

УДК: 618.33:612.017.1

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ В-ЛИМФОЦИТОВ У ЖЕНЩИН ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ЗАДЕРЖКОЙ РОСТА ПЛОДА

М. В. Фролова\*,

Н. Ю. Сотникова, доктор медицинских наук

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Минздрава России, 153045, Россия, г. Иваново, ул. Победы, д. 20

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – изучение особенностей функциональной активности периферических В-лимфоцитов у беременных с задержкой роста плода (ЗРП).

**Материал и методы.** Обследовано 85 беременных в срок 32–36 недель. Основную группу составила 61 беременная женщина с ЗРП. Ретроспективно женщин основной группы разделили в зависимости от наличия и тяжести проявления данной патологии у новорожденных: 45 женщин с ЗРП впоследствии родили детей с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР), 14 из них – с легкой ЗВУР, 31 – с умеренной или тяжелой ЗВУР. У 16 беременных женщин с ЗРП родились дети без ЗВУР. В группу контроля вошли беременные без ЗРП – 24 человека. У всех обследуемых женщин мы оценивали содержание плазматических В-клеток с фенотипом CD19+CD38+CD20– в периферической крови, уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G, содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

**Результаты.** При рождении детей со ЗВУР у беременных женщин отмечался повышенный уровень плазматических клеток в периферической крови и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови. Более выраженные изменения в организме матери сочетались с наиболее тяжелыми проявлениями ЗВУР у детей при рождении. В случае рождения детей без ЗВУР у женщин отмечалось повышенное содержание плазматических клеток в периферической крови и сниженное сывороточное содержание IgA, IgM, IgG. Выявленные особенности у данной категории женщин, по-видимому, носят компенсаторный характер. Полученные результаты раскрывают новые иммуноопосредованные механизмы формирования ЗРП при беременности.

**Ключевые слова:** периферические В-лимфоциты, беременность, ЗРП, ЗВУР.

\* Ответственный за переписку (corresponding author): niimid.immune@mail.ru

Задержка роста плода (ЗРП) является наиболее распространенным осложнением беременности [12, 13, 14]. ЗРП – это патологическое состояние внутриутробного периода, которое характеризуется замедлением, остановкой или отрицательной динамикой размеров плода и проявляется у новорожденного снижением массо-ростовых показателей. Развитие ЗРП сопровождается уменьшением размеров внутренних органов, их морфофункциональной незрелостью, снижением иммунологической реактивности, особенностями показателей крови и метаболизма у плода [9]. ЗРП обуславливает высокий уровень заболеваемости и смертности в перинатальном периоде [3]. Известна связь внутриутробной ЗРП с повышенным риском развития ряда заболеваний в зрелом возрасте: метаболического синдрома, сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения, диабета II типа, астмы, ранней менопаузы у женщин [8, 9, 10, 11, 14]. Патогенез ЗРП сложен и до конца не изучен [1, 2, 11]. Особую роль в патогенезе ЗРП играют иммуноопосредованные механизмы [2, 5, 6, 11]. Ряд исследо-

ваний и наши собственные данные показывают, что при ЗРП в организме матери происходят существенные изменения В-звена иммунитета [4, 5, 6, 11]. Согласно существующим представлениям, основными эффекторными клетками В-звена иммунитета являются плазматические клетки – продуценты иммуноглобулинов, которые в норме обеспечивают работу антитело-зависимых механизмов защиты от патогена [5]. Антитела реализуют свою защитную функцию путем прямого воздействия на патогены или косвенно, с вовлечением дополнительных механизмов [5]. В результате связывания антигенов антителами напрямую происходит формирование иммунных комплексов, которые элиминируются в динамике иммунного ответа [5]. Однако особенности функционального состояния В-лимфоцитов при беременности, осложненной ЗРП, практически не изучены.

