

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Панова И.А., Кудряшова А.В., Панащатенко А.С., Рокотянская Е.А., Малышкина А.И., Парейшвили В.В., Харламова Н.В.

ХАРАКТЕР ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В-ЛИМФОЦИТОВ У ЖЕНЩИН С ГИПЕРТЕНЗИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава РФ, 153045. Иваново, Россия

Целью работы было выявить особенности дифференцировки В-лимфоцитов у женщин с гипертензивными расстройствами различного генеза, установить их взаимосвязь с показателями эластических свойств сосудистой стенки и разработать дополнительные диагностические критерии степени тяжести преэклампсии. Обследованы 193 женщины в сроке 24–40 недель беременности. Из них 39 женщин с хронической артериальной гипертензией, 35 женщин с преэклампсией, развившейся на фоне хронической артериальной гипертензии, 55 – с преэклампсией. Группа контроля – 64 женщины без гипертензивных расстройств. Для оценки эластических свойств сосудистой стенки использовалась сфигмографическая приставка аппаратно-программного комплекса «Поли-Спектр-8» («Нейрософт» Иваново). Относительное содержание В-лимфоцитов (CD19+ и CD20+), регуляторных В-клеток (CD20+IL-10+), «переключенных» (CD19+CD27+IgD-) и «непереключенных» (CD19+CD27+IgD+) клеток памяти, плазматических клеток (CD19+CD20-CD38+) в общей популяции В-лимфоцитов оценивали методом проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлуориметре FACSCantoII в программе FACS Diva. Статистический анализ осуществлялся в программах «Statistica for Windows 6.0», «Microsoft Excel 2010» и «MedCalc». У всех обследуемых с гипертензивными расстройствами было выявлено повышение жесткости артерий мышечного и эластического типов, наиболее выраженное в группах пациенток с ПЭ, максимально – у женщин с ХАГ и присоединившейся ПЭ. Повышенный уровень В1-лимфоцитов в периферической крови так же отмечен при всех гипертензивных расстройствах. Выявлены положительные корреляционные связи высокой силы между: уровнем CD20+ клеток и скоростью распространения пульсовой волны по артериям мышечного типа (СРПВм) во всех группах с гипертензивными расстройствами; содержанием В1-клеток и СРПВм при умеренной преэклампсии; уровнем В-клеток памяти и СРПВ по артериям эластического типа у женщин с ХАГ и присоединившейся ПЭ. Проведенный ROC-анализ относительного содержания В1-клеток в общей популяции В-лимфоцитов и содержания IL-10- продуцирующих клеток в популяции CD20+ лимфоцитов (Breg) у женщин с умеренной и тяжелой ПЭ выявил критерии дифференциальной диагностики преэклампсии различной степени тяжести. Наличие гипертензивных расстройств различного генеза сопровождается снижением эластичности артериальной стенки сосудов, наиболее выраженным у пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ. Эти изменения в значительной степени коррелируют с уровнем В-клеток. В качестве дополнительных критериев для определения степени тяжести ПЭ может быть использовано относительное содержание В1-клеток и IL-10- продуцирующих клеток в популяции Breg CD20+ лимфоцитов.

Ключевые слова: преэклампсия; хроническая артериальная гипертензия; гипертензивные расстройства; беременность; В-лимфоциты; скорость распространения пульсовой волны.

Для цитирования: Панова И.А., Кудряшова А.В., Панащатенко А.С., Рокотянская Е.А., Малышкина А.И., Парейшвили В.В., Харламова Н.В. Характер дифференцировки В-лимфоцитов у женщин с гипертензивными расстройствами при беременности. Клиническая лабораторная диагностика. 2021; 66 (8): 489-495. DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-8-489-495>
Panova I.A., Kudryashova A.V., Panashchatenko A.S., Rokotyanskaya E.A., Malysheva A.I., Parejshvili V.V., Harlamova N.V.

CHARACTER OF B-LYMPHOCYTES DIFFERENTIATION IN WOMEN WITH HYPERTENSIVE DISORDERS DURING PREGNANCY

«Ivanovo Scientific Research Institute of Maternity and Childhood by V.N. Gorodkov» of the Russian Ministry of health, Ivanovo, Russia

The aim of the work was to identify the features of B-lymphocyte differentiation in women with hypertensive disorders of various origins, to establish their relationship with indicators of the elastic properties of the vascular wall, and to develop additional diagnostic criteria for the severity of preeclampsia. We examined 193 women at 24–40 weeks of gestation. Of these, 39 women with chronic arterial hypertension, 35 women with preeclampsia that developed against the background of chronic arterial hypertension, 55 with preeclampsia. The control group consisted of 64 women without hypertensive disorders. To assess the elastic properties of the vascular wall, a sphygmographic attachment of the “Poly-Spectrum-8” hardware-software complex (“Neurosoft” Ivanovo) was used. The relative content of B-lymphocytes (CD19 + and CD20 +), regulatory B-cells (CD20 + IL-10 +), switched (CD19 + CD27 + IgD-) and non-switched (CD19 + CD27 + IgD +) memory cells, plasma cells (CD19 + CD20-CD38 +) in the general population of B-lymphocytes was assessed by flow cytometry on a FACSCantoII flow cytometer using the FACS Diva program. Statistical analysis was carried out using the programs “Statistica for Windows 6.0”, “Microsoft Excel 2010” and “MedCals”. All subjects with hypertensive disorders showed an increase in the stiffness of the arteries of the muscular and elastic types, the most pronounced in the groups of patients with PE, the maximum in women with CAH and associated PE. An increased level of B1-lymphocytes in the peripheral blood is also noted in all hypertensive disorders. There were revealed positive correlations of high strength between: the level of CD20 + cells and the velocity of pulse wave propagation through the arteries of the muscular type (PWVm) in all groups with hypertensive disorders; the content of B1 cells and PWVm in moderate preeclampsia; level emory B-cells and PWV in elastic-type arteries in women with CAH and associated PE. The ROC analysis of the relative content of B1 cells in the general population of B lymphocytes and the content of IL-10-producing cells in the population of CD20 + lymphocytes (Breg) in women with moderate and severe PE revealed criteria for the differential diagnosis of preeclampsia of varying severity.

