

На правах рукописи



003491958

ЛИНЬКОВА
Наталья Сергеевна

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
РЕЗИДЕНТНЫХ ИММУННЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ
У ЖЕНЩИН РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА**

14.01.30 – геронтология и гериатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

18 ФЕВ 2010

Санкт-Петербург – 2010

Работа выполнена в лаборатории иммунологии старения
Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН

Научный руководитель:

доктор биологических наук
Полякова Виктория Олеговна

Официальные оппоненты:

заслуженный деятель науки РФ,
член-корреспондент РАМН,
доктор медицинских наук, профессор
Аничков Николай Мильевич

доктор биологических наук
Зубжицкая Людмила Борисовна

Ведущая организация:

Учреждение Российской академии наук «Институт физиологии
им. И. П. Павлова» РАН

Защита диссертации состоится «26» февраля 2010 г. в 13 часов
на заседании диссертационного совета Д 601.001.01 при Санкт-
Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН
по адресу: 197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке
Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН
(197110, Россия, Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3).

Автореферат разослан «25» января 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук, доцент

Козина Л.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Плацента является уникальным органом, который одновременно выполняет две разнонаправленные функции: с одной стороны, обеспечивает сохранность аллогенного фето-плацентарного комплекса от агрессии иммунной системы матери, а с другой – проявляет высокую активность против чужеродных антигенов вирусной и инфекционной природы, попадающих в материнский организм. Этот факт делает плаценту интереснейшим объектом исследования с точки зрения иммунологии, поскольку именно здесь происходит взаимодействие тканей матери и плода на молекулярном уровне.

Изучение и объяснение феномена сохранения аллогенного плода в организме матери является центральной задачей иммунологии репродукции. В настоящее время теория подавляемой иммунной агрессии организма матери против аллотрансплантата не находит своего подтверждения. На смену ей пришла концепция взаимодействия тканей матери и плода, выработанного в процессе эволюции. В рамках этой теории молекулы и клетки иммунной системы рассматриваются как посредники репродуктивных процессов, действующие не агрессивно, а дополняющие функции друг друга [Moffett A., Loke Y.W., 2004].

В последние годы внимание исследователей привлечено к изучению плаценты именно на молекулярно-клеточном уровне, поскольку знания о развитии плаценты углубляются до уровня отдельных клеток [Huppertz B. et al., 2006].

В настоящий момент наиболее изученными являются иммунные свойства и функции трофобласта. Однако данные о взаимодействии иммунокомпетентных клеток в децидуальной ткани, и особенно в ворсинках хориона, до сих пор остаются достаточно отрывочными, а изменения структурных свойств этих клеток в возрастной динамике практически не изучены.

Из плацентарных компонентов объектом нашего исследования был выбран ворсинчатый хорион, в силу особенностей строения он играет наиболее важную роль в осуществлении обменных процессов между кровью матери и плода. В настоящее время убедительно доказано, что наиболее активной тканью плаценты в метаболическом и функциональном плане является эпителий ворсинчатого хориона.

Широкие возможности в изучении иммунного статуса плаценты связаны с появлением ряда методов, позволяющих не только качественно оценить наличие различных субпопуляций иммунных клеток, но и количественно охарактеризовать различные иммунологические процессы, протекающие в плаценте.

Новые возможности открывает развитие молекулярной микроскопии, которая с помощью иммуногистохимических реакций позволяет на тканевом, клеточном и ультраструктурном уровнях визуализировать взаимодействие сигнальных молекул - гормонов, ферментов, рецепторов, цитокинов и др.

Анализ данных современной литературы показал, что большинство авторов изучало субпопуляции иммунных клеток плаценты на различных сроках гестации, в то время как вопрос об изменении иммунного статуса плаценты в зависимости от возраста беременных женщины изучен недостаточно. Важность проведения исследований иммунологии плаценты у женщин различных возрастных групп так же может открыть новые подходы к изучению одной из самых распространенных патологий беременности – гестозу.

Гестоз – специфический для беременности синдром, проявляющийся в нарушениях функций различных органов. Хотя эта патология является системной, а ее этиология до сих пор не совсем ясна, не вызывает сомнений ключевая роль плаценты в патогенезе гестоза. Согласно современным представлениям, физиологическую беременность можно охарактеризовать как состояние «умеренного воспаления», при котором происходит активация иммунокомпетентных клеток, а системные изменения, наблюдаемые при гестозе, являются случаем крайнего выражения такого состояния.

В связи с этим, представляет интерес изучение иммунного статуса плаценты в норме и при гестозе с целью выявления возможных иммунологических механизмов, лежащих в основе этой патологии. При этом необходимо учитывать, что иммунный статус плаценты также зависит от возраста беременной женщины. Вышеизложенные обстоятельства свидетельствуют об актуальности и необходимости проведения специального исследования иммунного статуса ворсин хориона у женщин разного возраста в норме и при гестозе.

Цель и задачи исследования

Целью диссертационного исследования является сравнительное изучение иммунного статуса плаценты у женщин молодого и старшего репродуктивного возраста в норме и при гестозе.

Для достижения указанной цели были поставлены и последовательно решены следующие задачи:

1. Верифицировать различные субпопуляции клеток, принимающих участие в иммунном ответе (макрофаги, лимфоциты, дендритные и эндотелиальные клетки) в плаценте у женщин молодого и старшего репродуктивного возраста в норме и при гестозе.
2. Изучить возрастные особенности иммунного статуса плаценты в норме и при гестозе.
3. Выявить корреляции между особенностями иммунного статуса плаценты и возрастом у женщин в норме и при гестозе.
4. Оценить вклад возрастных изменений иммунного статуса плаценты в развитие патологии беременности.

Научная новизна

Впервые проведен сравнительный анализ субпопуляций иммунных клеток (макрофаги, лимфоциты, дендритные и эндотелиальные клетки) в ворсинчатом хорионе зрелой плаценты у беременных разного возраста в норме и при гестозе.

Установлено, что в ворсинчатом хорионе присутствуют три субпопуляции иммунных клеток: натуральные киллеры (НК-клетки), Т-супрессоры и плацентарные макрофаги. Показано влияние возраста здоровых женщин и пациенток с гестозом на количество указанных субпопуляций иммунокомпетентных клеток в ворсинках плаценты. Впервые получены данные об увеличении количества Т-супрессоров в ворсинчатом хорионе здоровых женщин старше 28 лет. Установлено, что содержание НК-клеток и плацентарных макрофагов с возрастом не изменяется. Впервые выявлено отсутствие Т-супрессоров в плаценте молодых женщин, перенесших гестоз, и разработана концепция о роли этой клеточной субпопуляции в механизмах развития изучаемого заболевания. Показано повышение количества плацентарных макрофагов у пациен-

ток с гестозом в возрасте до 28 лет при неизменном количестве НК-клеток. Выявлено снижение количества НК-клеток и Т-супрессоров у пациенток с гестозом старше 28 лет. Впервые построены аппроксимационные зависимости между динамикой возраста и количеством иммунных клеток в плаценте.

Практическая значимость

Полученные результаты позволяют расширить представления о морфо-функциональных изменениях доношенной плаценты в связи с возрастом беременной в норме и при гестозе. Полученные данные позволяют оптимизировать эффективность диагностики воспалительных процессов в плаценте и прогнозировать риск развития патологической беременности у женщин старше 28 лет.

