

РОЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ

© 2019 г. А. В. Кудряшова*, И. А. Панова, Е. А. Рокотянская

*E-mail: niimid.immune@mail.ru

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства
им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 29.03.2019

Целью работы было оценить характер изменений функциональной активности нейтрофилов у женщин с преэклампсией и выявить их значимость в развитии гипертензии и протеинурии. Для нейтрофилов женщин с преэклампсией были характерны: повышение содержания CD11b⁺, CD31⁺, CD49b, TLR4⁺, Annexin V⁺PI⁺, IFN γ ⁺, Granzyme B⁺, НСТ-активных клеток, сывороточных G-CSF, IL-8, IFN γ и Fractalkine; высокий уровень синтеза MMP-9; снижение уровня CD95⁺, CX3CR1⁺, CD62L⁺ и CD99⁺ клеток. Корреляционные связи отмечались между: уровнем CD62L⁺, CD99⁺, CXCR1⁺ нейтрофилов, сывороточным IL-8 и нарушениями эластических свойств сосудов; уровнем CX3CR1⁺ нейтрофилов, средним артериальным давлением и протеинурией в разовой порции мочи.

Ключевые слова: нейтрофилы, преэклампсия

DOI: 10.31857/S102872210006624-1

Адрес: 153045 Иваново, ул. Победы, д. 20, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, лаборатория клинической иммунологии. Кудряшова Анна Владимировна.
Тел./факс: +79109915146 (моб.).

E-mail: niimid.immune@mail.ru

Авторы:

Кудряшова А. В., д.б.н., с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

Панова И. А., д.м.н., зав. отделом акушерства и гинекологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия;

Рокотянская Е. А., к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» Минздрава РФ, Иваново, Россия.

Преэклампсия ассоциируется с развитием системной воспалительной реакции, инициирующими стимулами которой является избыточное поступление в кровоток матери микрочастиц плацентарного происхождения [1]. Её отличительная черта — высокая степень инфильтрации сосудов нейтрофилами, что не характерно для других популяций лейкоцитов [2]. В связи с этим целью работы было оценить характер измене-

ний функциональной активности нейтрофилов у женщин с преэклампсией и выявить их значимость в развитии гипертензии и протеинурии.

В 24–36 недель гестации были обследованы 40 женщин без гипертензивных расстройств и неосложненным течением беременности, родов и послеродового периода (контрольная группа) и 72 женщины с преэклампсией (ПЭ) при поступлении в стационар до начала антигипертензивной терапии. Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь. Методом проточной цитофлуориметрии (FACSCantoII, Becton Dickinson, США) в популяции нейтрофилов исследовали экспрессию молекул CD11b, CD31, CD49b, CD62L, CD99, CD95 и CD95L, рецепторов CXCR1, CXCR2, CX3CR1, TLR2, TLR4, внутриклеточную продукцию IFN γ , Granzyme B, параметры аннексинового теста. Кислородзависимая метаболическая активность нейтрофилов оценивалась по показателям спонтанного и индуцированного зимозаном НСТ-теста. В сыворотке крови исследовали уровень G-CSF, IL-8, IFN γ (Luminex 200, Luminex Corporation, США), Fractalkine (Multiskan EX, LabSystems, Финляндия). Определение экспрессии мРНК MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 и β 2-микроглобулина

(ген домашнего хозяйства) проводили методом количественной RT-PCR (iCycleriQ, BIO-RAD, США). Статистический анализ полученных результатов осуществлялся в пакете прикладных лицензионных программ «Microsoft Office 2010». С учетом нормальности распределения данные оценивались или в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей (Me (Q_{25%}–Q_{75%})), или как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего (M±m). Эластические свойства артерий оценивались методом определения скорости распространения пульсовой волны на сфигмографической приставке аппаратно-программного комплекса «Поли-спектр-8/Е» (ООО «Нейрософт», Россия).

В результате проведенных исследований было установлено, что у женщин с ПЭ в популяции нейтрофилов достоверно возрастало содержание CD11b⁺, CD31⁺, CD49b, TLR4⁺, AnnexinV⁺PI⁺, IFNγ⁺, Granzyme B⁺, снижался уровень CD95⁺, CX3CR1⁺, CD62L⁺ и CD99⁺ клеток, но повышались значения средней интенсивности флуоресценции (MFI) CD62L⁺ клеток по сравнению с показателями в контрольной группе. Нейтрофилы женщин с ПЭ экспрессировали достоверно повышенный уровень мРНК MMP-9 и обладали высокой кислородзависимой метаболической активностью по данным спонтанного и стимулированного НСТ-теста. В сыворотке периферической крови женщин с ПЭ достоверно возрастало содержание G-CSF, IL-8 (наиболее выраженное при тяжелой форме преэклампсии), IFNγ и Fractalkine. Корреляционный анализ показал, что нарушения эластических свойств сосудов у женщин с ПЭ находились в прямой зависимости от уровня CD62L⁺ (для сосудов мышечного типа) и CD99⁺ (для сосудов эластического типа) нейтрофилов, и в обратной зависимости от показателей сывороточного уровня IL-8 и от содержания клеток, экспрессирующих его рецептор CXCR1 (для сосудов эластического типа). Среднее артериальное давление в стационаре и уровень протеинурии в разовой порции мочи при поступлении у женщин с ПЭ прямо коррелировали с показателем содержания CX3CR1⁺ нейтрофилов. На 5 сутки от начала лечения антигипертензивными препаратами у женщин с ПЭ достоверно снижалось содержание CXCR1⁺ нейтрофилов, а неэффективность проводимого лечения отмечалась у женщин с максимально повышенными исходными значениями содержания CD11b⁺ нейтрофилов.

