Клеточный иммунитет у беременных с аутоиммунным тиреоидитом

и гестозом

Махмутходжаев А.Ш., Огородова Л.М., Евтушенко И.Д., Холопов А.В.,

Тимошина Е.Л., Махмутходжаева Е.В.

Cell immunity at pregnant women with autoimmune thyroiditis and gestosis

Makhmuthodzhayev A.Sh., Ogorodova L.M., Evtushenko I.D., Holopov A.V.,

Timoshina E.L., Makhmuthodzhayeva E.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск Роддом ¹ 4, г. Томск

© Махмутходжаев А.Ш., Огородова Л.М., Евтушенко И.Д. и др.

Проведено проспективное исследование 60 беременных с хроническим аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) и 30 сопоставимых по возрасту и паритету пациенток без патологии щитовидной железы. При сроке беременности 12 и 32 нед проводилась оценка процентного содержания в периферической крови субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16,

HLA-DR антигена главного комплекса гистосовместимости класса 2), уровней ИЛ-2, ИФН-гамма, тиреопероксидазных антител, тиреотропного гормона (ТТГ) и тироксина.

У 25 беременных с АИТ (41,7%) развился гестоз (при 16,7% в контроле). Обусловленные беременностью изменения клеточного иммунитета при сроке гестации 12 нед включали снижение уровня CD16⁺ NK-клеток и всех

Т-лимфоцитов. Развитие гестоза у пациенток с АИТ сопровождалось увеличением процентного содержания

Т-лимфоцитов. Высокий уровень тиреопероксидазных аутоантител и активных Т-лимфоцитов у беременных с АИТ может рассматриваться в качестве прогностического фактора развития у этих пациенток гестоза.

Ключевые слова: беременность, аутоиммунный тиреоидит, гестоз, Т-лимфоциты, натуральные киллеры.

In a prospective study the group of 60 women with AIT and thyroidological uneventful control women, matched for age

parity (*n* = 30) were tested at 12 and 32 weeks gestation for percentages of peripheral blood lymphocyte subsets (CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR major histocompatibility complex (MHC)-class II), IL-2, IFN-gamma, TPO-Abs, TSH and thyroxin.

Twenty five pregnant women with AIT (41,7%) developed preeclampsia (against 16,7% in control). Pregnancy-related CMI alterations consisted of low percentages of CD16⁺ NK cells and all subpopulations of T-cells at 12 weeks gestation. The development of preeclampsia in women with AIT was accompanied with increasing percentage of HLA-DR⁺ T- lymphocytes. The high levels of TPO-Abs and activated T-lymphocytes in pregnant women with autoimmune thyroiditis has been suggested as a predictor for later preeclampsia development.

Key words: pregnancy, autoimmune thyroiditis, preeclampsia, T-lymphocytes, natural killer.

Аутоиммунный тиреоидит (АИТ) является распространенным заболеванием щитовидной железы, в основе которого лежат деструктивновоспалительные аутореактивные процессы [1, 6, 15]. Указанные процессы обусловлены иммунодисрегуляцией вследствие дефектов механизмов толерантности и усиления аутоагрессии по отношению к собственным антигенам. В качестве признаков иммунодисрегуляции при АИТ описаны различные нарушения гуморального и клеточного иммунитета, характерные для большинства эндокринных аутоиммунных заболеваний [3, 4]. Течение беременности у женщин с АИТ сопровождается повышенным числом акушерских осложнений, среди которых заметное место принадлежит гестозу. Частота развития гестоза у таких беременных достигает 40 — 45% [11]. Учитывая большое значение нарушений клеточного иммунитета в патогенезе гестоза, изучение вопросов, связанных с механизмами развития этого осложнения у беременных с АИТ, представляет значительный интерес.

Цель данного исследования — изучить изменения количественных показателей субпопуляций Тлимфоцитов и NK-клеток в периферической крови у беременных с АИТ в различные сроки гестации и при развитии гестоза, оценить возможность использования изученных показателей для прогнозирования развития гестоза у беременных с АИТ.

