© Туманова Л.Є., Коломієць О.В., Дріянська В.Є., Ромащенко О.В., Рябенко О.П., Молчанова О.О., 2023

doi:10.37321/immunology.2023.1-2-04

УДК: 618.1-078.73

ОСОБЛИВОСТІ Т-ЛІМФОЦИТІВ ТА ЇХ СУБПОПУЛЯЦІЙ В I-II ТРИМЕСТРАХ ВАГІТНОСТІ У ЖІНОК З ПРОБЛЕМАМИ БЕЗПЛІДНОСТІ В МИНУЛОМУ

ТУМАНОВА Л.Є.[1], КОЛОМІЄЦЬ О.В.[1], ДРІЯНСЬКА В.Є.[2,3], РОМАЩЕНКО О.В.[3], РЯБЕНКО О.П.[4], МОЛЧАНОВА О.О.[4]

[1]ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України», м. Київ;
[2]ДУ «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ;
[3]ДУ «Інститут урології ім. акад. О.Ф.Возіанова НАМН України», м. Київ;
[4]Репродуктивна клініка «Надія», м. Київ

Вступ. Важливою соціально-економічною проблемою нашої країни, яка ускладнилась в нинішніх умовах воєнного часу, є підвищення народжуваності в Україні з необхідністю наукових досліджень імунних механізмів перебігу вагітності для індивідуалізованих підходів до спостереження жінок, особливо тих, що мали безплідність в анамнезі.

Одним із доцільних напрямків є визначення особливостей складових імунітету з використанням проточної цитометрії, починаючи з досліджень Т-лімфоцитів (Т-л) і їх субпопуляцій, що експресують важливі для імунітету вагітних маркери.

Т-л є ключовими клітинами адаптивної імунної відповіді, які в процесі розвитку перетворюються в Т-хелпери/індуктори (Т-х/і) або Т-супресори/цитотоксичні (Т-с/ц). Т-х/і (CD4+) зв’язуються з молекулою головного комплексу гістосумісності (major highstocompatibility complex, MHC) I типу – HLA-A, B, C – на поверхні антиген-презентуючих клітин та індукують подальші реакції на чужорідний антиген. Т-с/ц (CD8+) взаємодіють з клітинами-мішенями через MHC II – HLA-DR – і при активації продукують перфорини та гранзими, запускають процес апоптозу [1, 2].

Дослідження експресії молекул HLA-DR на Т-л, а також CD25 на Т-х/і є однією з можливостей оцінки їх активації. HLA-DR-позитивні лімфоцити тривало циркулюють у крові, а експресія цього маркера найбільш повно відбиває активаційний стан Т-клітин (Т-кл) та їх субпопуляцій [3], що актуально для досліджень цих антигенів під час вагітності.

Запуск проліферативної відповіді Т-л – багатокаскадний процес, в якому ключову роль відіграє експресія Т-клітинного ростового фактора інтерлейкіна-2 (IL-2) та його рецептора (IL-2R). Цей рецептор несе на своїй мембрані різні типи клітин периферичної крові: CD4+-, CD8+-, CD56+-Т-кл, В-клітини, моноцити [4]. В процесі активації антигеном в Т-кл формується гетеродимерний компонент з ланцюгами α-, β- і γc (CD25) [5].

Взаємодія IL-2 з високоафінним рецептором на Т-л забезпечує запуск сигнальних подій, що безпосередньо регулюють вступ Т-л, що залишилися, в клітинний цикл [6, 7]. CD25 може бути присутнім короткочасно на різних активованих CD4+Т-л, але інтенсивність експресії цього маркера на регуляторних клітинах (Т-рег) (CD25high) вище, ніж у інших субпопуляцій Т-л [8]. Біологічна функція CD4+CD25+Т-клітин – підтримка клонального балансу серед лімфоїдних клітин та запобігання надмірній активації імунної системи [9].

Один із механізмів, через який CD4+CD25+ реалізують свій супресорний потенціал, пов’язаний з дією внутрішньоклітинних перфоринів та гранзимів [10].

Підвищення числа CD4+CD25+-клітин може відбуватися при запальних процесах будь-якої етіології (інфекційного та неінфекційного генезу, аутоімунних захворюваннях та ін) [11]. Особливості рівнів цих клітин у разі нормальної та патологічної вагітності недостатньо з’ясовані.

Важливу роль в регуляції імунної відповіді грають також рецептори CD158(KIR2DL1), що відомі як рецептори натуральних кілерів (НК) до ряду алелей HLA-C, які у разі зв’язку з лігандом KIR2DL1 інгбують цитотоксичну активність НК і здатні попереджувати лізис клітини-мішені [12].

Аналіз вищенаведеного комплексу показників є важливим для поширення уявлень про їх значущість в складних механізмах вагітності, а також прогнозування та динамічного спостереження за її перебігом.

Мета роботи – визначення динаміки відносної кількості клітин імунної системи (Т-л, Т-х/і, Т-с/ц) з різними кластерами диференціювання (CD) на різних термінах вагітності у жінок з безплідністю в минулому.