Положения, выносимые на защиту

1. Иммунный статус плаценты в норме формируют 3 субпопуляции клеток: НК-клетки, Т-супрессоры и плацентарные макрофаги. С возрастом, как у здоровых женщин, так и у пациенток с гестозом, происходят изменения иммунного статуса плаценты.
2. В норме при старении организма женщины количество Т-супрессоров в плаценте повышается. Содержание НК-клеток и плацентарных макрофагов с возрастом не изменяется.
3. У молодых пациенток с гестозом количество НК-клеток не изменяется, содержание плацентарных макрофагов повышается, а Т-супрессоры отсутствуют. При старении организма на фоне гестоза количество НК-клеток и плацентарных макрофагов понижается, появляются Т-супрессоры.
4. Изменения структурно-функциональной организации иммунных клеток плаценты у молодых женщин и женщин старшей возрастной группы являются важным фактором риска развития патологической беременности.

Связь с научно-исследовательской работой Института

Диссертационная работа является научной темой, выполняемой по основному плану НИР Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 глав, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Глава 1 - обзор литературы - представляет собой анализ данных литературы по особенностям онтогенеза ворсинчатого хориона и других образований плаценты, этиологии и патогенеза гестоза с точки зрения иммунологии, а так же различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток. Глава 2 посвящена описанию материалов и методов, используемых в данном исследовании. Глава 3 представляет изложение собственных данных изучения иммунного статуса плаценты у беременных различных возрастных групп и нормально протекающей беременности и гестозе, а также обсуждение полученных результатов. Текст диссертации изложен на 130 страницах, содержит 10 таблиц, иллюстрирован 28 рисунками. Список литературы содержит 159 источников, из них отечественных – 40, зарубежных – 119.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации материалов диссертационных исследований.

Апробация и реализация диссертации

Материалы диссертации доложены на XII Всероссийской медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина» (Санкт-Петербург, 2009); Всероссийской конференции студентов и молодых ученых с международным участием, посвященной 65-летию ЯГМА «Актуальные вопросы медицинской науки» (Ярославль, 2009); Всероссийской научной конференции, посвященной 150-летию кафедры патологической анатомии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова «Современные проблемы общей и частной патологической анатомии» (Санкт-Петербург, 2009); XVII Всероссийской конференции «Нейроиммунология. Рассеянный склероз» (Санкт-Петербург, 2009); Весенней геронтологической конференции (Белгород, 2009); Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины» (Санкт-Петербург, 2009); Всероссийской научно-практической конференции «Амбулаторно-клиническая практика – платформа женского здоровья» (Москва, 2009); II международной конференции «Ранние сроки беременности» (Москва, РУДН, 2009); XIII пушкинской международной школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2009); Международной научно-практической конференции с международным участием «Осенняя геронтологическая конференция в Белгороде» (Белгород, 2009) VI международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность» (Москва, 2009).

Результаты исследований используются в научной, педагогической и практической деятельности Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН и НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика исследуемого материала

Исследования проведены на плацентах первородящих женщин разных возрастных групп, с нормально протекавшей беременностью и гестозом в третьем триместре беременности. Материал для исследования (60 плацент со сроком гестации 37-40 недель) был получен в родильном отделении Научно-Исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН.

Исследуемый материал был разделен на четыре группы в зависимости от возраста и наличия гестоза:

группа 1 – здоровые женщины молодого и среднего репродуктивного возраста (19 - 27 лет; n=16);

группа 2 – здоровые женщины старшего репродуктивного возраста (28 - 40 лет; n=14);

группа 3 – женщины с гестозом молодого и среднего репродуктивного возраста (19 - 27 лет; n=13);

группа 4 – женщины с гестозом старшего фертильного возраста (28 - 40 лет; n=17).

Женщины в возрасте от 28 лет (2 и 4 группа) относятся к старшему репродуктивному возрасту. По данным литературы [Айламазян Э.К. и др., 2007; Хавинсон В.Х., Коновалов С.С., 2009] именно у женщин старше 28 лет в 80% случаев наблюдаются многочисленные инволюционно-дистрофические изменения плаценты, по своему характеру сходные с инволюцией органов при старении. При этом дистрофические изменения плаценты у женщин старше 28 лет охватывают не только строму ворсин, но и иммунные клетки плаценты.

В связи с тем, что основной целью работы являлось сравнительное изучение иммунного статуса плаценты у женщин различного возраста в норме и при гестозе, для исследования были взяты плаценты со сроком гестации 37-40 недель от первородящих женщин молодого и среднего (от 19 до 27 лет), а так же старшего (от 28 до 40 лет) репродуктивного возраста.

Гистологические методы

Фрагменты плацент объемом 1 см³ фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (рН 7.2), обезжизняли с помощью автоматической станции проводки материала Leica TP1020 и заливали в парафин. Для морфологического изучения срезы окрашивали гематоксилином-эозином по стандартной методике.

Имуногистохимические методы

Для иммуногистохимического исследования использовали первичные моноклональные мышиные анти-человеческие антитела к следующим маркерам: NK-клеток CD16 (1:30, Novocastra), Т-лимфоцитов (киллеров и супрессоров) CD4 и CD8 (ready to use, Novocastra), В-лимфоцитов CD20 (1:30, Dako), маркеру взаимодействия между В- и Т-лимфоцитами CD40 (1:30, Novocastra), эндотелиальных клеток CD106 (1:75, Novocastra), дендритных клеток CD83 (1:30, Novocastra) и макрофагов CD68 (1:60, Novocastra). В качестве вторых антител использовали универсальный набор, содержащий биотинилированные анти-мышинные и анти-кроличьи иммуноглобулины. Визуализацию окрасок проводили с применением комплекса авидина с биотинилированной пероксидазой (ABC-kit), с последующим проявлением пероксидазы хрена диаминобензидином (всe реагенты от Novocastra).

Выбор указанного диапазона маркеров иммунных клеток определяется целью работы, и позволяет оценить наличие тех субпопуляций иммунных клеток плаценты, которые описаны в литературе.

NK-клетки представляют собой лимфоциты, лишенные маркеров Т- и В-лимфоцитов. Название этих клеток обуславливает их функцию – лизис клеток без развития реакции иммунного ответа. NK-клетки являются наиболее многочисленной субпопуляцией иммунных клеток плаценты.

Т-лимфоциты дифференцируются в тимусе и участвуют в регуляции силы иммунного ответа и распознавании измененных клеток собственного организма. В процессе дифференцировки Т-лимфоциты дают начало субпопуляциям Т-супрессоров, Т-хелперов и Т-киллеров. В-лимфоциты человека развиваются

в печени на ранних сроках гестации и участвуют в распознавании чужеродных антигенов и передаче информации о них Т-хелперам.

Плацентарные макрофаги ворсин хориона, известные так же под названием клеток Кащенко-Гофбауэра (ККГ), являются одной из субпопуляций лейкоцитов, фагоцитирующих чужеродные клетки. Дендритные клетки (ДК) имеют общее происхождение с плацентарными макрофагами, но в отличие от последних, индуцируют первичный иммунный ответ и неспособны к фагоцитозу.