Материал и методы

Обследовано 60 беременных женщин с аутоиммунным тиреоидитом (основная группа) и 30 сопоставимых по возрасту и паритету здоровых беременных (контрольная группа). Для сравнительной оценки изменений показателей клеточного иммунитета, связанных с беременностью, использовались данные обследования 15 здоровых небеременных женщин в возрасте от 20 до 35 лет.

У всех беременных при сроке гестации 12 и 34 нед проводилось определение в сыворотке периферической крови относительного содержания субпопуляций Т-лимфоцитов, активных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (NK) методом непрямой иммунофлюоресценции и в цитотоксическом тесте с использованием моноклональных антител к CD3, CD4 и CD8 (Т-клеточные

маркеры, «Сорбент», Россия), HLA-DR антигена 2 кпасса MHC (маркер активных лимфоцитов, «АйСиЭн Фармасьютикал», США), CD16 (маркер NK-клеток, «Сорбент», Россия), концентрации интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерферонагамма (ИФН-гамма) иммуноферментным анализом наборами «ProCon» («Протеиновый контур», Россия). У беременных с АИТ оценивали функциональное состояние щитовидной железы путем измерения концентрации в периферической крови тиреотропного гормона (ТТГ, «Рош», Франция) (лабораторная норма у небеременных женщин 20 40 лет

0.2 - 3.5 мМЕ/л) и свободного тироксина (T_4 , «Рош», Франция) (лабораторная норма — 62 - 141 нмоль/л), определяли концентрацию аутоантител класса IgG в тиреопероксидазе (TPO-Abs, «Биохиммаг», Швейцария) (диагностический уровень 30 Ед/мл и выше).

Результаты исследования были статистически обработаны с применением пакета программ «STATISTICA for Windows 5.0». Для оценки достоверности различий результатов исследования использовался t-критерий Стьюдента и U-тест Манна—Уитни. Различия считались достоверными при P < 0.05.

Результаты

Из 60 находившихся под наблюдением беременных с АИТ развитие гестоза различной степени тяжести произошло у 25 (41,7%) пациенток. В группе контроля гестоз диагностирован у 5 (16,7%) беременных (табл. 1).

Таблица 1
Частота развития гестоза различной степени тяжести
у беременных с АИТ

Характеристика гестоза (нефропатия, степень тяжести)	Беременные с AИТ (<i>n</i> = 60)	Контроль (n = 30)
I	14 (23,3%)*	4 (13,3%)
II	9 (15,0%)*	1 (3,3%)
III	2 (3,3%)	0
Всего	25 (41,7%)*	5 (16,7%)

^{*} Различия достоверны при сравнении между группами (P < 0.05).

Средний срок беременности, при котором был установлен диагноз гестоза, составил (31,4 \pm 2,6) нед (26—34 нед) и (33,2 \pm 2,7) нед (30—36 нед) в основной и контрольной группах соответственно (P > 0.05).

При оценке клеточного иммунитета при сроке беременности 12 нед в обеих исследуемых группах были выявлены отклонения относительно показателей у небеременных женщин. В группе здоровых беременных наблюдалось достоверное уменьшение процентного содержания NK(CD16⁺)клеток, CD3⁺ T-лимфоцитов и их CD4⁺, CD8⁺ cyбпопуляций. Значимого изменения соотношения $CD4^{+}/CD8^{+}$ клеток при этом не происходило. У беременных с АИТ также наблюдалось достоверное по отношению к показателям у небеременных женщин уменьшение относительного количества CD16⁺ клеток, в то время как показатели процентного содержания Т-лимфоцитов находились в диапазоне значений, характерных для небеременных женщин (табл. 2).