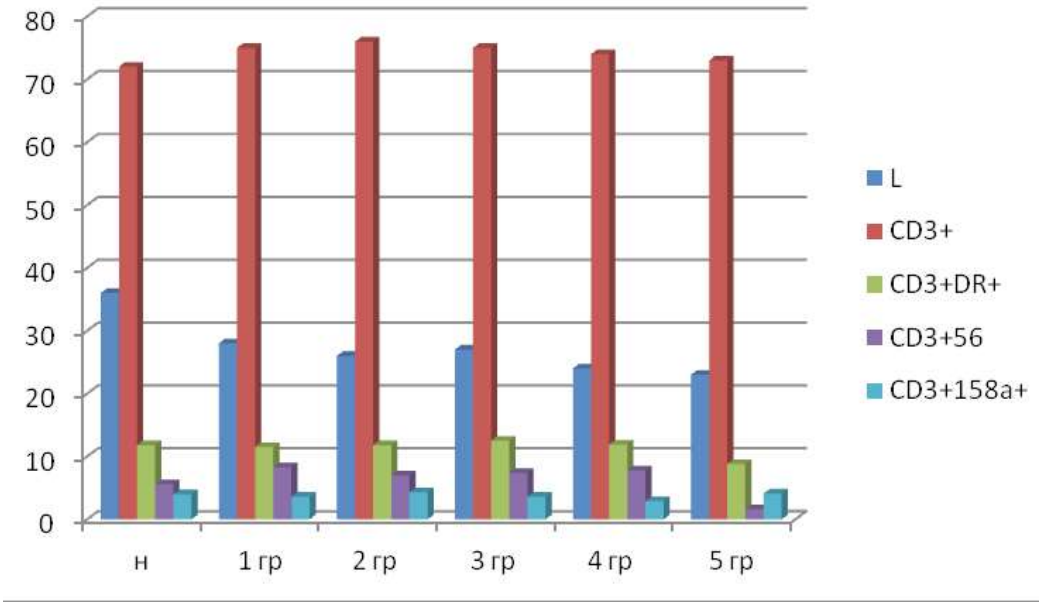
Матеріали і методи. За допомогою клітинного цитофлуориметра FACSCan (Becton Dickinson, США) і тест систем Becton Dickinson

(США) визначали з використанням моноклональних антитіл (МКА) до диференційованих антигенів лімфоцитів CD3, CD4, CD8, CD56 та маркерів активації HLA-DR і CD25 або тих, що мають інгібіторні властивості (CD158a) у 436 невагітних (референтна група) та 514 вагітних жінок (ж) із неплідністю в анамнезі на першому (I) та другому (II) триместрах вагітності. Всі жінки були проінформовані про проведення дослідження та дали згоду. Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи (ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України»).

Аналізували особливості відносних рівнів імунокомпетентних клітин крові – Т-л, Т-х/і та Т-с/ц у жінок із неплідністю в анамнезі: у невагітних (група н) та вагітних жінок (ж) в I-II триместрах на різних строках в групах: 1 – 4-7 (140 ж), 2 – 8-9 (163 ж), 3 – 10-12 (133 ж), 4 – 13-18 (63 ж), 5 – 19-28 (15 ж) тижнів (тиж).

Отримані дані оброблені статистично на персональному комп’ютері за допомогою пакета програм “SPSS for Windows. Версія 11” та “MedStat”. Для статистичної обробки використовувались параметричні критерії статистики – тест Ст’юдента або непараметричні – критерій Уілкоксона; показники рангової кореляції Спірмена.

Результати і обговорення. У вагітних жінок на тлі достовірного зниження відносної кількості лімфоцитів (л) усіх досліджених груп рівень Т-л (CD3+) вище норми в 1-4 групах – (1-3 гр $p<0,001$, в 4 гр $p=0,017$), тоді як в 5 гр кількість Т-клітин відповідає нормі – 73,73±1,76 порівняно з 71,83±0,38, $p=0,349$ (рис. 1). Різниці середньої кількості CD3+-клітин на початку вагітності (1 гр) та з подальшим її розвитком (2-5 гр) не виявлено – відповідно, p1-2,3,4,5 = 0,675; 0,772; 0,795; 0,632.



різниця достовірна: * – порівняно з н, ^ – з 1-4 гр, # – з 3 і 4 гр

Рис. 1. Середні відносні рівні Т-лімфоцитів з експресією відповідних маркерів у невагітних жінок (н) та пацієнток на різних строках вагітності (1-5 гр).

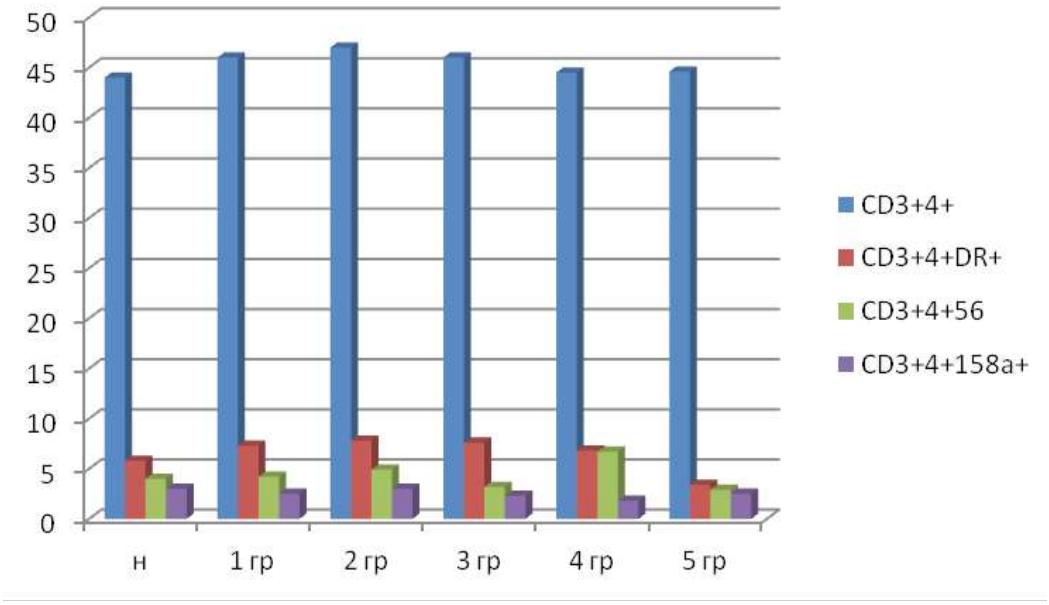
Дослідження субпопуляцій цих клітин з різними додатковими кластерами диференціювання (CD) на мембранах виявили нормальний рівень відносного числа Т-л з поверхневими маркерами активації, до яких відносяться антигени гістосумісності II класу – HLA-DR (CD3+DR+) ($p>0,05$) з тенденцією до підвищення відносно норми у пацієнток 3 гр ($p=0,055$). Достовірної різниці між пацієнтками 1 гр та іншими немає (p1-4=0,728; 0,282; 0,122) з тенденцією до зниження в 5 гр ($p=0,095$). Звертають увагу достовірно знижені середні показники CD3+DR+-клітин в 5 гр (8,87±0,94%) порівняно з 3 (12,48±0,50%) ($p=0,003$) та 4 (11,97±0,75%) ($p=0,015$) групами (рис. 1).