Эндотелиальные клетки (ЭК) плаценты, хотя и не относятся к клеткам иммунной системы, но играют исключительно важную роль в регуляции их миграции и степени активности.

Морфометрическое исследование и статистическая обработка результатов

Для оценки результатов иммуногистохимического окрашивания было проведено морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного захвата микроскопических изображений Nikon Eclipse 400 и лицензионной программы для их анализа Videotest Morphology 5.0. Для каждого препарата фотографировали 5 полей зрения при увеличении $\times 400$.

В качестве морфометрических показателей были выбраны площадь экспрессии (отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения, в %) и оптическая плотность экспрессии (в условных единицах – у.е.). Указанные показатели являются общепринятыми параметрами для оценки экспрессии сигнальных молекул в клетках и тканях [Авгандилов Г.Г., 2002; 2006].

Статистическая обработка всех экспериментальных данных включала в себя подсчет среднего арифметического, стандартного отклонения и доверительного интервала для каждой выборки и проводилась в программе Microsoft Excel с использованием t-критерия Стьюдента на двустороннем уровне значимости $p < 0.05$ и оценки достоверности для разностных вариационных рядов.

В рамках корреляционного анализа проводили расчет нелинейного критерия корреляции Спирмана, с помощью которого определяли наличие и характер связи между экспрессией маркеров иммунных клеток плаценты и возрастом женщин. На основе данных, полученных при анализе коэффициента корреляции, в программе Microsoft Excel строили экспериментальные и аппроксимирующие графические зависимости [Афифи А. И др., 1982; Леонов В.П., 1990].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования иммунного статуса плаценты у женщин в возрасте до 28 лет в норме и при гестозе

В плацентах здоровых женщин моложе 28 лет присутствуют $CD8^+$ клетки, тогда как при гестозе они не были выявлены ни у одной из пациенток (табл. 1, 2).

$CD16^+$ клетки присутствовали в большом количестве как в плацентах здоровых женщин в возрасте до 28 лет, так и у женщины с гестозом (табл. 1, 2). Было установлено, что НК-клеток в норме примерно в 4 раза, а при гестозе в 2 раза больше, чем макрофагов и Т-супрессоров. При этом относительная площадь

окрашивания и оптическая плотность CD16⁺ клеток в I и III группах достоверно не отличалась (табл. 1, 2).

В ворсинах плаценты у молодых женщин площадь экспрессии CD68 при гестозе была примерно в 2 раза, а оптическая плотность - в 1.5 раза выше по сравнению с нормой (табл. 1, 2).

Маркер CD20 у здоровых женщин отсутствовал, у пациенток с гестозом он был обнаружен в 4 плацентах из 13 исследованных. Площадь экспрессии и оптическая плотность в CD20⁺ препаратах составили соответственно от 4 до 20% и от 0.28 до 0.41 у.е. Большой разброс полученных значений, по-видимому, определяется малым объемом выборки, а также значительной вариабельностью реакций организма беременных женщин на развитие гестоза. CD4, CD40, CD83 и CD106 не были обнаружены ни в группе здоровых женщин, ни у пациенток с гестозом моложе 28 лет.

Таблица 1

**Площадь экспрессии CD8⁺, CD16⁺ и CD68⁺
в плаценте у женщин моложе 28 лет**

Показатель	CD8 ⁺		CD16 ⁺		CD68 ⁺	
	I группа (контроль)	III группа (гестоз)	I группа (контроль)	III группа (гестоз)	I группа (контроль)	III группа (гестоз)
	n=12	n=12	n=16	n=14	n=16	n=12
Средний возраст, лет	23.67±1.02	24.55±1.93	25.58±1.16	24.55±1.93	25.63±1.76	23.58±2.07
Площадь экспрессии %	1.16±0.36	0.00±0.00*	4.68±0.91	3.90±1.12	1.03±0.33	2.14±0.42*

*- p<0.05 по сравнению с показателем в контрольной группе

Таблица 2

**Оптическая плотность экспрессии CD8⁺, CD16⁺ и CD68⁺
в плаценте у женщин моложе 28 лет**

Показатель	CD8 ⁺		CD16 ⁺		CD68 ⁺	
	I группа (контроль)	III группа (гестоз)	I группа (контроль)	III группа (гестоз)	I группа (контроль)	III группа (гестоз)
	n=12	n=12	n=16	n=14	n=16	n=12
Средний возраст, лет	23.67±1.02	24.55±1.93	25.58±1.16	24.55±1.93	25.63±1.76	23.58±2.07
Оптическая плотность, у.е.,	0.13±0.04	0.00±0.00*	0.23±0.02	0.26±0.05	0.17±0.04	0.25±0.07*

* - p<0.05 по сравнению с показателем в контрольной группе

Полученные результаты позволяют выдвинуть гипотезу о взаимодействии иммунных клеток плаценты у молодых женщин с нормально протекающей беременностью и гестозом.

• При нормально протекающей беременности у женщин в возрасте до 28 лет в ворсинах зрелой плаценты NK-клетки составляют 68% всех иммунных клеток,

макрофаги - 31% и Т-супрессоры -17 %. При этом Т-киллеры, В-лимфоциты, ДК и ЭК в норме не выявляются.

- В норме у женщин в возрасте до 28 лет возможна следующая схема взаимодействия иммунокомпетентных клеток в ворсинах плаценты. НК-клетки ворсин участвуют в ранней фазе иммунного ответа, секретирова цитокины и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор. Для контроля над цитотоксической функцией клеток трофобласт экспрессирует антиген МНС-G (особую форму МНС I). МНС-G способен угнетать активность клеток и ингибировать развитие Т-клеточной реакции. Важную роль в защите тканей плода от иммунной агрессии матери так же принимают Т-супрессоры. Плацентарные макрофаги, активность и пролиферация которых по положительной обратной связи регулируется НК-клетками, участвуют в презентации антигена и ингибируют пролиферацию дендритных клеток путем синтеза индоламин-2,3-диоксигеназы, расщепляющей триптофан, необходимый для активации ДК. Таким образом, ККГ участвуют в защите полуаллогенного плода от иммунной реакции матери.

- У молодых пациенток с гестозом в ворсинах зрелой плаценты НК-клетки составляют 65% всех иммунных клеток, что значимо не отличается от нормы, при этом количество плацентарных макрофагов достоверно возрастает с 17 до 35%. В отличие от нормы в плацентах женщин, перенесших гестоз, отсутствуют Т-супрессоры. При этом примерно у 1/3 пациенток с гестозом были обнаружены В-лимфоциты, которые в норме не наблюдались. Так же как и у здоровых женщин, Т-киллеры, ДК и ЭК при гестозе не обнаружены.