Ранее нами было показано, что при преэклампсии в периферической крови достоверно

повышается относительное содержание нейтрофилов, в основном, за счет увеличения уровня сегментоядерных клеток [3]. Именно эта фракция циркулирующих нейтрофилов является наиболее функционально активной. Вероятно, отмеченные нами, высокая способность нейтрофилов к миграции, усиление их протеолитического и цитотоксического потенциала способствуют развитию воспалительного процесса в сосудистой системе матери. Патологические эффекты нейтрофилов могут проявляться в результате образования нейтрофильных внеклеточных сетей-ловушек, при котором в клетках происходит деконденсация хроматина с последующим его выбросом во внеклеточное пространство и образованием сетей ловушек, насыщенных реактивными формами кислорода, гистонами, миелопероксидазой и другими молекулами, повреждающими окружающие ткани и вызывающими иммунное воспаление. Причем, по нашим данным, при ПЭ запуск нетоза может определяться высокой кислородзависимой метаболической активностью нейтрофилов и при узнавании активирующих стимулов через toll-подобные рецепторы [4]. Все это может способствовать повреждению эндотелиального, базального и мышечного слоев сосудов, потере ими эластических свойств, стимулируя миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток в неointиму, с последующим её разрастанием и сужением просвета сосуда [5]. Патогенетическая значимость этих процессов подтверждается наличием корреляционных связей с основными клиническими проявлениями преэклампсии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Tannetta D., Collett G., Vatish M., Redman C., Sargent I. Syncytiotrophoblast extracellular vesicles – Circulating biopsies reflecting placental health. *Placenta*. 2017, 52, 134–138.
2. Kristen A., Cadden M. S., Walsh S. W. Neutrophils, but not Lymphocytes or Monocytes, Infiltrate Maternal Systemic Vasculature in Women with Preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2008, 27(4), 396–405.
3. Панова И. А., Кудряшова А. В., Хлипунова Д. А., Смирнова Е. В., Рокотьянская Е. А. Характеристика зрелости и адгезионной способности нейтрофилов при преэклампсии. *Российский иммунологический журнал*. 2014. 8; 3(17), 360–364. [Panova I. A., Kudryashova A. V., Khlipunova D. A., Smirnova E. V., Rokotianskaya E. A. Characteristics of maturity and adhesion of neutrophils in preeclampsia. *Russian Journal of Immunology*. 2014. 8; 3(17), 360–364]
4. Delgado-Rizo V., Martínez-Guzmán M. A., Iñiguez-Gutiérrez L., García-Orozco A., Alvarado-Navarro A.,

- Fafutis-Morris M.* Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Front Immunol.* 2017. 8, 81.
5. *Schober A.* Chemokines in vascular dysfunction and remodeling. *Arterios Thromb Vasc Biol.* 2008. 28(11), 1950–1959.

THE ROLE OF NEUTROPHILS IN THE PATHOGENESIS OF PREECLAMPSIA

© 2019 A. V. Kudryashova*, I. A. Panova, E. A. Rokotyanskaya

*E-mail: niimid.immune@mail.ru

Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named after V. N. Gorodkova» the Ministry of Health of the Russian Federation

Received: 14.03.2019. Accepted: 29.03.2019

The aim of the work was to assess the nature of changes in the functional activity of neutrophils in women with preeclampsia and to identify their significance in the development of hypertension and proteinuria. For neutrophils of women with preeclampsia, the following were observed: increased levels of CD11b⁺, CD31⁺, CD49b, TLR4⁺, AnnexinV⁺PI⁺, IFN γ ⁺, Granzyme B⁺, NBT-active cells, serum G-CSF, IL-8, IFN γ and Fractalkine; high level of MMP-9 synthesis; decreased levels of CD95⁺, CX3CR1⁺, CD62L⁺ and CD99⁺ cells. Correlation was noted between: the level of CD62L⁺, CD99⁺, CXCR1⁺ neutrophils, serum IL-8 and impaired elastic properties of blood vessels; CX3CR1⁺ neutrophil level and mean arterial pressure and proteinuria in a single portion of urine.

Key words: neutrophils, preeclampsia

Authors:

Kudryashova A. V., ✉ BD, senior researcher of the laboratory of clinical immunology, Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named by V. N. Gorodkov» the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia.
E-mail: niimid.immune@mail.ru;

Panova I. A., MD, assistant professor, head of Department of obstetrics and gynecology, Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named by V. N. Gorodkov» the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia;

Rokotyanskaya E. A., PhD, assistant Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology, Federal State Institution «Ivanovo Research Institute of Maternity and Childhood named by V. N. Gorodkov» the Ministry of Health of the Russian Federation, Ivanovo, Russia.