Високий рівень Т-л з маркерами натуральних кілерів (НК) CD56 корелює з підвищеним рівнем популяції Т-клітин, і також перевищує н в 1-4 гр, у періоді 19+ тиж відбувалось достовірне зниження % числа CD3+CD56+-кл крові відносно як референтної ($p=0,013$), так і інших груп (p5-1,2,3,4 <0,001). За середнім рівнем цих клітин в 1 гр порівняно з іншими (2-4 гр) достовірної різниці не виявлено – відповідно, $p=0,729$; 0,889; 0,368 (рис. 1).

За даними експресії CD158a (KIR2DL1), що обумовлює число Т-л з інгібіторними властивостями, не було різниці з н у всіх досліджених груп, за винятком тенденції до підвищення середньо-

го рівню (p=0,086) у пацієнток 2 гр. Ці показники на початку вагітності та надалі достовірно не відрізнялись – відповідно, p1-2,3,4,5=0,473, 0,420, 0,255 та 0,425; в 5 гр – тенденція до зростання порівняно з 4 гр (p=0,070).

Високий рівень CD3+4+DR+ в перших 3 групах (pн-1,2,3<0,001) демонстрував тенденцію до зниження порівняно з референтною гр в 4 гр (p=0,074) з достовірним зниженням в 5 гр (p=0,005) (рис. 2). Порівняльний аналіз показав, що % Т-х , експресуючих DR-антигени, найнижчий серед всіх груп і достовірно відрізняється від інших – відповідно, p<0,001 порівняно з 1-3 гр та p=0,001 – з 4 гр.



* - різниця достовірна порівняно з н; ^ - тенденція до підвищення

Рис. 2. Середні відносні рівні Т-хелперів/індукторів з експресією відповідних маркерів у невагітних жінок (н) та пацієнток на різних строках вагітності (1-5 гр).

Експресія на клітинах-хелперах молекул CD158a (KIR2DL1), які мають інгібіторні властивості, за даними числа CD3+4+CD158a-л, у пацієнток 1-5 груп не відрізняється від референтної – відповідно, p=0,568; p=0,750; p=0,456; p=0,073 та p=0,516 (рис. 2).

На відміну від Т-л з високою експресією маркерів НК, відносна кількість Т-х з цими клас-терами (CD3+4+56+) не відрізнялась від референтної групи протягом перших 12 тижнів вагітності, з 13 тижня (4 гр) виявлено їх достовірне підвищення (p=0,033), з подальшим зниженням до норми в 5 гр (рис. 3). Показники 5 гр не відрізнялись від 1-4 гр – відповідно, p=0,124; 0,730; 0,218; 0,482.

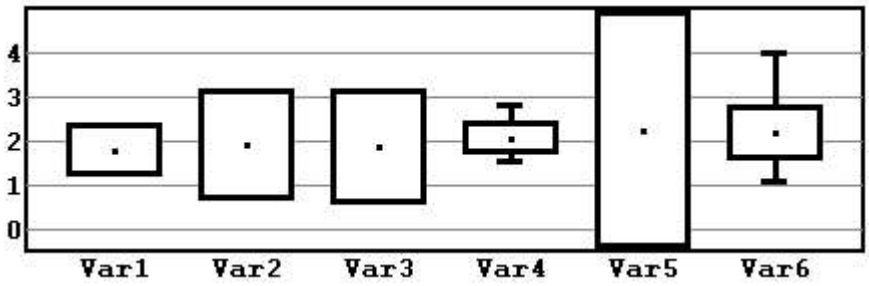
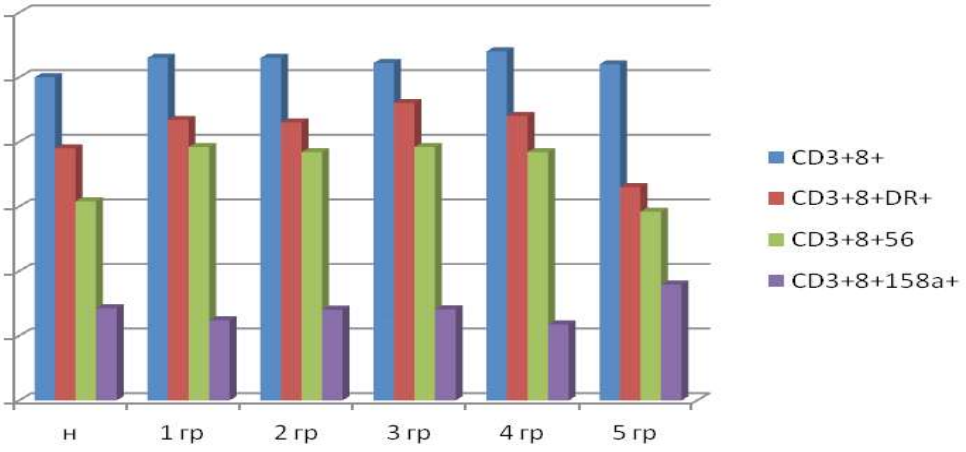


Рис. 3. Середні відносні рівні Т-хелперів/індукторів з експресією маркерів НК (CD56+) у невагітних жінок (Var1) та пацієнток на різних строках вагітності – 1-5 гр (Var2-Var6).