Полученные данные подтверждают имеющиеся в литературе предположения о том, что иммунные клетки плаценты играют ключевую роль в патогенезе гестоза. Так, значительное повышение экспрессии плацентарных макрофагов в ворсинах хориона может приводить к нарушению инвазии трофобласта, что может быть связано с апоптозом эндovasкулярных клеток. Апоптоз, в свою очередь, может индуцироваться макрофагами по двум путям: через секрецию TNF α , действующего на рецепторы, экспрессируемые трофобластом, или с помощью расщепления триптофана индоламин-2,3-диоксигеназой, продуцируемой макрофагами. Отсутствие Т-супрессоров в ворсинах плаценты при гестозе может привести к неконтрольной активации агрессивных Т-клеток против полуаллогенных тканей плода и усугублению патологии. Роль В-лимфоцитов, появляющихся в плаценте при гестозе, до конца не ясна. В норме IL-10, секретиромый трофобластом, подавляет пролиферацию В-клеток, вероятно, при гестозе секреторная функция трофобласта нарушается, что и выражается в появлении В-лимфоцитов в ворсинах хориона.

Результаты исследования иммунного статуса плаценты у женщин в возрасте старше 28 лет в норме и при гестозе

Относительная площадь окрашивания на CD16⁺ положительные клетки в плацентах здоровых женщин старше 28 лет была в 2 раза выше, чем у пациенток старшего фертильного возраста с гестозом (табл. 3). При этом оптическая плотность CD16⁺ клеток в норме и при гестозе достоверно не отличалась (табл. 4).

Было установлено, что в плацентах здоровых женщин старше 28 лет около 42% всех иммунных клеток составляют CD8⁺ клетки, тогда как при гестозе их количество резко падает и достигает только 21% (табл. 3,4).

Плацентарные макрофаги в ворсинах хориона оказались самой малочисленной популяцией иммунных клеток у здоровых женщин старше 28 лет. У пациенток с гестозом площадь и оптическая плотность экспрессии не отличались от группы контроля. Несмотря на это, можно предположить, что плацентарные макрофаги, продуцирующие провоспалительные цитокины, играют значительную роль в развитии воспаления в плаценте при гестозе. Эту гипотезу подтверждает изменение процентного соотношения иммунокомпетентных клеток ворсин хориона в норме и при гестозе. Так, у здоровых женщин старше 28 лет НК-клетки составляют 47%, Т-супрессоры – 42% и ККГ – 11%; в то время как у пациенток с гестозом той же возрастной категории это соотношение смещается в сторону увеличения плацентарных макрофагов за счет резкого снижения двух других субпопуляций иммунокомпетентных клеток, в результате чего НК-клетки составляют 55%, Т-супрессоры – 21% и ККГ -28%.

Таблица 3

Площадь экспрессии CD8⁺, CD16⁺ и CD68⁺ в плаценте у женщин старше 28 лет

Показатель	CD8+		CD16+		CD68+	
	II группа (контроль)	IV группа (гестоз)	II группа (контроль)	IV группа (гестоз)	II группа (контроль)	IV группа (гестоз)
	n=10	n=11	n=14	n=16	n=14	n=17
Средний возраст, лет	33.82±0.99	35.40±1.90	33.50±1.12	34.56±1.64	33.50±1.12	34.64±1.62
Площадь экспрессии, %	3.67±1.02	0.63±0.19*	4.02±1.09	2.18±0.55*	0.99±0.28	1.13±0.32

* - $p < 0.05$ по сравнению с показателем в контрольной группе

Таблица 4

Оптическая плотность экспрессии CD8⁺, CD16⁺ и CD68⁺ в плаценте у женщин старше 28 лет

Показатель	CD8+		CD16+		CD68+	
	II группа (контроль)	IV группа (гестоз)	II группа (контроль)	IV группа (гестоз)	II группа (контроль)	IV группа (гестоз)
	n=10	n=11	n=14	n=16	n=14	n=17
Средний возраст, лет	33.82±0.99	35.40±1.90	33.50±1.12	34.56±1.64	33.50±1.12	34.64±1.62
Оптическая плотность, у.е.	0.32±0.03	0.17±0.02*	0.27±0.08	0.30±0.09	0.16±0.04	0.22±0.06

* - $p < 0.05$ по сравнению с показателем в контрольной группе

Вероятно, при старении организма женщины иммунный статус плаценты меняется, в нем начинают преобладать агрессивные субпопуляции иммунных клеток, а подавление излишней активности этих клеток становится недостаточным.

Экспрессия других маркеров – CD4, CD20, CD83 и CD106 не была обнаружена ни в группе здоровых женщин, ни у пациенток с гестозом старше 28 лет.

Полученные данные позволяют сделать предположения об иммунном статусе плаценты у женщин старше 28 лет с нормально протекающей беременностью и гестозом.

- При нормально протекающей беременности у женщин в возрасте старше 28 лет в ворсинках зрелой плаценты NK-клетки составляют 47% всех иммунных клеток, Т-супрессоры - 42 % и макрофаги - 11% . При этом Т-киллеры, В-лимфоциты, ДК и ЭК в норме не выявляются.
- Возраст женщины старше 28 лет является фактором риска развития патологической беременности, в основе которого лежат иммунологические механизмы, протекающие в плаценте. NK-клетки ворсин, составляющие большую часть всех иммунных клеток ворсинчатого хориона, участвуют в ранней фазе иммунного ответа, секретируя цитокины. Низкое процентное соотношение плацентарных макрофагов по сравнению с другими субпопуляциями иммунокомпетентных клеток может указывать на недостаточную реализацию антигенпрезентирующей функции в общей схеме иммунного ответа. Большое количество Т-супрессоров в плацентах женщин старше 28 лет с одной стороны, играет положительную роль, ингибируя активность агрессивных иммунных клеток матери против полуаллогенного плода, а с другой стороны носит отрицательный характер. Подавление иммунной реакции Т-супрессорами, в сочетании с недостаточной антигенпрезентирующей способностью плацентарных макрофагов, может привести к ослаблению иммунного ответа и развитию вирусных и инфекционных заболеваний в системе мать-плацента-плод. В целом, полученные результаты свидетельствуют об ослаблении иммунного ответа и нарушении взаимодействия между субпопуляциями иммунных клеток в плаценте у женщин старше 28 лет.
- У пациенток старшего фертильного возраста, перенесших гестоз, в ворсинках плаценты NK-клетки составляют 55% всех иммунных клеток, что незначительно превышает норму, количество плацентарных макрофагов возрастает с 11 до 28%, а содержание Т-супрессоров достоверно понижается в 2 раза - с 42 до 21%.
- Изменение процентного соотношения различных субпопуляций иммунных клеток у женщин старшего фертильного возраста, перенесших гестоз, может указывать на механизмы развития этой патологии беременных. По-видимому, ключевую роль в механизмах развития гестоза играет резкое уменьшение субпопуляции Т-супрессоров в сочетании с возрастанием количества ККГ. Увеличение количества Т-супрессоров может указывать на дальнейшее подавление иммунного ответа, которое наблюдалось и у здоровых женщин старше 28 лет, а при гестозе только усугубилось. Увеличение при гестозе популяции плацентарных макрофагов, вероятно, служит компенсаторным иммунологическим механизмом, повышающим эффективность презентации антигена и активирующим NK-клетки.