Для корреспонденции: Панащатенко Анна Сергеевна, аспирант каф. акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии; e-mail: an.zinchencko2017@yandex.ru

The presence of hypertensive disorders of various origins is accompanied by a decrease in the elasticity of the arterial vascular wall, which is most pronounced in patients with CAH and associated PE. These changes are largely correlated with the level of B cells. As additional criteria for determining the severity of PE, the relative content of B1 cells and IL-10-producing cells in the population of Breg CD20 + lymphocytes can be used.

Key words: *preeclampsia; chronic arterial hypertension; hypertensive disorders; pregnancy; B-lymphocytes; pulse wave velocity.*

For citation: Panova I.A., Kudryashova A.V., Panashchatenko A.S., Rokotyanskaya E.A., Malyshkina A.I., Parejshvili V.V., Harlamova N.V. The nature of differentiation of β -lymphocytes in women with hypertensive disorders during pregnancy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (8): 489-495 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-8-489-495>

Information about authors:

Panova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-0828-6547>;
Kudryashova A.V., <https://orcid.org/0000-0002-8501-1029>;
Panashchatenko A.S., <https://orcid.org/0000-0002-9175-5016>;
Rokotyanskaya E.A., <https://orcid.org/0000-0003-4660-7249>;
Malyshkina A.I., <https://orcid.org/0000-0002-1145-0563>;
Parejshvili V.V., <https://orcid.org/0000-0002-1497-1006>;
Harlamova N.V., <http://orcid.org/0000-0003-2867-1693>.

For correspondence: *Panaschatenko An. S.*, postgraduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Reanimatology; e-mail: an.zinchenko2017@yandex.ru

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare no conflict of interests.*

Received 12.03.2021
Accepted 14.05.2021

Введение. Проблема гипертензивных расстройств у беременных женщин пристально изучается на протяжении нескольких десятилетий, но, по-прежнему, остается важной для научного сообщества. В современной международной классификации болезней 10-го пересмотра нозологические формы данной патологии представлены хронической/существовавшей ранее артериальной гипертензией, хронической артериальной гипертензией с присоединившейся преэклампсией, гестационной артериальной гипертензией, преэклампсией, эклампсией [1]. Развитие данных осложнений беременности — следствие комплекса патогенетических факторов, среди которых одним из основных является неадекватный ответ иммунной системы матери на наступление и развитие беременности [2]. По данным литературы известно, что у женщин с ПЭ проявляются признаки, сходные с различными хроническими воспалительными заболеваниями, такие как повышение количества воспалительных цитокинов, циркулирующих иммунных комплексов, а также наличие в крови матери аутоантител [3, 4]. Было показано, что большую часть патофизиологических реакций, связанных с ПЭ, могут определять аутоантитела к рецептору 1 типа ангиотензина II (AT1-AA), антитела к фосфолипидам (АФА), к эндотелию (АЭАт), анти-GalNAc- β антитела, антигликановые антитела (АгАт) и т.д. [5–7]. Все это наглядно показывает значимость реакций В-лимфоцитов в развитии данного осложнения беременности. Как известно, одним из проявлений поражения органов-мишеней при АГ является гипертензивное ремоделирование сосудов, заключающееся в изменении структуры и свойств сосудистой стенки [8]. Некоторые ученые акцентируют внимание на патогенетической роли в повышении жесткости артериального русла у пациентов при АГ субклинического воспаления, дисфункции эндотелия [9]. Результатом этих преобразований является снижение растяжимости и сужения просвета сосудов артериального русла. Степень поражения сосудов отражается в увеличении скорости распространения пульсовой волны (СРПВ) и модуля

упругости сосудистой стенки [10]. Работы по определению взаимосвязи показателей эластичности сосудистой стенки и дифференцировки В-клеток у беременных с гипертензивными расстройствами практически отсутствуют. Поэтому целью нашего исследования было выявить особенности дифференцировки В-лимфоцитов у беременных с гипертензивными расстройствами различного генеза, определить их взаимосвязь с показателями эластических свойств сосудистой стенки и разработать дополнительные диагностические критерии степени тяжести преэклампсии.

Материал и методы. На базе ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России были обследованы 193 беременных женщины. Из них 129 пациенток с гипертензивными расстройствами: с хронической артериальной гипертензией (ХАГ) – 39 женщин, с преэклампсией (ПЭ) – 55 (из них с умеренной ПЭ (уПЭ) – 30, с ПЭ тяжелой степени (тПЭ) – 25 пациенток), с ХАГ и присоединившейся ПЭ (ХАГ+ПЭ) – 35 беременных. Группу контроля, составили женщины без гипертензивных расстройств – 64 пациентки. Все женщины, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие. Методом проточной цитофлуориметрии в общей популяции лимфоцитов оценивали относительное содержание В-лимфоцитов (CD19+ и CD20+), в популяции CD20+ лимфоцитов В1 (CD5+), В2 (CD5-) клеток, IL-10+ В-клеток, в популяции CD19+ В-лимфоцитов – В-клеток памяти (CD19+CD27+IgD \pm), переклоченных (CD19+CD27+IgD-) и непереключенных (CD19+CD27+IgD+) клеток памяти, плазмочитов (CD19+CD20-CD38+). В работе использовали моноклональные антитела: анти-CD19 APC, анти-CD20 FITC, анти-CD38 PE, анти-CD27 PE, анти-IgD FITC (Beckman Coulter, Франция); анти-CD5 PE, анти-CD20 FITC, анти-IL-10 PE производства (eBioscience, США). Процедуру внутриклеточного окрашивания IL-10 проводили в соответствии с инструкцией производителя набора IntraPrep Permeabilization Reagent (Beckman Coulter,