Середній рівень Т-рег – Т-х/і, які експресують CD25, перевищує норму в перших 3 гр – відповідно, p=0,007; p<0,001; p=0,002, тоді як з 13 до 28 тиж вагітності різниця недостовірна – відповідно, p=0,611 та p=0,810 для 4 і 5 гр. Про поступове зниження активації Т-х за середніми відсотковими рівнями CD3+4+25+-л в групах свідчить виявлена достовірна різниця показників в 5 гр порівняно з 1 і 2 (p=0,018 та p=0,003) з тенденцією до різниці з 3 і 4 гр (p=0,063 та p=0,074).



різниця достовірна: * – порівняно з н, # – з 3 і 4 гр

Рис. 4. Середні відносні рівні Т-супресорів/цитотоксичних з експресією відповідних маркерів у невагітних жінок (н) та пацієнток на різних строках вагітності (1-5 гр).

Середні % рівні Т-с/ц (CD3+8+) підвищені у пацієнток 1, 2 та 4 гр (p=0,041; 0,039 та 0,039); з 19 тижня вагітності цей показник не відрізняється від як референтної групи (p=0,353), так і інших (1-4 гр) (відповідно, p=0,803; 0,780; 0,639 та 0,960) (рис. 4).

Середнє число активованих Т-с/ц, які експресують DR-антигени, достовірно перевищують н в 1-4 гр (p=0,027; 0,012, <0,001, 0,013) і не відрізняються у пацієнток 5 гр (p=0,498), що характеризується більш низьким їх рівнем порівняно з 3 гр (p=0,041) та 4 гр (p=0,050).

Середня кількість в крові Т-с/ц, які мають антигени НК (CD3+8+56+) перевищують н на всіх строках вагітності до 19 тижня – відповідно, рн-1-3<0,001, рн-4=0,002. В той же час, цей показник в 5 гр відповідає н (p=0,791) та більш низький, ніж в інших групах – відповідно, р5-1,2,3=0,045; 0,037; 0,043 та р5-4 =0,082.

Відносна кількість CD3+8+158a+-л , як і для Т-л та субпопуляції Т-х, не відрізнялась від н в усіх групах вагітних (p>0,05); цей показник в 5 гр мав тенденцію до підвищення в порівнянні з 1 гр (p=0,054) та 4 гр (p=0,075).

Тенденція до підвищення цитотоксичних клітин з інгібіторними властивостями в 5 гр порівняно з 4 гр, так само як і у Т-л (p=0,070), корелює з тенденцією до зниження в цій групі числа Т-х з маркерами активації CD25 (p=0,074).

Спираючись на отримані дані, вважали доцільним провести порівняльний аналіз показників 5 гр порівняно з попереднім терміном вагітності (з початку до 19 тижня) за даними середньої кількості Т-, Тх/і та Тс/ц з експресією HLA-DR та CD56. Виявили достовірну різницю 5 гр з попередіми за показниками CD3+DR+-, CD3+56+-, CD4+DR+- та CD8+56+-л з тенденцією до зниження CD8+DR+-кл; рівні CD4+56+-л не відрізнялись (рис. 5).

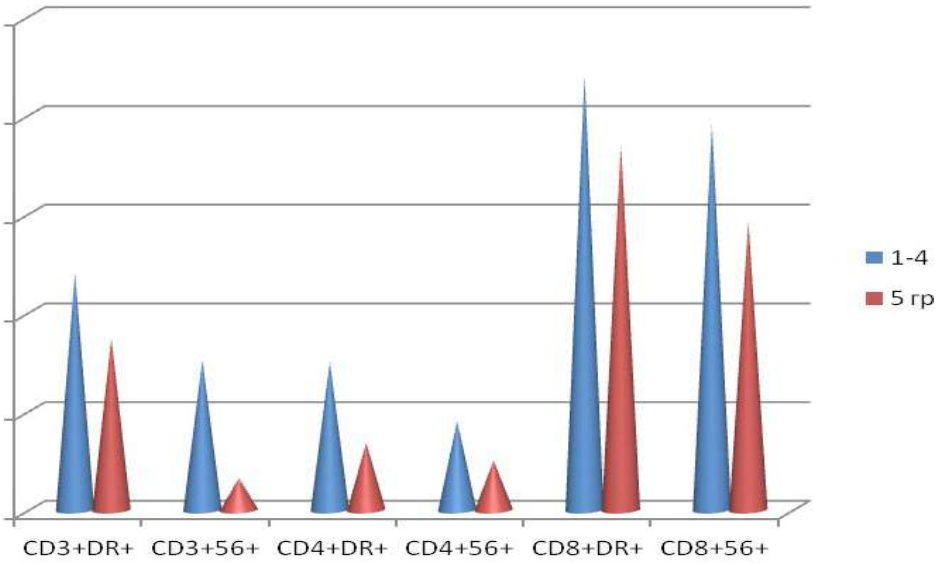


Рис. 5. Середні відносні рівні Т-л, Т-х/і та Т-с/ц з експресією CD-DR та CD-56 у жінок до 19 (1-4 гр) та після (19-28) тижнів вагітності (5 гр).