**Корреляция между экспрессией НК-клеток в плаценте
и возрастом женщины в норме и при гестозе**

У здоровых женщин младшей и старшей возрастной групп площадь и оптическая плотность экспрессии маркера НК-клеток не различались и составили соответственно 4.68 ± 0.91 % и 4.02 ± 1.09 %; 0.23 ± 0.02 и 0.27 ± 0.08 у.е. Полученные данные свидетельствуют, что количество и концентрация НК-клеток в ворсинках хориона не зависят от возраста женщин при нормально протекающей беременности. Приведенные данные были подтверждены результатами корреляционного анализа.

Коэффициенты корреляции между выборками из возраста и площади экспрессии и возраста и оптической плотности экспрессии составили соответственно 0.12 и 0.17, что, в обоих случаях, свидетельствует о наличии связи слабой тесноты между исследуемыми величинами (табл. 5).

Таблица 5

**Корреляция между показателями экспрессии CD8⁺, CD16⁺ и CD68⁺
и возрастом женщины**

Исследуемые параметры		CD8 ⁺		CD16 ⁺		CD68 ⁺	
		Коэф. Спирмана	Теснота связи	Коэф. Спирмана	Теснота связи	Коэф. Спирмана	Теснота связи
I и II группы	площадь экспрессии	0.43	умеренная	0.12	слабая	-0.03	слабая
	оптическая плотность	0.55	умеренная	0.17	слабая	0.18	слабая
III и IV группы	площадь экспрессии	0.84	высокая	0.47	умеренная	0.40	умеренная
	оптическая плотность	0.85	высокая	0.13	слабая	-0.35	умеренная

Коэффициенты 0.12 и 0.17 указывают на отсутствие зависимости между параметрами экспрессии CD16 и возрастом здоровых женщин, что подтверждается данными аппроксимации – уравнения $y_1 = -0.0064x + 4$ и $y_2 = 0.0001x + 0.2272$ - линейные, а описываемые ими прямые проходят практически параллельно оси абсцисс (рис. 1А, Б).

У пациенток с гестозом старше 28 лет площадь экспрессии CD16 ниже почти в 2 раза с 3.90 ± 1.12 % до 2.18 ± 0.55 % ($p < 0.05$) по сравнению с группой молодых женщин. Оптическая плотность экспрессии в группах женщин моложе и старше 28 лет достоверно не различалась и составила соответственно 0.26 ± 0.05 и 0.30 ± 0.08 у.е.

Коэффициент корреляции при исследовании относительной площади окрашивания и возраста женщин составил 0,47, что свидетельствует о наличии положительной связи умеренной тесноты (табл. 5). Указанная зависимость может быть аппроксимирована полиномом четвертой степени $y_1 = -0.15x^4 + 6.3x^3 - 147.1x^2 + 1806x - 9064.7$ (рис. 2А).

Полученное уравнение показывает, что максимальное количество НК-клеток в плаценте характерно для женщин в возрасте 20-24 лет, а уже к 26 годам этот показатель резко падает и продолжает плавно снижаться с возрастом.

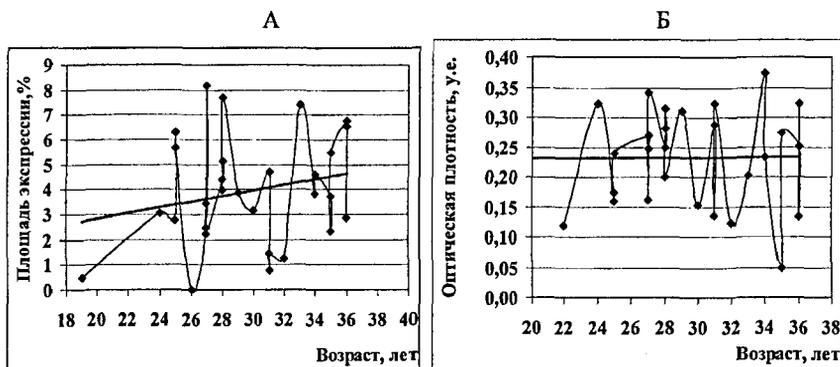


Рис. 1. Зависимость экспрессии CD16 в плаценте от возраста женщин с нормально протекающей беременностью: А – площади экспрессии, Б – оптической плотности экспрессии. Черная кривая с точками – экспериментальные данные, сплошная линия – аппроксимирующая прямая.

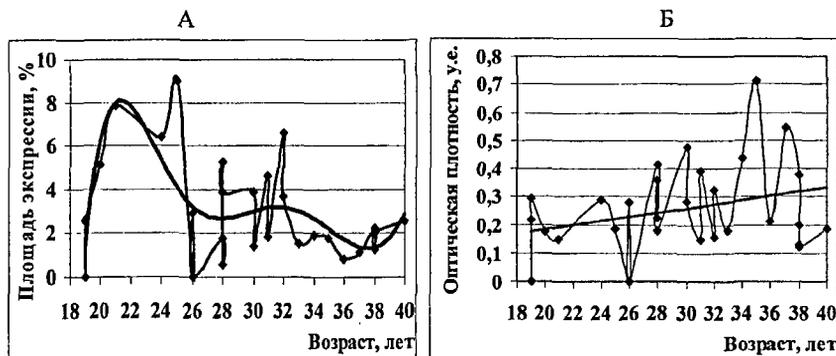


Рис. 2. Зависимость экспрессии CD16 в плаценте от возраста пациенток с гестозом: А- площади экспрессии, Б – оптической плотности экспрессии. Черная кривая

с точками – экспериментальные данные, сплошная линия – аппроксимирующая зависимость.

Коэффициент Спирмана для выборок из оптической плотности и возраста женщин с гестозом составил 0.13, что указывает на наличие положительной связи слабой тесноты (табл. 5) и подтверждается данными статистического анализа по Стьюденту и видом аппроксимирующей прямой $y_2=0.0074x+0.035$ (рис. 2Б).

Обобщая полученные данные, можно предположить, что у здоровых женщин количество и концентрация НК-клеток в ворсинах плаценты с возрастом не изменяется, и остается стабильно высокой. У пациенток с гестозом старше 28 лет количество НК-клеток в плаценте 2 раза ниже, чем у молодых женщин с гестозом. С одной стороны, этот фактор может играть положительную роль, тормозя взаимную активацию НК-клеток и ККГ и, тем самым, снижая риск развития сильного воспаления, характерного для гестоза, но, с другой стороны, уменьшение количества НК-клеток может привести к недостаточному распознаванию трансформированных клеток и повышению риска развития опухолей.

Корреляция между экспрессией Т-супрессоров в плаценте и возрастом женщины в норме и при гестозе

При исследовании экспрессии маркера CD8 у здоровых женщин было установлено, что у пациенток старше 28 лет площадь экспрессии больше в 3.2 раза (3.67 ± 1.02 %) по сравнению с молодыми первородящими (1.16 ± 0.36 %, $p<0.05$). Оптическая плотность экспрессии у женщин старшей возрастной группы была в 2.5 раза больше по сравнению с молодыми женщинами ($p<0.05$) и составила соответственно 0.13 ± 0.09 и 0.32 ± 0.09 у.е.

Коэффициент Спирмана для выборок из возраста и площади экспрессии составил 0.43, что свидетельствует о наличии нелинейной положительной связи умеренной тесноты (табл. 5). Полученная зависимость может быть аппроксимирована логарифмическим уравнением $y_1=6Ln(x)-17$ и свидетельствует о нарастании концентрации плацентарных макрофагов при увеличении возраста женщин (рис. 3А).

