

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ НЕЙТРОФИЛАМИ РАСТВОРИМОГО АНТИГЕНА ЛЕЙКОЦИТОВ-2 И ЕГО ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ ПОЗДНЕМ ОПГ-ГЕСТОЗЕ

*Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова, Л.Г. Сотникова, А.В. Кудряшова,
А.Г. Филинов, Д.Д. Петрунин*

Кафедра акушерства и гинекологии (зав. — проф. Л.В. Посисеева) Ивановской государственной медицинской академии, Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова (директор — проф. Л.В. Посисеева)

Поздний ОПГ-гестоз занимает в настоящее время ведущее место в структуре осложнений беременности, являясь одной из основных причин перинатальной и материнской заболеваемости и смертности [10]. Трудности диагностики и лечения ОПГ-гестоза, без сомнения, в первую очередь связаны со сложностью его патогенеза. В литературе существует много теорий, объясняющих патогенез позднего гестоза, основанных на патологических изменениях в той или иной функциональной системе, в том числе и в иммунной [3, 13]. У женщин с поздним гестозом описаны нарушения функциональной активности Т-лимфоцитов, гиперактивация В-клеточного звена иммунитета [4, 5], что позволило предположить развитие патологического иммунного ответа на антигены почек, которые имеют структурное сходство с антигенами плода [2]. Вероятно, это обусловлено нарушениями ранних этапов распознавания и презентации антигенов, ведущую роль в которых играют фагоциты. Однако прямых доказательств участия фагоцитов, в частности нейтрофилов, в развитии позднего гестоза до сих пор не получено.

К настоящему времени установлено, что нейтрофилы принимают участие в иммунных реакциях опосредованно через продукцию ими целого ряда таких цитокинов, как интерлейкин-1, 6, 8, фактор некроза опухоли — альфа и др. [8]. Гораздо менее изучена иммунорегуляторная роль специфических нейтрофильных факторов, к числу которых относится растворимый антиген лейкоцитов-2 (РАЛ-2) [6]. Данный гликопротеид имеет молекулярную массу, равную 90 кД, устойчив к ферментативным

воздействиям, что может свидетельствовать о его участии в воспалительных процессах в очаге деструкции [7]. Косвенным доказательством участия РАЛ-2 в иммунных процессах является значительное повышение его сывороточной концентрации при ряде заболеваний с иммунной этиологией (ревматоидный артрит, псориаз) [6]. Однако наряду с предположениями о его иммуномодулирующей роли в организме существует гипотеза, согласно которой РАЛ-2 — это структурный элемент нейтрофилов, выделяющийся в окружающую среду при разрушении последних, например, в процессе аутоиммунной атаки [6].

Имеются сведения о повышении сывороточной концентрации РАЛ-2 и при позднем гестозе [1]. Выявление конкретных механизмов поступления РАЛ-2 в сыворотку крови и его иммунорегуляторного действия могло бы расширить наши представления о патогенезе позднего гестоза.

Целью данной работы было установить особенности продукции нейтрофилами РАЛ-2 и определить его действие на функциональную активность лимфоцитов при позднем ОПГ-гестозе.

Материалом для исследования служила гепаринизированная венозная кровь, взятая у 30 женщин с физиологической беременностью и у 25 — с поздним гестозом. Обогащенную популяцию лимфоцитов и нейтрофилов выделяли стандартным методом скоростного центрифугирования в двойном градиенте плотности фиколлверографина.

Для изучения секреторной активности нейтрофилов при ОПГ-гестозе получали супернатанты (СН) 1, 6 и 24-часовых культур обогащенных популяций

Содержание РАЛ-2 (мкг/мл) в супернатантах культур нейтрофилов в периферической крови у беременных различных сроков инкубации

Обследованные группы	1-часовой СН	6-часовой СН	P	24-часовой СН	P
Женщины					
с неосложненной беременностью	6,58±1,96 (n = 12)	10,17±3,32 (n = 6)	> 0,05	12,50±1,71 (n = 10)	< 0,05
с поздним гестозом	8,38±2,18 (n = 8)	17,50±2,50 (n = 4)	< 0,05	30,63±8,78 (n = 8)	< 0,05

Примечание. P — по сравнению с 1-часовым СН.