Франция). Исследования проводились на проточном цитофлуориметре FACSCantoII в программе FACS Diva (Becton Dickinson and Company, США). При поступлении в стационар для определения скорости распространения пульсовой волны по артериям мышечного и эластического типов также выполнялось обследование на сфигмографической приставке аппаратно-программного комплекса «Поли-Спектр-8» («Нейрософт», Россия).

Статистический анализ данных. Статистическая обработка полученных результатов проводилась в пакете лицензионных программ: MicrosoftOffice 2010, Statistica for Windows 13.0. Описание величин производилось в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей (Me (Q25%–Q75%)). Проверка данных на нормальность распределения выполнялась при помощи критериев Колмогорова и Шапиро-Уилка. По непараметрическому критерию U (Манна–Уитни) производилась оценка достоверности различий между показателями. Оценка прогностической и диагностической значимости выполнялась при помощи ROC-анализ. Его количественная интерпретация оценивалась по значению AUC (area under ROC-curve), чувствительности и специфичности. Для обнаружения корреляционной связи между признаками определяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена для непараметрических данных.

Результаты. Одним из механизмов формирования АГ является дисбаланс вазоконстрикторных и вазомоторных механизмов, направленных на поддержание сосудистого тонуса, который определяется снижением эластичности стенки артерий и проявляется увеличением скорости распространения пульсовой волны и модуля упругости [11]. По нашим данным было выявлено статистически значимое повышение средних значений скорости распространения пульсовой волны по артериям мышечного (СРПВм) и эластического типов (СРПВэ) во всех группах пациенток с гипертензивными расстройствами относительно значений контрольной группы (табл. 1).

Максимальные значения данных показателей были зафиксированы в группе с ХАГ с присоединением ПЭ, что возможно указывает на дополнительную вазоконстрикцию при преэклампсии. При этом у женщин с ПЭ значения СРПВ по артериям мышечного типа были статистически значимо выше по сравнению с группой с ХАГ ($p=0,008$), а по артериям эластического типа – ниже по сравнению с группой с ХАГ и присоединившейся ПЭ ($p=0,005$). Данный факт может свидетельствовать

о том, что в случаях развития ПЭ (остро возникающем состоянии), выраженных изменений, специфичных для длительно патологического процесса на состояние сосудистой стенки (в группе с ХАГ) не выявлено.

Анализ результатов иммунологического обследования позволил выявить как общие изменения в характеристиках популяции В-лимфоцитов у беременных с гипертензивными расстройствами, так и некоторые изменения, присущие определенной нозологии (табл. 2).

Молекулы CD19 и CD20 по-разному экспрессируются на этапах дифференцировки В-клеток. Молекулы CD19 экспрессируются, начиная со стадии дифференцировки предшественников В-клеток, и сохраняются на всех последующих стадиях, в том числе и на В-клетках памяти и плазматических клетках, в то время как CD20 перестает экспрессироваться на плазмобластах и плазматических клетках [12,13]. В связи с этим мы оценивали уровень В-клеток по экспрессии молекул CD19 и CD20, а В-клетки памяти и плазматические клетки мы оценивали в популяции CD19+ В-лимфоцитов. В своем исследовании CD20+CD5+ В1 клеток мы ориентировались на результаты работы D.O. Griffin и соавт. [14]. Эти авторы показали, что в крови взрослого человека В1-клетки не существуют в популяции CD19+CD20- В-клеток. Уровень IL-10+ клеток исследовали в популяции CD20+ лимфоцитов L.S. Varon и соавт. [15].

По нашим данным в исследуемых группах отсутствовали достоверные различия в относительном содержании CD19+ и CD20+ клеток ($p>0,05$ во всех случаях), но достоверно увеличивалась доля В1-клеток и снижалось содержание В2-клеток в общей популяции В-лимфоцитов ($p<0,05$ во всех случаях).

У обследуемых с ХАГ, в том числе и с присоединившейся ПЭ, отмечалось достоверное повышение относительного содержания плазматических клеток по сравнению с группой контроля ($p<0,05$ во всех случаях).