Так само достовірно зниженими в 5 гр, порівняно з попереднім терміном вагітності (1-18 тиж), були показники активованих Т-х за їх числом з експресією CD25 – 6,76 (5,43; 7,02) проти 19,3 (5,64; 28,84) (p=0,014).

За даними рангової кореляції Спірмена, у пацієнток 5 гр виявлено прямий зв’язок показників CD4+DR+-л з CD8+DR+-л (0,736) та зворотній – з CD8+CD158a+-л (-0,632). При цьому, рівень експресії цих антигенів гістосумісності на Т-с/ц (CD8+DR+-л) також зворотньо корелює з CD8+CD158a+-кл (-0,588) та CD3+CD158a+-кл (-0,747); в той же час, існує пряма кореляція між рівнями CD3+CD158a+-кл та CD8+CD158a+-кл (0,896). Тобто, рівень активованих Т-х/і та Т-с/ц з експресією DR-аг достовірно корелюють між собою та мають негативну кореляцію з кількістю тих самих лімфоцитів з інгібіторними властивостями (CD158a+). Число Т-х/і з експресією CD25 прямо корелює з їх кількістю, що мають кілерні властивості – CD4+CD56+-л (0,663).

Висновки та їх обговорення. Таким чином, показники, що характеризують рівень Т-клітин (CD3+), в тому числі з різними іншими CD (56 та DR) на початку вагітності (1гр) не відрізнялись від інших груп (2-4) за винятком 5 гр, коли після 20 тижня спостерігається тенденція до зниження кількості CD3+DR+-л (p=0,095) порівняно з 1 гр і достовірне їх зменшення порівняно з такими на 10-18 тижнях вагітності, а також достовірне зниження – CD3+56+-клітин (<0,001). Тобто, з перебігом вагітності відбувається зниження середнього рівню активованих Т-л з експресією HLA-DR, достовірно виражене після 20 тижня; високий з початку вагітності відносний рівень Т-л кілерів також достовірно знижується до норми і нижче, починаючи з 19-20 тижнів вагітності.

Виявили високий рівень клітин з поверхневими маркерами тривалої активації лімфоцитів DR в перших 4 групах (рн-1,2,3 <0,001) не тільки для Т-л, а й для Т-с/ц, а для Т-х/і в перших 3 гр з тенденцією до підвищення в 4 гр; % Т-л та Т-с/ц в 5 гр не відрізнявся від н (а Т-х/і – нижче за норму) та був достовірно меншим порівняно з 3 і 4 гр (а Т-х/і – з усіма групами). Таким чином, починаючи з 19 тижня вагітності, простежується зниження в крові рівнів активованих Т-лімфоцитів, а також їх субпопуляцій CD4+ та CD8+-кл з експресією DR як антигенів участі в регуляції імунної відповіді з розпізнаванням антигенів як свій-чужий [3], що можна вважати позитивним для перебігу вагітності.

Важливою ланкою імунної відповіді є цитокінова для забезпечення кооперативної взаємодії клітин, а також їх зв’язку з ендокринною та нервовою системами. Тому доцільним є визначення стану Т-х та їх субпопуляції Т-рег, які впливають через продукцію відповідних медіаторів як на перебіг нормальної вагітності, так і фетоплацентарну дисфункцію з перинатальними ускладненнями [2, 13].

Підвищення експресії рецептору до ІЛ-2 (CD25+) на CD4+-л свідчить про їх активацію на перших тижнях вагітності (1-3 гр). В той же час, протягом вагітності материнські регуляторні Т-кл мають важливе значення для встановлення імунної толерантності. Відомо, що під час вагітності регуляторні Т-клітини CD4+CD25+FOXP3+ (Т-рег) виявляються у високих рівнях у децидуальній тканині і мають здатність пригнічувати специфічні та неспецифічні реакції плода [14]. Виявлене нами поступове зниження в крові пацієнток, починаючи з 13 тижня, високих на початку вагітності рівнів CD4+CD25+-кл, до відповідного референтній гр та достовірно нижчого порівняно з першими 9 тижнями на строках 19-28 тиж, оцінюємо як нормальну захисну реакцію організма жінки зі зниженням активації імунокомпетентних клітин. На тлі цього виникає інтерес до вивчення супресорної активності цих клітин [15], продукуючих протизапальні цитокіни як прогнозопозитивні фактори для розвитку плода, але це мета інших досліджень.

На цих термінах перебігу вагітності (з 19-20 тиж) відбувається тенденція до зростання порівняно з 4 гр (p=0,070) відносного рівня Т-кл (CD3+) та цитотоксичних клітин (CD8+) (p=0,075) з маркерами інгібіторних властивостей CD158a, що також можна трактувати як захисну реакцію організму вагітної, спрямовану на гальмування реакції Т-л та Т-с/ц на чужорідні антигени плода.

Аналіз показників 5 гр спостереження (19-28 тиж) порівняно з попереднім строком вагітності (1-18 тиж) підтвердив достовірне зниження у жінок після 19 тиж активації клітин імунної системи за даними експресії, відповідно, CD25 для Т-х/і та DR-аг для Т-л та Т-х/і, а також кілерної здатності за маркером НК (CD56) для Т-л та Т-цитотоксичних (CD8+).

Аналіз кореляційних зв’язків показників субпопуляцій лімфоцитів з маркерами, що характеризують їх активацію (CD25, HLA-DR) або інгібіторні властивості (CD158a), антигенами НК (CD56) підтверджує думку про логічну достовірну динаміку досліджених показників в 5 гр та її позитивний характер з 19-20 тижні вагітності.