нейтрофилов в периферической крови у женщин с неосложненной беременностью III триместра или у женщин с поздним гестозом. Нейтрофилы культивировали при 37°C без стимуляции или в присутствии частиц неопсонизированного латекса, зимозана и белков компонента (Difco, USA). Жизнеспособность нейтрофилов, определяемая по окрашиванию трипановым синим, в течение всего инкубационного периода практически не менялась, оставаясь высокой (85—95%).

В полученных СН определяли содержание РАЛ-2 методом двойной иммунодиффузии в агаре по Оухтерлони (1958). Предел чувствительности используемых тест-систем составлял 1 мкг/мл (тест-системы были любезно предоставлены заведующим лабораторией иммунохимии Московского НИИ физико-химической медицины доктором медицинских наук Д.Д. Петруниным).

Для определения иммунорегуляторного действия РАЛ-2 изучали влияние чистого его препарата на продукцию лимфоцитами фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов (МИФ) в реакции торможения миграции лейкоцитов (прямой капиллярный метод) [4]. РАЛ-2 использовали в концентрации, близкой к физиологической (5 мкг/мл) [11]. Чистый препарат РАЛ-2 был предоставлен для работы Д.Д. Петруниным.

Статистическую обработку данных производили с помощью набора стандартных математических программ "Статграф", достоверность изменений вычисляли по t-критерию Стьюдента.

Содержание РАЛ-2 в супернатантах 1, 6 и 24-часовых культур нейтрофилов в периферической крови у женщин с

физиологической беременностью и поздним гестозом приведено в табл. 1.

Анализ полученных результатов показал, что в СН нейтрофилов как у здоровых беременных, так и у женщин с гестозом концентрация РАЛ-2 превышалась со сроком инкубации нейтрофилов: минимальное содержание РАЛ-2 отмечалось в 1-часовых СН, максимальное — в 24-часовых СН. При этом накопление РАЛ-2 в СН нейтрофилов у женщин с гестозом происходило интенсивнее, и уже в 6-часовом СН концентрация РАЛ-2 увеличивалась в 2 раза по сравнению с таковой в 1-часовом СН ($P < 0,05$). В СН нейтрофилов в периферической крови у женщин с физиологической беременностью достоверное повышение содержания РАЛ-2 по сравнению с таковым в 1-часовом СН отмечалось лишь в 24-часовом СН ($P < 0,05$). Во всех случаях концентрация РАЛ-2 в СН нейтрофилов у женщин с ОПГ-гестозом превышала таковую в СН нейтрофилов у здоровых беременных. В 24-часовых СН эти различия имели достоверный характер ($P < 0,05$). Увеличение содержания РАЛ-2 в СН происходило, очевидно, в результате активного секреторного процесса, усиливающегося при позднем гестозе, а не за счет пассивного выделения РАЛ-2 во внешнюю среду в результате гибели клеток при инкубации, так как жизнеспособность нейтрофилов в течение инкубационного периода не менялась и в обеих исследуемых группах составляла 85—95%.

Для уточнения механизмов секреции нейтрофилами РАЛ-2 была изучена динамика содержания РАЛ-2 в 1-часовом СН нейтрофилов у здоровых беременных под действием веществ, являющихся

Таблица 2

Влияние различных стимуляторов на содержание РАЛ-2 в 1-часовом СН нейтрофилов у здоровых беременных

Стимуляторы	n	Содержание РАЛ-2, мкг/мл	P
Среда 199 (контроль)	12	6,58±1,96	
Зимозан	5	2,60±0,98	>0,05
Латекс	5	14,00±2,45	<0,05
Комплемент	5	18,33±4,77	<0,05

Примечание. P — по сравнению с контролем; n — количество исследований.