В результате изучения содержания в сыворотке крови ИЛ-2 и ИФН-гамма при сроке гестации 12 нед выявлено достоверное увеличение их уровня у беременных с АИТ по сравнению с аналогичными показателями у пациенток контрольной группы, у которых, в свою очередь, уровни изученных цитокинов были ниже, чем у небеременных женщин (Р<0,05, см. табл. 2). В дальнейшем уровень цитокинов в обеих исследуемых группах изменялся мало, и выявленные различия сохранялись при обследовании в 34 нед гестации.

Таблица 2
Показатели клеточного иммунитета, содержание ИЛ-2 и
ИФН-гамма в сыворотке крови у беременных с АИТ и у
здоровых беременных при сроке гестации 12 нед

	Здоровые небеременные (<i>n</i> = 15)	Здоровые беременные (n = 30)	Беремен- ные с АИТ (<i>n</i> = 60)
CD3 ⁺ , %	66,2±5,4	44,5±4,3*	59,8±5,8
CD4 ⁺ , %	40,3±3,3	32,8±2,5*	$38,7\pm1,5$
CD8 ⁺ ,%	$26,9\pm 2,6$	17,3±1,9*	31,3±1,5**
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,5±0,3	1,9±0,5	1,2±0,3
CD16 ⁺ , %	16,3±2,4	7,3±1,3*	8,2±2,8*
HLA-DR [⁺]	8,2±1,3	3,2±0,4*	9,4±2,2**
ИЛ-2, пг/мл	20,5±4,2	7,8±2,4*	18,5±5,8**
ИФН-гамма, пг/мл	25,3±3,7	9,2±2,6*	28,3±4,5**

* P < 0,05 при сравнении с показателями у небеременных женщин; ** P < 0,05 при сравнении с показателями у здоровых беременных.

При сроке беременности 34 нед в контрольной группе отмечена тенденция к увеличению относительного содержания CD16⁺ клеток по сравнению с этим показателем в 12 нед. В то же время процентное содержание Т-лимфоцитов и их субполуляций значимых изменений не претерпело и оставалось достоверно сниженным в сравнении с содержанием его у небеременных женщин. У беременных с АИТ содержание CD16⁺ клеток в динамике беременности изменялось незначительно. В то же время у пациенток данной группы наблюдалась тенденция к увеличению содержания HLADR⁺ (активных)

Т-лимфоцитов, тогда как уровень остальных субпопуляций Т-клеток не отличался от показателей, полученных при сроке 12 нед (табл. 3).

Таблица 3
Показатели клеточного иммунитета, содержание ИЛ-2 и
ИФН-гамма в сыворотке крови у беременных с АИТ и у
здоровых беременных при сроке гестации 34 нед

Показатели	Здоровые беремен- ные (<i>n</i> =30)	Беременные с АИТ (<i>n</i> =60)
CD3 ⁺ , %	41,7±5,2*	62,5±4,4
CD4 ⁺ , %	31,3±3,7*	37,3±2,6
CD8 ⁺ ,%	18,9±2,8*	32,1±3,5
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,7±0,4	1,2±0,6
CD16 ⁺ , %	10,4±2,5	8,7±3,4*
HLA-DR [⁺]	4,5±1,5*	10,9±2,6**
ИЛ-2, пг/мл	10,3±3,5*	21,2±5,2**
ИФН-гамма, пг/мл	11,7±2,9 [*]	32,1±6,1**

* P < 0.05 при сравнении с показателями у небеременных женщин (см. табл. 2); ** P < 0.05 при сравнении с показателями у здоровых беременных.