Целью исследования явилось изучение особенностей функциональной активности периферических В-лимфоцитов у беременных с ЗРП.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 85 женщин в срок 32–36 недель беременности. Основную группу составила 61 беременная с ЗРП (основная группа). Ретроспективно женщин основной группы разделили в зависимости от наличия и тяжести проявления данной патологии у новорожденных: 45 женщин с ЗРП впоследствии родили детей с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР) (ЗРП→ЗВУР), 14 из них – с легкой ЗВУР, 31 – с умеренной или тяжелой ЗВУР. У 16 беременных с ЗРП данная патология не реализовалась и завершилась рождением детей без ЗВУР (ЗРП→нет ЗВУР). В группу контроля вошли 24 беременные без ЗРП.

Оценивали содержание плазматических В-клеток с фенотипом CD19+CD38+CD20– в периферической крови, уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G, содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Клетки выделяли традиционным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколла – урографина ( $d = 1,078$ ). Особенности содержания В-лимфоцитов памяти CD19+CD38+CD20– определяли методом трехцветной проточной цитофлюориметрии на проточном цитофлюориметре FACSCantoll, результаты оценивали в программе FACSDiva (Becton Dickinson, США). В работе использовали моноклональные антитела анти-CD19 PerCP-Cy5.5 (eBioscience, США), анти-CD38 PE (Beckman Coulter, Франция), анти-CD20 FITC (Beckman Coulter, Франция). Оценку сывороточного содержания иммуноглобулинов А, М, G проводили методом твердофазового иммуноферментного анализа на анализаторе Multiscan EX фирмы Labsystems (Финляндия) с использованием тест-системы фирмы «Вектор-Бест» (Россия). Содержание циркулирующих иммунных комплексов определяли фотоколориметрическим методом.

Статистическая обработка проводилась с расчетом среднего арифметического и ошибки среднего арифметического с использованием программы Microsoft Excel из пакета Microsoft Office 2000.

Статистическая значимость различий показателей определялась по t-критерию Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание клеток CD19+CD38+CD20– в периферической крови женщин основной группы было статистически значимо выше по сравнению с таковым у беременных группы контроля (табл. 1). Существенной разницы в содержании плазматических клеток в периферической крови беременных женщин с ЗРП в зависимости от реализации ЗВУР у новорожденных нами не зафиксировано (табл. 1). Как при рождении детей со ЗВУР, так и при ее отсутствии уровень лимфоцитов CD19+CD38+CD20– был одинаково высок (табл. 1).

Анализ содержания плазматических клеток в периферической крови в зависимости от тяжести ЗВУР при рождении показал, что существенное повышение данного показателя имело место только при умеренной или тяжелой ЗВУР (рис.). При рождении детей с легкой ЗВУР содержание плазматических клеток статистически значимо не менялось, хотя и имело тенденцию к повышению (рис.).

Поскольку нами было отмечено существенное повышение уровня плазматических клеток – основных антителопродуцентов в периферической крови женщин с ЗРП, на следующем этапе исследования мы решили провести оценку функциональной активности В-клеток по содержанию иммуноглобулинов основных классов в сыворотке крови (табл. 2 и 3).

В результате проведенного исследования было показано, что повышение уровня плазматических клеток в периферической крови женщин основной группы не сопровождалось повышением уровня сывороточных иммуноглобулинов всех трех исследуемых классов (IgA, IgM, IgG) и соответствовало таковому при неосложненной беременности (табл. 2). При реализации ЗВУР у детей при рождении уровень IgA, IgM, IgG в сыворотке крови женщин с ЗРП был также сопоставим с контрольными значениями (табл. 2). Однако при рождении

**Таблица 1.** Содержание плазматических клеток в периферической крови женщин с задержкой развития плода в зависимости от наличия задержки внутриутробного развития у детей при рождении,  $M \pm m$

Группа беременных	Уровень CD19+CD38+CD20–, %	Статистическая значимость различий с показателями группы контроля
Контроль	0,56 ± 0,07	–
Основная группа	1,15 ± 0,20	p = 0,009
Подгруппа ЗРП→ЗВУР	1,22 ± 0,29	p = 0,040
Подгруппа ЗРП→нет ЗВУР	1,60 ± 0,73	p = 0,041