Коэффициент Спирмана для выборок из возраста и оптической плотности составил 0.55, что указывает на положительную связь умеренной тесноты (табл. 5). Полученную зависимость описывали параболическим уравнением $y=0.05x^2-1.5x+13$, из которого видно, что с 18 до 22 лет концентрация Т-супрессоров в плаценте понижается, а с 25 лет она вновь начинает расти (рис. 3). Полученные данные свидетельствуют об увеличении количества и концентрации Т-супрессоров у здоровых женщин старше 25 лет в 2.5-3 раза по сравнению с молодыми женщинами.

У рожениц с гестозом зависимость Т-супрессоров от возраста значительно отличалась от того, что было характерно для нормы. У пациенток с гестозом в возрасте до 28 лет Т-супрессоры отсутствовали, тогда как у старородящих женщин с гестозом площадь окрашивания CD8⁺ клеток составила 0.63 ± 0.19 %, а оптическая плотность 0.17 ± 0.05 у.е.

Коэффициенты корреляции между выборками из возраста и площади экспрессии и возраста и оптической плотности составили соответственно 0.85 и 0.84, что свидетельствует о нелинейной положительной связи высокой тесноты между исследуемыми величинами, причем обе эти связи могут быть описаны

полиномиальными уравнениями четвертой и третьей степени: $y_1 = -0.1x^4 + 4.3x^3 - 85x^2 + 785x - 3714$ и $y_2 = -0.1x^3 + 3x^2 - 85x - 40x + 209$ (рис. 4А, Б).

Аппроксимирующие зависимости показывают, что с 31 года в плацентах пациенток с гестозом появляются Т-супрессоры, до 36 лет их количество резко возрастает, а затем плавно снижается. У женщин моложе 31 года при гестозе Т-супрессоры отсутствуют.

Повышение содержания Т-супрессоров плаценты у здоровых женщин старшего возраста является дополнительным фактором риска развития инфекционных и вирусных заболеваний. Однако анализ плацент пациенток с гестозом показал, что при этой патологии у молодых женщин Т-супрессоры отсутствуют, что может привести к развитию сильной воспалительной реакции и тяжелой степени гестоза, тогда как возраст старше 28 лет, в данном случае является благоприятным фактором, так как у женщин этой группы Т-супрессоры в плаценте присутствуют, что снижает воспаление и обеспечивает более легкое течение гестоза.

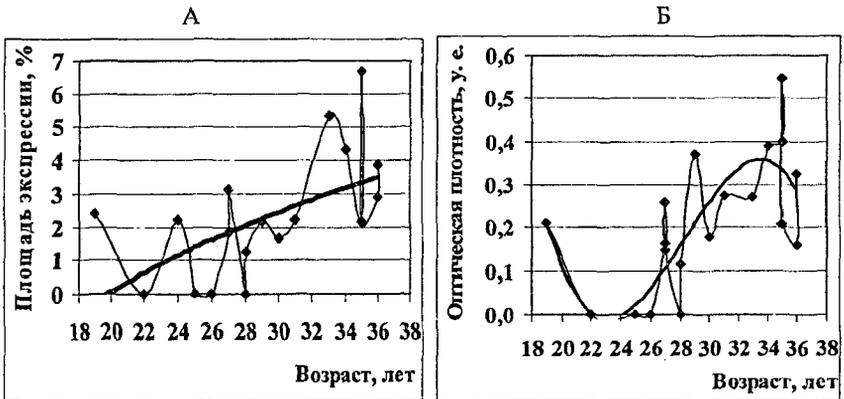


Рис. 3. Зависимость экспрессии CD8 в плаценте от возраста женщин с нормально протекающей беременностью: А – площади экспрессии, Б – оптической плотности. Черная кривая с точками – экспериментальные данные, сплошная линия – аппроксимирующая кривая.

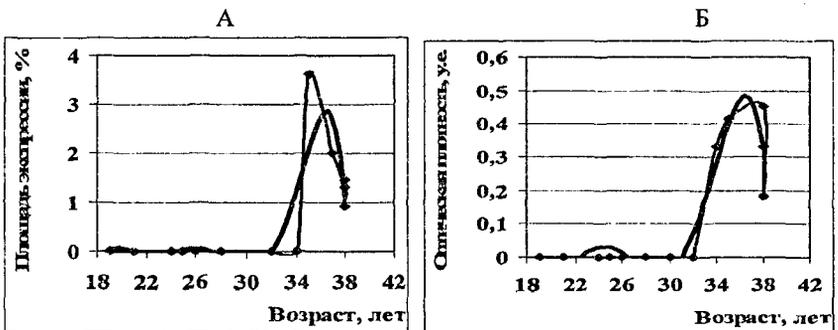


Рис. 4. Зависимость экспрессии CD8 в плаценте от возраста женщин с гестозом: А- площади экспрессии, Б – оптической плотности. Черная кривая с точками – экспериментальные данные, сплошная линия – аппроксимирующая кривая.

Корреляция между экспрессией плацентарных макрофагов и возрастом женщин в норме и при гестозе

У здоровых женщин различных возрастных групп площадь экспрессии и оптическая плотность CD68⁺ клеток достоверно не различались и составили у женщин моложе 28 лет $1.03 \pm 0.33\%$ и 0.17 ± 0.04 у.е., а у первородящих старшего возраста $0.99 \pm 0.28\%$ и 0.16 ± 0.04 у.е.

Коэффициенты корреляции между выборками из возраста и площади экспрессии и возраста и оптической плотности составили соответственно -0.03 и 0.18 , что, в обоих случаях, свидетельствует о наличии связи слабой тесноты (табл. 5). Полученные коэффициенты указывают на отсутствие зависимости между исследуемыми величинами, что подтверждается данными аппроксимации – уравнения $y_1 = -0.05x + 2.4$ и $y_2 = -0.003x + 0.095$ линейные, а описываемые ими прямые проходят практически параллельно оси абсцисс (рис. 5А, Б). Полученные данные позволяют предположить, что у здоровых женщин количество и концентрация ККГ в ворсинках плаценты с возрастом не изменяются.

У женщин старше 28 лет с гестозом площадь экспрессии снизилась в 2 раза с $2.14 \pm 0.42\%$ до $1.13 \pm 0.32\%$ ($p < 0.05$) по сравнению с группой молодых женщин. Оптическая плотность экспрессии в группах женщин моложе и старше 28 лет достоверно не изменялась и составила соответственно 0.25 ± 0.07 и 0.22 ± 0.06 у.е.

Коэффициент корреляции между площадью экспрессии и возрастом женщин составил 0.4 , что свидетельствует о наличии положительной связи умеренной тесноты (табл. 5). Указанная зависимость может быть аппроксимирована логарифмическим уравнением $y_1 = -2L_n(x) + 8$ (рис. 6А). Коэффициент Спирмана для выборок из оптической плотности и возраста женщин с гестозом составил -0.35 , что указывает на наличие отрицательной связи умеренной тесноты (табл. 5), которая описывается уравнением $y_2 = -0.001x + 0.264$ (рис. 6Б).

