотоксический эффект на клетки-мишени, что, возможно, лежит в основе патогенетических механизмов ПН. При этом внутриклеточная продукция перфорина иммунорегуляторными CD4+ Perf+ клетками, осуществляющих протективный иммунный ответ при ПН отличалась от аналогичных данных контроля снижением в 1,76 раз (p < 0,05).

Таблица 8 – Внутриклеточная продукция перфорина лимфоцитами пуповинной крови новорожденных с ПН

Наименование перфорин-позитивных субпопуляций лимфоцитов пуповинной крови (%)	Пуповинная кровь	
	ПН	Контрольная
CD3+ Perf+	12,0 ± 0,05*	9,11 ± 0,09
CD4+ Perf+	6,83 ± 0,20*	7,55 ± 0,06
CD8+ Perf+	6,29 ± 0,28*	7,95 ± 0,03
CD16+ Perf+	9,17 ± 0,16*	0,67 ± 0,04
CD56+ Perf+	8,9 ± 0,30*	0,99 ± 0,04
Общее перфориновое число	43,19 ± 0,25*	24,6 ± 0,07
*p < 0,05.		

На локальном уровне, в плодовой части пуповинной крови беременных с ПН общее перфориновое число было также повышенным, как и в периферической крови в сравнении с данными контроля соответственно в 1,75 раз, а на уровне отдельных клеток среди CD3+ Perf+-в 1,32 раза, CD16+ Perf+-в 13,68 раз, CD56+ Perf+-в 8,99 раз (p < 0,05), что указывает на цитотоксический эффект данных клеток. Т.е. на локальном уровне при ПН внутриклеточная продукция перфорина осуществлялась зрелыми Т- и натуральными киллерными клетками обеих фенотипов.

Иммунорегуляторные CD4+ Perf+, CD8+ Perf+ лимфоциты пуповинной крови при ПН отличались от аналогичных данных контроля более сниженной внутриклеточной продукцией перфорина (p < 0,05). Эти данные соответственно были меньше в 1,1 и 1,26 раз. Т.е. в плодовой части пуповинной крови при ПН мощный цитотоксический эффект на клетки-мишени осуществляли преимущественно зрелые Т- и натуральные киллерные лимфоциты CD16+, CD56+ фенотипов в сравнении с нормой.

#### Выводы.

1. Установлено, что осложнение течения беременности ПН нарушает адаптацию организма женщин, вызывая серьезные отклонения функций иммунной системы у беременных, рожениц и родильниц, которые оценивали по локализации активационных маркеров CD25+, CD95+ на CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитах. Выявлено увеличение ранней активации лимфоцитов на системном уровне (периферическая кровь) у беременных III тр-ра, рожениц и родильниц с ПН, а также нарушение механизмов апоптоза (по CD95+), сопровождаемое поломками иммунитета локально. Это находит отражение в изменении функций лимфоцитов у новорожденных. Установлено увеличение активации (по CD25+), CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ иммунокомпетентных клеток, а также готовность к гибели (по CD95+) среди CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитов плодовой части пуповинной крови.

2. На локальном уровне в пуповинной крови однонаправленные изменения функций лимфоидных клеток отмечались как в плодовой, так и материнской части, за исключением хелперно-индукторных Т-лимфоцитов, функции которых были различны. Субпопуляционный профиль лимфоцитов в материнской части пуповинной крови отличался от такового в плодовой снижением количества зрелых Т-, иммунорегуляторных, хелперно-индукторных и цитотоксических Т-лимфоцитов, снижением количества клеток антитело-продуцентов, отсутствием различий по отношению к контролю активированных Т-, В-и НК-клеток. При этом количество Т-клеток с маркером ранней активации CD25+ было одинаково сниженным как в материнской, так и плодовой части пуповинной крови, но количество натуральных киллерных клеток CD16+ и CD56+ было одинаково повышенным, по сравнению с контролем, в обеих частях пуповинной крови.

3. Анализ результатов исследования позволил установить, что осложнение течения беременности ПН вызывает глубокие нарушения в иммунной системе женщин в отношении функциональной цитотоксической активности иммунокомпетентных клеток, оцениваемой по результатам внутриклеточной продукции пороформирующего белка перфорина как на системном, так и локальном уровнях. В отличие от физиологически протекающей беременности при ПН формируется повышенный внутриклеточный синтез пороформирующего белка перфорина, определяемый увеличением общего перфоринового числа (периферическая и пуповинная кровь), усилением внутриклеточной продукции перфорина зрелыми Т- лимфоцитами, натуральными киллерными клетками обеих фенотипов (периферическая и пуповинная кровь), а также супрессорно-цитотоксическими CD8+ лимфоцитами (периферическая кровь), которые осуществляют цитотоксический эффект клеток-мишеней.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология беременности. – 2003;400.
- [2] Тетруашвили Н.К. Иммунология. – 2008; 29: 124-129.
- [3] Сидельникова В.М. Российский вестник акушера-гинеколога. – 2007; 2: 62-64.
- [4] Стрижаков А.Н., Игнатко И.В. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006; 5: 33-41.
- [5] Mark E. Molitch, Lisa P. Purdy. Your Endocrine Source. – 2002; 14: 268.
- [6] Rankouhi T.R., Sanderson J.T., van Holsteijn C. Toxicol. Sci. – 2004; 81: 90–102.

#### REFERENCES

- [1] Suhiih G.T., Vanko L.V. Immunology of pregnancy. 2003; 400.
- [2] Tetruashvili N.K. Immunology. 2008; 29: 124-129.
- [3] Sidelnikov V.M. Russian Gazette of obstetrics-gynecology. 2007; 2: 62-64.
- [4] Strizhakov A.N., Ignatko I.V. Questions of gynec., obstetrics. and perinat. 2006; 5: 33-41.
- [5] Mark E. Molitch, Lisa P. Purdy. Your Endocrine Source. 2002; 14: 268.
- [6] Rankouhi T.R., Sanderson J.T., van Holsteijn C. Toxicol. Sci. 2004; 81: 90-102.

Л. С. Каюпова, Н. В. Кравцова, Л. С. Дзоз, А. М. Курманова

Ғылыми Ақушерлік, гинекология және перинатология орталығы, Алматы, Қазақстан

#### ПЛАЦЕНТАРЛЫ ЖЕТКІЛІКСІЗДІК ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ КРИТЕРИЙЛЕРІ

**Аннотация.** Зерттеулер плацентарлы жеткіліксіздігі бар босану және жаңа туған нәрестелердің жүкті ІІІ триместр, жүкті әйелдер, әйелдер иммундық жүйенің сандық және функционалдық параметрлердің өзгеру сипаты белгіленеді. лимфоциттердің анықталған теңгерімсіздік көрсеткіштері суб, ерте активтендіру және жүйелі және жергілікті деңгейде иммундық жасушалардың функционалдық цитоуытты қызметінің артуы. Бұл өзгерістер плацентарлы жеткіліксіздік және керекті түзету қажеттілігіне ана-плацента-ұрық иммундық механизмдерін бұзу көрсетуі.

**Түйін сөздер:** плацентарлы жеткіліксіздік, лимфоциттердің профиль, перфорин.

#### Сведение об авторе

Каюпова Лаура Саясатовна – д. м. н., проф., РГП на ПХВ «НЦАГиП» МЗ и СР РК; kls-5858@mail.ru