В популяции CD19+ В-лимфоцитов было выявлено повышение относительного содержания В-клеток памяти (CD27-IgD±) достоверное в группах с ХАГ, с ПЭ, как с умеренной, так и с тяжелой ($p<0,05$ во всех случаях) и на уровне выраженной тенденции в группе ХАГ+ПЭ ($p=0,075$) по сравнению с группой контроля. Уровень «непереклоченных» В-клеток памяти (CD19+CD27+IgD+) во всех группах женщин с гипертензивными расстройствами соответствовал таковому в контрольной группе. Содержание «переклоченных» В-клеток памяти (CD19+CD27+IgD-) было достоверно выше в группах с

Таблица 1

Скорость распространения пульсовой волны по артериям мышечного и эластического типов у женщин с гипертензивными расстройствами различного генеза

Показатель	Группы обследованных женщин					
	Контроль, n=64	ХАГ, n=39	ХАГ с ПЭ, n=21	ПЭ, n=54	уПЭ, n=29	тПЭ, n=25
СРПВм (м/с)	6,81(6,36-7,24)	7,74(7,29-7,92) $p_1=0,00$	7,88(7,84-7,95) $p_1=0,00$	7,89(7,74-8,05) $p_1=0,00$ $p_2=0,008$	7,78(7,69-7,92) $p_1=0,000$	8,02(7,89-8,17) $p_1=0,000$ $p_4=0,004$
СРПВэ (м/с)	6,15(6,04-6,2)	7,26(6,88-7,76) $p_1=0,00$	7,51(7,32-7,77) $p_1=0,00$ $p_3=0,005$	7,03(6,72-7,48) $p_1=0,00$	6,84(6,62-7,38) $p_1=0,000$	7,05(6,88-7,66) $p_1=0,000$

Примечание. Значения величин представлены в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей (Me(Q_{25%}–Q_{75%})); p_1 - статистически значимая разница значений с контрольной группой, p_2 - статистически значимая разница значений с ХАГ, p_3 - статистически значимая разница значений с ПЭ, p_4 - статистически значимая разница значений с уПЭ. n - число больных.

Относительное содержание популяций В-лимфоцитов, плазматических клеток, В-клеток памяти и регуляторных В-клеток у пациенток с гипертензивными расстройствами при беременности различного генеза

Показатели, %	Контроль, n=53	ХАГ, n=39	ХАГ+ПЭ, n=35	ПЭ, n=53	уПЭ, n=30	тПЭ, n=23
CD19+ в популяции лимфоцитов	4,7(3,5-6,6)	5,2(3,8-8,8)	4,3(2,4-6,9)	4,2(3,1-7,3)	4,0(3,1-6,8)	4,3(3,1-7,6)
CD20+ в популяции лимфоцитов	4,9(3,3-7,0)	5,5(4,3-8,0)	4,2(2,4-7,4)	4,8(3,3-7,1)	4,8(3,4-7,0)	4,8(2,3-7,3)
CD5+ В1-клетки в популяции CD20+ лимфоцитов	10,6(8,8-13,1)	16,1(10,2-21,9), $p_1=0,001$	21,1(14,8-22,9), $p_1=0,00$	15,7(11,3-22,6), $p_1=0,00$	21,0(13,7-26,0), $p_1=0,00$, $p_2=0,089$	14,0(9,4-18,0), $p_1=0,049$, $p_3=0,014$
CD5- В2-клетки в популяции CD20+ лимфоцитов	89,4(86,8-91,2)	83,9(77,7-89,8), $p_1=0,001$	78,9(77,0-85,2), $p_1=0,00$	84,3(77,4-88,6), $p_1=0,00$	79,0(74,0-86,3), $p_1=0,00$	86,3(82,0-90,6), $p_3=0,014$
CD20-CD38+ плазматические клетки в популяции CD19+ лимфоцитов	1,2(0,4-2,8)	2,4(1,0-5,9), $p_1=0,013$	2,7(1,7-7,6), $p_1=0,004$	3,6(1,6-8,6), $p_1=0,000$	4,2(1,9-8,4), $p_1=0,00$	3,1(1,4-7,2), $p_1=0,010$
CD27+IgD± клетки памяти в популяции CD19+ лимфоцитов	25,8(20,2-32,2)	41,5(26,8-46,2), $p_1=0,001$	36,9(18,9-44,8), $p_1=0,005$	35,5(25,4-40,4), $p_1=0,005$	35,5(24,7-39,0), $p_1=0,050$	35,6(27,6-46,1), $p_1=0,011$
CD27+IgD+ «непереключенные» клетки памяти в популяции CD19+ лимфоцитов	10,9(9,2-14,9)	12,7(10,6-17,0)	13,1(4,0-16,3)	13,1(10,2-23,3)	13,1(11,4-19,7)	19,2(8,5-33,6)
CD27+IgD- «переключенные» клетки памяти в популяции CD19+ лимфоцитов	12,6(7,0-18,0)	17,5(16,1-31,6), $p_1=0,009$	22,0(15,6-27,9), $p_1=0,014$	18,9(14,7-22,3), $p_1=0,018$	19,0(18,7-22,3), $p_1=0,009$	14,2(9,5-19,7)
IL-10+ Breg в популяции CD20+ лимфоцитов	20,2(12,2-24,3)	14,3(9,8-18,1), $p_1=0,034$	19(13,3-24,0)	17,7(12,4-22,2), $p_1=0,029$	18,8(17,1-23,0), $p_2=0,017$	11,0(8,3-19,4), $p_1=0,034$, $p_3=0,034$

Примечание. Значения величин представлены в виде медианы с указанием 25-го и 75-го перцентилей ($Me(Q_{25\%}-Q_{75\%})$); p_1 – уровень значимости различий при сравнении с контролем; p_2 – уровень значимости различий при сравнении с ХАГ; p_3 – уровень значимости различий при сравнении с уПЭ.

ХАГ, ПЭ (за счет группы с уПЭ), а так же у обследуемых с ХАГ и присоединившейся ПЭ ($p < 0,05$ во всех случаях).

Исследование уровня CD20+IL-10+ клеток, составляющих наибольшую часть регуляторных В-лимфоцитов (Breg), выявило достоверное уменьшение этой популяции у пациенток с ХАГ и с ПЭ (за счет пациенток с тПЭ) по сравнению с пациентками без гипертензивных расстройств ($p < 0,05$ во всех случаях).

