

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ГИПОТИРЕОЗОМ

CYTOCHEMICAL SHIFTS IN BLOOD LYMPHOCYTE POPULATIONS IN PREGNANT WOMEN WITH HYPOTHYROIDISM

**A. Alieva
A. Esedova
U. Alieva
T. Dibirov
A. Biyarlanova**

Summary. This study addresses one of the most important problems of thyroid pathology in pregnant women, gestational hypothyroidism. Affecting many organs and systems, the thyroid gland in pregnant women is subjected to increased stress and its functional disorders can adversely affect both the condition of the maternal body and the condition of the fetus. The work touched upon aspects of the interaction of certain immunocompetent blood cells in hypothyroidism in pregnant women.

Keywords: succinate dehydrogenase, acid phosphatase, glycogen, cytochemistry, thyroid gland, autoimmune thyroiditis, hypothyroidism, pregnancy, lymphocytes, immune cells.

Алиева Аида Запировна

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный
медицинский университет»

aikaaminka@bk.ru

Эседова Асият Эседовна

Заведующая кафедрой, профессор,
ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный
медицинский университет»

Алиева Умхайр Бадрутдиновна

Доцент, ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный
медицинский университет»

Дибиров Тагир Муратович

Доцент, ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный
медицинский университет»

dibirovtagir@mail.ru

Биярсланова Алина Абдуллаевна

Независимый исследователь

Аннотация. Данное исследование затрагивает одну из важнейших проблем тиреоидной патологии у беременных женщин гестационный гипотиреоз. Воздействуя на многие органы и системы, щитовидная железа у беременных подвергается усиленной нагрузке и функциональные нарушения ее могут неблагоприятно сказаться как на состоянии материнского организма, так и на состоянии плода. В работе были затронуты аспекты взаимодействия некоторых иммунокомпетентных клеток крови при гипотиреозе у беременных женщин.

Ключевые слова: сукцинатдегидрогеназа, кислая фосфатаза, гликоген, цитохимия, щитовидная железа, аутоиммунный тиреоидит, гипотиреоз, беременность, лимфоциты, иммунокомпетентные клетки.

Все чаще и чаще в клинической практике встречаются проблемы, связанные с функциональной недостаточностью щитовидной железы (ЩЖ) у беременных. Известно, что недостаточность гормонов щитовидной железы может привести к нарушению функции многих органов и систем [2, 9]. В значительной степени они оказывают влияние на формирование и развитие плода во внутриутробном периоде, а также в постнатальном периоде [1, 2, 3].

В современных исследованиях часто затрагивается роль связи осложнения беременности с различными цитохимическими сдвигами клеток крови [8, 13, 5].

По мнению различных авторов, эта связь в какой-то степени может помочь, выявить особенности влияния на процессы адаптации защитных систем организма на клеточном и субклеточном уровне.

Зная то, что взаимосвязь материнского организма с плодом происходит при помощи связи плаценты с маткой, здесь происходят процессы которые влияют на нормальное течение беременности или могут приводить к развитию различных патологий, ведь под контролем тиреоидных гормонов находятся процессы дифференцировки и созревания практически всех органов и систем, в частности недостаток гормонов щитовидной железы может приводить к значительным изменениям при созревании мозга плода [11, 16, 17].

В патогенезе гестоза ключевую роль играют генерализованный вазоспазм, повышение проницаемости сосудистой стенки, задержка воды и натрия в организме, с последующим развитием гипоксии.

Главными показателями тканевой гипоксии являются нарушения энергетического обмена, которые сопровож-

ждаются изменениями активности митохондриальных ферментов. Поэтому определение активности митохондриальных ферментов (СДГ, КФ, гликогена) в лимфоцитах периферической крови является важным для прогноза течения беременности и профилактики осложнений.

В последнее десятилетие в медицине интенсивно развивается так называемое «метаболическое» направление, которое ставит своей целью теоретический и прикладной анализ обменных процессов различных уровней.