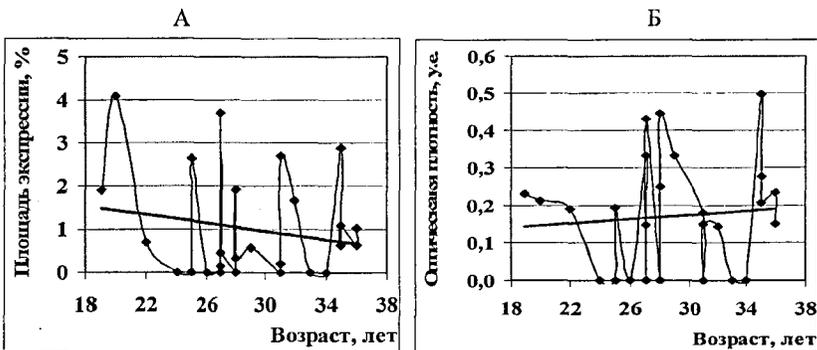


Рис. 5. Зависимость экспрессии CD68 в плаценте от возраста женщин с нормально протекающей беременностью: А – площади экспрессии, Б – оптической плотности. Черная кривая с точками – экспериментальные данные, сплошная линия – аппроксимирующая прямая.

В норме количество плацентарных макрофагов с возрастом не изменяется, что свидетельствует о сохранности защитной функции иммунной системы у женщин старше 28 лет. При этом у пациенток с гестозом после 28 лет количество ККГ снижается почти в 2 раза, что с одной стороны, может служить положительным фактором, свидетельствующим об уменьшении воспаления у женщин старшего возраста, а с другой стороны, об угасании с возрастом защитной функции иммунной системы.

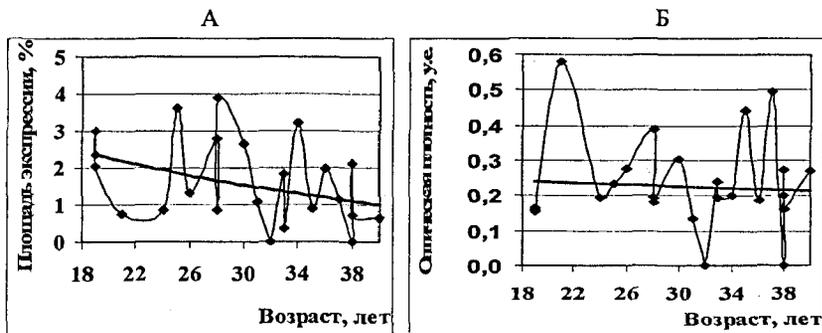


Рис. 6. Зависимость экспрессии CD68 в плаценте от возраста пациенток с гестозом: А – площади экспрессии, Б – оптической плотности. Черная кривая с точками – экспериментальные данные, сплошная линия – аппроксимирующая зависимость.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ проведенных исследований влияния возраста беременной на иммунный статус плаценты в норме и при гестозе позволяет предложить собственную гипотезу изменения взаимодействия иммунокомпетентных клеток плаценты в зависимости от возраста женщины и характера течения беременности.

У здоровых женщин в возрасте до 28 лет соотношение иммунокомпетентных клеток в ворсинах плаценты составляет 5:1:1, где наиболее многочисленной субпопуляцией иммунных клеток являются НК-клетки, а затем в равных пропорциях следуют Т-супрессоры и плацентарные макрофаги. Вероятно, указанное соотношение различных субпопуляций иммунокомпетентных клеток ворсин хориона оптимально обеспечивает иммунный ответ, основными составляющими которого являются: уничтожение поврежденных и трансформированных клеток, осуществляемое НК-клетками, борьба с чужеродными агентами, обеспечиваемая ККГ и защита полуаллогенного плода от иммунной агрессии матери, поддерживаемая Т-супрессорами.

С возрастом у здоровых женщин соотношение указанных субпопуляций иммунокомпетентных клеток в ворсинах плаценты смещается в сторону увеличения Т-супрессоров и составляет 4:4:1. При этом содержание НК-клеток и ККГ в ворсинах хориона остается неизменными по сравнению с женщинами в возрасте до 28 лет. Вероятно, увеличение количества Т-супрессоров в ворсинах плаценты стимулируется антигенпрезентирующими клетками, аналогично тому,

как это происходит в децидуальной ткани. Возникающее с возрастом угасание иммунологических реакций, обеспечиваемое возрастанием количества Т-супрессоров в ворсинках хориона с одной стороны, увеличивает риск развития бактериальных и вирусных инфекций, но, в то же время, препятствует развитию воспалительных реакций, лежащих в основе патогенеза различных заболеваний.

Оценка иммунного статуса плаценты у здоровых женщин различных возрастных групп позволяет выдвинуть предположения о некоторых механизмах развития гестоза. У молодых женщин, перенесших гестоз, количество всех субпопуляций иммунокомпетентных клеток снижается по сравнению с нормой, а Т-супрессоры отсутствуют, при этом соотношение НК-клеток и плацентарных макрофагов составляет 4:2. Отсутствие Т-супрессоров, сдерживающих иммунную агрессию матери против полуаллогенного плода, по-видимому, является ключевым фактором в развитии сильной воспалительной реакции, характерной для гестоза. Это предположение подтверждается клиническими данными о том, что наиболее тяжелые формы гестоза характерны для юных и молодых первородящих женщин.

С возрастом у пациенток, перенесших гестоз, количество иммунокомпетентных клеток плаценты хотя и снижено по сравнению с нормой, но более близко к ней по сравнению с пациентками молодого возраста и составляет 4:1:2, где наибольшая доля приходится на НК-клетки, затем ККГ и меньше всего распространены Т-супрессоры. У женщин старшего возраста за счет появления субпопуляции Т-супрессоров менее выражена воспалительная реакция, что обеспечивает более легкое течение гестоза. Снижение воспалительной реакции у женщин с гестозом старшей возрастной группы так же обеспечивается уменьшением содержания ККГ и НК-клеток, что, кроме того, может указывать на угасание с возрастом защитной функции иммунной системы. При этом максимальное количество НК-клеток в плаценте характерно для женщин в возрасте 20-24 лет, а уже к 26 годам этот показатель резко падает и продолжает плавно снижаться с возрастом. Этот фактор может играть положительную роль, тормозя взаимную активацию НК-клеток и ККГ и, тем самым, снижая риск развития сильного воспаления, усугубляющего патологические процессы, характерные для гестоза.

ВЫВОДЫ

1. Иммунный статус плаценты в норме формируют 3 субпопуляции клеток: НК-клетки, Т-супрессоры и плацентарные макрофаги. С возрастом, как у здоровых женщин, так и у пациенток с гестозом, происходят структурно-функциональные изменения иммунного статуса плаценты.
2. У здоровых женщин в возрасте до 28 лет в ворсинках плаценты присутствуют НК-клетки, Т-супрессоры и плацентарные макрофаги в соотношении 5:1:1
3. У здоровых женщин старше 28 лет соотношение НК-клеток, Т-супрессоров и плацентарных макрофагов составляет 4:4:1. При этом количество Т-супрессоров у женщин старше 28 лет возрастает в 3 раза по сравнению с молодыми женщинами. Содержание НК-клеток и плацентарных макрофагов с возрастом не изменяется.