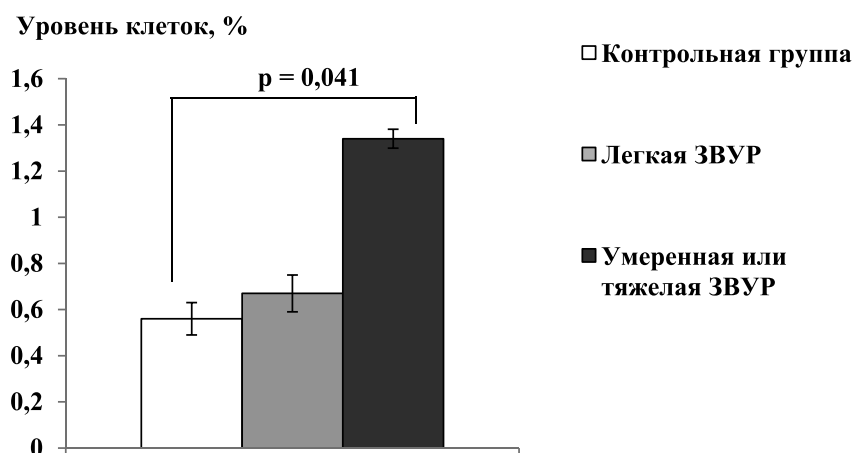


Рис. Уровень плазматических клеток CD19+CD38+CD20- в срок 32–36 недель в периферической крови беременных с задержкой развития плода в зависимости от степени тяжести задержки внутриутробного развития у новорожденных

детей без ЗВУР уровень сывороточных иммуноглобулинов А, М, G был достоверно сниженным в основной группе женщин (табл. 2).

Сывороточный уровень IgG, IgA и IgM у женщин с ЗРП практически не отличался от контрольных значений как в случае рождения детей с легкой ЗВУР, так и ЗВУР умеренной или тяжелой степени (табл. 3).

На следующем этапе нашего исследования мы оценили содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови женщин с ЗРП в зависимости от реализации данной патологии у новорожденных (табл. 4).

Наше исследование показало, что уровень ЦИК в сыворотке крови женщин с ЗРП был существенно повышенным как у женщин с ЗРП в целом, так и при реализации данной патологии у новорожденных (табл. 4). В основной группе в случае рождения детей без ЗВУР уровень ЦИК в сыворотке крови существенно не менялся по сравнению с контрольными значениями, хотя и имел тенденцию к повышению (табл. 4).

Полученные данные свидетельствуют, что ЗРП сопровождается изменениями функциональной активности В-лимфоцитов, которые имеют существенные различия в зависимости от реализации данной патологии у новорожденных. Имеются данные, что при ЗРП происходит повышенное поступление антигенов плодового происхождения в организм женщины [3], что может обуславливать усиление дифференцировки В-клеток до плазматических. Отражением этого процесса, вероятно, и является отмеченное нами повышенное содержание пула плазматических клеток

в периферической крови женщин с ЗРП. Отсутствие изменений в содержании сывороточных иммуноглобулинов у беременных женщин с ЗРП, родивших затем детей со ЗВУР, объясняется, вероятно, переходом в связанное состояние с образованием иммунных комплексов, содержание которых было существенно повышенным в сыворотке крови. Отмеченные изменения были максимально выражены у женщин в случае более тяжелых проявлений ЗВУР у новорожденных. Иная картина наблюдалась у женщин, имевших при беременности ЗРП, но родивших детей без ЗВУР. На фоне повышенного содержания плазматических клеток в периферической крови сывороточный уровень иммуноглобулинов основных классов был существенно сниженным, а уровень ЦИК в этой группе женщин хотя и имел тенденцию к повышению, но существенно не менялся. Вероятно, данные изменения были обусловлены более высокой эффективностью иммунных реакций у этой категории женщин и быстрой элиминацией иммунных комплексов. По-видимому, выявленные особенности носят компенсаторный характер и определяют возможность рождения детей без ЗВУР.