Особенно активно развиваются представления о роли нарушений клеточного энергообмена в генезе самых разнообразных патологических процессов [4, 6, 7].

Носителями самой доступной информации о ранних метаболических сдвигах в организме являются лейкоциты периферической крови. Ферментный статус лейкоцитов (лимфоцитов) дает возможность оценить степень гипоксического воздействия на материнский организм, что в свою очередь отражается на развитии и формировании органов и систем плода.

Исследование функциональной активности ферментов, участвующих в клеточном и тканевом дыхании системы мать—плод имеет важное практическое значение для прогноза течения беременности.

Перестройка иммунной системы материнского организма в связи с беременностью связана с изменениями соотношения и функциональной активности различных популяций и субпопуляций лимфоцитов цитотоксических (киллерных) Т-лимфоцитов, Т-хелперов Th 1-го и 2-го типов, NK-клеток (естественных) и В-лимфоцитов.

Некоторые исследователи указывают на то, что, клетки, которые осуществляют защиту как материнского организма так и плода от проникновения различных чужеродных антигенов находятся в маточно-плацентарном барьере. Таковыми клетками являются антигенпрезентирующие клетки макрофаги и цитотоксические лимфоциты (Т и NK-клетки) [14, 15].

В современной науке за последнее время уделяется особое внимание изучению взаимосвязи между репродуктивной функцией женщин и носительством иммуноглобулинов к тиреоидной пероксидазе. С каждым годом увеличивается тенденция к росту аутоиммунных поражений щитовидной железы у беременных в среднем от 12 до 18 % [10, 12]. Это способствует высокому риску осложнений течения беременности и может приводить к преждевременным родам и абортam.

Вопрос патогистологических особенностей осложнения и прерывания беременности на сегодняшний день

остаётся открытым. Возможно, недостаточность ферментов энергетического обмена в лимфоцитах крови приводит к дисфункции работы системы антиген-анти тело, что, по-видимому, оказывает влияние на течение беременности и развитие плода.

Но как было отмечено в литературе отсутствуют данные о взаимосвязи изучения активности митохондриальных ферментов энергетического обмена в лимфоцитах периферической крови, что является главным показателем тканевой гипоксии. И поэтому определение данных ферментов, по-нашему мнению является важным критерием для определения прогноза течения беременности и выявления различных осложнений.

Авторы считают, что при гипофункции щитовидной железы поступающий йод (17 % от всего поступающего йода в организм), связанный с транспортными белками, безусловно, вызывает фагоцитоз, что незамедлительно способствует синтезу антител. А показатели митохондриальных ферментов в популяциях лимфоцитов способствуют течению данной реакции, что по мнению авторов является причиной развития аутоиммунного тиреоидита (АИТ).

Свободный йод не может вызвать синтез антител, но связанный с белками обеспечивает их синтез.

Авторы считают, что не АИТ является причиной развития гипотиреоза, а наоборот, именно гипотиреоз является причиной развития АИТ.

В различной литературе мы не нашли работ, связанных с изучением ферментативной активности популяций и субпопуляций лимфоцитов крови, при изменении которых, по всей видимости происходит нарушение внутриклеточных дыхательных функций, что приводит к нарушению системы антиген-анти тело у беременных женщин с сопутствующим гипотиреозом и влияет на процессы созревания и формирования органов и систем плода, что и послужило для нас толчком для проведения данного исследования.

Целью исследования явилось сравнительное изучение ферментативной активности внутренней митохондриальной мембраны лимфоцитов периферической крови у здоровых беременных женщин и у беременных с сопутствующим гипотиреозом.

Материалом для исследования послужила венозная кровь взятая у 78 пациенток в разные сроки гестации с диагнозом гипотиреоз, которые были разделены на группы в зависимости от степени функциональной недостаточности щитовидной железы: первую группу составили 23 беременных с манифестным компенсированным гипотиреозом, обнаруженным до беременности

или в ранние ее сроки, на заместительной гормональной терапии (L-Тироксин, эутирокс). Вторая группа включала 18 пациенток с субклиническим гипотиреозом, выявленном во второй половине беременности, без использования гормональной терапии, находившихся под наблюдением.