4. В возрасте с 18 до 22 лет количество Т-супрессоров в ворсинках плаценты у здоровых женщин снижается, а начиная с 25 лет, это показатель возрастает и к 28 годам количество Т-супрессоров увеличивается в 2,5-3 раза.
5. У пациенток с гестозом в возрасте до 28 лет количество НК-клеток не изменяется, содержание плацентарных макрофагов повышается в 2 раза, а Т-супрессоры отсутствуют. Указанные изменения иммунного статуса плаценты могут играть важную роль в механизмах патогенеза гестоза у молодых первородящих женщин.
6. С возрастом у женщин, перенесших гестоз, количество НК-клеток и плацентарных макрофагов соответственно понижается в 1,5 и в 2 раза, появляются Т-супрессоры. Снижение количества НК-клеток и плацентарных макрофагов указывает на угасание иммунных реакций в плаценте.
7. В возрасте 20-24 лет в плацентах пациенток с гестозом наблюдается максимальное количество НК-клеток, к 26 годам этот показатель резко падает и продолжает плавно снижаться с увеличением возраста.
8. Выявленные возрастные изменения структурно-функционального характера в иммунных клетках плаценты у женщин как при нормально развивающейся беременности, так и при гестозе, являются важным фактором риска развития патологической беременности у женщин старшей возрастной группы, тяжесть которой усугубляется с увеличением возраста беременной.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У женщин старшей возрастной группы рекомендуется проводить расширенное исследование иммунного статуса для прогнозирования риска развития патологической беременности.
2. В схеме лечения гестоза у беременных женщин старшего репродуктивного возраста рекомендуется учитывать действие лекарственных препаратов, побочным действием которых может быть изменение иммунного статуса, способное усугубить неблагоприятное течение беременности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах по перечню ВАК Минобрнауки РФ

1. Роль плацентарных макрофагов в патогенезе гестоза у женщин разных возрастных групп/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев., И.Н.Костючек, В.О. Полякова, И.М. Кветной//Успехи геронтологии. – Т. 22. - №3. - 2009. - С. 503-506.
2. Экспрессия CD8 как маркера риска невынашивания беременности у женщин с гестозом/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек , В.О. Полякова// Вестник Российского университета дружбы народов. Серия Медицина. Акушерство и гинекология. – №6. – 2009. – С. 326-331.

Тезисы

3. Взаимодействие некоторых субпопуляций иммунокомпетентных клеток плаценты у женщин различного возраста на фоне гестоза/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, Н.А. Пальченко., В.О. Полякова, И.Н. Костючек//Сб. матер. (статьи, тезисы докладов) весенней геронтологической конференции. - Белгородский государственный университет. – Белгород, 2009. – С. 29-30.
4. Возрастные особенности экспрессии сигнальных молекул - маркеров иммунокомпетентных клеток ворсинчатого хориона/ А.В. Костылев, Н.С. Линькова, И.Н. Костючек, В.О. Полякова // Сб. матер. VI международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность». – Москва, 2009. - С. 118-119.
5. Возрастные особенности экспрессии сигнальных молекул – маркеров клеток плаценты при гестозе/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек, В.О. Полякова // Сб. матер. VI международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность». – Москва, 2009. - С. 134-135.
6. Зависимость количества Т-супрессоров в плаценте от возраста женщин в норме и при гестозе/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек, В.О. Полякова, И.М. Кветной //Сб. научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 65-летию ЯГМА «Актуальные вопросы медицинской науки». – Ярославль, 2009. – С. 90-91.
7. Изменение иммунного статуса плаценты у женщин разного возраста/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек, В.О. Полякова, И.М. Кветной // Сб. научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 65-летию ЯГМА «Актуальные вопросы медицинской науки». – Ярославль, 2009. – С. 90.
8. Корреляция возраста женщин и иммунного статуса плаценты при гестозе / Н.С. Линькова., А.В. Костылев, И.Н. Костючек, И.М. Кветной // Сб. тез. Всероссийской научно-практической конференции «Амбулаторно-клиническая практика – платформа женского здоровья». - Москва, 2009. – С. 155-156.
9. *Костылев А.В.* Роль Т-лимфоцитов плаценты в развитии угрозы невынашивания беременности на фоне гестоза/ А.В. Костылев, Н.С. Линькова., И.Н. Костючек // Матер. всероссийской научной конференции, посвященной 150-летию кафедры патологической анатомии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. – Санкт-Петербург, 2009. –С. 66-67.

10. Линькова Н.С. Корреляция экспрессии макрофагов плаценты у женщин различного возраста в норме и при гестозе/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек//12-я Всероссийская медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина». – Санкт-Петербург, 2009. – С. 185-186.
11. Натуральные киллеры в плаценте у женщин различного фертильного возраста в норме и при патологии/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек, И.М. Кветной//Сб. тез. Всероссийской научно-практической конференции «Амбулаторно-клиническая практика – платформа женского здоровья». – Москва, 2009.–С.156-158.
12. Причины невынашивания беременности у женщин старшего фертильного возраста/Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек, Н.А. Пальченко, В.О. Полякова//Матер. Международной научно-практической конф. с международным участием «Осенняя геронтологическая конференция в Белгороде», Белгородский государственный университет. – Белгород, 2009. – С. 19-20.
13. Роль макрофагов и дендритных клеток в иммунном ответе плаценты при гестозе/Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек, В.О.Полякова, И.М. Кветной//Тез. в матер. конф. «Нейроиммунология» в журнале «Нейроиммунология». - Санкт-Петербург, 2009. - Т.VII. - №1. – С. 61.
14. Роль тучных клеток в иммунной функции последа при переносенной беременности/Н.С. Линькова, А.В. Костылев, В.О. Полякова, И.М. Кветной// Сб. тез. XIII Международной школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века», Пущино, 2009. – С. 106-107.
15. Роль CD4⁺ лимфоцитов в иммунологическом «старении» плаценты/ Н.С. Линькова, А.В. Костылев, В.О. Полякова, Н.А. Пальченко, И.М. Кветной// Матер. Международной научно-практической конф. с международным участием «Осенняя геронтологическая конференция в Белгороде», Белгородский государственный университет. – Белгород, 2009. – С. 20-21.
16. CD8 как маркер угрозы выкидыша у женщин различных возрастных групп на фоне гестоза/Н.С. Линькова, А.В. Костылев, И.Н. Костючек, А.О. Дурнова, Н.А. Пальченко, В.О. Полякова//Сб. тез. к научно-практической конф. молодых ученых «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины», СПбМАПО. - Санкт-Петербург, 2009. – С. 191-192.

Линькова Наталья Сергеевна СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
РЕЗИДЕНТНЫХ ИММУННЫХ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ У ЖЕНЩИН РАЗЛИЧНОГО
ВОЗРАСТА// Автореф. дис. канд. биол. наук: 14.01.30 – СПб., 2010. – 22 с.

Подписано в печать 20.01.2010. Формат 60*84 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ 52.

Отпечатано с готового оригинал-макета.

ЗАО "Принт - Экспресс"

197376, С.-Петербург, ул. Большая Монетная, 5 лит. А