Более пристальное внимание было уделено группе пациенток с преэклампсией различной степени тяжести. У пациенток с тяжелой ПЭ выявлено статистически значимое снижение содержания В1 CD5+ ($p=0,014$) и уровня Breg ($p=0,034$) по сравнению с пациентками с умеренной ПЭ.

Проведенный ROC-анализ показателя относительного содержания В1-клеток в общей популяции В-лимфоцитов у женщин с умеренной и тяжелой ПЭ, установил пороговое значение данного показателя – 18,3%. При значении показателя В1 > 18,3% диагностируется уПЭ, при значении В1 ≤ 18,3% – тПЭ (показатель чувствительности – 78,3%, показатель специфичности – 60,0% и площадь под кривой 0,705 (AUC = 0,705)) (рис. 1).

При проведении ROC-анализа содержания IL-10- продуцирующих клеток в популяции CD20+ лимфоцитов (Breg) у женщин с умеренной и тяжелой преэклампсией, было установлено пороговое значение для данного показателя – 13,1%. При уровне IL-10- продуцирующих клеток в популяции CD20+ лимфоцитов (Breg) более 13,1% диагностировали уПЭ; при значениях менее или равном 13,1% – тяжелую ПЭ (рис. 2).

Показатель чувствительности составил 70,0%, специфичности 100,0% и площадь под кривой 0,762 (AUC = 0,762).

Полученные результаты относительного содержания В1-клеток и IL-10- продуцирующих клеток в популяции CD20+ лимфоцитов (Breg) могут служить критериями дифференциальной диагностики степени тяжести ПЭ.

Проведенный корреляционный анализ между показателями СРПВ и содержанием В-лимфоцитов в группе пациенток с гипертензивными расстройствами показал положительную прямую корреляционную связь высокой силы между значениями, отражающим эластичность артерий мышечного типа, СРПВм и уровнем CD20+ клеток ($r = 0,893$, $p = 0,000$). В группе женщин с уПЭ существовала прямая корреляционная связь высокой силы между содержанием В1-клеток и СРПВм ($r = 0,882$, $p = 0,00$). Кроме того установлена прямая корреляционная связь высокой силы между уровнем В-клеток памяти и СРПВэ, показателем отражающим изменение жесткость сосудистой стенки артериального русла, у пациенток с ХАГ и присоединившейся ПЭ ($r = 0,811$, $p = 0,000$).

Обсуждение. В настоящее время в работах, посвященных патогенетическим основам гипертензивных расстройств, большое внимание уделяют реакциям клеток врожденного иммунитета и различных популяций Т-лимфоцитов [16, 17]. При этом значение популяции В-лимфоцитов в развитии хронической артериальной гипертензии и гипертензивных осложнений при беременности изучено в меньшей степени и в основном рассматривает продукцию аутоантител [4–6, 18, 19].

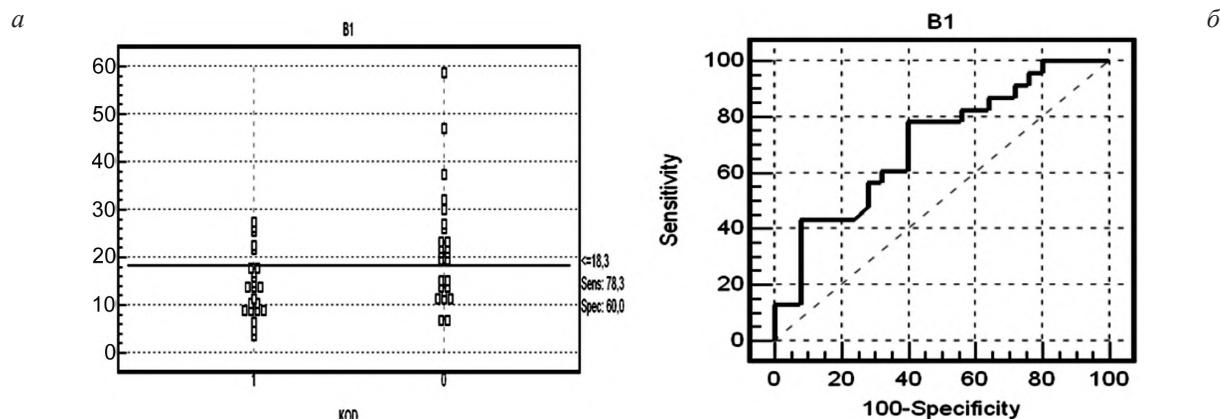


Рис. 1. ROC-анализ показателя относительного содержания В1-клеток при ПЭ. *a* – показатель относительного содержания В1-клеток; *б* – относительный показатель В1-клеток в периферической венозной крови у женщин с умеренной ПЭ (0) и тяжелой ПЭ (1). Здесь и на рис.2: по оси абсцисс – ROC-кривая специфичности, по оси ординат – чувствительности.