Динамічне спостереження за вагітними жінками за даними визначених показників може бути інформативним для прогнозування ризиків та своєчасної медичної тактики втручання.

Висновки.

Високий відносний рівень Т-л (CD3+) перших 18 тиж вагітності після цього терміну (19-28 тиж) відповідає нормі (p=0,349), їх % з експресією DR-аг також знижується і демонструє достовірну різницю порівняно з попереднім періодом (10-18 тиж) (p<0,05). Після 19 тиж відбувається і

достовірне зниження числа CD3+CD56+-кл крові відносно попередніх груп (p5-1,2,3,4 <0,001).

Високі на початку вагітності рівні CD3+4+DR+- і CD3+8+DR+-л (так само, як і самих Т-х/і та Т-с/ц), поступово знижувалися з достовірною різницею порівняно з іншими гр (p<0,05) в період 19+ тиж. Активація Т-х/і за рівнями CD25+-кл змінювалась так само, і після 19 тиж показники не відрізнялась від норми (p=0,482).

Відсоток в крові Т-с/ц з маркерами натуральних кілерів (НК) CD3+8+56+ після 19 тиж вагітності достовірно знижується відносно інших груп (p5-1,2,3,4 <0,05) і відповідає н (p=0,791).

Відносна кількість Т-л, Т-х/і та Т-с/ц за числом клітин з експресією маркера їх інгібуючих властивостей CD158a+ не відрізнялась від н на всіх термінах вагітності (p>0,05), для останньої субпопуляції (CD3+8+-л) цей показник з 19 тиж демонстрував тенденцію до підвищення (p<0,100).

Виявлені особливості наведених вище показників в різні терміни вагітності та кореляційні зв'язки між ними в періоді після 19-20 тиж дозволяють визначити прогностичні маркери її перебігу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. *Golubovskaya V., Wu L.* Different Subsets of T Cells, Memory, Effector Functions, and CAR-T Immunotherapy. Cancers (Basel). 2016; 8(3):36. DOI:10.3390/cancers8030036
2. *Piccinni M.P., Lombardelli L., Logiodice F., Kullolli O., Romagnani S., Le Bouteiller P.* T helper cell mediated-tolerance towards fetal allograft in successful pregnancy. Clin Mol Allergy. 2015;13:9. doi: 10.1186/s12948-015-0015-y.
3. *Litvinova L.S., Gutsol A.A., Sokhonevich N.A. et al.* Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes. Medical Immunology. 2014;16(1): 7-26. DOI:10.15789/1563-0625-2014-1-7-26.
4. *Jonuleit H., Schmitt E., Stassen M. [et al.]* Identification and functional characterization of human CD4+CD25+ T cell with regulatory properties isolated from peripheral blood. J. Exp. Med. 2001;193:1285-1294. DOI: 10.1084/jem.193.11.1285.
5. *Gaffen S.L.* Signaling domains of the interleukin-2 receptor. Cytokine. 2001;14(2):63-77. doi: 10.1006/cyto.2001.0862.
6. *Machteld M., Jagger Ann L., Evans Hayley G., van Herwijnen Martijn J. C. et al.* CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/ macrophages. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008;104(49):19446-51. DOI: 10.1073/pnas.0706832104.
7. *Levings M.K., Sangregorio R., Roncardo M.G.* Human CD25+CD4+ T regulatory cells suppress naпve and memory T-cell proliferation and can be expanded in vitro without loss of function. J. Exp. Med. 2001;193: 1295-1301. DOI: 10.1084/jem.193.11.1295.
8. *Baecher-Allan C., Brown J.A., Freeman G.J., Hafler D.A.* D4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. J. Immunol. 2001;167(3):1245-1253. DOI: 10.4049/jimmunol.167.3.1245.
9. *Saraiva Margarida, Vieira Paulo, O'Garra Anne.* Biology and therapeutic potential of interleukin-10. J Exp Med. 2020;217(1). doi. org/10.1084/jem.20190418.
10. *Grossman W.J., Verbsky J.W., Barchet W., Colonna M., Atkinson J.P., Ley T.J.* Human T-regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death. Immunity. 2004;21(4):589-601. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.09.002.
11. *Chatila T.A.* Role of regulatory T cells in human diseases. J. Allergy Clin. Immunol. 2005;116(5):949-959. DOI: 10.1016/j. jaci.2005.08.047.
12. *Yu M.C., Su L.L., Zou L., Liu Y., Wu N., Kong L. (et al.)* An essential function for beta-arrestin 2 in the inhibitory signaling of natural killer cells. Nat Immunol. 2008;9(8):898—907. DOI:10.1038/ni.1635.
13. *Wang Wenjuan, Sung Nayoung, Gilman-Sachs Alice and Kwak-Kim Joanne.* T Helper (Th) Cell Profiles in Pregnancy and Recurrent Pregnancy Losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/ Tfh Cells. Front. Immunol. 2020;11:2025. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02025.
14. *Salvany-Celades Maria, Van der Zwan Anita, Benner Marilen, Setrajcic-Dragos Vita, Ananda Bougleux Gomes Hannah.* Three types of functional regulatory T cells control T cell responses at the human maternal-fetal interface. Cell Reports. 2019;27:2537–2547. https://doi. org/10.1016/j.celrep.2019.04.109.
15. *Morozov S.A.* Balance of CD4+IFNγγ+ and CD4+CD25hiT-cells as early predictor of a 3-month outcome in ischemic stroke patients. Medical Immunology. 2020;22(4):675-684. https://doi.org/10.15789/1563-0625-BOC-1993.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЛИВОСТІ Т-ЛІМФОЦИТІВ ТА ЇХ СУБПОПУЛЯЦІЙ В І-ІІ ТРИМЕСТРАХ ВАГІТНОСТІ У ЖІНОК З ПРОБЛЕМАМИ БЕЗПЛІДНОСТІ В МИНУЛОМУ