В дальнейшем был проведен анализ полученных показателей клеточного иммунитета и содержания ИЛ-2 и ИФН-гамма с учетом развития гестоза у беременных исследуемых групп. При сроке гестации 12 нед у пациенток контрольной группы, у которых в последующем беременность осложнилась гестозом, не было выявлено какихлибо существенных различий изученных показателей в сравнении с беременными этой же группы, у которых гестоз не развивался. В то же время у беременных с АИТ, у которых во 2-й половине гестации возник гестоз, выявлено повышенное содержание HLA-DR⁺ Т-лимфоцитов в сравнении

с остальными пациентками данной группы (без гестоза), у которых содержание активных Тлимфоцитов значимо не отличалось от показателей в контроле (рис. 1). Одновременно у пациенток с АИТ, чья беременность в дальнейшем осложнилась гестозом, отмечена тенденция к увеличению содержания ИЛ-2 и ИФН-гамма по сравнению с аналогичным показателем у пациенток этой же группы, у которых гестоз не развивался. Среди пациенток контрольной группы содержание указанных цитокинов значимо не различалось (рис. 2).

В условиях развившегося гестоза у беременных контрольной группы наблюдалось существенное увеличение CD16⁺ клеток. Содержание HLA-DR⁺ Т-лимфоцитов повышалось относительно показателей в 1-м триместре, но было значимо ниже, чем у беременных с гестозом на фоне АИТ, у которых наряду с увеличением содержания активных Т-лимфоцитов относительно показателей в 1-м триместре происходило умеренное повышение процентного содержания CD16⁺ клеток. У пациенток с АИТ при отсутствии гестоза наблюдалось персистирующее снижение уровня CD16⁺ клеток относительно показателей в 1-м триместре и у небеременных, в то время как значимых изменений других изученных показателей клеточного иммунитета не происходило (см. рис. 1).

При оценке уровней изученных цитокинов выявлено, что развитие гестоза сопровождалось достоверным увеличением содержания ИЛ-2 и ИФН-гамма в обеих исследуемых группах беременных при сравнении с показателями, полученными в ранние сроки гестации (см. рис. 2).

Анализ показателей функционального состояния щитовидной железы выявил, что среди беременных с АИТ преобладали пациентки с гипофункцией органа (46 из 60; 76,7%). Среди тех пациенток с АИТ, у которых

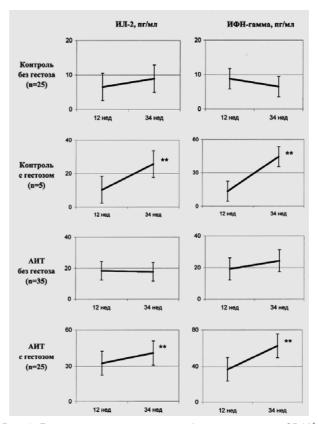


Рис. 1. Динамика содержания в периферической крови CD16 $^{+}$ лимфоцитов и HLA-DR $^{+}$ Т-лимфоцитов у здоровых беременных (контроль) и беременных с АИТ при возникновении гестоза: $^{+}$ P < 0,05 при сравнении пациенток с гестозом и без гестоза внутри одной группы; $^{++}$ P < 0,05 при сравнении с аналогичными показателями при сроке гестации 12 нед; $^{+++}$ P < 0,05 при сравнении пациенток основной и контрольной групп

возник гестоз, гипотиреоидное состояние диагностировано у 22 из 25 (88,0%). Женщины с АИТ и гестозом имели достоверно более высокую частоту уровней ТТГ, превышающих 3,5 мМЕ/л при сроке беременности 12 нед, в сравнении с беременными с АИТ, у которых гестоз отсутствовал (40,0 и 11,4% соответственно). Необходимо отметить, что прием гормональных лекарственных средств с целью заместительной терапии осуществлялся в равной степени беременными с АИТ, у которых происходило развитие гестоза, и теми пациентками с АИТ, у которых гестоза не было (32,0 и 28,6% соответственно, P > 0,05), что указывало на отсутствие значимого влияния заместительной гормонотерапии в процессе данного осложнения.

Согласно нашей второй задаче была оценена возможность использования изученных показателей клеточного иммунитета для прогнозирования развития гестоза.