ся традиционными активаторами фагоцитов — зимозана, неопсонизированного латекса и белков комплемента (табл. 2).

Было установлено, что зимозан несколько ослаблял продукцию нейтрофилами РАЛ-2 ($P > 0,05$), а латекс и белки комплемента достоверно усиливали ее ($P < 0,05$ в обоих случаях), причем эффект был наиболее выражен при стимуляции комплементом. Таким образом, процесс секреции нейтрофилами РАЛ-2 усиливается как при неспецифической (латекс), так и при специфической (комплемент) стимуляции нейтрофилов у беременных.

Для определения роли РАЛ-2 в иммунных реакциях мы изучали действие РАЛ-2 на функциональную активность лимфоцитов при беременности на модели продукции лимфоцитами периферической крови у здоровых беременных и у женщин с поздним гестозом фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов (МИФ). Полученные результаты приведены в табл. 3.

Лимфоциты у здоровых беременных отвечали нормальной продукцией МИФ в ответ на стимуляцию митогеном ФГА,

в то время как у женщин с гестозом выработка медиатора под действием ФГА отсутствовала. Сам РАЛ-2 не индуцировал продукцию МИФ женщин с неосложненной беременностью, но стимулировал его продукцию лимфоцитами у женщин с гестозом.

Действие РАЛ-2 на продукцию медиатора стимулированными лимфоцитами также зависело от функционального состояния последних. Так, у женщин с физиологической беременностью при нормальном ответе лимфоцитов на действие митогена РАЛ-2 супрессировал индуцирующее действие ФГА, а у женщин с гестозом, у которых изначально отсутствовал ответ лимфоцитов на ФГА, добавление РАЛ-2 в культуральную среду, содержащую ФГА, оказывало стимулирующее действие на выработку МИФ.

Таким образом, при позднем гестозе на фоне повышения секреции нейтрофилами РАЛ-2 имеет место сенсibilизация лимфоцитов к данному фактору, который, в свою очередь, оказывает иммуномодулирующее действие на выработку МИФ, зависящее от исходного уровня активности лимфоцитов.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что при гестозе усиливаются продукция и секреция нейтрофилами РАЛ-2. Это согласуется с литературными данными об увеличении сывороточной концентрации РАЛ-2 при этой патологии, возрастающей с тяжестью заболевания [12]. При этом, по видимому, секреция РАЛ-2 зависит от функционального состояния клеток и усиливается при стимуляции нейтрофилов, обусловленной, в первую очередь, комплементом, а возможно, и другими ферментными системами плазмы (таки-

Таблица 3

Влияние РАЛ-2 на выработку МИФ нестимулированными и стимулированными ФГА лимфоцитами у беременных

Группы обследованных	n	ФГА, МИ, %	РАЛ-2, МИ, %	РАЛ-2 + ФГА, МИ, %
Женщины				
с неосложненной беременностью	20	76,88±5,21	97,87±9,00	87,73±7,23
с поздним гестозом	18	113,33±17,13	47,54±9,23	46,00±11,13

Примечание. МИ — миграционный индекс.

ми, как кининогеназная система, система свертывания крови и др.), с которыми нейтрофилы тесно взаимодействуют [5], то есть является лигандзависимым процессом.

Известно, что при позднем гестозе происходит значительное нарушение микроциркуляции, проявляющееся в развитии гиперкоагуляции, синдрома ДВС [9]. Вероятно, общее нарушение гомеостаза при гестозе вызывает значительную активацию нейтрофилов, которые отвечают на стимуляцию усиленной секрецией РАЛ-2 в кровь. Сенсибилизация лимфоцитов к РАЛ-2 при гестозе на фоне его выраженного иммуномодулирующего действия на продукцию лимфоцитами одного из главных медиаторов воспаления — МИФ, по-видимому, может вызывать и/или поддерживать процессы, приводящие к патологическому повреждению различных органов и тканей, в первую очередь почечных гломерул, аутоиммунного характера.