Для сравнения использовалась группа из 21 женщин с физиологическим течением беременности в сроки гестации от 22–39 неделе, без патологических изменений щитовидной железы.

Группу контроля составили 16 практически здоровых беременных, по возрасту сходные с обследованными группами беременных, которые наблюдались в женской консультации по месту жительства.

У всех обследованных были проведены стандартные исследования для беременных: сбор анамнестических данных, общий и акушерский осмотр, общий и биохимический анализ, ультразвуковое исследование акушерского статуса и щитовидной железы.

Функцию щитовидной железы оценивали по содержанию св. Т4, св. Т3, ТТГ, аутоантител к ТПО и ТГ в крови.

Ферментативную активность в лимфоцитах крови определяли цитохимическим методом с определением сукцинатдегидрогеназы (СДГ), кислой фосфатазы (КФ) и гликогена (Гл).

Активность сукцинатдегидрогеназы в лимфоцитах определяли по методу с использованием *n*-нитротетразолия фиолетового и подсчету среднего количества гранул формазана в одном лимфоците (гр/л) при расчете на 50 клеток.

Кислую фосфатазу определяли при помощи метода A.F. Goldberg, T. Barka с использованием нафтола As-E-фосфата. Результаты реакции оценивали с помощью показателя Karlow.

Для определения интенсивности окраски гликогена в лимфоцитах крови использовали метод по J. MacManus.

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0 for Windows» и программы «Soma». Для всех полученных данных определяли среднее арифметическое значение (*M*) и ошибку средней арифметической (*m*). Проверку гипотезы о статистической значимости различий двух выборок проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Значимыми считали значения $p < 0,05$.

Активность СДГ в лимфоцитах крови женщин из группы сравнения одинаковая как в контрольной группе.

Распределение гранул формазана в цитоплазме клеток было равномерное, с умеренной плотностью расположения. Но было замечено, что в I триместре беременности идет тенденция к снижению процентного содержания лимфоцитов с умеренным и высоким содержанием ферментных гранул, что отражается на СЦП СДГ.

В сравнительной группе он составил $1,38 \pm 0,05$, а в группе контроля показатель был — $1,52 \pm 0,07$ усл. ед. В дальнейшие сроки беременности картина распределения фермента была сходна с группой контроля.

Картина распределения фермента у 1-й группы обследуемых была такова. Было отмечено достоверное снижение активности по сравнению с контрольной группой. В мазках определялся рост количества малых лимфоцитов с малым и средним содержанием окрашенных продуктов цитохимической реакции. Эти сдвиги были более выражены в мазках крови пациенток 2-й группы. И как отмечается, наблюдаются лимфоциты с хаотичным распределением окрашенных гранул, наблюдается картина с содержанием фермента в виде слияния нескольких гранул между собой. СЦП снижен с высокой степенью достоверности ($p < 0,02$).

При окрашивании мазков крови на КФ в группе контроля большая часть лимфоцитов имела слегка умеренную или слабо насыщенную ферментную реакцию. Некоторые клетки отражали реакцию в виде слабо окрашенного диффузного фона.

Цитохимическая картина содержания КФ в лимфоцитах крови беременных группы сравнения, независимо от срока беременности, при сравнении с таковой контрольной группы существенно не была изменена.

Отмечалась лишь тенденция к росту в мазках крови количества средних лимфоцитов с хорошо визуализируемой и насыщенно окрашенной продуктами реакции цитоплазмой. СЦП составлял $1,81 \pm 0,03$ усл. ед., при контрольных значениях $1,64 \pm 0,03$ усл. ед. Однако следует отметить, что у ряда женщин, особенно во второй половине беременности, содержание КФ в клетках было более высоким, с преобладанием диффузного компонента окрашенных продуктов.