Туманова Л.Є.[1], Коломієць О.В.[1], Дріянська В.Є.[2,3], Ромащенко О.В.[3], Рябенко О.П.[4], Молчанова О.О.[4]

[1]ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук’янової НАМН України», м. Київ;
[2]ДУ «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ;
[3]ДУ «Інститут урології ім. акад. О.Ф.Возіанова НАМН України», м. Київ;
[4]Репродуктивна клініка «Надія», м. Київ

Вступ. Покращення стану народжуваності в Україні є актуальною медико-соціальною задачею, що спонукає до сучасних досліджень імунних механізмів перебігу вагітності, особливо важливих для жінок з безплідністю в анамнезі.

Мета роботи – визначення динаміки відносної кількості Т-лімфоцитів (Т-л) та субпопуляцій Т-х/і і Т-с/ц з різними кластерами диференціювання (CD) на різних термінах вагітності у жінок з безплідністю в минулому.

Матеріали і методи. За допомогою клітинного цитофлуориметра і відповідних тест-систем визначали відносні рівні імунокомпетентних клітин (кл) крові – CD3+, CD4+, CD8+, CD56+-л з експресією маркерів активації HLA-DR і CD25 або тих, що мають інгібіторні властивості – CD158a у 436 невагітних (референтна група – н) та 514 вагітних жінок (ж) із неплідністю в анамнезі на першому та другому триместрах вагітності. Аналізували особливості показників у вагітних на різних строках в групах: 1 – 4-7 (140 ж), 2 – 8-9 (163 ж), 3 – 10-12 (133 ж), 4 – 13-18 (63 ж), 5 гр – 19-28 (15 ж) тижнів (тиж) порівняно з групою н та між собою.

Результати та їх обговорення. Перші тижні вагітності у жінок із безплідністю в анамнезі характеризуються як високим відносним рівнем в крові Т-л та субпопуляцій Т-х/і і Тс/ц, так і їх активацією за даними експресії DR-аг і CD25 (для CD4+-л). Ці показники з 19 тиж вагітності достовірно знижувались і не відрізнялись від невагітних, а % CD3+4+25+-л були нижче референтної групи. Така сама динаміка і у Тс/ц з маркерами натуральних кілерів – CD3+8+56+-кл, відносна кількість яких після 19 тиж вагітності достовірно знижується порівняно з попереднім періодом і відповідає нормі.

Відносна кількість середніх показників Т-л, Т-х/і та Т-с/ц за числом клітин з експресією CD158a+ не відрізнялась від норми на всіх термінах вагітності, хоча середній показник CD3+8+158a+-л в період після 19 тиж мав тенденцію до підвищення. Виявлено зворотній кореляційний зв’язок числа субпопуляцій Т-л з маркерами інгібіторних властивостей (CD158a) та активації (CD25, HLA-DR) саме на цих (> 19 тиж) термінах вагітності, що є задовільним станом імунної системи для перебігу вагітності.

Висновок. Дослідження відносних рівнів Т-л, Т-х/і та Т-с/ц в крові, маркерів їх активації та інгібіції на різних термінах вагітності виявили особливості динаміки з достовірними кореляційними зв’язками показників після 19-20 тижнів, що свідчить про доцільність визначення предикторів перебігу для персоніфікованого нагляду.

Ключові слова: Т-хелпери, Т-цитотоксичні, маркери активації лімфоцитів, вагітні, безплідність в анамнезі.

SUMMARY

CHARACTERISTICS OF T-LYMPHOCYTES AND THEIR SUBPOPULATIONS IN THE I-II TRIMESTES OF PREGNANCY IN WOMEN WITH PROBLEMS INFERTILITY IN THE PAST

Tumanova L.[1], Kolomiets O.[1], Driyanska V.[2,3], Romaschenko O.[3], Ryabenko O.[4], Molchanova O.[4]

[1]SU «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O.M. Lukyanova, National Academy of Sciences of Ukraine», Kyiv;
[2]SU «Institute of Nephrology of National Academy of Sciences of Ukraine», Kyiv;
[3]SU «Institute of Urology named after Acad. O.F. Vozianov of National Academy of Sciences of Ukraine», Kyiv;
[4]Reproductive Clinic «Nadia», Kyiv

Introduction. Improving the state of fertility in Ukraine is an urgent medical and social task, which prompts modern studies of immune mechanisms during pregnancy, which are especially important for women with a history of infertility.

The purpose of the study was to determine the dynamics of the relative number of T-lymphocytes (l) and subpopulations T-h/i, T-s/c with different clusters of differentiation (CD) at different stages of pregnancy in women with a history of infertility.

Materials and methods. Using a cellular cytofluorimeter and the corresponding test systems, the relative levels of immunocompetent blood cells (cl) – CD3+, CD4+, CD8+, CD56+-l with the expression of HLA-DR and CD25 activation markers or those with inhibitory properties – CD158a were determined in 436 non-pregnant women (reference group – n) and 514 pregnant women (w) with a history of infertility in the first and second trimesters of pregnancy. We analyzed the characteristics of indicators in pregnant women at different periods in groups: 1 – 4-7 (140 w), 2 – 8-9 (163 w), 3 – 10-12 (133 w), 4 – 13-18 (63 w), 5 g – 19-28 (15 w) weeks compared to group n and among themselves.