## ВЫВОДЫ

При беременности, осложненной ЗРП, наблюдаются значительные изменения функциональной активности периферических В-лимфоцитов, которые зависят от реализации данной патологии у новорожденных и ее тяжести. Эти изменения могут вносить свой вклад в патогенез ЗРП, обуславливая формирование патологического антителозависимого иммунного ответа.

**Таблица 2.** Особенности сывороточного содержания IgA, IgM, IgG у беременных с задержкой развития плода  $M \pm m$ 

Показатель	Содержание иммуноглобулинов, г/л				Статистическая значимость различий между показателями	
	в группе контроля	в основной группе	Подгруппа ЗРП→ЗВУР	Подгруппа ЗРП→нет ЗВУР	подгруппы с ЗРП без ЗВУР и группы контроля	подгрупп с ЗВУР и без ЗВУР
IgA	3,48 ± 0,20	3,02 ± 0,17	3,25 ± 0,20	2,43 ± 0,25	p = 0,003	p = 0,015
IgM	2,62 ± 0,09	2,52 ± 0,06	2,62 ± 0,06	2,26 ± 0,15	p = 0,045	p = 0,031
IgG	19,42 ± 1,13	16,90 ± 1,30	18,59 ± 1,66	12,57 ± 1,40	p = 0,001	p = 0,008

**Таблица 3.** Содержание иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови беременных с задержкой развития плода в зависимости от степени тяжести задержки внутриутробного развития у новорожденных,  $M \pm m$ 

Показатель	Содержание иммуноглобулинов, г/л		
	в группе контроля	в подгруппе ЗРП→ЗВУР	
		легкая ЗВУР	умеренная или тяжелая ЗВУР
IgA	3,48 ± 0,20	3,19 ± 0,34	3,28 ± 0,23
IgM	2,62 ± 0,09	2,61 ± 0,11	2,62 ± 0,07
IgG	19,42 ± 1,13	17,65 ± 3,08	18,29 ± 1,90

**Таблица 4.** Содержание циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови беременных с задержкой развития плода,  $M \pm m$ 

Группа беременных	Уровень ЦИК, %	Статистическая значимость различий с показателями	
		группы контроля	подгруппы без ЗВУР
Контроль	2,83 ± 1,04	–	–
Основная группа	6,39 ± 0,76	p = 0,010	
Подгруппа ЗРП→ЗВУР	7,96 ± 0,83	p = 0,001	p = 0,046
Подгруппа ЗРП→нет ЗВУР	4,92 ± 1,07	–	–

## ЛИТЕРАТУРА

- Клычева, О. И. Взаимосвязь соматических и гинекологических заболеваний матери с развитием синдрома задержки развития плода / О. И. Клычева, Г. А. Лазарева, А. Б. Хурасева // *Мать и дитя : матер.* XV Всероссийского научного форума. – М., 2014. – С. 83–84.
- Синдром задержки роста плода: патогенез, диагностика, лечение, акушерская тактика / А. Н. Стрижков, И. В. Игнатко, Е. В. Тимохина, Л. Д. Белоцерковцева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 120 с.
- Тимохина, Е. В. Патогенетические механизмы развития синдрома задержки роста плода и проблемы лечения / Е. В. Тимохина // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 17–20.
- Фролова, М. В. Дифференцировка В-клеток памяти у женщин с задержкой роста плода / М. В. Фролова, А. В. Кудряшова, Н. Ю. Сотникова // *Российский иммунологический журнал.* – 2015. – Т. 9 (18), № 2 (1). – С. 433–434.
- Фролова, М. В. Параметры дифференцировки В-лимфоцитов памяти у женщин с задержкой роста плода / М. В. Фролова, Н. Ю. Сотникова // *Врач-аспирант.* – 2016. – № 3 (76). – С. 92–100.
- Фролова, М. В. Созревание В-лимфоцитов при беременности, осложненной задержкой роста плода / М. В. Фролова, Н. Ю. Сотникова, П. Л. Милеева // *Российский иммунологический журнал.* – 2015. – Т. 9 (18), № 1 (1). – С. 193–194.
- Черешнев, В. А. Иммунология: учебник для вузов / В. А. Черешнев, К. В. Шмагель. – М. : Магистр-Пресс, 2013. – 448 с.
- Birth weight and subsequent risk of asthma: a systematic review and meta-analysis / M. Mu [et al.] // *Heart Lung Circ.* – 2014. – Vol. 23, № 6. – P. 511–519.
- Intrauterine growth retardation – small events, big consequences / T. Saleem [et al.] // *Ital. J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 37. – doi: 10.1186/1824-7288-37-41.
- Makarenko, M. V. Systemic production of cytokines and growth factors in various forms of syndrome of delayed fetal growth / M. V. Makarenko // *Klin. Khir.* – 2014. – № 11. – P. 67–70.
- Nguyen, T. G. To B or not to B cells-mediate a healthy start to life / T. G. Nguyen, C. M. Ward, J. M. Mor-