При исследовании 1-группы беременных на КФ было отмечено, что в динамике проводимого лечения содержание окрашенного фермента в цитоплазме клеток было схоже с показателя группы сравнения. Была лишь заметна одна тенденция, что окрашивание мазков крови цитоплазмы лимфоцитов происходило в виде отдельных комплексов напоминающий гранулы, а диффузный компонент снижался.

В лимфоцитах крови у женщин 2-группы с субклиническим гипотиреозом без выраженных клинических

симптомов был установлен рост активности КФ по сравнению с таковым в контрольной группе с высокой степенью достоверности ($p < 0,02$). Мазки больше содержали клеток с умеренным и высоким содержанием продуктов ферментной реакции.

При окрашивании мазка крови беременных на гликоген, распределение ШИК положительного материала в клетках было равномерным. Продукт реакции в цитоплазме клетки выявлялся слабо и плохо контурировался.

Основная масса лимфоцитов содержала умеренное количество окраски и небольшое количество около 2–3 % клеток имели более выраженную картину окраски в цитоплазме клеток.

Что касается 1-группы беременных с манифестным гипотиреозом в динамике лечения, при наблюдении, было отмечено, сохранение СЦП во все сроки гестации в пределах, характерных для группы сравнения.

У беременных с субклиническим гипотиреозом компенсированной формы (2-я группа) в мазках крови количество лимфоцитов с умеренным и высоким содержанием окрашенного материала было значительно меньше.

Наблюдалась тенденция, взаимосвязи изменения активности ферментной реакции клеток от степени тяжести заболевания. Обращало внимание малое количество или даже полное отсутствие ШИК-положительного материала в периферической зоне значительного количества клеток, в связи с чем снижение данного показателя была достоверно высока ($p < 0,02$).

Таким образом, при изучении цитохимических показателей лимфоцитов нами установлено, что у женщин с физиологическим течением беременности достоверно отмечается снижение активности СДГ, КФ и Гл. Представ-

ляется, что оно связано с имеющимся в I триместре беременности устойчивым ростом содержания тиреоидных гормонов в крови. В литературе его связывают прежде всего с продукцией плацентарного хорионического гонадотропина.

Что же касается 1-й и 2-й группы пациенток, то по нашему мнению такая реакция связана с одной стороны влиянием физиологического воздействия тиреоидных гормонов во время беременности на фермент внутренней митохондриальной мембраны лимфоцитов, вовлечённый в базовые процессы энергообеспечения клетки, а с другой стороны патологическим влиянием манифестного компенсированного и субклинического гипотиреоза без выраженных функциональных нарушений на ферментную активность клеток.

При сравнительном анализе цитохимических данных лимфоцитов у женщин с физиологическим и патологическим течением беременности наибольшей информативностью обладали показатели ферментной активности СДГ, КФ и гликогена. Необходимо отметить, что СДГ вместе с КФ и гликогеном, являются одними из главных цитохимических показателей лимфоцитов периферической крови и критерием основного энергетического обмена митохондрий, что отражает состояние организма как материнского организма, так и плода.