The results and their discussion. The first weeks of pregnancy in women with a history of infertility are characterized by a high relative level in the blood of T-l and subpopulations of T-h/i and Ts/c, as well as their activation according to the expression data of DR and CD25 (for CD4+-l). These indicators significantly decreased from 19 weeks of pregnancy and did not differ from non-pregnant women, and % CD3+4+25+-l were below the reference group. The same dynamics is inherent in Ts/c with markers of natural killers – CD3+8+56+-cl, the relative number of which after 19 weeks of pregnancy significantly decreases compared to the previous period and corresponds to the norm.

The relative number of average indicators of T-l, T-h/i and T-s/c according to the number of cells with CD158a+ expression did not differ from the norm at

all stages of pregnancy, although the average indicator of CD3+8+158a+-I in the period after 19 weeks had upward trend. An inverse correlation of the number of T-1 subpopulations with markers of inhibitory properties (CD158a) and activation (CD25, HLA-DR) was revealed at these (> 19 weeks) pregnancy periods, which is a satisfactory state of the immune system for the course of pregnancy.

Conclusion. The study of the relative levels of T-I, T-h/i and T-s/c in blood, markers of their activation and inhibition at different stages of pregnancy revealed peculiarities of dynamics with reliable correlations of indicators after 19-20 weeks, which indicates the feasibility of determining of course predictors for personalized supervision.

Key words: T-helpers, T-cytotoxic cells, markers of lymphocyte activation, pregnant women, history of infertility.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

- **Туманова Лариса Євгеніївна**

  докторка медичних наук, професорка,
  завідувачка відділенням профілактики та лікування гнійно-запальних захворювань в акушерстві, ДУ « Інститут педіатрії, акушерства і гінекології ім. акад. О.М. Лук’янової НАМН України»
  Адреса: Київ-50, вул. П. Майбороди, 8
  Тел.: 067-209-22-44
  E-mail: laritu@ukr.net

- **Коломієць Олена Володимирівна**

  кандидатка медичних наук,
  старша наукова співробітниця відділення профілактики та лікування гнійно-запальних захворювань в акушерстві, ДУ « Інститут педіатрії, акушерства і гінекології ім. акад. О.М. Лук’янової НАМН України»
  Адреса: Київ-50, вул. Пл. Майбороди, 8
  Тел.: 067-776-82-42
  E-mail: doct_helen@ukr.net

- **Дріянська Вікторія Євгенівна**

  докторка медичних наук, професорка, заст. директора, зав. лабораторії імунології ДУ «Інститут нефрології НАМН» України»; гол.н.с. ДУ «Інститут урології НАМН України»
  Адреса: Київ-50, вул. Дегтярівська 17-В
  Тел.: 0675069622
  E-mail: victoriadriyanska@gmail.com

- **Ромащенко Оксана Василівна**

  докторка медичних наук, професорка, гол.н.с. ДУ «Інститут урології ім.. акад.. О.Ф.Возіанова НАМН України»
  Адреса: Київ-53, вул. В.Винниченка 9а
  Тел.: 044 486 9984
  E-mail: zakon@i.ua

- **Рябенко Олена Павлівна**

  кандидатка медичних наук, завідувачка жіночої консультації репродуктивної клініки «Надія».
  Адреса: Київ, вул. Максима Кривоноса, 19а
  Тел.: 0675224209
  E-mail: info@ivf.com.ua

- **Молчанова Олена Олександрівна**

  кандидатка медичних наук, лікарка жіночої консультації репродуктивної клініки «Надія».
  Адреса: Київ, вул. Максима Кривоноса, 19а
  Тел.: 067 783 45 57,
  E-mail: solnce.o@bigmir.net

- **Tumanova Larysa**

  Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the department of prevention and treatment of pus-inflammatory diseases in obstetrics, SI “Institute of pediatrics, obstetrics and gynecology named after academician O.M. Lukyanova of NAMS of Ukraine”
  Address: str. P. Majborody, 8, Kyiv
  Tel.: 067-209-22-44
  E-mail: laritu@ukr.net

- **Kolomiiets Olena**

  MD, PhD, Senior Researcher, Department of prevention and treatment of pus-inflammatory diseases in obstetrics, SI “Institute of pediatrics, obstetrics and gynecology named after academician O.M. Lukyanova of NAMS of Ukraine”, Kyiv.
  Address: str. P. Majborody, 8, Kyiv
  Tel.: 067-776-82-42
  E-mail: doct_helen@ukr.net

- **Driianska Victoria**

  Doctor of Medical Sciences, Professor, Head’s assistant, chief laboratories of immunology SI “Institute of Nephrology of NAMS of Ukraine”
  Address: str. Degtyarivska 17 B, Kyiv
  Tel.: 0675069622
  E-mail: victoriadriyanska@gmail.com

- **Romaschenko Oksana**

  Doctor of Medical Sciences, Professor,
  SI “Institute of Urology named after Acad. O.F. Vozianov of NAMS of Ukraine”
  Address: str. Vinnichenka 9a, Kyiv
  Tel.: 044 486 9984
  E-mail: zakon@i.ua

- **Riabenko Olena**

  MD, PhD, Head of the Female Consultation of the Reproductive Clinic “Nadia”, Kyiv.
  Address: 19a M. Kryvonosa str., Kyiv
  Tel.: 0675224209
  E-mail: o.ryabenko@ivf.com.ua

- **Molchanova Olena**

  MD, PhD, doctor of the Female Consultation of the Reproductive Clinic “Nadia”
  Address: 19a M. Kryvonos str., Kyiv
  Tel.: 067 783 45 57,
  E-mail: solnce.o@bigmir.net

Стаття надійшла до редакції 21.03.2023 р.