- ris // Clin. Exp. Immunol. – 2013. – № 171 (2). – P. 124 – 134.
12. Screening and triage of intrauterine growth restriction (IUGR) in general population and high risk pregnancies: a systematic review with a focus on reduction of IUGR related stillbirths / A. Imdad, M. Y. Yakoob, S. Siddiqui, Z. A. Bhutta // BMC Public Health. – 2011. – Vol. 11. – doi: 10.1186/1471-2458-11-S3-S1.
13. Sharma, D. Intrauterine Growth Restriction: Antenatal and Postnatal Aspects / D. Sharma, S. Shastri, P. Sharma // Clin. Med. Insights Pediatr. – 2016. – Vol. 10. – P. 67–83.
14. The Intrauterine Growth Restriction Phenotype: Fetal Adaptations and Potential Implications for Later Life Insulin Resistance and Diabetes / S. R. Thorn, P. J. Rozance, L. D. Brown, W. W. Hay, Jr. // Semin. Reprod. Med. – Vol. 29, № 3. – P. 225–236.

---

#### PECULIARITIES OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF PERIPHERIC B-LYMPHOCYTES IN WOMEN IN PREGNANCY COMPLICATED BY FETUS GROWTH INHIBITION

M. V. Frolova, N. Yu. Sotnikova

##### ABSTRACT

**Objective** – to study the peculiarities of functional activity of peripheral B-lymphocytes in pregnant women with fetus growth inhibition.

**Material and methods.** 85 pregnant women of 32–36 weeks term were examined. The main group was composed of 61 pregnant women with fetus growth inhibition. Retrospectively women from the main group were divided in accordance with presence and severity of the pathology manifestations in newborns as follows: 45 women with fetus growth inhibition then gave birth to infants with intrauterine development arrest (14 of them – with light degree and 31 – with moderate or hard degree). 16 pregnant women gave birth to infants without intrauterine development arrest. 24 pregnant women without fetus growth inhibition were enrolled in control group. The content of plasma B-cells with CD19+CD38+CD20- phenotype in peripheral blood, the level of serological immunoglobulin of A, M, G classes and the content of circulating immune complexes were evaluated.

**Results.** The increased level of plasma cells in peripheral blood and circulating immune complexes in blood serum were marked in pregnant women who gave birth to infants with intrauterine development arrest. More expressed alterations in mother organism were combined with the most severe manifestations of intrauterine development arrest in the newborns. Increased content of plasma cells in peripheral blood and decreased serum content of immunoglobulin A, immunoglobulin M, immunoglobulin G were noted when women gave birth to infants without intrauterine development arrest. The revealed peculiarities in this category of women apparently had compensatory character. The obtained results bared new immunomediated mechanisms of fetus growth inhibition development in pregnancy.

**Key words:** peripheral B-lymphocytes, pregnancy, fetus growth inhibition, intrauterine development arrest.