Подводя итог, нами делается вывод, что при низкой функциональной активности ЩЖ у беременных, нарушаются процессы переноса глобулинов связанных с йодом, то есть они становятся источником интоксикации, и воспринимаются как чужеродные антигены, что в свою очередь активирует выработку антител и включение защитной фагоцитарной реакции, что по видимому оказывает угнетающее влияние на систему клеточного дыхания лимфоцитов и тем самым способствует развитию осложнений во время беременности у матери и плода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борзова Н.Ю., Иваненкова Н.И., Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В., Малышкина А.И. Дифференцировка Т-клеток памяти в популяциях Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов при угрожающем выкидыше // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2015. Т.14. №2. С.24–28.
2. Варламова Т.М., Керова А.Н., Абуд И.Ю., Озерова О.Е., Шехтман М.М. Дисфункция щитовидной железы и беременность // Гинекология. 2001. Т.3. №2. С.64–68.
3. Кудряшова А.В., Кадырова Л.В. Дифференцировка CD8 + клеток памяти при беременности // Российский иммунологический журнал. 2013. Т.8. №1(17). С.79–82.
4. Махмудходжаев А.Ш., Огородова Л.М., Евтушенко И.Д., Холопов А.В., Тимошина Е.Л., Махмудходжаева Е.В. Клеточный иммунитет у беременных с аутоиммунным тиреоидитом и гестозом // Бюллетень сибирской медицины. 2002. Т.1. №1. С.57–62.
5. Петрова С.В. Профилактика и лечение нарушений репродуктивной функции у женщин с аутоиммунным тиреоидитом [Текст]: дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.01: защищена 01.03.2012: / Петрова Светлана Вячеславовна. — Санкт-Петербург, 2012. — 197 с.
6. Потемкина Е.Е., Рафибеков Д.С., Фомина Е.Е., Пешева Н.В., Калинин А.П. Гуморальные и клеточные иммунные факторы при аутоиммунном тиреоидите // Проблемы эндокринологии. 1995. Т.41. №1. С.9–12.
7. Радченко В.В. Исследование цитокинов у беременных с аутоиммунным тиреоидитом при осложненном течении беременности // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. 2013. №4(28). С.19–24.
8. Радченко В.В. Редикторы осложнений беременности у женщин с аутоиммунным тиреоидитом // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. 2013. №4(8). С.42–47.

9. Романова И.П., Кравчун Н.А. Особенности функционального состояния щитовидной железы у беременных женщин с носительством антител к ткани щитовидной железы и аутоиммунным тиреоидитом // Вестник харьковского национального университета имени В.Н. Каразина. Серия медицина. 2006. №13(738). С. 105–109.
10. Сотникова Н.Ю., Борзова Н.Ю., Раджабова Н.Р. Дифференцировка CD8+ лимфоцитов и их цитолитическая активность у женщин с угрожающими преждевременными родами // Российский иммунологический журнал. 2019. Т.13. №2–1(22). С.563–565.
11. Супрун С.В., Кудерова Н.И., Супрун Е.Н., Морозова О.Н., Евсеева Г.П., Лебедько О.А. Комплексная оценка митохондриальных изменений иммунокомпетентных клеток крови у беременных женщин при срочных и преждевременных родах // Медицинская иммунология. 2021. Т.23. №3. С. 557–568.
12. Файзуллин Л.З., Клименченко Н.И., Федорова Е.В., Карнаухов В.Н., Колодько В.Г., Трофимов Д.Ю. Ассоциация полиморфизма генов Ctlα-4 и Ptpn-22 с развитием гипотиреоза у беременных российской популяции // Акушерство и гинекология. 2015. №12. С. 64–68.
13. Хачатурова М.Д. Этапное ведение беременных с привычным невынашиванием, обусловленным аутоиммунным тиреоидитом [Текст]: дисс. . . канд. мед. наук: 14.00.01: защищена 21.04.2004: / Хачатурова Маргарита Дарчоевна. — Краснодар, 2004. — 113 с.
14. Pyzik A., Grywalska E., Matyjaszek-Matuszek B., Rolinski J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far? J Immunol Res. 2015.
15. Ramos-Leví A.M., Marazuela M. Pathogenesis of thyroid auto— immune disease: the role of cellular mechanisms. Endocrinol Nutr. 2016; 63:421–9.
16. Bossowski A, Stasiak-Barmuta A, Urban M. Relationship between CTLA-4 and CD28 molecule expression on T lymphocytes and stimulating and blocking autoantibodies to the TSH-receptor in children with graves' disease. Horm Res. 2005; 64:189–97.
17. Roncarolo M.G., Gregori S., Bacchetta R., Battaglia M. Tr1 cells and the counter regulation of immunity: natural mechanisms and therapeutic applications. Curr Top Microbiol Immunol. 2014; 380:39–68.

© Алиева Аида Запировна (aikaaminka@bk.ru); Эседова Асият Эседовна; Алиева Умхайр Бадрутдиновна;
Дибиров Тагир Муратович (dibirovtagir@mail.ru); Биярсланова Алина Абдуллаевна
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»