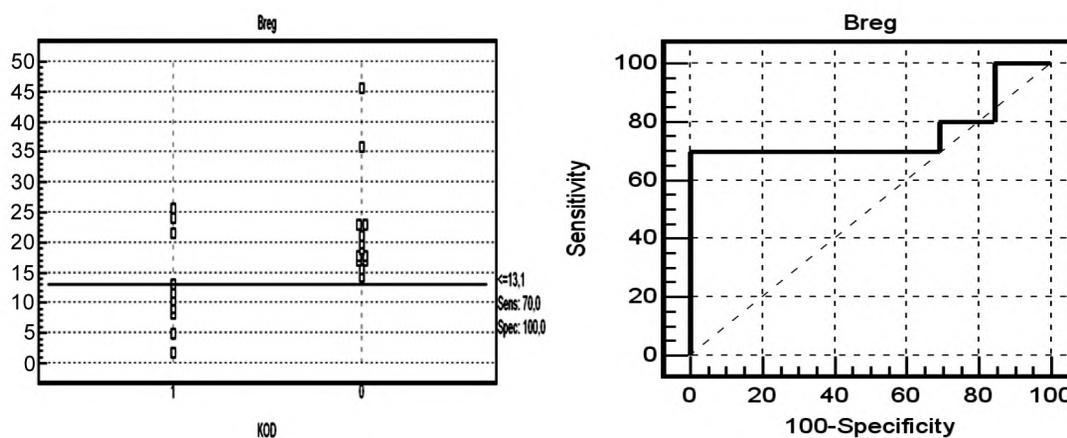


Рис. 2. ROC-анализ показателя относительного содержания IL-10- продуцирующих клеток в популяции Breg CD20+ лимфоцитов у пациенток с ПЭ различной степенью тяжести. *a* – показатель относительного содержания IL-10- продуцирующих клеток в популяции Breg CD20+ лимфоцитов; *б* – относительный показатель IL-10- продуцирующих клеток в популяции Breg CD20+ лимфоцитов в периферической венозной крови у женщин с уПЭ (0) тПЭ(1).

Несмотря на то, что мы не получили достоверных различий в содержании периферических В-лимфоцитов у беременных с гипертензивными нарушениями и без них, нами была выявлена положительная корреляционная связь высокой силы между уровнем CD20+ клеток и скоростью распространения пульсовой волны по артериям мышечного типа (СРПВм) у пациенток с различными гипертензивными расстройствами. Эти данные подтверждаются С.Т.Спан и соавт. [20], которые показали, что инфузия ангиотензина увеличивает активацию В-клеток и плазматических клеток в лимфоидных тканях и индуцирует отложение IgG в аорте. Так же, как и другие исследователи [21–23], мы отметили повышенный уровень В1-лимфоцитов в периферической крови женщин при всех гипертензивных расстройствах. Данное увеличение было наиболее выраженным при умеренной преэклампсии. Следует отметить, что именно в группе женщин с уПЭ существовала прямая корреляционная связь высокой силы между содержанием В1 клеток и СРПВм. Как известно величина СРПВ определяется морфологической структурой сосудистой стенки. Вероятно, для женщин с гипертензией высокий уровень В-лимфоцитов и, особенно, В1-клеток в пери-

ферической крови в наибольшей степени ассоциируется с развитием воспалительных и аутоиммунных реакций, изменяющих архитектуру сосудов мышечного типа [24], приносящих кровь к различным органам и тканям. В проведенных ранее исследованиях есть указание на то, что количество В1-клеток периферической крови у женщин с ПЭ значительно увеличено по сравнению с неосложненным течением беременности, однако достоверное увеличение количества В1-клеток у пациенток с уПЭ по сравнению с тПЭ нами было показано впервые.

Оценивая возможности ауторегуляции функциональной активности В-лимфоцитов, мы выявили, что для беременных с гипертензивными расстройствами характерно снижение содержания IL10-продуцирующих В-клеток. Именно эта фракция составляет основную часть популяции Breg [25]. Известно, что Breg ослабляют воспалительный ответ и способствуют стабильному толерантному иммунному профилю в организме при аутоиммунных заболеваниях, трансплантации и др. [26, 27]. Поэтому, можно предположить, что выявленное нами снижение уровня этих клеток, определяет недостаточное ограничение воспаления и аутоиммунных реакций в организме, у беременных с гипертензией.

Конечными этапами дифференцировки В-лимфоцитов являются формирование плазматических клеток и В-клеток памяти. Наше исследование показало, что все виды гипертензивных расстройств у беременных женщин ассоциируются с повышением содержания этих клеточных популяций в периферической крови. Было выявлено, что уровень CD27+IgD± В-клеток памяти достоверно повышался у женщин с ХАГ, и у женщин с ПЭ. Более детальное исследование данной популяции клеток продемонстрировало, что рост CD27+IgD± В-клеток памяти в основном определялся за счет повышения уровня «переключенных» В-клеток памяти. «Переключенные» (Switched) В-клетки памяти, развивают высокоспецифичные реакции при повторном контакте с антигеном [28 – 31] и быстрому генерированию пула плазматических клеток [32,33]. Существующая прямая корреляционная связь между уровнем В-клеток памяти и СРПВэ у пациенток с ХАГ+ПЭ ($r=0,811$, $p=0,000$), позволяет предположить большую длительность патологических реакций В-клеток у женщин с ХАГ и присоединившейся преэклампсией на уровне сосудов эластического типа.

Выполненный ROC-анализ относительного содержания В1-клеток и IL-10- продуцирующих Vreg клеток в популяции CD20+ лимфоцитов позволил установить дополнительные дифференциально-диагностические критерии степени тяжести ПЭ.

Заключение. В развитии АГ различного генеза большую роль играет снижение эластичности артериальной стенки, наиболее выраженное при сочетании ПЭ с ХАГ. Гипертензивные расстройства у беременных женщин сопровождаются усиленной дифференцировкой В-лимфоцитов до конечных этапов, и их участием в развитии воспалительных и аутоиммунных реакций. Причем, в большинстве своем эти воспалительные и иммунные реакции имеют сходство при различных формах гипертензии у беременных, но корреляционные связи между характеристиками проведения пульсовой волны в сосудах мышечного типа и показателями состояния В-лимфоцитов свидетельствуют о значимости данной клеточной популяции в изменении структуры сосудистой стенки при умеренной преэклампсии и преэклампсии, присоединившейся к хронической артериальной гипертензии.