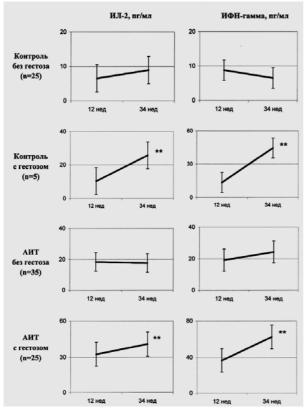


Рис. 2. Динамика содержания в периферической крови ИЛ-2 и ИФН-гамма у здоровых беременных (контроль) и беременных АИТ при возникновении гестоза: * P < 0.05 при сравнении пациенток с гестозом и без гестоза внутри одной группы; ** P < 0.05 при сравнении с аналогичными показателями при сроке гестации 12 нед; *** P < 0.05 при сравнении пациенток основной и контрольной групп

Прогностическая ценность количественных показателей Т-лимфоцитов при сроке 12 нед у беременных без экстрагенитальной патологии (контрольная группа) оказалась низкой. В то же время, по нашим данным, увеличение числа активных (HLA-DR[†]) Т-лимфоцитов, очевидно, является независимым прогностическим фактором развития гестоза у беременных с АИТ. Мы оценили прогностическую значимость определения содержания активных Т-лимфоцитов в сочетании с концентрацией ТРО-Аbs среди беременных с АИТ, у которых впоследствии развился гестоз. У

31 из 60 пациенток с АИТ (51,7%) при сроке 12 нед концентрация TPO-Abs была выше 50 Ед/мл, а относительное содержание активных Тлимфоцитов превышало 10%. У 21 пациентки с указанным сочетанием повышенного содержания активных Тлимфоцитов и TPO-Abs в дальнейшем развился гестоз, что свидетельствует о достаточно высокой чувствительности данного теста (67,7%).

Заключение

Известно, что иммунная система матери находится в состоянии адаптации, необходимой для нормального развития беременности. Несмотря на многочисленные исследования, точные механизмы иммунологической толерантности во время беременности остаются неясными. По-видимому, за это ответственны как локальные плацентарные, так и общие изменения в иммунной системе [13]. В ранние сроки беременности в децидуальной ткани наблюдается аккумуляция NK-подобных клеток с отличительным фенотипом CD56⁺ CD16⁻ CD3⁻ и макрофагально-дендритных клеток. Эти клетки играют ключевую роль в регуляции локального иммунного ответа и развитии беременности ранних сроков [2, 5, 7, 10, 13].

Известно, что указанная локальная иммунная адаптация сопровождается разнообразными изменениями количества и активности лейкоцитов периферической крови. Полученные нами данные, указывающие на уменьшение количественных показателей содержания Т-лимфоцитов и NK-клеток при нормальной беременности, согласуются с данными других авторов [9, 13].

Показано, что в норме беременность сопровождается иммунологическим сдвигом от Th1- к Th2-иммунному ответу, который характеризуется снижением продукции Th1-цитокинов и усилением продукции Th2-цитокинов [8, 9]. В нашем исследовании при нормальном течении беременности наблюдали снижение продукции ИЛ-2 и ИФНгамма, которые, как известно, являются ключевыми Th1-цитокинами. Учитывая, что ИЛ-2 стимулирует продукцию и активность NK-клеток, а ИФНгамма индуцирует экспрессию Т-лимфоцитами

антигенов класса 2 МНС, наблюдаемый при нормальной беременности иммунологический сдвиг в сторону Th2-ответа способен объяснить снижение числа периферических NK-клеток и активных Т-лимфоцитов.

Известно, что клеточно-опосредованный иммунный ответ является наиболее важным в механизмах деструктивных заболеваний щитовидной железы и других эндокринных аутоиммунных заболеваний [4, 14]. По нашим данным, беременные с АИТ уже в ранние сроки гестации имеют нарушения в регуляции клеточного иммунитета. Следует особо отметить факт увеличения относительного содержания активных Т-лимфоцитов в конце 1-го триместра преимущественно у беременных с АИТ, у которых в последующем развивался гестоз. Усиление Т-клеточной активности может указывать на то, что эффекторные функции Т-клеток у этих пациенток находятся в состоянии дисбаланса, с чем связано возникновение в дальнейшем гестоза.