Складывается впечатление, что нейтрофилы принимают активное участие в сложной цепи патогенетических процессов, приводящих к развитию позднего ОПГ-гестоза. Повышенная секреция нейтрофилами РАЛ-2 в результате активации ферментных систем плазмы при позднем гестозе обуславливает продукцию лимфоцитами важного медиатора воспаления, что, в свою очередь, может приводить к развитию деструктивных процессов уже в различных органах и тканях.

ВЫВОДЫ

1. Выделение нейтрофилами РАЛ-2 во внешнюю среду происходит в результате активного секреторного процесса, который становится более интенсивным при позднем ОПГ-гестозе.

2. Секреция нейтрофилами РАЛ-2 усиливается при стимуляции нейтрофилов как неспецифическими (латекс), так и специфическими (белки компонента) факторами.

3. При позднем гестозе РАЛ-2 индуцирует выработку МИФ нестимулиро-

ванными лимфоцитами и оказывает иммуномодулирующее действие на продукцию этого медиатора лимфоцитами у здоровых беременных и у женщин с гестозом, зависящее от исходного уровня функциональной активности лимфоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беседин В.Н.//Врач. дело. — 1989. — № 8. — С. 89—91.
2. Говалло В.И. Иммунология репродукции. — М., 1987.
3. Говалло В.И., Железникова Г.Ф. и др.//Вопр. охр. мат. — 1987. — № 11. — С. 53—56.
4. Крымкина Т.Н., Ганковская Л.В., Соколова Е.В., Петров Р.Ф., Ковальчук Л.В. Оценка спонтанной миграции лейкоцитов *in vitro* и продукции фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов крови у человека. — Метод. рекомендации. — М., 1987.
5. Маянский А.Н., Пикуза О.И. Клинические аспекты фагоцитоза. — Казань, 1993.
6. Петрунин Д.Д., Лопухин Ю.М. и др.//Иммунология. — 1983. — № 4. — С. 68—71.
7. Петрунин Д.Д., Лопухин Ю.М.//Гематол. и трансфузиол. — 1985. — № 11. — С. 3—7.
8. Потаннев М.П., Печковский Д.В.//Иммунология. — 1994. — № 5. — С. 4—6.
9. Сейтжанова К.Д. Роль иммунокоагуляционных нарушений в патогенезе поздних токсикозов беременных. — Вопросы профилактики и терапии: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. — Киев, 1988.
10. Сидорова И.С.//Вестн. Росс.Ассоц. акуш., гинекол. — 1994. — № 1. — С. 33—38.
11. Стрижова И.В., Петрунина Ю.А., Мамаева Л.М.//Акуш. и гин. — 1985. — № 4. — С. 45—47.
12. Borisov I.L., Barov D., Kyetukchiev B.//AJRIM. — Vol. 6. — P.77.
13. Steek T., Werfel W.//Zettable Gynecol. — 1995. — Vol. 117. — P. 3—10.

Поступила 01.12.97.

PECULIARITIES OF PRODUCING SOLUBLE LEUKOCYTE ANTIGEN 2 BY NEUTROPHILS AND ITS IMMUNOREGULATORY EFFECT IN LATE GESTOSIS

N.Yu. Somicova, Yu.S. Antsiferova, L.G. Sotnikova, A.V. Kudryashova, A.G. Filimonov, D.D. Petrunin

S u m m a r y

The data suggesting the increase of secretion of soluble leukocyte antigen-2 by neutrophils in late gestosis of SLA-2 are given. The soluble leukocyte antigen-2 has in its turn an immunomodulating effect on producing the factor inhibiting leukocyte migration by lymphocytes. The possible involvement of neutrophils in pathogenesis of late gestosis is considered.