Критерии относительного содержания В1-клеток и IL-10-продуцирующих клеток в популяции Vreg CD20+лимфоцитов могут быть использованы в качестве дополнительных в определении степени тяжести ПЭ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3, 5, 13-33 см. REFERENCES)

1. Айламазян Э.К., Репина М.А. Комментарии к клиническому протоколу «Гипертензия во время беременности, преэклампсия, эклампсия». *Журнал акушерства и женских болезней.* 2012; 5: 3–9.
2. Батурина И.Л., Абрамовских О.С., Логинова Ю.В., Никушкина К.В., Зотова М.А. и др. Анализ дифференцировки Тсуд-лимфоцитов при привычном невынашивании беременности. *Медицинская иммунология. Специальный выпуск.* 2017;19: 177.
4. Панова И. А., Малышкина А.И., Кудряшова А. В., Хлипунова Д. А., Рокотянская Е. А., Сытова Л. А. Синтез матричных металлопротеиназ и их ингибиторов периферическими фагоцитами у беременных с гипертензивными расстройствами. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2015;3: 26-32.

6. Зиганшина М.М., Шилова Н.В., Хасбиуллина Н.Р., Новаковский М.Е., Николаева М.А., Кан Н.Е., и др. Аутоантитела к антигенам эндотелия при преэклампсии. *Акушерство и гинекология.* 2016; 3: 24-31.
7. Мальсагов А.А., Цахилова С.Г., Сакварелидзе Н.Ю., Смирнова Л.Е., Беризова А.М., Малышева Е.М., и др. Клинико-диагностическое значение определения аутоантител у беременных с преэклампсией. *Проблемы репродукции.* 2020; 26(1): 90-4.
8. Панова И.А., Назаров С.Б., Рокотянская Е.А., Тихомирова О.В., Смирнова Е.В., Сытова Л.А. Особенности эластических свойств сосудов у беременных с различными видами гипертензивных расстройств. *Новости дерматовенерологии и репродуктивного здоровья.* 2015;2: 106-7.
9. Панова И.А., Кудряшова А.В., Рокотянская Е.А., Малышкина А.И. Особенности эластических свойств сосудов и иммунного воспалительного ответа при гипертензивных расстройствах у беременных. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2019; 19(1):118-26.
10. Рябоконь Н.Р., Кузнецова Л.В., Зазерская И.Е. Влияние преэклампсии на физиологические и патологические процессы в сосудах и риски развития сердечно-сосудистых заболеваний после родов. *Трансляционная медицина.* 2014;(4):46-50.
11. Рябоконь Н.Р., Зазерская И. Е., Большакова О. О. Особенности жесткости сосудов при преэклампсии и после родов. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2016; (5):49–55.
12. Супоницкая Е.В., Алексанкин А.П., Александрова Е.Н., Авдеева А.С., Панафидина Т.А., Вержникова Ж.Г. и др. Определение субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови методом проточной цитофлуорометрии у здоровых лиц и больных ревматическими заболеваниями. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2015; (6):30-3.

REFERENCES

1. Ajlamazyan E.K., Repina M.A. Comments on the clinical protocol «Hypertension during pregnancy, preeclampsia, eclampsia». *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2012; 5: 3–9. (in Russian)
2. Baturina I.L., Abramovskikh O.S., Loginova Yu.V., Nikushkina K.V., Zotova M.A. et al. Analysis of T cyt-lymphocyte differentiation in recurrent miscarriage. *Meditinskaya immunologiya. Spetsial'nyy vypusk.* 2017;19:177. (in Russian)
3. Verlohren S., Muller D.N., Luft F.C., Dechend R. Immunology in hypertension, preeclampsia, and target-organ damage. *Hypertension.* 2009; 54(3):439-43.
4. Panova I. A., Malysheva A.I., Kudryashova A. V., Hlipunova D. A., Rokotjanskaja E. A., Sytova L. A. Synthesis of matrix metalloproteinases and their inhibitors by peripheral phagocytes in pregnant women with hypertensive disorders. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2015; 3 :26-32. (in Russian)
5. Granger Joey P. Inflammatory cytokines, vascular function, and hypertension. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004; 286 (6): 989 – 90.
6. Ziganshina M.M., Shilova N.V., Hasbiullina N.R., Novakovskij M.E., Nikolaeva M.A., Kan N.E. et al. Autoantibodies to endothelial antigens in preeclampsia. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2016; 3: 24-31. (in Russian)
7. Malsagov A.A., Tsakhilova S.G., Sakvarelidze N.Yu., Smirnova L.E., Berizova A.M., Malysheva E.M. et al. Clinical and diagnostic value of autoantibody determination in pregnant women with preeclampsia. *Problemy reproduktivnoy.* 2020; 26 (1): 90-4. (in Russian)
8. Panova I.A., Nazarov S.B., Rokotjanskaja E.A., Tihomirova O.V., Smirnova E.V., Sytova L.A. Features of the elastic properties of blood vessels in pregnant women with various types of hypertensive disorders. *Novosti dermatovenerologii i reproduktivnogo zdorov'ya.* 2015;2:106-7. (in Russian)
9. Panova I.A., Kudryashova A.V., Rokotyanskaya E.A., Malysheva A.I. Features of the elastic properties of blood vessels and the immune inflammatory response in hypertensive disorders in pregnant women. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa.* 2019; 19 (1): 118-26. (in Russian)
10. Ryabokon` N.R., Kuznetsova L.V., Zazerskaya I.E. The effect of preeclampsia on physiological and pathological processes in blood ves-