Полученные данные подтверждают точку зрения, что Th1-клетки играют ключевую патогенетическую роль в развитии гестоза [12]. На наш взгляд, важны те обстоятельства, что гестоз развивался преимущественно у беременных с гипофункцией щитовидной железы, а также положительная корреляция между развитием осложнения и высоким уровнем антитиреоидных антител и HLA-DR[†] клеток. В связи с этим представляется возможным выявлять женщин с высоким риском развития гестоза на основании измерения относительного содержания активных Т-клеток и концентрации аутоантител к тиреопероксидазе для проведения в дальнейшем профилактических мероприятий.

Литература

- Amino N., Tada H., Hidaka Y. Autoimmune thyroid disease and pregnancy // J. Endocrinol. Invest. 1996. V. 19.
 P. 59—70.
- 2. Beer A.E., Kwak J.Y.H., Ruiz J. Reproductive immunology // Rich R.R., Fleisher T.A., eds. Clinical immunology: principles and practice. St. Louis: Mosby-Year

- Book, 1996. P. 1537—1540.
- Hoek A., Schoemaker J., Drexhage H.A. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity // Endocr. Rev. 1997.
 V. 18. P. 107—134.
- 4. Jansen A., van Hagen M., Drexhage H.A. Defective maturation and function of antigen presenting cells in type 1 diabetes // Lancet. 1995. V. 345. P. 491—492.
- King A., Jokhi P.P., Burrows T.D. et al. Functions of human decidual NK cells // Am. J. Reprod. Immunol. 1996.
 - V. 35. P. 258-260.
- Lazarus J.H., Hall R., Othman S. et al. The clinical spectrum of postpartum thyroid disease // Q. J. Med. 1996. V. 89. P. 429—435.
- 7. Loke Y.W., King A. Evolution of the fetal-maternal immunological relationship // Am. J. Reprod. Immunol. 1996.
 - V. 35. P. 256-257.
- 8. Marzi M., Vigano A., Trabattoni D. et al. Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy // Clin. Exp. Immunol. 1996. V. 106. P. 127—133.
- 9. Matthiesen L., Berg G., Ernerudh J., Hakansson L. Lymphocyte subsets and mitogen stimulation of blood lymphocytes in normal pregnancy // Am. J. Reprod. Immunol. 1996. V. 35. P. 70—79.
- Mizuno M., Aoki K., Kimbara T. Functions of macrophages in human decidual tissue in early pregnancy // Am. J. Reprod Immunol. 1998. V. 31. P. 180—188.
- 11. Roti E., Minnelli R., Salvi M. Clinical review 80 management of hyperthyroidism and hypothyroidism in the pregnant woman // J. Clin. Endocrinol. Metabol. 1996. V. 81. N 5. P. 1679—1682.
- 12. Saito S., Sakai M., Sasaki Y. et al. Quantitative analysis of peripheral blood Th0, Th1, Th2 and the Th1:Th2 cell ratio during normal human pregnancy and preeclampsia // Clin. Exp. Immunol. 1999. V. 117. N 3. P. 550—555.
- Sargent I.L., Redman C.W.G., Starkey P.M. The placenta as a graft / C.W.G. Redman, I.L. Sargent, P.M. Starkey. The human placenta. Oxford, 1993. Blackwell Scientific Publications. P. 334—361.
- 14. Tas M.P.R., de Haan-Meulman M., Kabel P.J., Drexhage H.A. Defects in monocyte polarization and dendritic cell clustering in patients with Graves disease. A putative role of a nonspecific immunoregulatory factor related to retroviral p15E // Clin. Endocrinol. (Oxf). 1991. V. 34. P. 441—448.
- 15. *Weetman A.P.* Prediction of postpartum thyroiditis // Clin. Endocrinol. (Oxf). 1994. V. 41. P. 7—8.

Страничка практического врача