- sels and the risks of developing cardiovascular diseases after childbirth. *Translyatsionnaya meditsina*. 2014;(4): 46-50. (in Russian)
11. Ryabokon N.R., Zazerskaya I.E., Bolshakova O.O. Features of vascular stiffness during preeclampsia and after childbirth. *Zhurnal akuшерства i zhenskikh bolezney*. 2016; (5):49–55. (in Russian)
 12. Suponitskaya E.V., Aleksankin A.P., Aleksandrova E.N., Avdeeva A.S., Panafidina T.A., Verizhnikova Zh.G. et al. Determination of subpopulations of B-lymphocytes of peripheral blood by flow cytometry in healthy individuals and patients with rheumatic diseases. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015; 6: 30-3. (in Russian)
 13. Sarvaria A., Madrigal J.A., Saudemont A. B cell regulation in cancer and anti-tumor immunity. *Cellular&Molecular Immunology*. 2017;14(8):662-74.
 14. Griffin D.O., Holodick N.E., Rothstein T.L. Human B1 cells in umbilical cord and adult peripheral blood express the novel phenotype CD20+CD27+CD43+CD70-. *J.Exp Med*. 2011; 208(1):67-80.
 15. Varon L.S., De Rosa J., Machicote A., Billordo L.A., Baz P., Fernández P.M., et al. Characterization of tonsillar IL10 secreting B cells and their role in the pathophysiology of tonsillar hypertrophy. *Sci Rep*. 2017; 7:11077.
 16. Zhang J., Crowley S.D. Role of T lymphocytes in hypertension. *Curr Opin Pharmacol*. 2015; 21:14–9.
 17. Rodriguez-Iturbe B., Pons H., Johnson R. J. Role of the Immune System in Hypertension. *Physiol Rev*. 2017; 97(3): 1127–64.
 18. Norlander A. E., Meena S. M., Harrison D. G. The immunology of hypertension. *J. Exp. Med*. 2018; 215(1): 21–33.
 19. Salema J., Mark L.O. Immune regulation of systemic hypertension, pulmonary arterial hypertension, and preeclampsia: shared disease mechanisms and translational opportunities. *Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2017 ;313(6):693-705.
 20. Christopher T Chan, Christopher G Sobey, Maggie Lieu, Dorota Ferrens, Michelle M Kett, Henry Diep et al. Obligatory Role for B Cells in the Development of Angiotensin II-Dependent Hypertension. *Hypertension*. 2015;66(5):1023-33.
 21. Laule C.F., Odean E.J., Wing C.R., Root K. M., Towner K.J., Hamm C.M. et al. Role of B1 and B2 lymphocytes in placental ischemia-induced hypertension. *Adaptive Immunity in Cardiovascular Disease*. 2019; 317(4): 732–42.
 22. Hoffman W., Lakkis F.G., Chalasani G.B Cells, Antibodies, and More. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*. 2016 ; 11(1): 137–54.
 23. LaMarca B., Cornelius D., Wallace K. Elucidating immune mechanisms causing hypertension during pregnancy. *Physiology*. 2013; 28(4): 225–33.
 24. Mozos I., Malainer C., Horbańczuk J., Gug C., Stoian D., Luca C.T., et al. Inflammatory Markers for Arterial Stiffness in Cardiovascular Diseases. *Front Immunol*. 2017; 8 :1058.
 25. Esteve-Solé A., Luo Y., Vlaga A., Deyà-Martínez Á., Yagüe J., Plaza-Martin A.M., et al. B Regulatory Cells: Players in Pregnancy and Early Life. *Int. J. Mol. Sci*. 2018; 19(7): 2099.
 26. Fetteke F., Schumacher A., Serban-Dan C., Zenclussen A.C. B Cells: The Old New Players in Reproductive Immunology. *Front Immunol*. 2014; 5: 285.
 27. Guzman-Genuino R.M., Diener K.R. Regulatory B Cells in Pregnancy: Lessons from Autoimmunity, Graft Tolerance, and Cancer. *Front Immunol*. 2017; 8: 172.
 28. Borhis G., Richard Y. Subversion of the B-cell compartment during parasitic, bacterial, and viral infections. *BMC Immunol*. 2015; 16:15.
 29. Chen X., Li G., Wan Z., Liu C., Zeng Y., Liu W. How B cells remember? A sophisticated cytoplasmic tail of mIgG is pivotal for the enhanced transmembrane signaling of IgG-switched memory B cells. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2015; 118(3): 89–94.
 30. Pieper K., Grimbacher B., Eibel N. B-cell biology and development. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2013; 131(4): 959–71.
 31. Deenick E.K., Avery D.T, Chan A., Berglund L.J., Ives M.L., Moens L. et al. Naive and memory human B cells have distinct requirements for STAT3 activation to differentiate into antibody-secreting plasma cells. *J. Exp. Med*. 2013; 210(12);2739–53.
 32. Seifert M., Przekopowicz M., Taudien S., Lollies A., Ronge V., Drees B. et al. Functional capacities of human IgM memory B cells in early inflammatory responses and secondary germinal center reactions. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2015; 112(6): E546-55.
 33. Davey A.M., Pierce S.K. Intrinsic differences in the initiation of B cell receptor signaling favor responses of human IgG(+) memory B cells over IgM(+) naive B cells. *J. Immunol*. 2012; 188(7): 3332–41.

Поступила 12.03.21

Принята к печати 14.05.21